APLICAÇÃO DE FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS À ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO PARA A ANÁLISE DE AMOSTRAS DE MEDICAMENTOS

Ana Maria Henning Codeço, José Augusto da Col

INTRODUÇÃO

A quimiometria é uma área que emprega métodos matemáticos e estatísticos para o planejamento de experimentos, tratamento de dados e extração de informações relevantes a partir de resultados analíticos. Esses métodos podem ser utilizados para identificar padrões e auxiliar na classificação e diferenciação de amostras químicas. [1]

Entre as diferentes formas farmacêuticas disponíveis, os comprimidos destacam-se pela facilidade de transporte e administração e pela possibilidade de fornecer doses padronizadas do princípio ativo farmacêutico (API, do inglês *active pharmaceutical ingredient*). A composição química desses medicamentos pode apresentar características capazes de diferenciá-los quanto ao princípio ativo, formulação, fabricante e até mesmo de falsificações. [2, 3]

Nesse contexto, técnicas analíticas rápidas e não destrutivas apresentam grande potencial para a caracterização e diferenciação de produtos farmacêuticos. A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR, do inglês *Near Infrared*), que compreende a faixa de comprimentos de onda de 750 a 2.500 nm, é amplamente empregada na análise de produtos farmacêuticos [4], enquanto a fluorescência de raios X (FRX) fornece informações sobre a composição elementar das amostras [5]. Associadas a métodos quimiométricos, essas técnicas podem fornecer informações complementares para a identificação e classificação de medicamentos. [6, 7]

Este trabalho teve como objetivo analisar, por espectroscopia NIR associada à análise de componentes principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*), os perfis espectrais de comprimidos contendo diferentes princípios ativos e avaliar a possibilidade de diferenciação entre fabricantes.

DESENVOLVIMENTO

Para a etapa experimental, foram analisados comprimidos de dois princípios ativos farmacêuticos: paracetamol e dipirona, todos com concentração nominal de 500 mg. Para a dipirona, foram avaliados três lotes provenientes de dois fabricantes distintos, enquanto, para o paracetamol, foram avaliados três lotes provenientes de três fabricantes distintos.

Os espectros foram obtidos utilizando o equipamento DLP NIRscan Nano EVM, equipado com módulo de reflexão, na faixa espectral de 900 a 1700 nm, resolução de 10 nm, 6 varreduras e 228 pontos espectrais. Foram analisados três comprimidos de cada lote, submetidos a no mínimo três leituras cada. Quando os espectros apresentavam elevada variabilidade, foram realizadas quatro leituras. Adicionalmente, um comprimido de cada lote foi fragmentado, e a leitura do interior deste foi realizada em duplicata. Ao todo, foram obtidos 92 espectros para análise.

Os espectros brutos foram submetidos à Normalização Padrão do Sinal (SNV, do inglês *Standard Normal Variate*), com o objetivo de minimizar efeitos relacionados ao espalhamento da radiação e às características físicas das amostras. Em seguida, foram suavizados pelo método de Savitzky–Golay, utilizando uma janela de 11 pontos, para redução do ruído experimental. Os espectros processados foram plotados no MATLAB R2024a, com auxílio da *Signal Processing Toolbox*, conforme apresentado na Figura 1.

Em seguida, foi realizada a análise de componentes principais (PCA) utilizando o software R e o pacote *ChemoSpec*, quando os espectros foram previamente centrados na média. Para a plotagem dos gráficos de scores, foram apresentadas as representações para as duas primeiras componentes, que

contém a maior parte da informação do modelo. Posteriormente, foram realizadas análises de PCA separadamente para os medicamentos dipirona e paracetamol, com o objetivo de investigar a possibilidade de diferenciação das amostras entre os respectivos fabricantes.

RESULTADOS

A análise do gráfico de scores dos medicamentos em conjunto (Figura 2a) mostra que a primeira componente principal (PC1) permite discriminar claramente as amostras de dipirona (Dip) e paracetamol (Par), sendo responsável por 96,2% da variância total. A segunda componente principal (PC2), responsável por 1,9%, não apresenta contribuição evidente para a separação entre os princípios ativos, mas indica uma tendência de separação entre as amostras de mesmo princípio ativo. As duas primeiras componentes explicam, conjuntamente, 98,1% da variância total, ou seja, da informação do conjunto de dados original.

Para os diferentes lotes de paracetamol (Figura 2b), a primeira componente principal (PC1) explica 67,2% da variância total e apresenta diferenciação parcial entre os lotes PL1, PL2 e PL3. A segunda componente principal (PC2), responsável por 18,2%, contribui para a distribuição das amostras, mas não promove uma separação adicional claramente definida. O lote PL2 apresenta maior agrupamento, enquanto PL1 e PL3 não demonstram tendência de agrupamento definida. Esse comportamento pode estar relacionado à variabilidade das amostras e indica a necessidade de investigar outras estratégias de pré-processamento e/ou modelagem quimiométrica. As duas primeiras componentes explicam, conjuntamente, 85,4% da variância total.

A análise do gráfico de scores dos diferentes lotes de dipirona (Figura 2c) mostra que a primeira componente principal (PC1), responsável por 60,2% da variância total, permite distinguir as amostras do lote DL2 das amostras dos lotes DL1 e DL3. A sobreposição entre DL1 e DL3 pode estar relacionada ao fato de serem provenientes do mesmo fabricante, sugerindo uma possível diferenciação entre os fabricantes. A segunda componente principal (PC2), responsável por 28,0%, contribui para a distribuição das amostras, mas não promove uma separação adicional evidente entre os lotes. As duas primeiras componentes explicam, conjuntamente, 88,2% da variância total.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O número de amostras reduzido, associado à baixa diversidade das marcas disponíveis para aquisição, limitou a continuidade e a ampliação das análises experimentais. Apesar dessas limitações, a análise exploratória por PCA permitiu observar padrões de diferenciação entre os princípios ativos analisados, indicando o potencial da espectroscopia NIR associada à quimiometria para a caracterização e classificação das amostras, tanto pelo princípio ativo farmacêutico, quanto por fabricante de medicamento.

Como continuidade do trabalho, propõe-se ampliar a base de dados, incluindo maior número de amostras, lotes e fabricantes, além da realização das análises por uma técnica complementar, a Fluorescência de Raios X. Além disso, a análise dos *loadings* permitirá a identificação das regiões espectrais mais relevantes e que são responsáveis pelos agrupamentos observados. Por fim, a aplicação de métodos de modelagem quimiométrica para o desenvolvimento de modelos de classificação poderá proporcionar a melhora da diferenciação dos medicamentos.

Palavras-chave: quimiometria; comprimidos; medicamentos; NIR; PCA.

ANEXOS

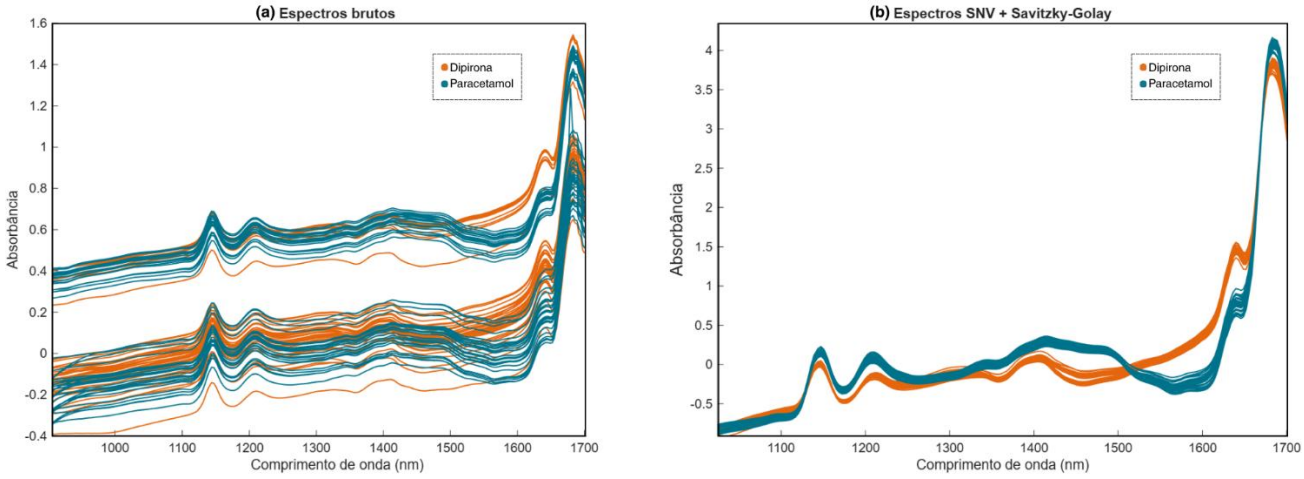


Figura 1. *Espectros NIR dos comprimidos de dipirona e paracetamol: (a) espectros brutos; (b) espectros após normalização pelo método Standard Normal Variate (SNV) e suavização pelo método de Savitzky–Golay.*

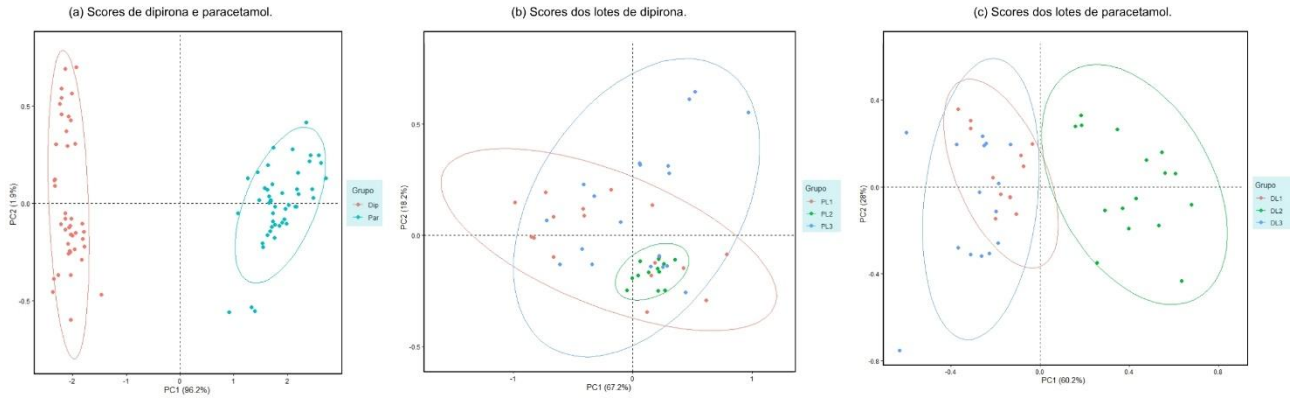


Figura 2. *Gráficos de scores obtidos por análise de componentes principais (PCA) para a discriminação dos medicamentos: (a) dipirona e paracetamol; (b) diferentes lotes de dipirona; (c) diferentes lotes de paracetamol.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] FERREIRA, M. M. C. Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações. Editora da Unicamp, 2015.

[2] PEDERSEN, Troels et al. Near infrared analysis of pharmaceutical powders with empirical target distribution optimization (ETDO). **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 181, p. 113059, 2020.

[3] ORTIZ, R. S. et al. Fingerprinting of sildenafil citrate and tadalafil tablets in pharmaceutical formulations via X-ray fluorescence (XRF) spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,** v. 58, p. 7–11, jan. 2012.

[4] HÉBERGER, Karoly. Chemoinformatics—multivariate mathematical–statistical methods for data evaluation. In: **Medical applications of mass spectrometry**. Elsevier, 2008. p. 141-169.

[5] REVENKO, A. G. X-Ray Fluorescence Analysis in Pharmacology. In: **X-Ray Fluorescence in Biological Sciences.** Wiley, 2022. p. 475–488.

[6] SOARES, F. et al. Enhancing counterfeit and illicit medicines grouping via feature selection and X-ray fluorescence spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 174, p. 198–205, 2019.

[7] RAZUC, M. et al. Near-infrared spectroscopic applications in pharmaceutical particle technology. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 45, p. 1565–1589, 2019.