



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2013 00080**

(22) Data de depozit: **23.01.2013**

(41) Data publicării cererii:
30.07.2014 BOPI nr. **7/2014**

(71) Solicitant:
• **UNIVERSTATEA DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE "IULIU HAȚIEGANU" DIN
CLUJ-NAPOCA, STR. EMIL ISAC NR. 13,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(72) Inventatori:
• **TOMUTA IOAN, STR. NĂSĂUD NR. 22,
AP. 19, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **IOVANOV RAREȘ IULIU,
STR. BANU MĂRĂCINE, BL. 10, AP. 19,
ARAD, AR, RO;**
• **LEUCUTA SORIN EMILIAN, STR. PUTNA
NR. 1, BL. 11, AP. 13, CLUJ-NAPOCA, CJ,
RO**

(54) **PROCEDEU DE DETERMINARE A PROPRIETĂȚILOR FIZICE
ALE COMPRIMATELOR MEDICAMENTOASE (REZISTENȚĂ
MECANICĂ, FRIABILITATE, TIMP DE DEZAGREGARE) PRIN
METODE NIR CHEMOMETRICE**

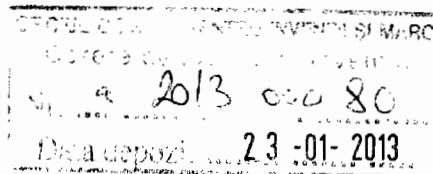
(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de dezvoltare și validare a unor metode spectroscopice în infraroșu apropiat și analiză multivariată, pentru determinarea proprietăților fizice ale comprimatelor medicamentoase. Procedeu conform invenției constă, într-o primă etapă, din dezvoltarea unei metode, pe probe de calibrare, preparate conform unui plan experimental, cu o variabilă constând din forța de comprimare și 5...9 niveluri de variație constând din diferite valori ale forței de comprimare, în intervalul 5...50 kN, forțe la care se prepară comprimatele probelor de calibrare, dezvoltarea metodei fiind finalizată prin realizarea unui model de calibrare multivariată capabil să cuantifice corelații între proprietățile fizice ale comprimatelor din probele de calibrare și spectrele NIR ale acestora, urmată de o a doua etapă constând din validarea metodei, pe probe de

validare preparate conform unui plan experimental cu o variabilă și trei niveluri, variabila fiind forța de comprimare și nivelurile fiind diferite valori ale forței de comprimare în intervalul 5...50 kN, corespunzătoare la 1/4, 1/2 și, respectiv, 3/4 din valorile scăzii nivelurilor folosite la calibrare, validarea metodei fiind realizată comparând valorile obținute prin metoda dezvoltată în prima etapă, cu cele obținute folosind metodologia din Farmacopeea Europeană, prin calcularea următorilor parametri statistici: liniaritate, domeniu de liniaritate, exactitate, precizie și acuratețe.

Revendicări: 4
Figuri: 5





Ceo

Procedeu de determinare a proprietăților fizice ale comprimatelor medicamentoase (rezistență mecanică, friabilitate, timp de dezagregare) prin metode spectroscopice în infra-roșu apropiat și analiză multivariată

Invenția se referă la un procedeu prin care se dezvoltă, validează și se utilizează la comprimatele obținute la o mașină de comprimat rotativă metodele spectroscopice în infra-roșu apropiat și analiză multivariată (NIR-chemometice) pentru determinarea proprietăților fizice (farmaceutice) ale comprimatelor (rezistență mecanică, friabilitate, timp de dezagregare), invenția putând fi aplicată la monitorizarea on-line a rezistenței mecanice, a friabilității și a timpului de dezagregare a comprimatelor preparate cu ajutorul unei mașini de comprimat rotative.

Comprimatele sunt preparate farmaceutice solide care conțin doze unitare din una sau mai multe substanțe active. Se obțin prin comprimarea unui volum constant de substanțe active, asociate sau nu cu substanțe auxiliare. Comprimatele se prepară, în general, prin comprimarea unui volum constant de particule sau de agregate obținute prin granulare. Masa de pulberi/granulat care trebuie compactată trebuie să aibă capacitatea de coeziune sub influența unei forte mecanice aplicată pentru o foarte scurtă perioadă de timp. Materialul trebuie să aibă capacitatea de a-și micșora volumul sub acțiunea presiunii, proprietate numită compresibilitate, și să formeze prin acțiunea mecanică exercitată asupra sa un compact cu o anumită rezistență mecanică, proprietate numită compactibilitate. Aceste proprietăți sunt esențiale pentru o masa de pulbere sau granule supuse comprimării în vederea preparării cu succes a comprimatelor. Comprimarea este un fenomen fizic prin care se reduce volumul unui amestec de particule într-un compact coerent, de forma bine determinată. În practică este important nu numai ca materialul să-și reducă volumul în comprimare, dar să producă un compact cu rezistență mecanică satisfăcătoare [1].

La prepararea comprimatelor se iau măsuri adecvate pentru obținerea unui produs cu următoarele proprietăți fizice: rezistență mecanică corespunzătoare, și friabilitate redusă pentru a evita zdrobirea, ruperea, pierdere din masă a comprimatelor în timpul manipulării sau pe parcursul etapelor de producție ulterioare. Evaluarea rezistenței mecanice se face prin metode farmacotehnice conform monografiei din Ph.Eur. 2.9.8. *Resistance to crushing of tablets* [2]. Metoda poate fi integrată on-line pe o mașină de comprimat dar durata unei analize este de câteva minute și presupune distrugerea comprimatului. Evaluarea a friabilității se face conform metodei farmacotehnice din Ph.Eur. 2.9.7. *Friability of uncoated tablets* [3]. Metoda

durează aproximativ 10 minute și nu poate fi integrată on-line pe o mașină de comprimat. În același timp, comprimatele trebuie să cedeze integral substanța medicamentoasă conform cineticii dorite, la locul de absorbție din organism, în vederea asigurării efectului farmacologic. Cedarea substanței medicamentoase din produsul medicamentos, implică dezagregarea formei farmaceutice și dizolvarea substanței medicamentoase. Pentru asigurarea cedării integrale a substanței medicamentoase din comprimat, trebuie avut în vedere că eliberarea particulelor pentru dizolvare se face prin dezagregarea comprimatului și a granulelor constituente. Determinarea dezagregării se face conform metodei din Ph.Eur. 7 din cadrul monografiei 2.9.1. *Disintegration of tablets and capsules* [4]. Metoda se bazează pe determinarea, în condiții bine definite a timpului în care comprimatele sunt dezagregate în pulberile din care au fost preparate. Metoda nu poate fi aplicată on-line, durează minim 15 minute și presupune distrugerea comprimatului.

La ora actuală spectroscopia în infraroșu apropiat NIR (Near Infra-Red=„infra-roșu apropiat”) în combinație cu chemometria/analiza multivariată este considerată o tehnică rapidă, nedistructivă care permite analize multi-multicomponent din diferite matrice. Benzile NIR sunt mult mai slabe decât cele din Infra-Roșul Mijlociu, din acest motiv și absorbțivitatea molară este scăzută în această regiune dar radiația penetrează câțiva milimetri în materiale, inclusiv în solide (comprimate) [5,6], ceea ce reprezintă un mare avantaj. În plus, multe materiale, precum sticla, sunt relativ transparente în această regiune ca urmare, spectroscopia NIR permite realizarea de măsurători *in situ*, lucru care nu este valabil în cazul procedurilor de eșantionare și testare standard [7]. Spectrele NIR oferă informații de natură fizică și chimică, atât calitative cât și cantitative. Totuși, acestea sunt generale și neselective în comparație cu alte metode spectrale (precum spectrele IR și Raman). În timp ce spectrele IR mijlociu și în special benzile de absorbție pot fi direct interpretate datorită specificației chimice a picului, spectrele NIR sunt dificil de interpretat. Spectrele NIR sunt dominate de rezonanțe armonice și combinații ale modurilor fundamentale de vibrație C-H, N-H, O-H și S-H, au un conținut informațional bogat și pot fi interpretate adecvat numai utilizând algoritmi chemometrici. Din cauza factorilor complecși, chimici și fizici, care afectează spectrele NIR ale materialelor farmaceutice, analiza datelor NIR are caracter multidisciplinar și utilizează aspecte de chimie, fizică, procesarea digitală a semnalului și statistică. Interpretarea lor se poate face cu ușurință numai cu ajutorul chemometriei/analizei multivariate [5,7,8,9]. Chemometria este o disciplină care utilizează metode matematice și statistice pentru selecția procedurii experimentale optime și pentru prelucrarea datelor obținute. Chemometria este definită de Societatea Internațională de Chemometrie ca „știința de a face legătura între

măsurătorile efectuate pe un sistem sau proces chimic și starea sistemului prin aplicarea metodelor matematice sau statistice de analiză și interpretare a datelor" [10]. Chemometria este un domeniul științific nou și foarte mult din dezvoltarea ei actuală poate fi atribuită dezvoltării algoritmilor pentru analiza datelor și calibrarea NIR. Scopul analizei datelor este să se găsească și interpreteze niște modele observate în datele spectrale sau să dezvolte un model de calibrare predictivă. Toate instrumentele chemometrice se bazează pe concepte statistice și matematice de corelare și convoluție iar un chemometrician caută să găsească o interpretare chimică sau fizică validă pentru relațiile găsite. Cu alte cuvinte chemometria este „arta de a extrage informații relevante din datele furnizate de experimente” și această artă depinde de utilizarea diferitelor tipuri de modele matematice iar statistica, analiza numerică și matematica aplicată fac posibilă “structurarea problemei de natură chimică sau fizică într-o formă ce poate fi transpusă într-o relație matematică” [11]. Ca urmare, în cadrul spectroscopiei NIR, în cel mai abstract sens, chemometria este folosită la izolarea optimă a semnalelor relevante de zgomotul de fond, iar rolul cercetătorului este să extragă informația și cunoașterea din aceste semnale [12].

Spectroscopia NIR permite măsurători rapide, directe și fără prelucrare prealabilă a probelor, generând spectre complexe ce trebuie decodate cu ajutorul modelelor chemometrice. Aceste modele sunt dezvoltate printr-un set de calibrare format din probe reprezentative, care la rândul lor sunt caracterizate prin metode analitice de referință (standard). Combinând spectrele NIR cu analiza chemometrică spectroscopia NIR furnizează, în timp real, informații chimice și fizice privind procesele de producție a medicamentelor, a operațiilor de omogenizare [13, 14], granulare [15, 16, 17], comprimare [18, 19, 20] și poate fi folosită ca metodă de monitorizare a procesului de producție. Metodele de analiză NIR sunt în general preferate datorită rapidității, a costului scăzut și a caracteristicilor sale non-distructive față de proba analizată, dar utilizarea lor în practică este încă limitată deoarece implică un proces laborios de dezvoltare și validare și o metodologie specifică de calibrare și validare (bazată pe analiză multivariată și chemometrie), metodologie în curs de dezvoltare și perfecționare.

Validarea unui proces/procedeu/metodă de analiză este un program documentat științific care conferă un înalt grad de siguranță că un anumit proces/procedeu/metodă de analiză va conduce în mod constant la rezultatele așteptate. Validarea unei metode analitice reprezintă o metodologie de verificare, confirmare sau acreditare a validității științifice a unei metode de analiză. În ceea ce privește validarea metodelor de analiză pentru determinarea caracteristicilor chimice ale produselor medicamentoase, la ora actuală există ghiduri ale

autorităților de reglementare în domeniul medicamentului (ex. EMA – European Medicine Agency, ANMDM – Agenția Națională a Medicamentelor și Dispozitivelor Medicale) în care sunt prevăzuți parametrii care trebuie validați și o descrierea generală a metodologiei. Diferiți cercetători au dezvoltat și detaliat metodologii de validare a metodelor de analiză, dar numai pentru parametrii chimici ai produselor medicamentoase ca, de exemplu: identificarea substanței medicamentoase, identificarea excipienților, dozarea conținutului de substanță medicamentoasă, uniformitatea conținutului medicamentos/doză unitară, impurități înrudite chimic [21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28]. În ceea ce privește validarea metodelor pentru determinarea parametrilor fizici, la ora actuală nu există o metodologie, deoarece nu s-a pus încă problema validării metodelor de analiză pentru determinarea parametrilor fizici.

Problema tehnică pe care o rezolvă această invenție este determinarea și monitorizarea on line a trei proprietăți fizice ale comprimatelor (rezistența mecanică, friabilitate, timp de dezagregare), în timpul procesului de producție, folosind metode în infra-roșu apropiat și analiză multivariată (NIR-chemometrice). La ora actuală numai un parametru fizic al comprimatelor (rezistența mecanică) este determinat on-line folosind printr-o metodă mecanică care presupune distrugerea probei și care durează câteva minute. Datorită faptului că conform acestei invenții determinarea parametrilor fizici se face din spectrul NIR la comprimatelor folosind metode NIR chemometrice care nu presupun distrugerea probei, nu sunt consumatoare de materiale/reactivi iar o determinare durează aproximativ 20-30 secunde, pot fi monitorizate proprietățile unui număr mare de comprimate, sau chiar a întregii serii. Actualmente determinarea proprietăților fizice a comprimatelor în timpul procesului de producție se face prin sondaj, pe un număr redus de probe, iar rezultatele obținute se extrapolează la întreaga serie.

Invenția se caracterizează prin aceea că procedeul permite dezvoltarea și validarea metodelor NIR-chemometrice pentru determinarea parametrilor fizici ai comprimatelor (rezistență mecanică, friabilitate, timp de dezagregare) și cunoașterea modului în care se face integrarea metodelor NIR-chemometrice pe comprimatele obținute la o mașină de comprimat rotativă, în vederea monitorizării acestor parametri on-line în timpul procesului de comprimare.

Aplicarea soluției tehnice a invenției presupune implementarea practică a procedurii care are loc în 3 etape, după cum urmează:

I. Dezvoltarea metodei are loc conform schemei din figura 1 și a procedurii prezentate în continuare:

1. Prepararea probelor de calibrare se realizează conform un plan experimental cu 1 variabilă și 5-9 niveluri. Variabila este forța de comprimare folosită la prepararea comprimatelor. Pentru realizarea probelor de calibrare, comprimatele vor fi preparate la 5-9 forțe de comprimare diferite, cu valori cuprinse între 5-50 kN, corespunzătoare celor 5-9 niveluri stabilite anterior. Probele de calibrare poate să cuprindă între 2 și 5 replicări ale planului experimental.
2. Analiza probelor de calibrare. Înregistrarea spectrelor NIR în domeniul 12000-4000cm⁻¹ a probelor de calibrare, urmată de determinarea proprietăților fizice a comprimatelor (rezistență mecanică, friabilitate, timp de dezagregare/ cedare in vitro). Spectrele NIR pot fi înregistrate atât în modul transmisie cât și în modul reflexie. Din fiecare probă de calibrare se înregistrează spectrul NIR a 5-50 comprimate.
3. Dezvoltarea și selectarea modelului chemometric de calibrare multivariată utilizând metoda Partial Least Squares (PLS) sau altă metodă chemometrică de calibrare multivariată. Pentru dezvoltarea și selectarea modelului de calibrare multivariată se folosesc softuri specifice ca: Opus Quant (Bruker Optics, Germaia), Results (TermoScientific, SUA), SIMCA-P (Umetrics, Suedia, Unscrambler (Camo, Norvegia) etc. Dezvoltarea modelului de calibrare multivariată se face utilizând spectre NIR ne-procesate sau pre-procesate utilizând diferite metode matematice (ex. prima derivată, a doua derivată, standard normal variate, constant offset elimination, multiplicative scatter correction, straight line subtraction, vector normalization, min-max normalization) și una sau mai multe regiuni spectrale. Selectarea modelului de calibrare pentru fiecare parametru fizic se face utilizând criteriu modelul cu cel mai mic număr de factori la care valoarea erorii standard a predicției (RMSECV) modelului selectat nu este semnificativ mai mare decât a modelului cu un factor în plus. Eroarea standard a predicției se calculează folosind următoarea formulă:

$$\text{RMSECV} = \sqrt{\frac{\text{PRESS}}{n}}$$

$$\text{PRESS} = \sum (Y_{\text{pred}} - Y_{\text{true}})^2$$

unde, Y_{true} = valoarea adevărată (determinată cu metodele clasice)

Y_{pred} = valoarea estimată

n = numărul probe analizate

Pentru selecție se iau în considerare numai modelele care au o valoare a coeficientului de corelație (R) mai mare de 0,9 și o pantă apropiată de 1.

4. Pentru fiecare proprietate fizică se dezvoltă și se selectează câte un model de calibrare multivariată specific. Acest model va fi folosit în continuare la validarea metodei, conform etapelor prezentate în continuare.

II. Validarea metodei are loc conform schemei din figura 1 și procedurii următoare:

1. Prepararea probelor de validare se realizează conform unui plan experimental cu 1 variabilă și 3 niveluri. Variabila este forța de comprimare folosită la prepararea comprimatelor. Pentru realizarea probelor de validare, comprimatele vor fi preparate la 3 forțe de comprimare diferite, cu valori cuprinse între 5-50 kN, corespunzătoare la $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{2}$ – $\frac{3}{4}$ din valorile scării de nivele folosite la calibrare. La fiecare valoare a forței de comprimare probele de validare va cuprinde între 5-6 replicări. De asemenea probele de calibrare trebuie să cuprindă minim 3 replicări ale planului experimental de validare. Numărul minim al probelor de validare este de $3 \times 4 \times 3 = 12$.
2. Înregistrarea spectrelor NIR în domeniul $12000-4000\text{cm}^{-1}$ a probelor de validare, urmată de determinarea proprietăților fizice a comprimatelor (rezistență mecanică, friabilitate, timp de dezagregare/ cedare in vitro) folosind metodele clasice oficinale în Farmacopeea Europeană. Spectrele NIR se înregistrează folosind aceiași parametri ca la analiza probelor de calibrare. Din fiecare probă de validare se înregistrează spectrul NIR a 5-50 comprimate.
3. Determinarea proprietăților fizice a comprimatelor analizate în cadrul probelor de validare folosind modelul chemometric de calibrare multivariată dezvoltat anterior.
4. Compararea valorilor proprietăților fizice ale comprimatelor determinate din spectrul NIR folosind metodele NIR-chemometrice cu cele obținute utilizând metodologia din Farmacopeea Europeană și calcularea parametrilor statistici de validare. Pentru validarea metodei vor fi determinați următorii parametri: liniaritate, domeniul de liniaritate, exactitate, precizie și acuratețe.

III. Integrarea metodei pe comprimatele obținute la o mașină de comprimat rotativă pentru monitorizarea on-line a proprietăților fizice ale comprimatelor. Integrarea se face conform diagramei prezentate în fig. 2 și a descrierii prezentate în continuare. Elementele caracteristice ale integrării pe o mașină de comprimate rotativă sunt:

1. Mașină de comprimat este echipată la nivelul camei de ajustare a forțelor de pre-comprimare și comprimare cu senzori pentru înregistrarea acestor forțe. Pozițiile

camelor (respectiv forțele de pre-precomprimare și comprimare exercitate) sunt determinate de unitatea de centrală de comandă și control și transmise camelor prin intermediul reguletoarelor. Cama de evacuare a comprimatelor are trei poziții: comprimate bune, comprimate necorespunzătoare (deșeuri) și prelevare probe. Poziția acestei came este stabilită de unitatea centrală de comandă și control funcție de datele primite de la analizatorul de greutate și unitatea de analiză a datelor spectrale. Prin intermediul camei de evacuare, probele sunt prelevate automat și transmise spectrometrului NIR, după ce în prealabil li s-a determinat greutatea.

2. Spectrometrul NIR face înregistrarea spectrelor NIR a comprimatelor în transmise sau reflexie funcție de cum a fost dezvoltată și validată metoda în prealabil. Prelevarea comprimatelor, cântărirea și fixarea lor în suportul de analiză probe solide a spectrofotometrului se face automat, la comanda transmisă de unitatea centrală de comandă și control.
3. Unitatea de comandă spectrometru, stocarea și analiză date spectrale înregistrează și stochează spectrul NIR al fiecărei comprimate și ulterior transmite spectrul în format digital la softul de analiza multivariată a datelor spectrale. Acest soft folosind modelele de analiză multivariată ale metodelor dezvoltate și validate anterior, calculează pentru fiecare comprimat următorii parametri fizici: rezistență mecanică, friabilitate, timp de dezagregare. Valorile acestor parametri sunt transmise unității centrale de comandă și control a calculatorului de proces.
4. Calculator de proces. Este format dintr-o unitate centrală de comandă și control, trei reguletoare pentru forța de comprimare, forța de precomprimare, umplere matriță și un analizator de greutate. Unitatea centrală de comandă și control analizează datele primite privind masa, rezistența mecanică, friabilitatea, dezagregarea comprimatelor și funcție de masa medie setată, rezistența mecanică medie setată, variații individuale admise față de masa medie/rezistența mecanică, valoarea maximă admisă pentru friabilitate/timp de dezagregare comandă prin intermediul reguletoarelor poziția camelor de pre-comprimare/comprimare, respectiv valoarea forței de pre-comprimare/comprimare. Tot funcție de aceste valori, unitatea centrală de comandă și control comandă poziția camei pentru evacuarea comprimatului, la comprimate bune/comprimate necorespunzătoare (deșeuri). Funcție de datele de la analizatorul de greutate și reguletorul de umplere, unitatea centrală de comandă și control stabilește poziția poansonului inferior când acesta se află deasupra camei de umplere a matriței [29].

Invenția prezintă două elemente de noutate.

Primul element de noutate este modul în care se face validarea unei metode de analiză NIR-chemometrice pentru determinarea parametrilor fizici ai comprimatelor, folosind o metodologie acceptată de autorități (EMA, ANMDM) dar pentru determinarea parametrilor chimici ai comprimatelor (dozare substanță medicamentoasă/impurități înrudite chimic, determinare conținut medicamentos/ doză unitară). Până la ora actuală au fost publicate mai multe studii prin care se arată că metodele NIR-chemometrice pot fi folosite la determinarea parametrilor chimici și fizici ai comprimatelor [20, 30, 31, 32, 33] și studii privind validarea metodele NIR-chemometrice pentru determinarea proprietăților chimice ale comprimatelor [23, 24], dar a nu fost publicat niciun studiu privind modul în care poate fi validată o metodă NIR-chemometrică pentru determinarea parametrilor fizici ai comprimatelor și ce parametrii se validează. Faptul că metodologia de validare prezentată în cadrul aceste aplicații pentru patent reprezintă o metodologie adaptată după o metodologie deja acceptată de autorități, dar pentru alt tip de parametrii (parametrii chimici), face ca ea să fie mai ușor acceptată de autorități pentru determinarea parametrilor fizici ai comprimatelor.

Al doilea element de noutate îl constituie integrarea metodelor NIR-chemometrice pentru determinarea parametrilor fizici la comprimatele obținute la o mașină de comprimat rotativă în vederea monitorizării on-line a rezistenței mecanice, friabilității și dezagregării comprimatelor. Până la ora actuală, pe mașinile de comprimat se monitorizează on line numai masa și rezistența mecanică a comprimatelor, deoarece numai acești parametri pot fi determinați prin metode fizice/mecanice, într-un interval de timp rezonabil pentru a putea fi integrați pentru monitorizare on-line. Avânt în vedere că metodele NIR-chemometrice după dezvoltare și validare sunt foarte rapide, timpul de analiză fiind de aproximativ 20-30 sec, acestea pot fi integrate pentru monitorizarea parametrilor fizici ai comprimatelor. Avantajul metodelor NIR-chemometrice este că pot fi monitorizați parametrii care la ora actuală nu sunt monitorizați on-line (friabilitate, timp de dezagregare).

În continuare este prezentat un exemplu de realizare a invenției în legătură cu figurile 1-5 care reprezintă:

- Fig. 1. Schemă privind etapele dezvoltării și validării metodelor de analiză NIR-chemometrice pentru determinarea proprietăților fizice ale comprimatelor
- Fig. 2. Diagramă integrare metodă pe mașina de comprimat pentru monitorizarea procesului comprimare

- Fig.3. Reprezentarea grafică a RMSECV în funcție de numărul de factori (componente principale)
- Fig. 4. Profilul de liniaritate și profilul de acuratețe obținute la metoda NIR-chemometrică de determinare a rezistenței mecanice a comprimatelor
- Fig. 5. Profilul de liniaritate și profilul de acuratețe obținute la metoda NIR-chemometrică de determinare a timpului de dezagregare a comprimatelor

și susțin schematic, alături de tabelele conținute în descrierea ce urmează, modul în care invenția poate fi aplicată pe comprimate experimentale cu Vitamina C cu un conținut de 180 mg vitamina C/comprimat. Metoda poate fi aplicată pe orice tip de comprimat.

1. Dezvoltarea metodei

Pentru dezvoltarea modelelor NIR – chemometrice se prepară comprimate cu Vitamina C de 600 mg, și cu un conținut de 180 mg vitamina C/comprimat formată din 50% acid ascorbic și 50% ascorbat de sodiu. Pentru calibrare se folosește un plan experimental cu 1 variabilă și 7 niveluri, corespunzătoare la 7 forțe de comprimare diferite în intervalul 5-50kN (ex. 6 - 14 – 21 – 28 – 25 – 42 – 49kN). Conform acestui plan se prepară 7 loturi diferite la cele 7 forțe de comprimare diferite. La fiecare lot se determină proprietăți fizice ale comprimatelor (rezistență mecanică, friabilitate, timp de dezagregare) folosind metodele oficinale din Farmacopeea Europeană și se înregistrează spectrul NIR la 15 comprimate. Planul experimental se repetă de trei ori în zile diferite, preparându-se în total 21 de loturi de validare. Spectrul NIR al comprimatelor se înregistrează în transmisie sau reflexie folosind un spectrometru MPA–NIR (Bruker Optics, Germany) sau Antars (TermoElectron, SUA), în intervalul 12500-4000 cm^{-1} la o rezoluție de 16cm^{-1} . Fiecare comprimat se analizează în duplicat, rezultând un total de 630 spectre pentru calibrare. Dezvoltarea și selectarea modelelor NIR-chemometrice pentru determinarea proprietăților fizice ale comprimatelor se poate face folosind softul OPUS QUANT (Bruker Optics, Germany) sau SIMCA-P (Umetrics, Suedia) și metoda Partial Least Squares (PLS) ca metodă de regresie pentru calibrarea multivariată. În vederea alegerii celui mai bun model pentru predicția fiecărei proprietăți fizice se vor testa mai multe metode de pre-tratament a datelor spectrale și mai multe regiuni spectrale.

În tabelul 1 sunt prezentate exemple de valori ale parametrilor statistici care pot fi obținuți în cazul aplicării mai multor metode de pre-tratament a datelor spectrale în vederea dezvoltării și selectării celor mai adecvate modele de calibrare multivariată pentru determinarea

proprietăților fizice ale comprimatelor. În fig. 3 este reprezentat grafic modul în care pot scădea valorile RMSECV în funcție de numărul de factori la modelele de calibrare, după aplicarea diferitelor metode de pre-tratament a datelor spectrale. În urma analizei datelor obținute modelul (c) care folosește ca metodă de pre-tratament COE - constant offset elimination, poate fi selectat pentru a valida metoda pentru determinarea rezistenței mecanice a comprimatelor și modelul (f) FS+SLS care folosește ca metodă de pre-tratament prima derivată urmată de straight line subtraction (SLS) pentru determinarea timpului de dezagregare a comprimatelor.

Tablelul 1. Parametrii statistici obținuți în cazul evaluării mai multor modele pentru determinarea proprietăților fizice ale comprimatelor

Rezistența mecanică						
Model	a	b	C	d	e	F
Pre-tratament	none	COE	SLS	SNV	mMN	MSC
Domeniu spectral selectat (cm ⁻¹)	1100 - 6400					
Numărul de factori	4	4	3	4	5	4
R ²	0.961	0.985	0.975	0.924	0.953	0.973
RMSECV (%)	8.03	7.80	9.2	10.9	10.2	9.27
Model	g	h	I	j	k	
Pre-tratament	FD	DS	FD+SLS	FD+SNV	FD+MSC	
Domeniu spectral selectat (cm ⁻¹)	1100 - 6400					
Numărul de factori	3	3	4	4	4	
R ²	0.977	0.959	0.973	0.965	0.955	
RMSECV (%)	9.7	8.7	8.37	8.26	7.92	
Timp de dezagregare						
Model	a	b	C	d	e	f
Pre-tratament	none	COE	SLS	SNV	mMN	MSC
Domeniu spectral selectat (cm ⁻¹)	1100 - 7400					
Numărul de factori	5	5	4	5	4	5
R ²	0.965	0.898	0.968	0.876	0.967	0.9237
RMSECV (%)	0.7923	0.8295	0.8365	0.8301	0.8301	0.8231
Model	g	h	i	j	k	
Pre-tratament	FD	DS	FD+SLS	FD+SNV	FD+MSC	
Domeniu spectral selectat (cm ⁻¹)	1100 - 7400					
Numărul de factori	3	5	3	3	3	
R ²	0.934	0.855	0.979	0.963	0.9777	
RMSECV (%)	0.8395	0.838	0.779	0.796	0.781	

2. Validarea metodei

Pentru validarea metodelor NIR – chemometrice se prepară loturi diferite de comprimate cu Vitamina C. Probele se prepară conform unui plan experimental cu 1 variabilă și 3 niveluri corespunzătoare la 3 forțe de comprimare diferite, cu valori cuprinse între 5-50 kN, respectiv la ¼ – ½ – ¾ din valorile scării de nivele folosite la calibrare. De exemplu probele de validare se pot prepara la forțe de comprimare de aproximativ 14 – 28 – 42 kN. La fiecare

forță de comprimare se prepară 4 probe de validare separate, rezultând un total de $3 \times 4 = 12$ probe de validare. Planul experimental se va replica de trei ori în zile diferite, preparându-se în total 36 de probe de validare. Probele de validare se vor analiza în aceleași condiții în care au fost analizate probele de calibrare, atât în ceea ce privește înregistrarea spectrelor NIR cât și determinarea proprietăților fizice folosind metodele din Farmacopeea Europeană. Cu ajutorul modelelor de calibrare multivariată dezvoltate anterior pentru fiecare probă de validare se determină proprietățile fizice ale comprimatelor. Rezultatele obținute cu metodele NIR-chemometrice se analizează statistic comparativ cu rezultatele obținute prin metodele oficinale prevăzute de Farmacopeea Europeană. Rezultatele obținute la analiza statistică a probelor de validare pot fi de genul celor prezentate în tabelele 2-3 și figurile 3-4.

Tabelul 2. Valorile parametrilor de validare la metoda NIR-chemometrică de determinare a rezistenței mecanice a comprimatelor

Rezistența mecanică (N)	Exactitate		Precizia		Acuratețe	
	Bias (%)	Regăsirea (%)*	Repetabilitate (RSD %)	Precizia intermediară (RSD %)	Valori relative ale toleranțelor admise (%)	Toleranțe admise (N)
75.31	1.249	101.25	4.630	4.219	[-8.30, 10.80]	[71.10, 86.90]
153.08	-1.006	98.99	2.925	3.354	[-9.27, 7.26]	[137.7, 168.3]
248.08	-2.840	97.16	3.040	2.665	[-8.89, 3.21]	[205.2, 250.8]

*Calculată ca $100 \times \text{NIR}/\text{EuPh}$, unde EuPh este valoarea obținută folosind metoda oficială din Farmacopeea Europeană

Tabelul 3. Valorile parametrilor de validare la metoda NIR-chemometrică de determinarea timpului de dezagregare a comprimatelor

Timp de dezagregare (minute)	Exactitate		Precizia		Acuratețe	
	Bias (%)	Regăsirea (%)*	Repetabilitate (RSD %)	Precizia intermediară (RSD %)	Valori relative ale toleranțelor admise (%)	Toleranțe admise (minute)
4.33	0.0173	100.40	3.561	3.683	[-7.54, 8.34]	[3.98, 4.67]
9.31	0.0100	98.11	4.664	4.431	[-9.92, 10.13]	[8.37, 10.24]
13.81	-0.2775	98.03	1.925	2.006	[-6.66, 2.27]	[13.16, 14.46]

*Calculată ca $100 \times \text{NIR}/\text{EuPh}$, unde EuPh este valoarea obținută folosind metoda oficială din Farmacopeea Europeană

3. Integrarea metodei

Integrarea metodei se poate face pe o orice mașină de comprimat rotativă prevăzută cu senzori pentru monitorizarea forței de pre-compresie și compresie, cuplată on-line cu o balanță analitică pentru determinarea greutății comprimatelor (checkweighing) și comandată de un calculator de proces, de exemplu Fette 102i (Fette Germania). Ca spectrometru se poate

folosi orice spectrometru care permite înregistrarea spectrelor în transmisie și reflexie a comprimatelor, de exemplu MPA/Matrix (Bruker Optics, Germania) sau Antaris (TermoElectron, SUA). Pentru analiza multivariată a datelor spectrale se poate folosi fie softul de chemometrie a producătorului spectrofotometrului (ex. Opus Quant, Bruker Optics, Rezults, TermoElectron) fie un program care permite prelucrarea chemometrică on-line a datelor spectrale, ex SIMCA-online (Umetrics, Suedia). În cadrul calculatorului de proces a mașinii de comprimat se introduc ca caracteristici fizice ale comprimatelor care se monitorizează masa comprimatelor (determinată prin cântărire pe balanță), precum și următoarele caracteristici fizice ale comprimatelor determinate cu ajutorul metodelor NIR chemometrice: rezistență mecanică, friabilitate și timp de dezagregare. Pentru acești parametri se introduc valorile medii și/sau toleranțele maxime acceptate. Se fac setările corespunzătoare astfel încât reglarea condițiilor de lucru a mașinii de comprimat să se facă ținând cont a acești parametri.

Invenția de față prezintă următoarele avantaje:

- permite monitorizarea on-line a procesului de preparare a comprimatelor folosind metode NIR-chemometrice validate (care conferă o foarte mare încredere în rezultatele obținute) prin determinarea concomitentă din spectrul NIR al comprimatelor a 3 proprietăți fizice (rezistență mecanică, friabilitate, dezagregare); la ora actuală numai rezistența mecanică poate fi monitorizată on-line folosind o metodă mecanică iar metodele acceptate în prezent de autorități pentru determinare friabilității și dezagregării au durată de minim 15 minute și pot fi folosite numai off-line;
- validarea metodelor NIR-chemometrice pentru determinarea proprietăților fizice ale comprimatelor se face conform unei metodologii de validare folosită la determinare a caracteristicilor chimice ale produselor medicamentoase (dozare substanță medicamentoasă/impurități înrudite chimic, determinare conținut medicamentos/doză unitară) agreată deja de către autoritățile de reglementare (EMA, ANMDM); acest lucru reprezintă argument foarte puternic fața autorităților, pentru autorizarea implementării rapide acestor metode la fabricarea industrială a medicamentelor
- determinarea parametrilor fizici ai comprimatelor se face fără distrugerea probei de analizat și fără consum de reactivi, într-un interval timp foarte scurt (aproximativ 20-30 secunde), permițând monitorizarea proprietăților unui număr mare de comprimate, sau chiar a întregii serii;

Referințe bibliografice

- ¹ S.E. Leucuta, Tehnologie Farmaceutică Industrială, Editura Dacia, Cluj-Napoca, 2009
- ² European Pharmacopoeia 7.2, 2011; 2.9.8. Resistance to crushing of tablets.
- ³ European Pharmacopoeia 7.2, 2011; 2.9.7. Friability of uncoated tablets.
- ⁴ European Pharmacopoeia 7.2, 2011; 2.9.1. Disintegration of tablets and capsules;
- ⁵ Harry G. Brittain, Spectroscopy of Pharmaceutical Solids, Taylor & Francis Group Inc., New York London, 2006
- ⁶ Y. Roggo, P. Chalus, L. Maurer, C. Lema-Martinez, A. Edmund, N. Jent, A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. *J Pharmaceut Biomed* 2007; 44: 686-695.
- ⁷ M. Jamrógiewicz, Application of near-infrared spectroscopy in the pharmaceutical technology, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2012; 66:1-10.
- ⁸ G. Reich, Near-infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical applications. *Adv Drug Deliver Rev* 2005; 57:1109-1143.
- ⁹ T. De Beer, A. Burggraave, M. Fonteyne, L. Saerens, J.P. Remon, C.Vervaet, Near infrared and Raman spectroscopy for the in-process monitoring of pharmaceutical production process, *Int J Pharm.* 2011;417:32-47.
- ¹⁰ B.G.M. Vandeginste, D.L. Massart, L.M.C. Buydens, S.D. Jong, P.J. Lewi, J. Smeyers-Verbeke, *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics*; Elsevier, Amsterdam, 1998.
- ¹¹ M.L. Balboni, *Process Analytical Technology: Concepts and Principles. Pharmaceutical Technology* 2003;10:54-66.
- ¹² B. Wise, N. Gallager, *The Process Chemometrics Approach to Process Monitoring and Fault Inspection. J. Proc. Ctrl.* 1996; 6(6):329-348.
- ¹³ W. Li, M.C. Johnson, R. Bruce, S. Ulrich, H. Rasmussen, G.D. Worosila, Mass-balanced blend uniformity analysis of pharmaceutical powders by at-line near-infrared spectroscopy with a fiber-optic probe, *Int. J. Pharm.* 2006; 326:182-185.
- ¹⁴ Y. Sulub, M. Konigsberger, J. Cheney, Blend uniformity end-point determination using near-infrared spectroscopy and multivariate calibration, *J Pharm Biomed Anal.* 2011;55: 429-34.
- ¹⁵ A. Dunko, A. Dvletoglou, Moisture assay of an antifungal by near-infrared diffuse reflectance spectroscopy, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2002;28:145-154.
- ¹⁶ M. Alcalá, M. Blanco, M. Bautista, J.M. González, On-line monitoring of a granulation process by NIR spectroscopy. *J Pharm Sci.* 2010; 99:336-345.
- ¹⁷ A. Peinado, J. Hammond, A. Scott, Development, validation and transfer of a near infrared method to determine in-line the end point of a fluidised drying process for commercial production batches of an approved oral solid dose pharmaceutical product, *J Pharm Biomed Anal.* 2011; 54:13-20.
- ¹⁸ M. Jamrógiewicz, Application of near-infrared spectroscopy in the pharmaceutical technology, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2012, 66:1-10.
- ¹⁹ J. Luybaert, D.L. Massart, Y. Vander Heyden, Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis. Review, *Talanta* 2007; 72:865-883.
- ²⁰ I. Tomuta, R. Iovanov, E. Bodoki, S.E. Leucuta, Quantification of meloxicam and excipients on intact tablets by near infrared spectrometry and chemometry, *Farmacia* 2010; 58:559-571.
- ²¹ L. Roman, M. Bojiță, R. Săndulescu, D.L. Muntean, *Validarea metodelor analitice.* Editura Medicală, București, 2007.
- ²² L. Roman, M. Bojiță, R. Săndulescu, *Validarea metodelor de analiză și control, Bazele teoretice și practice,* Ed. Medicală, București, 1998.
- ²³ C. De Bleye, P.-F. Chavez, J. Mantanus, R. Martini, Ph. Hubert, E. Rozet, E. Ziemons, Critical review of near-infrared spectroscopic methods validations in pharmaceutical applications, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2012; 69:125-132.
- ²⁴ J.E. Ziemons, J. Mantanus, P. Lebrun, E. Rozet, B. Evrard, Ph. Hubert, Acetaminophen determination in low-dose pharmaceutical syrup by NIR spectroscopy, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2010; 53:510-516.
- ²⁵ Ph. Hubert, J.J. Nguyen-Huu, B. Boulanger, E. Chapuzet, P. Chiap, N. Cohen, P.A. Compagnon, W. Dewé, M. Feinberg, M. Lallier, M. Laurentie, N. Mercier, G. Muzard, C. Nivet, L. Valat, Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: A SFSTP proposal-part I. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2004; 36: 579-586.
- ²⁶ Ph. Hubert, J.J. Nguyen-Huu, B. Boulanger, E. Chapuzet, P. Chiap, N. Cohen, P.A. Compagnon, W. Dewé, M. Feinberg, M. Lallier, M. Laurentie, N. Mercier, G. Muzard, C. Nivet, L. Valat, E. Rozet, Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: A SFSTP proposal-part II, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2007; 45:70-81.
- ²⁷ A. Porfire, L. Rus, A.L. Vonica, I. Tomuta, High-throughput NIR-chemometric methods for determination of drug content and pharmaceutical properties of indapamide powder blends for tableting, *J Pharm Biomed Anal.* 2012; 70:301-309.

47

²⁸ A. Porfire, I. Tomuta, L. Tefas, S.E. Leucuta, M. Achim, Simultaneous quantification of 1- α -phosphatidylcholine and cholesterol in liposomes using near infrared spectrometry and chemometrie, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2012; 63:87-94.

²⁹ *** Technical documentation, Single Sided Rotary Tablet Press 2200i/1200i, Fette Compacting GmbH 2010

³⁰ M. Donoso, D.O. Kildsig, E.S. Ghaly, Prediction of tablet hardness and porosity using near-infrared diffuse reflectance spectroscopy as a nondestructive method, *Pharm Dev Technol.* 2003; 8 :357-66.

³¹ H. Tanabe, K. Otsuka, M. Otsuka, Theoretical analysis of tablet hardness prediction using chemoinformetric near-infrared spectroscopy, *Anal Sci.* 2007;23: 857-862.

³² M. Donoso, E.S. Ghaly, Prediction of Tablets Disintegration Times Using Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy as a Nondestructive Method, *Pharm.Dev.Technol.* 2005;10: 211-217.

³³ M.P. Freitas, A. Sabadin, L.M. Silva, F.M. Giannotti, D.A. do Couto, E. Tonhi, R.S. Medeiros, G.L. Coco, V.F. Russo, J.A. Martins , Prediction of drug dissolution profiles from tablets using NIR diffuse reflectance spectroscopy: A rapid and nondestructive method, *J Pharm Biomed Anal*; 2005;39:17-21.

REVENDICĂRI

Invenția ”Procedeu de determinare a proprietăților fizice ale comprimatelor medicamentoase (rezistență mecanică, friabilitate, timp de dezagregare) prin metode spectroscopice în infra-roșu apropiat și analiză multivariată”, se referă la procedeu de dezvoltare și validare a metodelor spectroscopice în infra-roșu apropiat și analiză multivariată (NIR–chemometrice) pentru determinarea proprietăților fizice ale comprimatelor (rezistență mecanică, friabilitate, timp de dezagregare) și la modul aplicare a acestora la o mașină de comprimat rotativă în vederea monitorizării on-line a proprietăților fizice ale comprimatelor.

Invenția se caracterizează prin:

1. Procedeu de realizare și validare metode NIR-chemometrice pentru determinarea proprietăților fizice ale comprimatelor (rezistență mecanică, friabilitate, timp de dezagregare) astfel:
 - a. Dezvoltarea metodei pe probe de calibrare preparate conform unui plan experimental cu o variabilă și 5-9 niveluri. Variabila este forța de comprimare iar nivelele de variație sunt diferite valori ale forței de comprimare în intervalul 5-50kN, forțe la care se prepară comprimatele probelor de calibrare. Dezvoltarea metodei se finalizează prin realizarea un model de calibrare multivariată capabil să cuantifice corelații între proprietățile fizice ale comprimatelor din probele de calibrare și spectrele NIR ale comprimatelor din probele de calibrare.
 - b. Validarea metodei se face pe probe de validare preparate conform unui plan experimental cu o variabilă și trei niveluri. Variabila este forța de comprimare iar nivelele sunt diferite valori ale forței de comprimare în intervalul 5-50kN, corespunzătoare la $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{2}$ – $\frac{3}{4}$ din valorile scării de nivele folosite la calibrare. Validarea metodei se realizează comparând valorile obținute folosind metodele NIR chemometrice dezvoltate la punctul (a) cu cele obținute folosind metodologia din Farmacopeea Europeană prin calcularea următorilor parametri statistici de validare: liniaritate, domeniul de liniaritate, exactitate, precizie și acuratețe.
2. Metodă NIR chemometrică dezvoltată și validată conform revendicării 1 la care dezvoltarea modelului de calibrare multivariată de realizează folosind metoda Partial Least Squares (PLS).
3. Metodă NIR chemometrică dezvoltată și validată conform revendicării 1 la care dezvoltarea modelului de calibrare multivariată de realizează folosind metoda Artificial Neural Networks (ANN).
4. Metodă NIR chemometrică dezvoltată și validată conform revendicării 1 integrată pe o mașină de comprimat rotativă în vederea monitorizării on-line a următoarelor proprietăți fizice ale comprimatelor: rezistență mecanică, friabilitate, timp de dezagregare.

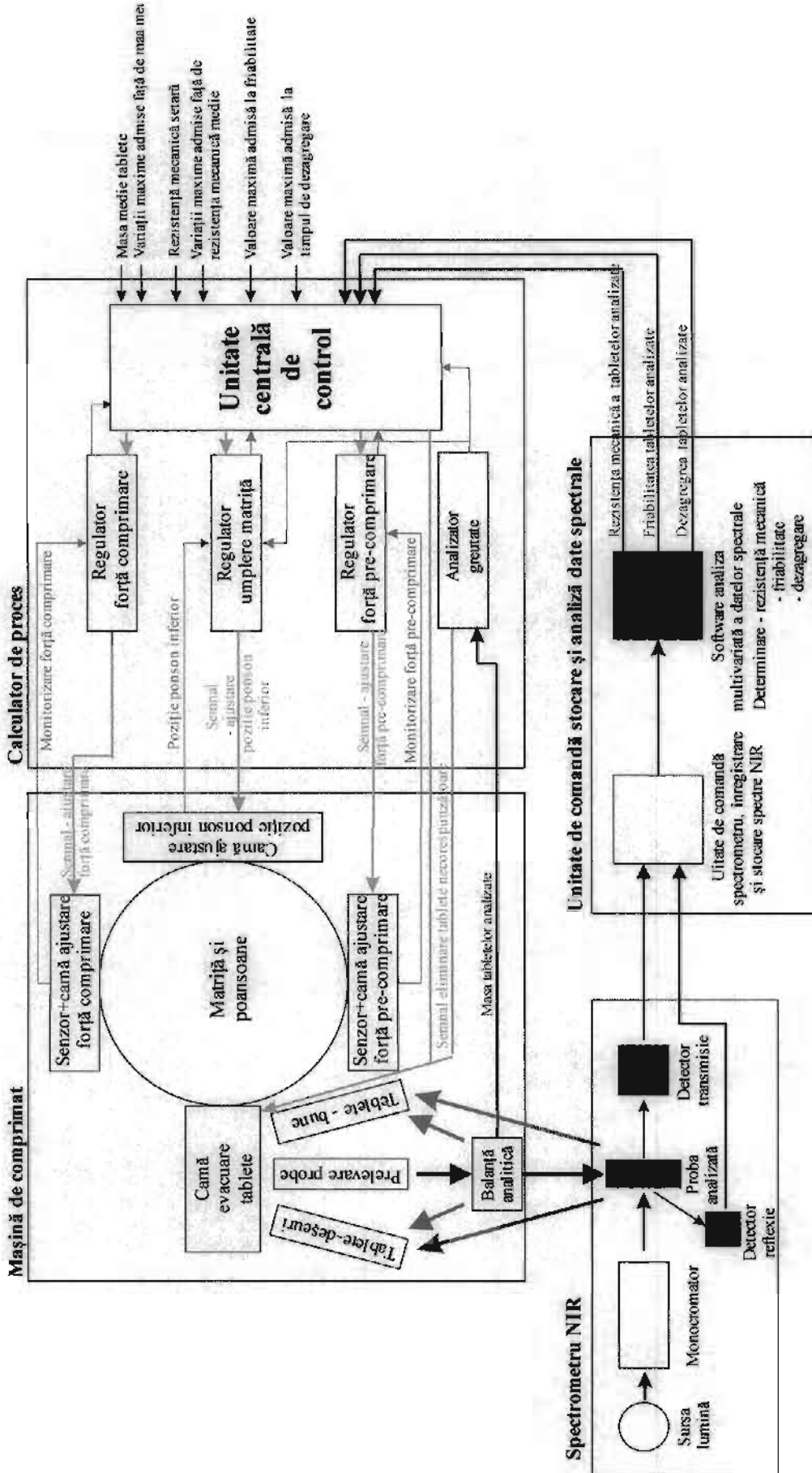


Fig. 2. Diagramă integrare metodă pe mașina de comprimat pentru monitorizarea procesului comprimare

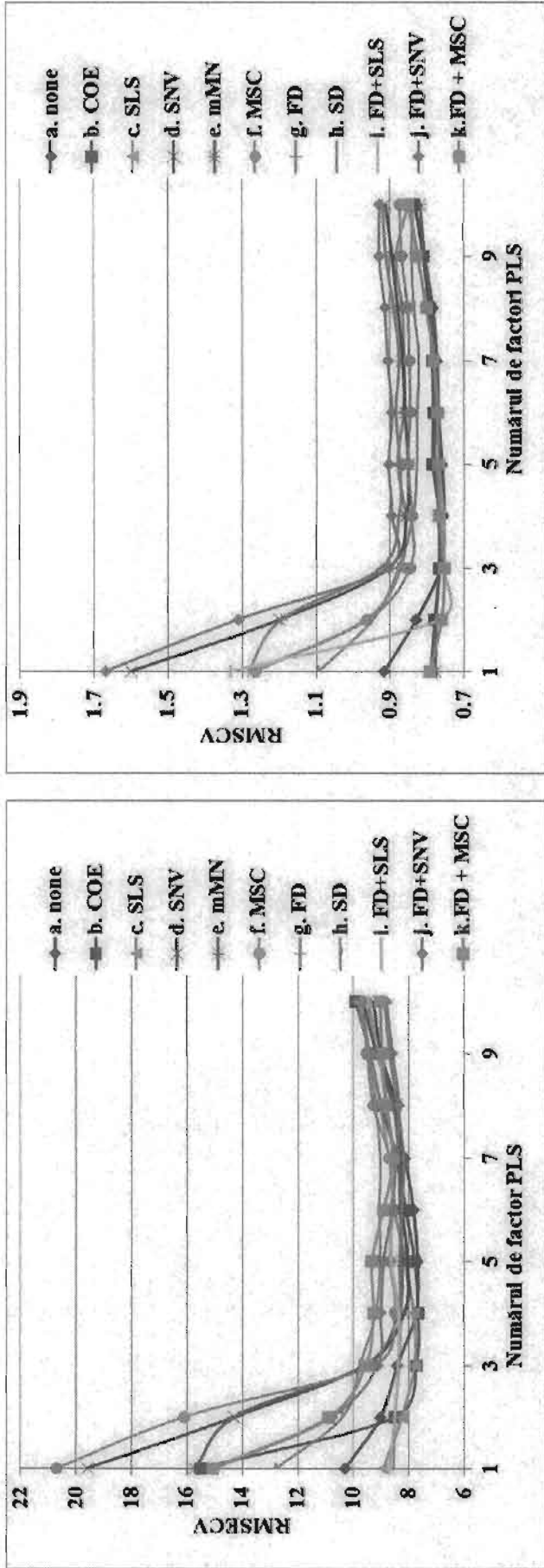


Fig.3. Reprezentarea grafică a RMSECV în funcție de numărul de factori (componente principale)

a – rezistență mecanică, b – friabilitate, c – timp de dezagregare; None - fără pre-tratament, COE – constant offset elimination, SLS – straight line subtraction, SNV – standard normal variate, mMN – min-max normalization, MSC – multiplicative scatter correction, FD – prima derivată, SD – a doua derivată.

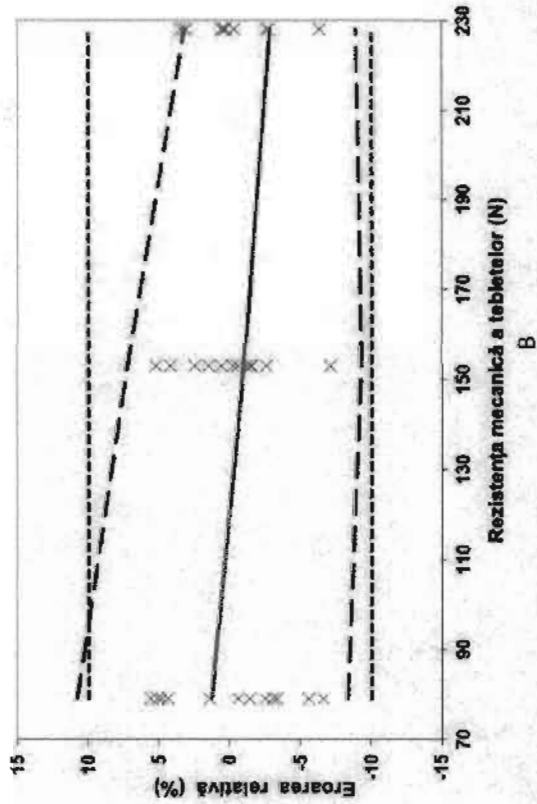
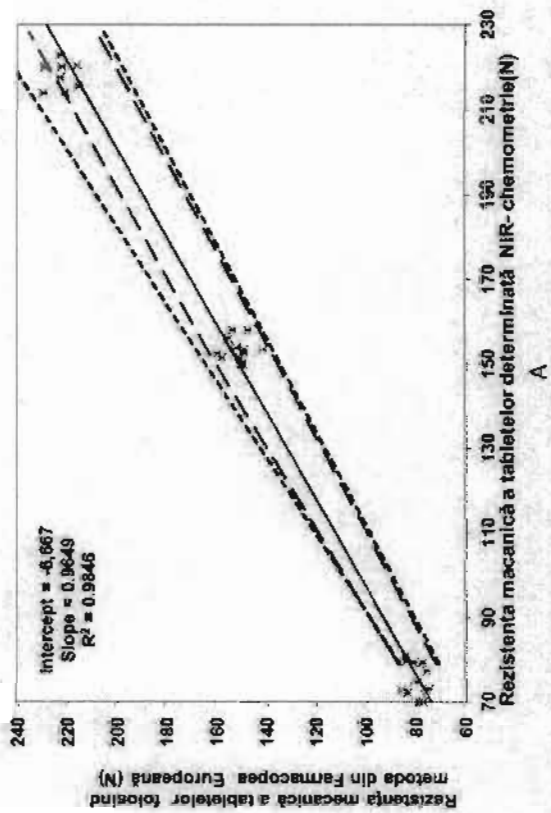


Fig. 4. Profilul de liniaritate și profilul de acuratețe obținute la metoda NIR-chemometrică de determinare a rezistenței mecanice a comprimatelor
a – profil de liniaritate; b – profil de acuratețe

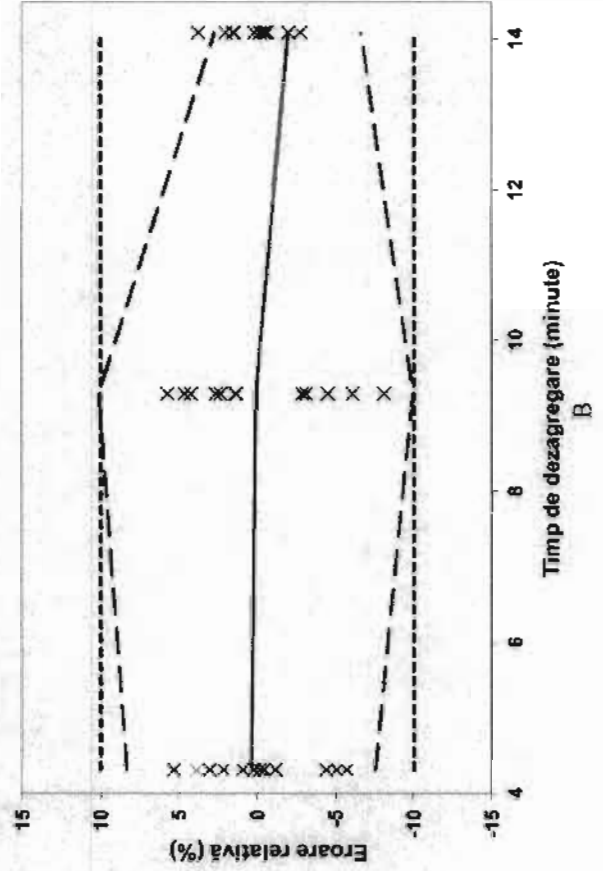
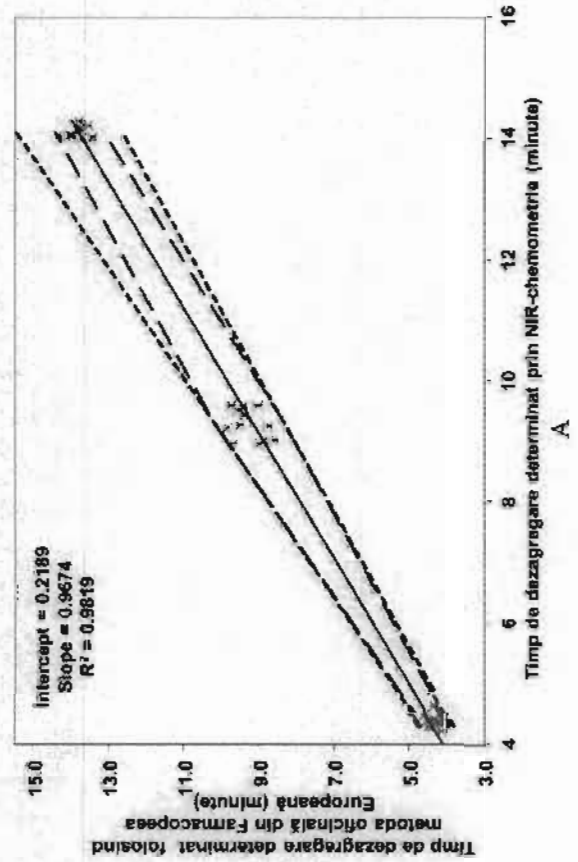


Fig. 5. Profilul de liniaritate și profilul de acuratețe obținute la metoda NIR-chemometrică de determinare timpului de dezagregare a comprimatelor
a – profil de liniaritate; b – profil de acuratețe