VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
UNIDADE DE RAIOS X. RIAIDT
Edificio CACTUS. Campus Vida
15782 Santiago de Compostela. A Coruña. Spain
Tfno. 881816223 Fax. 881816203
http://www.usc.es/gl/investigacion/riaidt/
raiosxp@usc.es

COMPANY WITH
QUALITY SYSTEM
CERTIFIED BY DNV GL
= ISO 9001:2015 =

Título del estudio:

Análisis de polimorfismo de 4 cristalizaciones de un producto farmacéutico

Palabras clave:
Difracción de polvo cristalino, Polimorfismo, Fármaco

Test realizado por:
Unidad de RayosX

1. INTRODUCCIÓN, DIFRACCIÓN DE POLVO CRISTALINO 3

2. OBJETIVO 3

3. MATERIALES, MÉTODOS Y RESULTADOS 4

3.1. Test Item 4

3.2. Fotos tomadas del microscopio óptico 4

3.3. Metodología, instrumentación 5

3.4. Resultados 6

3.4.1. 055** 6

3.4.2. 058** 8

3.4.3. 066** 10

3.4.4. **03 12

3.4.5. Análisis comparativo / conclusiones 14

4. STATEMENT OF OWNERSHIP 14

RIAIDT

1. INTRODUCCIÓN, DIFRACCIÓN DE POLVO CRISTALINO

La difracción de rayos X[1] es una de las técnicas más ampliamente usadas en el estudio de la materia sólida, aunque también encuentra aplicaciones en análisis de estados desordenados. Constituye una metodología veterana, aunque no para de renovarse continuamente. Sus orígenes se remontan a principios del siglo XX (Laue, 1912, W.H. Bragg y W.L. Bragg, 1915), quienes diseñaron experiencias de difracción y reflexión de rayos X por materia cristalina que permitieron mostrar la naturaleza electromagnética de esta radiación.

En la actualidad, la difracción de rayos X tienen muchas aplicaciones en el estudio de la materia sólida: Unas veces a partir de mezclas de polvo mono[2] o policristalinas[3] y otras a partir de cristales con menos de un milímetro de diámetro, pueden realizarse estudios no destructivos de diversos tipos:

- Análisis cualitativo
- Análisis cuantitativo
- Análisis microtextural
- Tamaño de cristalito= mosaico= dominio coherente (Cristalinidad)
- Deformación no homogénea (*strain*)
- Tensores de dilatación térmica(termodifracción)
- Cambios de fase (reacciones en estado sólido, procesos secuenciales)
- Análisis estructural (Posiciones atómicas, oscilaciones atómicas de carácter térmico, desorden posicional, etc.)

El análisis por difracción de rayos X se utiliza sobre cualquier material sólido. Es ampliamente utilizado en materiales inorgánicos, superconductores, orgánicos, cementos, minerales, materiales corrosivos, metales y aleaciones, polímeros, detergentes, pigmentos, materiales forenses, **productos farmacéuticos**, zeolitas, cerámicas, explosivos… .

El polimorfismo tiene consecuencias importantes en el desarrollo de fármacos. La existencia de múltiples formas de cristal para un mismo fármaco, condiciona diferencias en las propiedades del Estado Sólido, y puede traducirse en efectos significativos sobre la biodisponibilidad de la sustancia activa, su vida útil y los procesos de fabricación. Cada una de las formas cristalinas es definida por la disposición/empaquetado de las moléculas en el estado sólido. La simetría de la celdilla unidad (sistema cristalino, métrica de la celdilla y grupo espacial) determina muchos aspectos de la disposición del patrón de difracción. Esta celda unidad es la unidad de repetición de la estructura cristalina. La difracción de rayos-x de polvo cristalino (XRD) es una poderosa herramienta en la identificación de fases cristalinas, por sus patrones de difracción únicos para cada una de las formas del cristal. Hay que tener en cuenta que la morfología o forma de los microcristales componentes de las muestras polimorfas puede inducir la orientación preferencial que tiende a distorsionar la utilidad/interpretación de los difractogramas obtenidos. Pequeños cambios en los difractogramas (nuevos picos, hombros adicionales...) pueden se indicativos, o no de aparición de nuevas formas polimorfas. Realizar las medidas, por tanto, con la preparación, montaje y precisión adecuadas van a ser condiciones imprescindibles en una buena caracterización/distinción de las fases cristalinas presentes.

2. OBJETIVO

El objetivo de este estudio es comparar los difractogramas obtenidos por difracción de polvo cristalino de un producto farmacéutico obtenido en 4 diferentes cristalizaciones. De esta manera podremos evaluar si se ha obtenido el producto en el mismo estado cristalino, es decir, si se tratan o no de estructuras iso o polimorfas.

[1] http://en.wikipedia.org/wiki/Diffraction
[2] http://en.wikipedia.org/wiki/Single_crystal
[3] http://en.wikipedia.org/wiki/Powder_diffraction

3. MATERIALES, MÉTODOS Y RESULTADOS

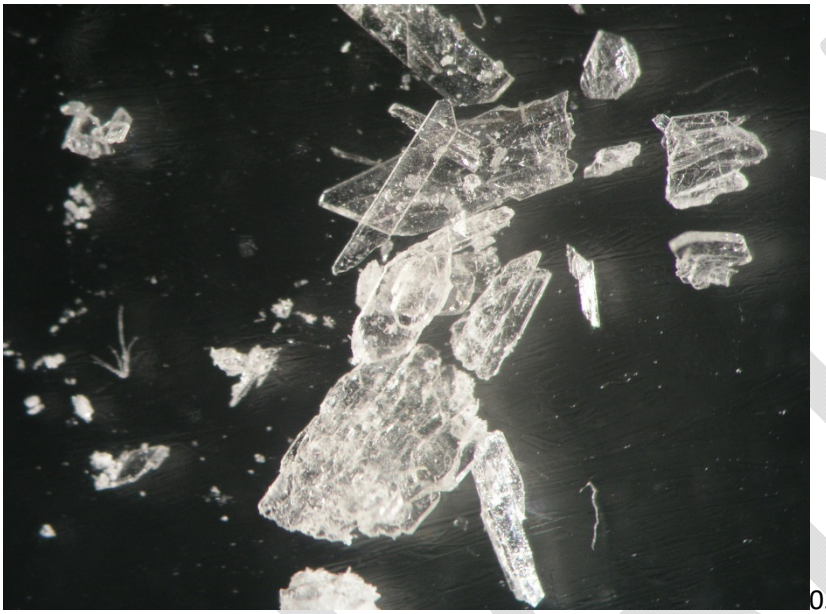
3.1. Test Item

Aspecto: Las cuatro muestras presentan un aspecto homogéneo de apariencia microcristalina para dos muestras (066** y **03) y otras dos (055** y 058**) compuestas por cristales milimétricos (ver apartado 3.2).

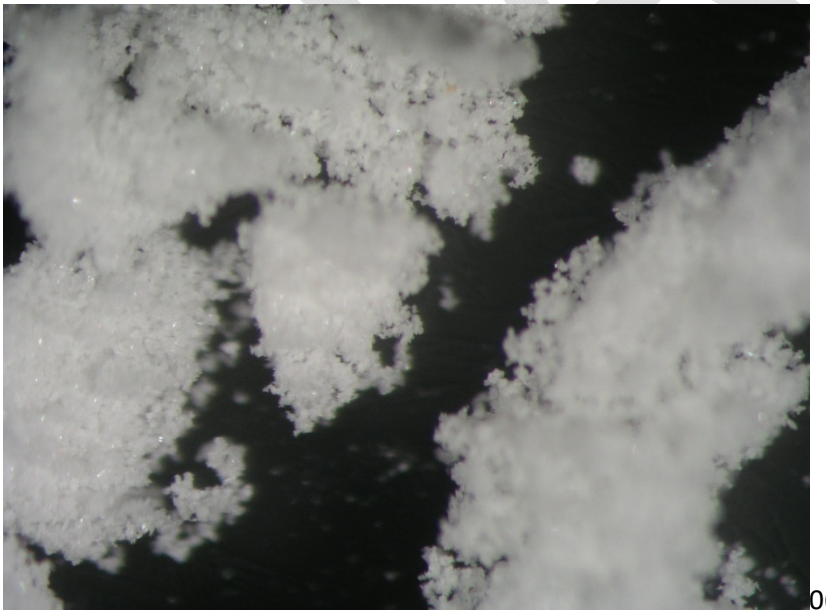
Condiciones de almacenaje: todas las muestras se han mantenido a temperatura ambiente, y en viales a la espera de ser medidas.

Cuidados de manipulación: la obtención/manejo del material a analizar se ha realizado con guantes de látex y siempre protegiendo al operario con mascarilla de protección de polvo. Las muestras compuestas de cristales milimétricos se han pulverizado con un mortero de ágata para que la geometría Bragg-Brentano sea adecuada, así como para evitar las orientaciones preferentes.

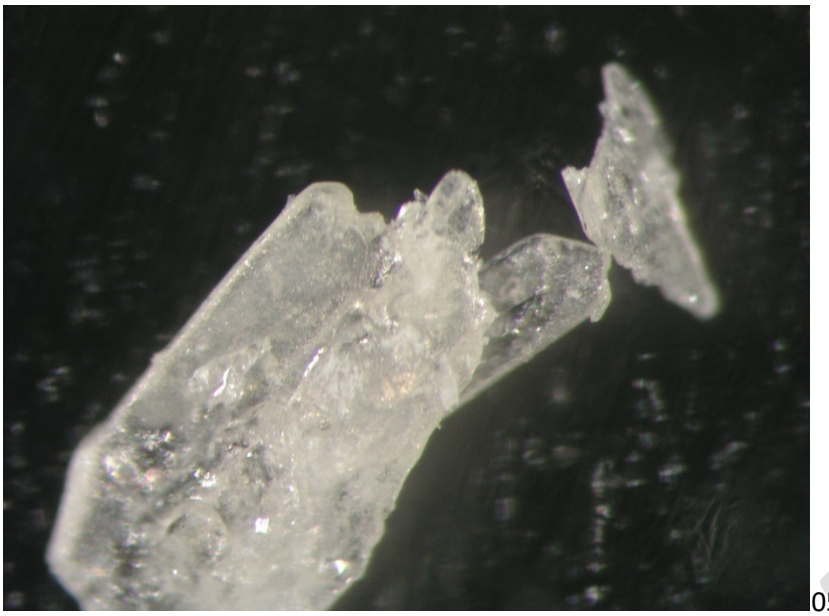
3.2. Fotos tomadas del microscopio óptico



055** (25Xzoomed)



066** (25Xzoomed)


058** (25X zoomed)

**03 (25X zoomed)

3.3. Metodología, instrumentación

La Unidad de RX desarrolla su actividad en base a un Sistema de Gestión de Calidad certificado por la Norma ISO 9001:2015 en lo que respecta a la recepción, gestión de muestras y análisis por las técnicas de Monocristal, Polvo cristalino y Fluorescencia de RX.

Las medidas de difracción de polvo cristalino fueron hechas por un difractómetro tipo Philips, manejado con una unidad de control tipo “PW1710”, un goniómetro vertical tipo “PW1820/00” y un generador tipo “Enraf Nonius FR590” operando a 40Kv y 30mA. Los Rayos X se obtuvieron de un tubo sellado de Cu y la radiación fue monocromatizada con un monocromador de grafito ($\lambda(K\alpha 1)=1.5406$Å). Los difractogramas fueron obtenidos en el rango angular 2-40° con un paso de 0.02° y un tiempo por paso de 2s.

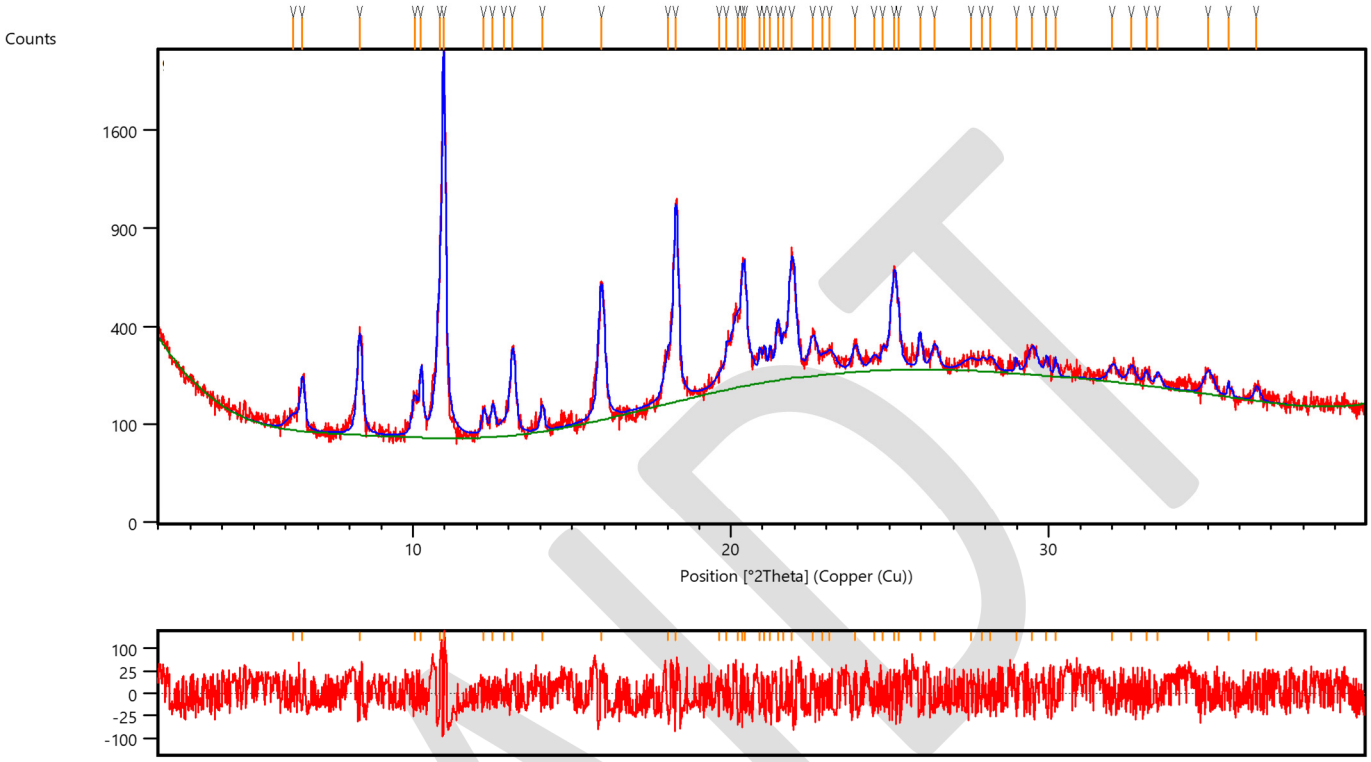
Las muestras fueron giradas durante la medida para obtener los perfiles de pico más óptimos para el análisis, así como para minimizar el efecto de la orientación preferente. EL montaje de las muestras ha sido sobre un soporte de vidrio esparciéndola sin realizar ningún aplastamiento sobre la misma, minimizando así, de nuevo, las posibles orientaciones preferentes ocasionadas por el empaquetado/orientación de los microcristales.

Para realizar los ajustes matemáticos hemos usado el programa “HighScore Plus Version 3.0d”.

3.4. Resultados

3.4.1. 055**

En la figura siguiente se muestra el difractograma experimental (en rojo), destacando los valores de las posiciones de los picos (en la parte superior de la gráfica) junto con el difractograma obtenido del ajuste (en azul). En la parte inferior se muestra el residuo obtenido al eliminar los dos difractogramas mencionados:



A continuación se muestra un listado con toda la relación de picos con sus propiedades principales (ángulo, espaciado, intensidad relativa y cuentas por segundo), tras el ajuste final del difractograma:

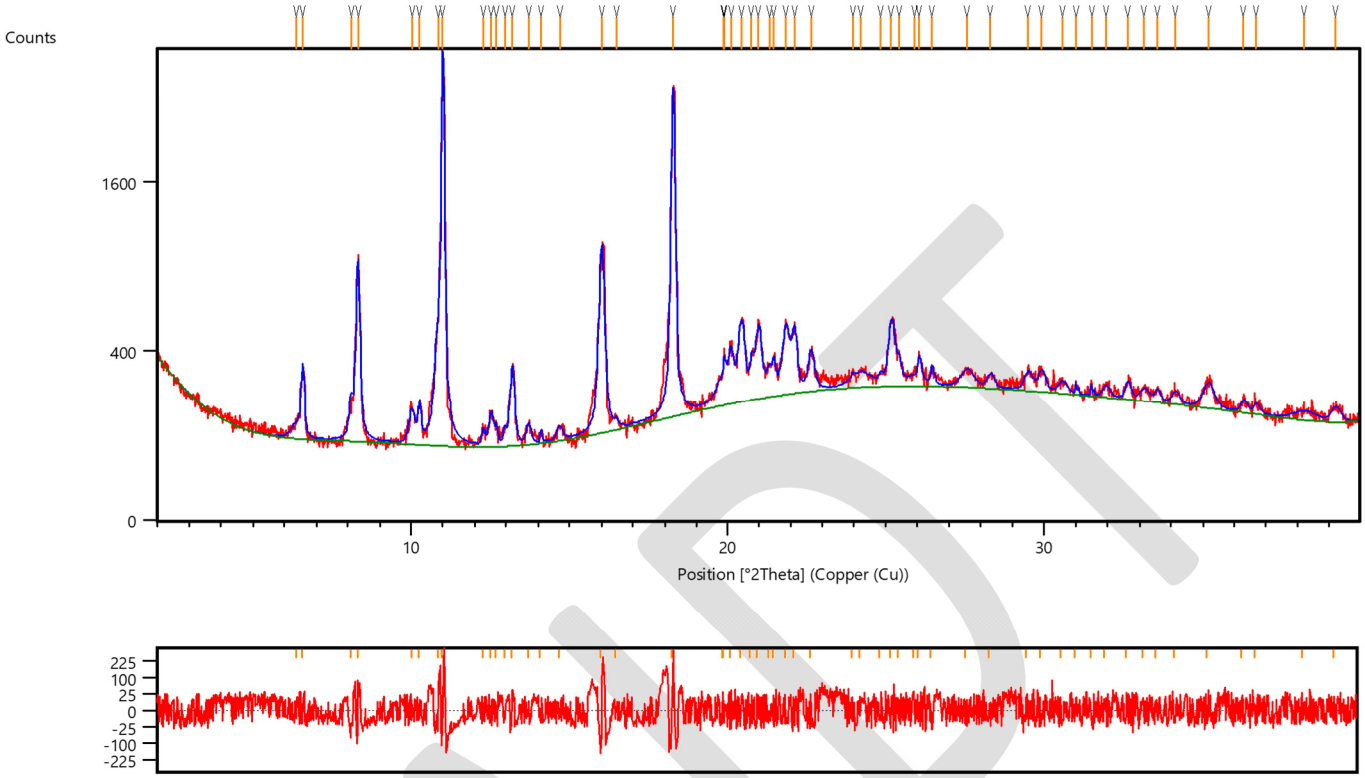
Pos. [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]	Height [cps]
6.25(5)	14.13296	1.37	10.22
6.525(5)	13.53434	5.75	42.89
8.323(2)	10.61453	13.65	101.80
10.051(9)	8.79323	3.58	26.71
10.256(4)	8.61822	7.57	56.44
10.84(1)	8.15521	17.77	132.53
10.9600(9)	8.06611	100.00	745.93
12.226(9)	7.23331	2.49	18.58
12.501(8)	7.07496	2.77	20.67
12.86(8)	6.88092	0.91	6.78
13.128(3)	6.73827	10.74	80.13
14.051(8)	6.29776	2.70	20.13
15.910(2)	5.56588	22.43	167.31
18.01(2)	4.92224	5.86	43.69
18.250(2)	4.85708	41.84	312.09
19.64(9)	4.51580	0.75	5.59
19.88(1)	4.46230	3.34	24.90

Pos. [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]	Height [cps]
20.24(1)	4.38332	11.87	88.56
20.378(5)	4.35463	15.46	115.33
20.457(4)	4.33789	15.25	113.77
20.92(1)	4.24300	4.82	35.92
21.06(1)	4.21502	5.16	38.45
21.239(8)	4.17989	4.72	35.22
21.478(5)	4.13398	9.61	71.70
21.666(8)	4.09850	5.20	38.75
21.929(3)	4.04999	23.71	176.87
22.59(1)	3.93320	5.74	42.80
22.90(5)	3.88016	0.82	6.10
23.11(4)	3.84528	3.16	23.55
23.92(1)	3.71760	4.02	29.97
24.50(3)	3.63042	1.96	14.63
24.79(1)	3.58794	3.48	26.00
25.135(5)	3.54018	19.60	146.17
25.29(1)	3.51891	3.32	24.75

RIAIDT

3.4.2. 058**

En la figura siguiente se muestra el difractograma experimental (en rojo), destacando los valores de las posiciones de los picos (en la parte superior de la gráfica) junto con el difractograma obtenido del ajuste (en azul). En la parte inferior se muestra el residuo obtenido al eliminar los dos difractogramas mencionados:



A continuación se muestra un listado con toda la relación de picos con sus propiedades principales (ángulo, espaciado, intensidad relativa y cuentas por segundo), tras el ajuste final del difractograma:

Pos. [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]	Height [cps]
6.4(1)	13.86345	1.07	11.10
6.571(2)	13.43974	7.87	81.55
8.10(2)	10.90937	3.39	35.12
8.315(2)	10.62564	28.58	296.26
10.016(9)	8.82427	2.73	28.34
10.259(5)	8.61586	3.47	35.92
10.85(1)	8.14669	11.76	121.89
10.995(2)	8.04022	100.00	1036.51
12.27(1)	7.20993	1.24	12.90
12.519(8)	7.06503	2.75	28.52
12.686(8)	6.97222	1.48	15.36
12.95(1)	6.83078	1.20	12.46
13.180(3)	6.71214	8.69	90.06
13.703(9)	6.45723	1.62	16.83
14.09(1)	6.28103	1.39	14.45
14.68(2)	6.02948	1.05	10.88
16.001(1)	5.53444	32.04	332.05
16.47(3)	5.37784	0.70	7.24

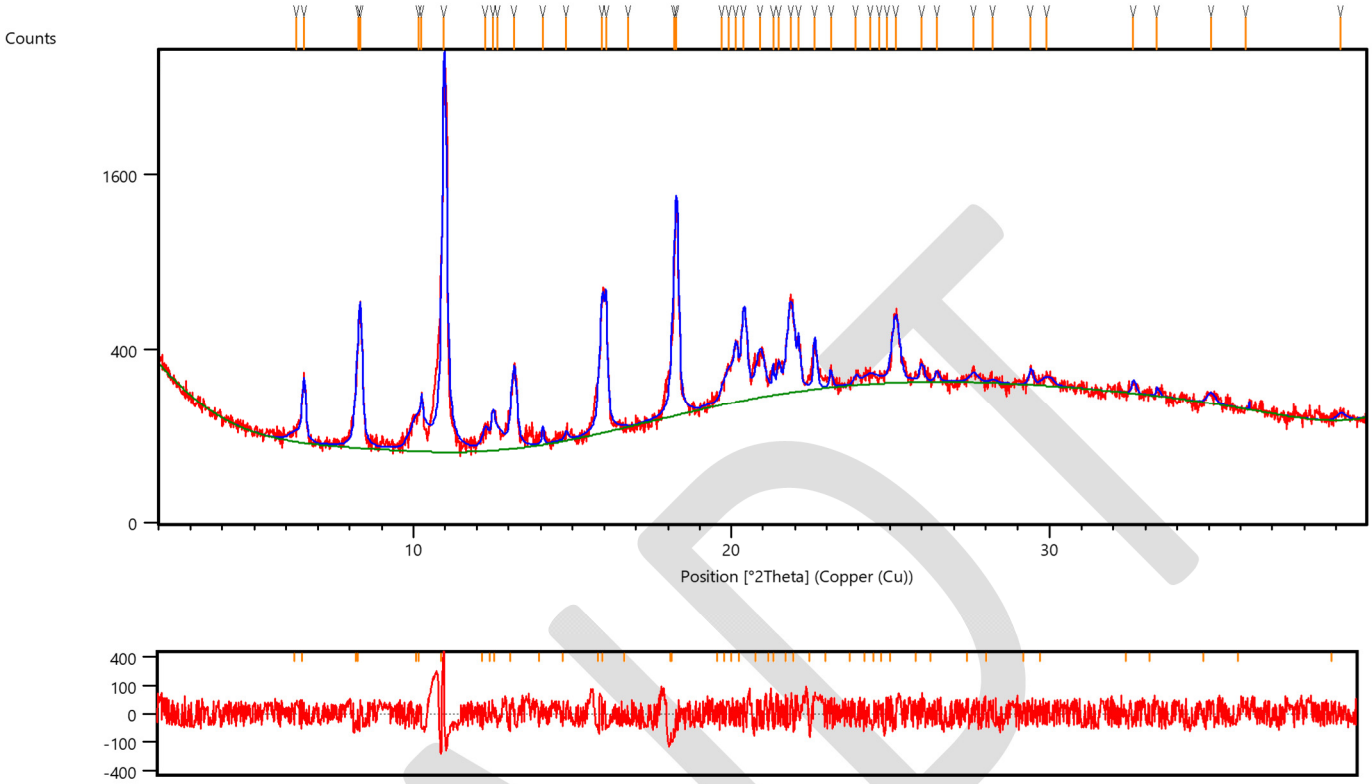
RIAIDT

Pos. [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]	Height [cps]
18.250(1)	4.85720	87.16	903.39
19.88(8)	4.46304	3.19	33.10
19.899(7)	4.45827	3.69	38.26
20.109(8)	4.41225	5.36	55.53
20.439(5)	4.34164	11.64	120.61
20.761(8)	4.27496	4.64	48.04
20.975(5)	4.23201	10.45	108.31
21.32(2)	4.16448	3.33	34.54
21.467(7)	4.13609	4.00	41.49
21.845(7)	4.06539	9.98	103.47
22.112(6)	4.01684	8.92	92.47
22.636(6)	3.92496	5.70	59.09
23.95(1)	3.71321	1.13	11.70
24.20(3)	3.67445	2.00	20.70
24.84(3)	3.58211	1.24	12.82

RIAIDT

3.4.3. 066**

En la figura siguiente se muestra el difractograma experimental (en rojo), destacando los valores de las posiciones de los picos (en la parte superior de la gráfica) junto con el difractograma obtenido del ajuste (en azul). En la parte inferior se muestra el residuo obtenido al eliminar los dos difractogramas mencionados:



A continuación se muestra un listado con toda la relación de picos con sus propiedades principales (ángulo, espaciado, intensidad relativa y cuentas por segundo), tras el ajuste final del difractograma:

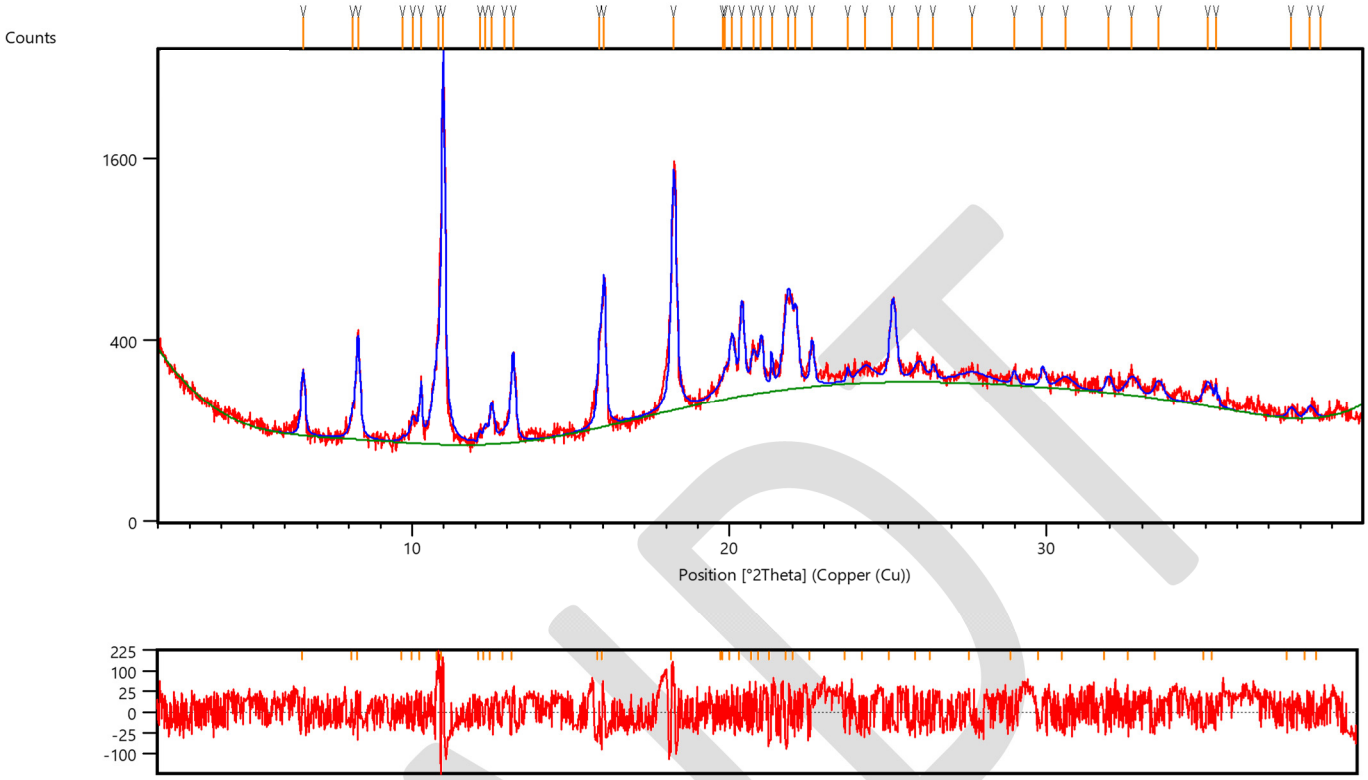
Pos. [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]	Height [cps]
6.3(3)	13.94735	0.72	7.19
6.563(4)	13.45678	6.28	62.74
8.260(8)	10.69542	7.74	77.34
8.334(2)	10.60027	14.68	146.66
10.17(2)	8.69402	2.75	27.43
10.26(5)	8.61826	2.64	26.41
10.972(2)	8.05716	100.00	999.12
12.26(8)	7.21516	1.38	13.75
12.50(4)	7.07472	2.13	21.26
12.6(1)	7.00578	1.40	13.96
13.16(1)	6.72465	8.75	87.41
14.06(2)	6.29521	1.71	17.12
14.8(2)	5.98167	0.72	7.16
15.94(3)	5.55719	20.46	204.45
16.05(1)	5.51716	15.63	156.18
18.20(3)	4.87108	21.24	212.18
18.26(1)	4.85379	30.23	301.99

Pos. [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]	Height [cps]
19.70(6)	4.50214	0.36	3.56
19.92(5)	4.45285	3.94	39.36
20.14(4)	4.40479	6.19	61.81
20.405(4)	4.34890	14.07	140.55
20.91(3)	4.24582	6.27	62.63
21.313(6)	4.16552	4.76	47.60
21.487(8)	4.13227	4.04	40.36
21.868(4)	4.06105	14.53	145.21
22.123(6)	4.01494	7.75	77.44
22.63(3)	3.92650	8.81	87.99
23.12(3)	3.84342	3.02	30.21
23.9(1)	3.71809	1.30	13.00
24.4(2)	3.65040	1.34	13.36
25.15(1)	3.53740	10.89	108.85

RIAIDT

3.4.4. **03

En la figura siguiente se muestra el difractograma experimental (en rojo), destacando los valores de las posiciones de los picos (en la parte superior de la gráfica) junto con el difractograma obtenido del ajuste (en azul). En la parte inferior se muestra el residuo obtenido al eliminar los dos difractogramas mencionados:



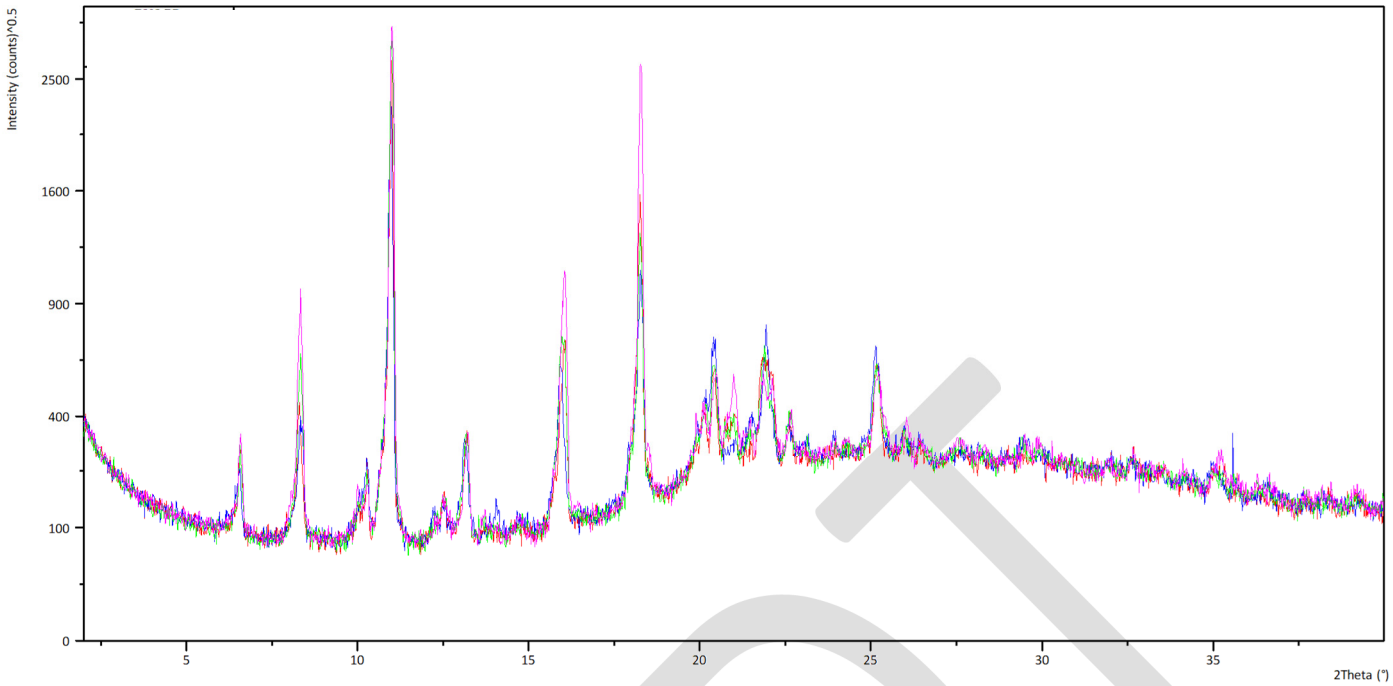
A continuación se muestra un listado con toda la relación de picos con sus propiedades principales (ángulo, espaciado, intensidad relativa y cuentas por segundo), tras el ajuste final del difractograma:

Pos. [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]	Height [cps]
6.561(3)	13.46063	7.47	65.91
8.13(3)	10.86473	1.79	15.75
8.294(2)	10.65246	12.68	111.89
9.71(5)	9.10387	0.29	2.58
10.03(1)	8.81022	1.91	16.84
10.268(3)	8.60813	5.86	51.71
10.81(1)	8.17570	8.14	71.87
10.9726(6)	8.05685	100.00	882.49
12.13(2)	7.29306	0.97	8.56
12.30(2)	7.19163	1.32	11.64
12.503(7)	7.07389	3.56	31.41
12.91(6)	6.85422	0.81	7.16
13.171(3)	6.71642	10.51	92.74
15.908(6)	5.56660	12.05	106.38
16.031(3)	5.52420	22.96	202.58
18.2279(9)	4.86305	54.28	479.01
19.82(6)	4.47579	1.88	16.63
19.9(2)	4.46494	1.79	15.82

Pos. [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]	Height [cps]
20.090(5)	4.41624	8.16	72.00
20.400(3)	4.34983	15.69	138.48
20.77(1)	4.27354	5.72	50.47
21.009(7)	4.22513	8.07	71.17
21.347(4)	4.15906	6.95	61.34
21.868(7)	4.06105	16.81	148.30
22.105(5)	4.01810	9.67	85.32
22.606(5)	3.93016	7.42	65.49
23.73(1)	3.74658	2.44	21.50
24.29(2)	3.66113	2.37	20.94

RIAIDT

3.4.5. Análisis comparativo / conclusiones



En vista de la gráfica anterior y analizando en detalle las posiciones de los picos principales de todos los difractogramas, podemos decir que todas las 4 muestras analizadas son isoestructurales, es decir, pertenecen al mismo polimorfo cristalino. Sólo se observan menores desplazamientos (<0.2 grados) así como variaciones en las intensidades relativas de algunos picos, siendo esto justificable como que el tamaño de los cristalitos componentes no tienen porque se iguales ni isotrópicos.

4. STATEMENT OF OWNERSHIP

Este informe contiene un estudio realizado por “Unidade de Raios X” en la “Universidade de Santiago de Compostela”, en nombre del sponsor **********.

Todos los resultados e interpretaciones son propiedad del patrocinador. Bajo ninguna circunstancia se mencionará a cualquier dato sin conocimiento del patrocinador. Las muestras serán devueltas al propietario.

RIAIDT