

Zaznava polimorfizma v farmacevtskih izdelkih z jedrsko kvadrupolno resonanco dušika ^{14}N



Vojo Jazbinšek¹, Janez Pirnat¹, Zvonko Trontelj¹, Zoran Lavrič², Zoran Lavrič², Stane Srčič²
¹Inštitut za matematiko, fiziko in mehaniko, Ljubljana; ²Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani



Cilji: Pokazati uporabnost jedrske kvadrupolne resonance (JKR) pri nedestruktivnem in zanesljivem odkrivanju polimorfov v aktivnih farmacevtskih sestavinah (AFS)

Povzetek

Polimorfizem je pojav, ko ima lahko določena trdna snov več kot eno kristalno strukturo. Na področju farmacije je pomemben, tako pri razvoju novih AFS kot tudi v že uveljavljenih farmacevtskih izdelkih. Zlati standard za določitev in potrditev polimorfizma v farmacevtskih produktih je Rentgenska spektroskopska analiza (RSA), vendar le-ta običajno zahteva posebno pripravo vzorca in je tako manj primerna za preverjanje pojava polimorfizma med samo proizvodnjo.

V tej raziskavi smo pokazali, kako JKR dušika ^{14}N omogoča učinkovito zaznavo polimorfizma v antibakterijskem zdravilu sulfanilamid. Metoda je uporabna pri vseh trdnih vzorcih, ki vsebujejo dušik. Prednost te metode v primerjavi z RSA je v tem, da pri JKR spektroskopiji ne potrebujemo posebne priprave vzorcev. Trdni vzorci v svoji začetni obliki (prašek, granulati, tablete ipd.) se lahko uporabijo celo v originalni embalaži, če le-ta ni v celoti kovinska.

Metoda

JKR je nedestruktivna, brezkontaktna radiofrekvenčna (RF) spektroskopska metoda, ki je podobna bolj znani jedrski magnetni resonanci (JMR), vendar za razliko od JMR, lahko JKR prehede v jedrih zaznava brez uporabe zunanjega magnetnega polja ("Zero Field MR"). JKR temelji na električni interakciji med jedrom z električnim kvadrupolnim momentom ($\text{spin} > 1$) in notranjim gradientom električnega polja (GEP), ki ga povzročajo okoliški elektroni v kristalni mreži. GEP na mestu jedra v dani sestavini določajo predvsem valenčni elektroni, ki sodelujejo v vezeh z ostalimi sosednjimi jedri, zato je frekvenca, pri kateri se pojavi JKR prehod, točno določena za to substanco.

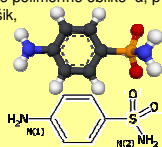
^{14}N jedra imajo spin $I=1$ in tri frekvence JKR prehodov

$$\nu^{\pm} = \frac{1}{4} Q_{cc} (3 \pm \eta), \quad \nu^0 = \nu^+ - \nu^- = \frac{1}{2} Q_{cc} \eta.$$

Ki zavisijo le od kvadrupolne sklopitvene konstante Q_{cc} in asimetričnega parametra η .

$Q_{cc} = \frac{e^2 q Q}{h}$ je sorazmerna jedrskemu električnemu kvadrupolnemu momentu eQ in maksimalni komponenti $eq = q_{zz}$ tenzorja gradienta električnega polja (e je osnovni naboj in h Planckova konstanta). Asimetrični parameter je definiran kot $\eta = |q_{xx} - q_{yy}|/q_z$.

V tem delu smo raziskali polimorfizem v antibakterijskem zdravilu sulfanilamid, ki ima tri znane polimorfne oblike α , β in γ in dva kemijsko neekvivalentna ^{14}N atoma: N(1) - para amino dušik in N(2) - sulfonamidni dušik, ki dasta dva seta treh frekvenc (ν^+ , ν^- , ν^0), ki so določene s prehodi med JKR stanji in so različne za vsak polimorf. Polimorfni obliki α in β smo dobili s kristalizacijo komercialno dostopnega sulfanilamida (Sigma-Aldrich) v i) izoamilnem ali n-butilnem alkoholu za α in ii) in etilnem alkoholu za β polimorf. Pri $T > 390\text{ K}$ se ti dve polimorfni obliki pretvorita v γ polimorf. Vsi trije polimorfni so stabilni pri sobni T.

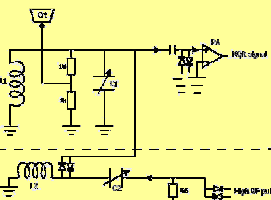


Meritve

Uporabili smo standardni sunkovni JKR spektrometer, ki ga sestavlja dva uglasena sklopljena LC kroga:

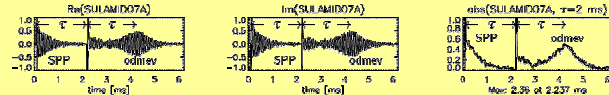
- 1) z vzorcem v tuljavi L1, predajačevalnikom in sprejemnikom
- 2) s "step up" tuljavo L2, ki je povezana s sunkovno RF programsko nastavljivo enoto (Spin Core in RF ojačevalnikom (Tomco)

Celotni spektrometer upravljamo preko osebnega računalnika.

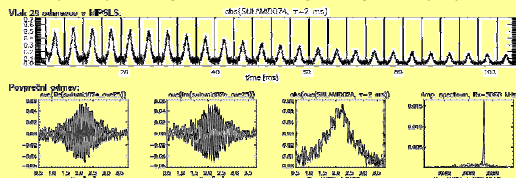


Tipična meritve:

začetni RF sunek ustvari signal proste precesije (SPP), sledi RF sunek v času τ in odmev v času $\Delta t = \tau$

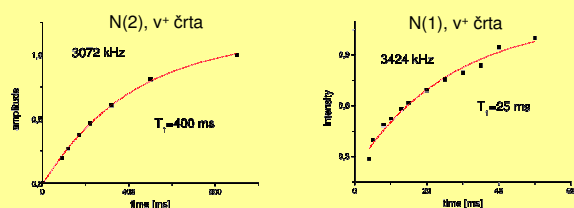


"Multi-pulse spin-locking" sekvenca MPSSL[1] omogoča izboljšanje S/N in hitrejše merjenje: $t_p - (\tau - t_{p-90} - \tau)_n$, kjer je

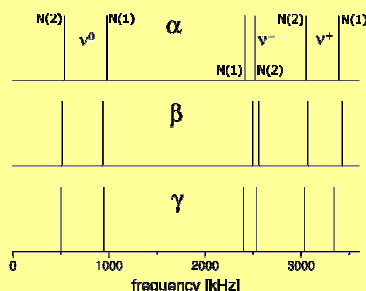


- t_p trajanje začetnega RF sunka ($\pi/2$ -sunek v JMR), ki generira SPP
- t_{p-90} trajanje sunka, ki oblikuje odmev (π -sunek v JMR), kjer (90) označuje 90° fazni zamik glede na prejšnji t_p sunek
- τ časovni zamik med t_p in prvim t_{p-90} sunkom. To je tudi čas med danim t_{p-90} sunkom in naslednjim vrhom odmeva.
- n celotno število t_{p-90} sunkov v sekvenci.

Rezultati: Spinsko-mrežni relaksacijski čas T_1 za β polimorf

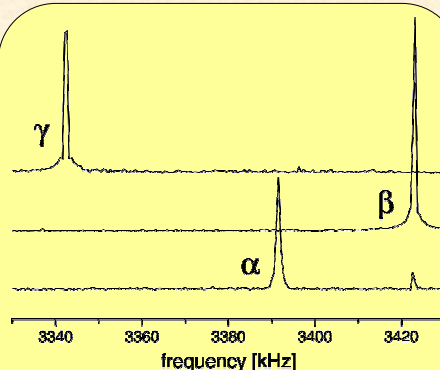


Rezultati

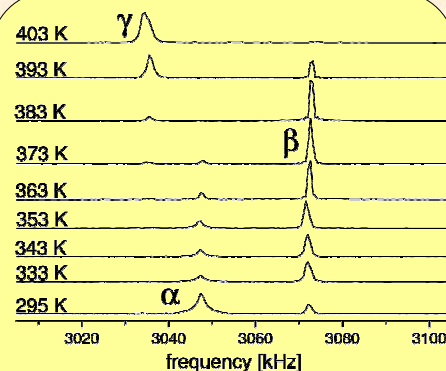


JKR ^{14}N parametri za α , β in γ polimorfe v sulfanilamidu pri sobni temperaturi: frekvence prehodov (ν^+ , ν^- , ν^0), jedrska kvadrupolna sklopitvena konstanta Q_{cc} , asimetrični parameter η in spinsko-mrežni relaksacijski čas T_1 .

polimorf	atom	ν^+ [kHz]	ν^- [kHz]	ν^0 [kHz]	Q_{cc} [kHz]	η	T_1 [ms]
α	N(1)	3391	2415	875	3871	0.50	25
	N(2)	3047	2614	833	3707	0.29	400
β	N(1)	3424	2493	831	3945	0.47	25
	N(2)	3072	2563	809	3757	0.27	400
γ	N(1)	3342	2389	844	3827	0.40	35
	N(2)	3034	2532	802	3711	0.27	25



JKR ^{14}N spektri dušika (N1) s frekvenco ν^+ za vse tri polimorfe sulfanilamida (3391 kHz za polimorf α , 3424 kHz za β in 3342 kHz za γ). Meritve smo naredili pri sobni temperaturi s približno enako količino vseh vzorcev (~4 g). Na krivulji, ki kaže rezultate meritev na polimorfu α , lahko opazimo prisotnost primesi polimorfa β v vzorcu.



JKR ^{14}N spektri dušika N(2) (najvišja frekvenca (ν^+ črta) za začetni vzorec polimorfa α (s primesjo β). Vzorec sulfanilamida smo gredli pri različnih temperaturah, ki so označene na levi strani krivulj, ki predstavljajo rezultate JKR meritev. Pred meritvijo smo vzorec najprej ohladili nazaj na sobno temperaturo 295 K.

Referenca:

[1] R.A. Marino, S.M. Klainer, Multiple spin echoes in pure quadrupole resonance, J. Chem. Phys. 67: 3388-3389 (1977)