Universita' degli Studi di Milano

Corso di Laurea Magistrale in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche

Tecnologia e Legislazione Farmaceutiche II - 9 CFU

Prof. Andrea Gazzaniga

slides Dott.ssa Anastasia Foppoli

PROPRIETA' DELLE SOSTANZE ALLO STATO SOLIDO

gazza

STATO SOLIDO
produzione
purificazione e sviluppo del processo
formulazione e rilascio del p.a.
marketing
brevetti
aspetti regolatori
stabilità
controllo qualità
ricerca
tossicologia
dosaggio

Motivi di interesse per lo studio dello stato solido

- biofarmaceutici
- tecnologico-produttivi
- brevettuali
- di carattere regolario

gazza

Table I.9 Selected Patents on Various Crystal Forms Listed in Chemical Abstracts

Substance	Crystal Form	Utility	Abstract No.
Sodium Acetylsalicylate	crystalline	stable	108:44030n
Amoxicillin	anhydrous sodium salt	nonhygroscopic and stable	102:172646j
Amoxicillin	pyrrolidone solvate	injectable	96:74631k
Amphotericin B	crystals	purification process	112:240473f
Azetidine Sulfonic Acid	crystalline anhydrous form	improved stability	99:10852n
Azithromycin	dihydrate	nonhygroscopic	111:45265s
Beclomethasone	chlorofluorocarbon solvate	stability	94:52972d
Beclomethasone	solvates	aerosol formulation	96:91650h
Beclomethasone Dipropionate	Freon® solvate	aerosols	113:29296p
Beclomethasone Diproprionate	alkane solvates	formulation	102:209431k
Beclomethasone Diproprionate	new crystal form	does not form solvates with propellants	94:162747s
Benzimidazole Derivative	crystalline	thermostable with small particle size	108:137876h
Buspirone·HCl	interconversion	preparation of either form	111:239476g
Catechin	monohydrate and anhydrate	formulations	103:59298b
Cefadroxyl	anhydrate	preparation	111:239478j
Cefadroxyl Monohydrate	monohydrate	preparation	111:239477h
Cefahydroxyl Monohydrate	crystalline	preparation from CH_3CN solvate	103:166151v
Cefamandole Derivative	γ-form	stability and lack of hygroscopicity	86:78672r
Sodium Cefazolin	monohydrate	crystallization process	90:61247r
Ceftazidime	anhydrous crystal modification	stability	102:67395a
Ceftazidime Intermediate	crystalline $HCl·H_2O$	purification	102:191162n
Ceftazidime·$5H_2O$	pentahydrate	increased activity	105:30045x
Cefuroxime	crystalline sodium salt	crystallization	102:32299v
Cephalexin	crystalline	formulation	84:184895j
Cephalexin	monohydrate	stability	74:6404j
Cephalexin	*l*-type monohydrate	novel	89:169093f
Cephalexin·HCl	monohydrate	immediate release	103:129047v
Cephalosporin Antibiotic	heptahydrate sodium salt	improved stability	100:73975q
Sodium Cephalothin	crystallization	improved filtration properties	87:141273z

Pharmaceutical Section Chemical Abstract 1991

gazza

A Cephem Carboxylic Acid	hydrates	stability	110:29096*m*
Sodium Cephem-carboxylate	crystals	formulation	103:129069*d*
Cephradine	hydrate	stability	115:35741*n*
Cimetidine	Form A	formulation	100:12669*w*
Cimetidine	Form B	formulation	109:237026*v*
Cimetidine	Form B	preparation	109:176349*d*
Cimetidine	Form Z	formulation	99:10848*r*
Corticosteroids	chlorofluorocarbon solvates	lack of crystal growth in aerosols	85:51743*g*
Cyclosporin	orthorhombic form	sustained release	112:145575*g*
DDI, DDT	monohydrate	high water solubility	115:35706*e*
Deoxycholic Acid	unsolvated crystals	improved formulations	94:162743*n*
Deoxyspergalin	crystalline	improved hygroscopicity, stability, handling	115:15582*h*
Dianemycin glycon	crystalline anhydrous form		106:23267*p*
Dibenzopyrene	polycrystalline form	improved blood levels	86:95990*k*
Famotidine	morphologically homogeneous	homogeneous forms	108:192770*u*
Famotidine	separation of crystal forms	increased activity	111:180678*u*
Flunisolide	crystal form	aerosols	93:138020*h*
Flunisolide	crystal form	aerosols	94:214609*v*
Gabapentin Monohydrate	monohydrate	novel crystal form	113:138572*w*
Gabexate Mesylate	lyophilized crystals	high stability	111:63927*p*
Ibuprofen	crystalline	improved flow properties	102:50901*q*
Inotropic Agent	hydrates	administration	112:204687*v*
Insulin	crystalline suspension	improved release	94:214619*y*

Pharmaceutical Section Chemical Abstract 1991

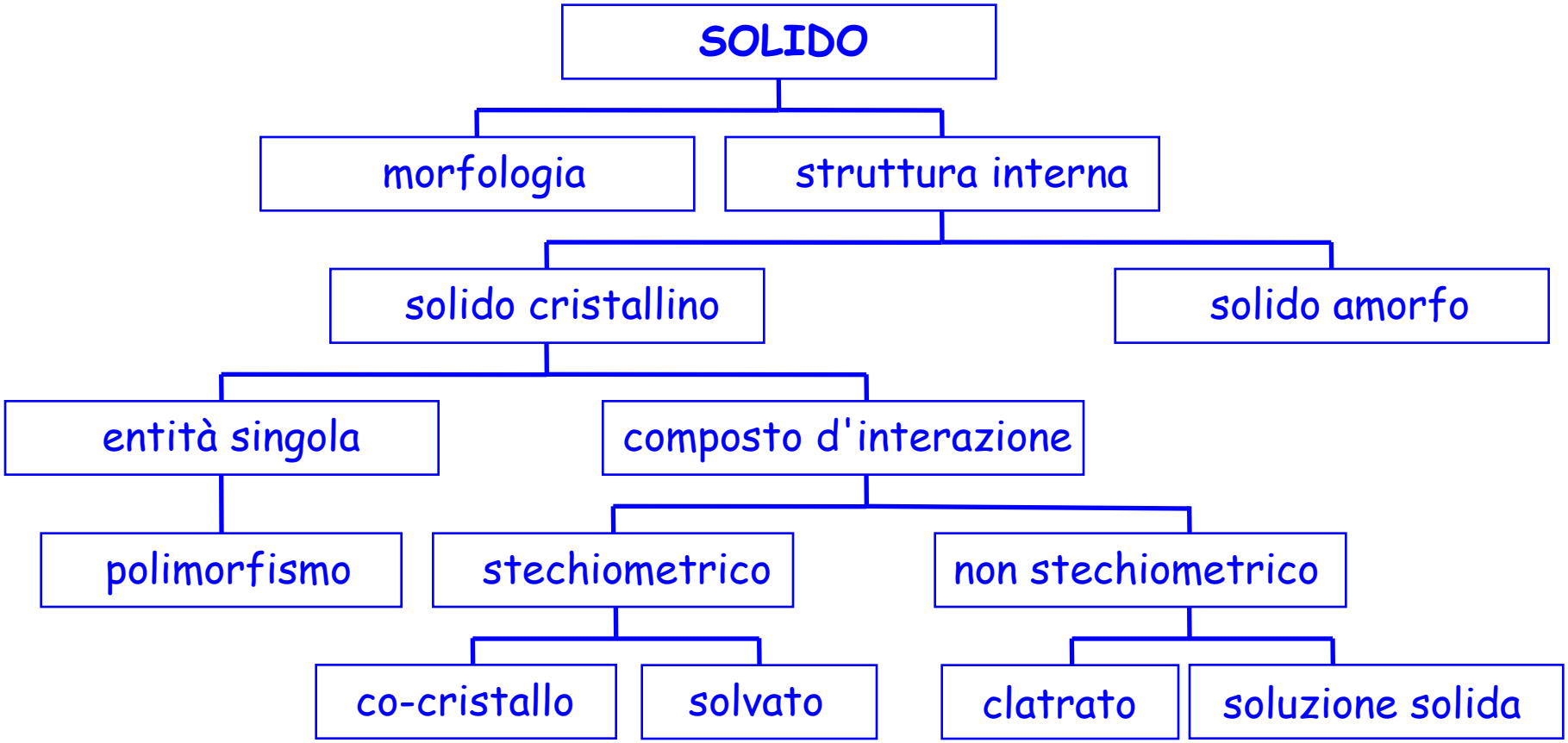
gazza

Table 1.9 (continued) Selected Patents on Various Crystal Forms Listed in Chemical Abstracts

Substance	Crystal Form	Utility	Abstract No.
Isoglutamine Derivative	monohydrate	more stable, less hygroscopic	106:125878*f*
Josamycin	solvent-free crystals	formulation	87:90714*j*
LY163892	dihydrate and trihydrate	preparation and formulation	114:88656*z*
LY163892	solvates	intermediates	114:88639*w*
LY163892 (antibiotic)	monohydrate	formulation	111:201646*z*
Meclophenoxate-HCl	type I crystals	more stable, less hygroscopic	107:64843*n*
Mefloquine-HCl	polymorph	improved solubility and bioavailability	103:129044*s*
Methylbutylamine-HCl Derivative	monohydrate	not hygroscopic	107:223314*j*
Methyldopa Salts	crystalline solvates	crystalline	107:242598*w*
Milrinone	3 crystal modifications	formulations	110:63770*m*
Naphthyridine Carboxylic Acid	sesquihydrate	stability	98:59888*x*
Necromodil Na	Form B	stability	108:226832*h*
4-Oxo-2-azetidinyl Derivative	crystals	crystalline	108:137873*e*
Penicillin Derivative	hemisolvate	stability	85:130523*p*
Phenylpropiophenone	spherical crystals	sustained release	115:15598*t*
A piperazine-HCl	new crystal form	increased solubility	105:158806*p*
Piroxicam	β-form	improved flow properties	111:140479*y*
Prazosin-HCl	α-form	preparation	99:10849*s*
Pyran-9-one Derivative	polymorphs	particle size	83:152334*p*
N-Pyridylcarboxyamide	polymorphic monoethanolamine salt	increased stability	105:66460*t*
Quinolone Carboxylate	anhydrate	stability and preparation	112:185779*h*
Sorbitol	γ-form	improved tableting	95:30396*n*
Steroid	monoclinic or triclinic forms	preparation and formulation	114:214521*s*
Sulfametrole Hemihydrate	hemihydrate	no sediment upon storage	107:223316*n*
(*S*)-Timolol	hemihydrate	preparation	114:49576*d*

Pharmaceutical Section Chemical Abstract 1991

gazza

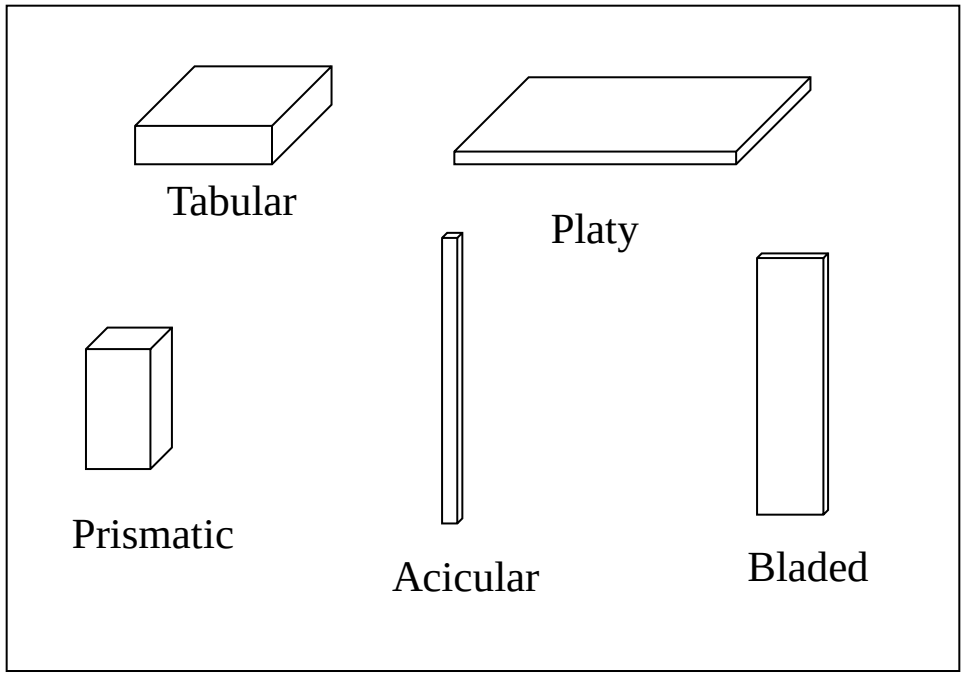

SOLIDO
morfologia
struttura interna
solido cristallino
solido amorfo
entità singola
composto d'interazione
polimorfismo
stechiometrico
non stechiometrico
co-cristallo
solvato
clatrato
soluzione solida

gazza

MORFOLOGIA o HABITUS CRISTALLINO

Rappresenta la forma esteriore della particella nel suo complesso, la sua geometria.
Dipende dal numero di facce e dalle loro dimensioni (sviluppo relativo)

Dipende dalla velocità di accrescimento delle varie facce del cristallo

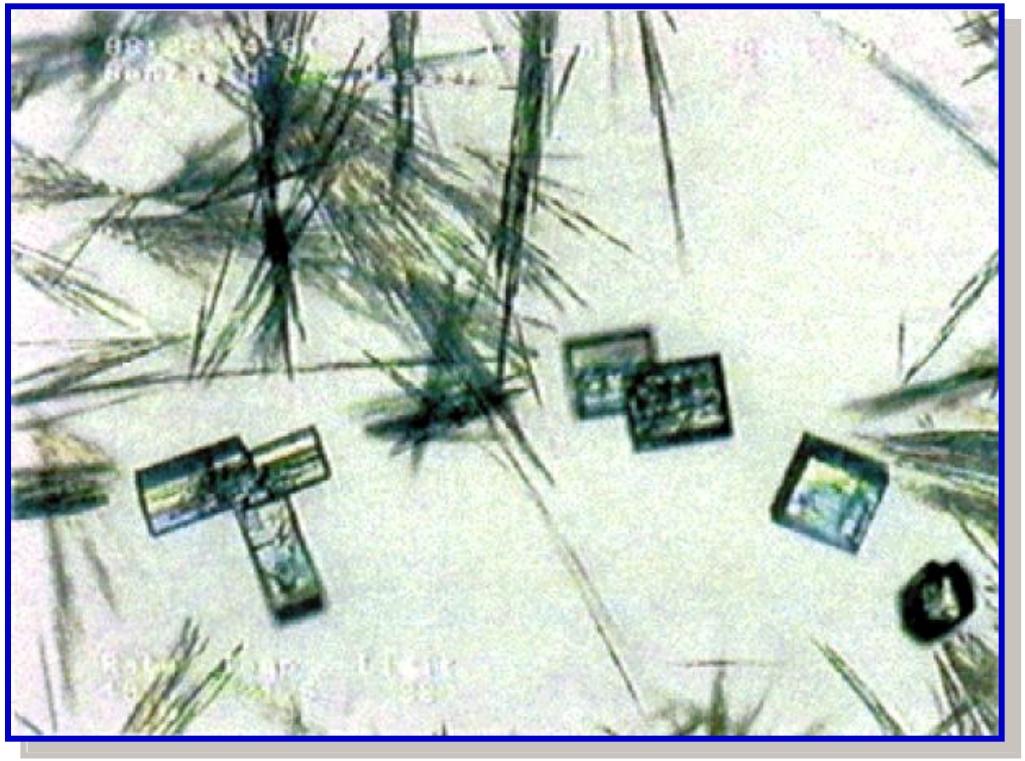


aciculare (aghiforme), prismatico piramidale, laminare equidimensionale, colonnare lamellare,….

gazza

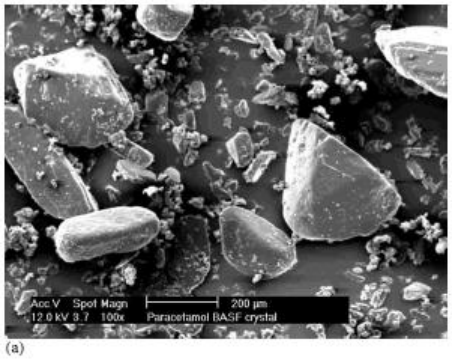
MORFOLOGIA o HABITUS CRISTALLINO

Solidi cristallini con struttura interna diversa generalmente presentano habitus diverso

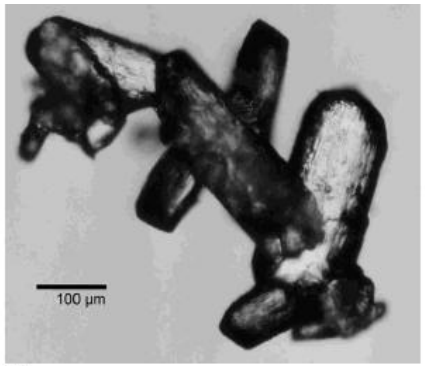


gazza

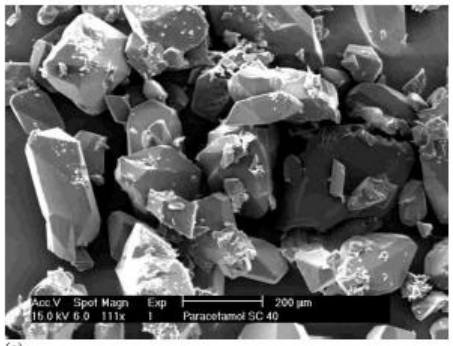
Solidi cristallini possono avere habitus diverso, ma uguale struttura interna



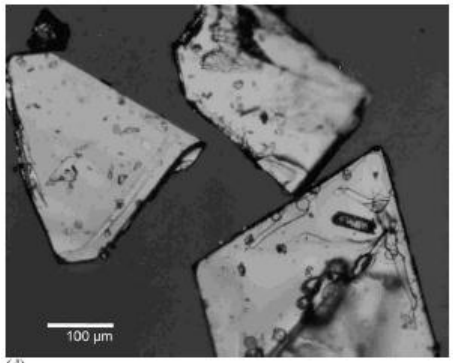
(a)



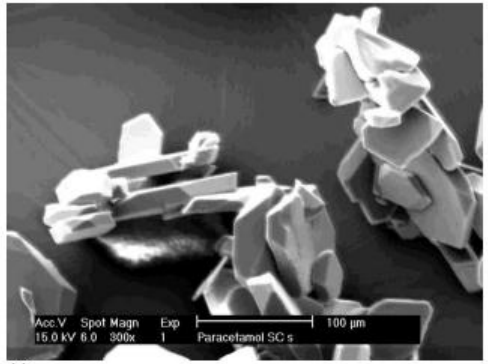
(b)



(c)



(d)



(e)

gazza

FATTORI DETERMINANTI

Solvente

Temperatura

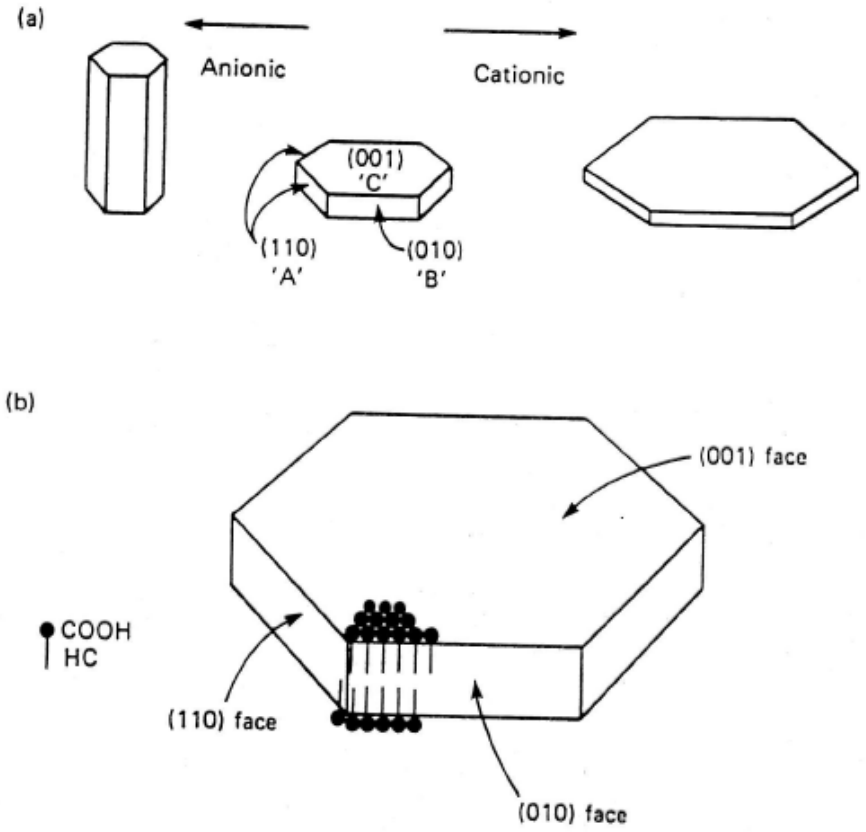
Grado di sovrasaturazione

Velocità di raffreddamento

Impurezze

gazza

Esempio di crystal poisoning



gazza

IMPLICAZIONI TECNOLOGICO-PRODUTTIVE

scorrevolezza

stabilità delle sospensioni

siringabilità delle sospensioni

filtrabilità

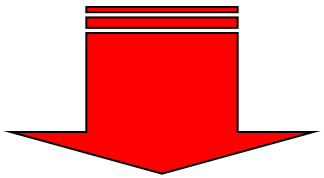
compattazione

……

gazza

Aspartame

- l'aspartame è un dolcificante artificiale (G.D. Searle Monsanto) con potere dolcificante 100-200 volte superiore a quello del saccarosio
- dell'aspartame sono note diverse forme cristalline
- il metodo di cristallizzazione inizialmente impiegato portava alla formazione di cristalli aghiformi, di piccole dimensioni (10μm), con scarsa resistenza meccanica, igroscopici.



Problemi nelle operazioni di **filtrazione** ed essiccamento e, in generale, nella lavorazione di questo materiale

gazza

Aspartame

- La Ajimoto (azienda giapponese) mette a punto e brevetta un metodo di cristallizzazione in H_2O: il nuovo metodo prevede il raffreddamento di una soluzione acquosa di aspartame SENZA agitazione. In questo modo si posono ottenere cristalli più grandi, cosiddetti *'bundle-like' crystal aggragates*, più resistenti e con migliore lavorabilità

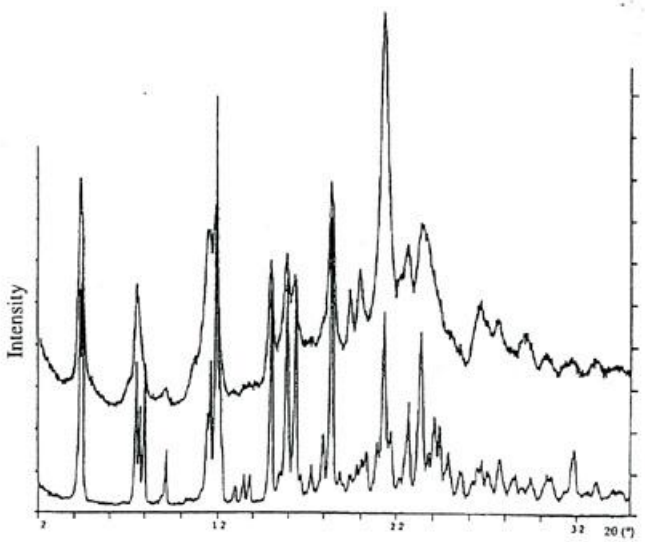


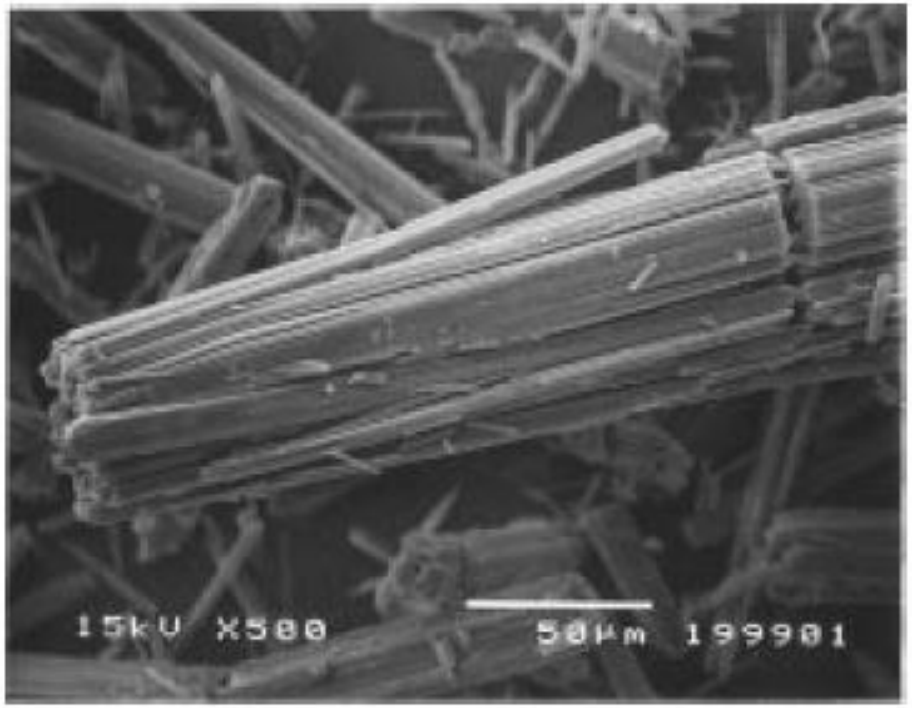
Fig. 10.3 Comparison of the measured X-ray diffraction patterns of aspartame. Upper, conventional crystals; lower, bundle-like crystals. (From Tarling 2001 with permission.)

il nuovo aspartame non è una nuova forma cristallina, bensì un diverso habitus dello stesso polimorfo.

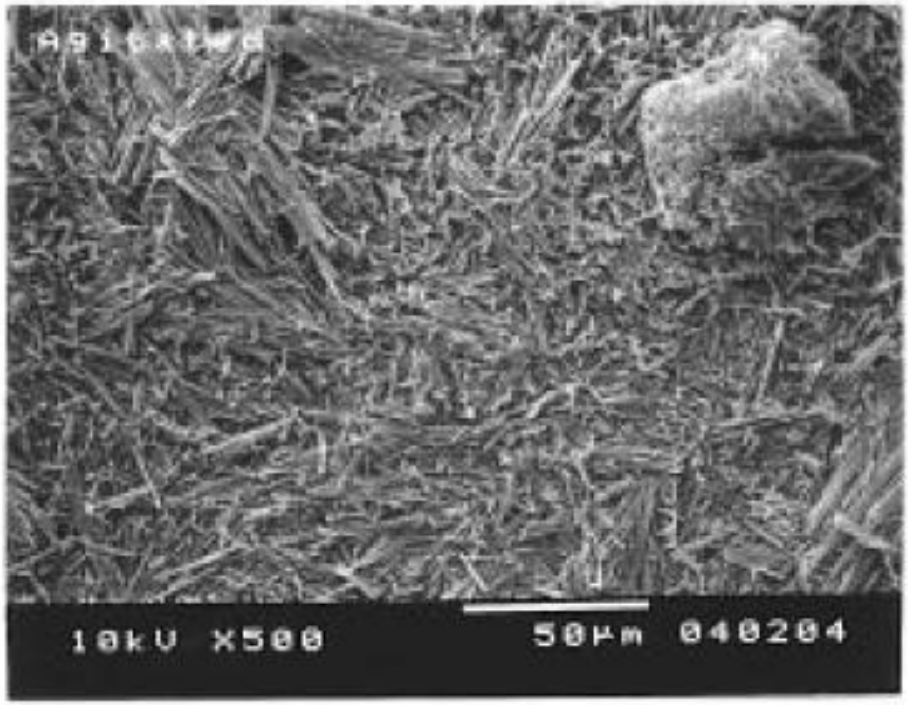
Il brevetto Ajimotoha sollevato un importante "caso" di patent litigation. La Ajimoto, per difendere la validità del proprio brevetto ha documentato una serie di vantaggi della forma *bunble-like, rispetto alla tradizionale needle-like* quali migliore grado di cristallinità, maggior densità apparente, minor contenuto di umdità

gazza

Aspartame



bundle-like crystals



needle-like crystals

Characterization of Aspartame Crystals
A. Kishishita et al., Ind.Eng.Chem. Res.,38(5), 2166-2170 (1999)

gazza

Effetto dell'abito cristallino sulla stabilità fisica di sospensioni

Trimetoprim

Polvere di trimetoprim tal quale (PD) e ricristallizzata in condizioni diverse in modo da ottenere habitus cristallini diversi (4 tipi, I, II, III, IV), vengono impiegate per l'allestimento di sospensioni.

Si valuta la stabilità fisica della sospensioni osservando come varia nel tempo il volume di sedimentazione (rapporto tra il volume del solido e il volume della sospensione)

Crystal no.	Cosolvent	Crystallization conditions co-solvent: water			Crystal habit
		Ratio	Temp.	Cooling	
I	DMF	1:10	RT-RT	RT	Thin rods
II	PEG200	1:5	RT-RT	RT	Thick rods
III	DMF	1:10	70-70	RT	Polyhedra
IV	DMF	1:20	RT-70	RT	Cubes
PD	—	—	—	—	Irregulars

Note: DMF: dimethyl formamide; PEG: poly ethylene glycol; RT: room ter

Influence of Crystal Habit on Trimethoprim Suspension Formulation
A.K. Tiwary and G.M. Panpalia, Pharma. Res.; 16 (2); 261-265 (1998)

gazza

(PD, commercial product)

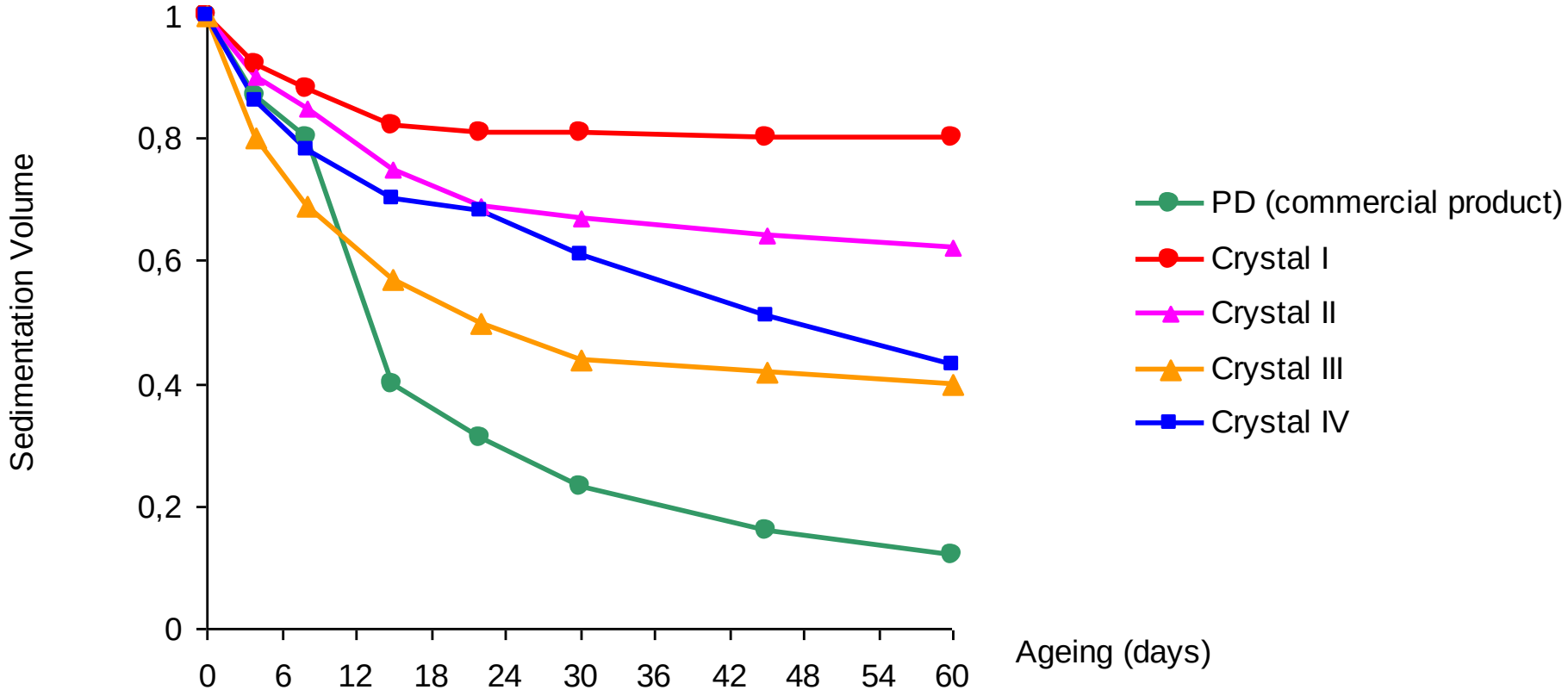
(Crystal I) thin rods

(Crystal II) thick rods

(Crystal III) polyhedra

(Crystal IV) cubes

gazza



Influence of Crystal Habit on Trimethoprim Suspension Formulation
A. K. Tiwary; G. M. Panpalia, Pharma. Res.; 16 (2); 261-265 (1998)

gazza

PO
Crystal Ii
Crystal IV
Crystal I
Crystal III
0
4
8
15
22
30
45
60
Ageing (days)
0
5
10
15
20
25
30
35
Number of turns to achieve homogeneity (RD)

Ibuprofene

L'ibuprofene ha cattive caratteristiche di compattazione

Sono stati provati approcci per ovviare a questo problema: granulazione, produzione di forme polimorfe diverse, ecc

E' descritta in letteratura la possibilità di ottenere cristalli di ibuprofene a diverso abito cristallino ma stessa struttura interna. Il diverso abito cristallino viene prodotto modificando le condizioni di cristallizzazione (brevetto)

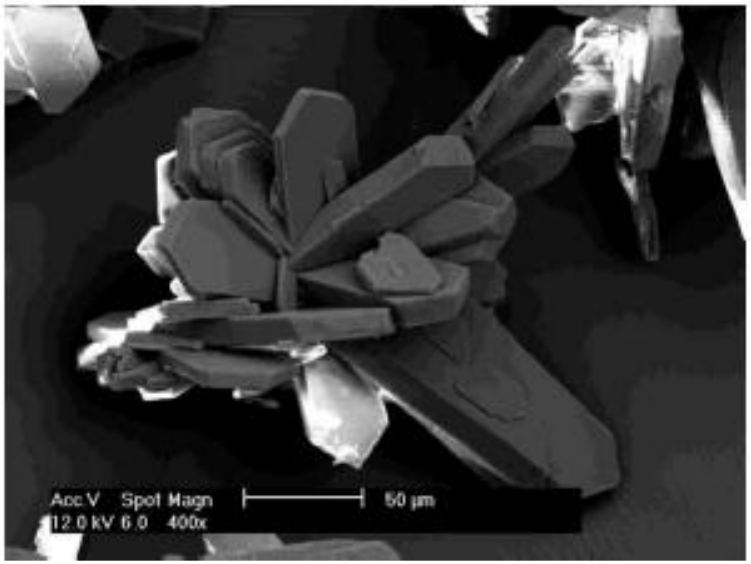
Crystal habit and tableting behavior
R.Rasenack and B.W.Muller., Int. J. Pharm.,244, 45-57 (2002)

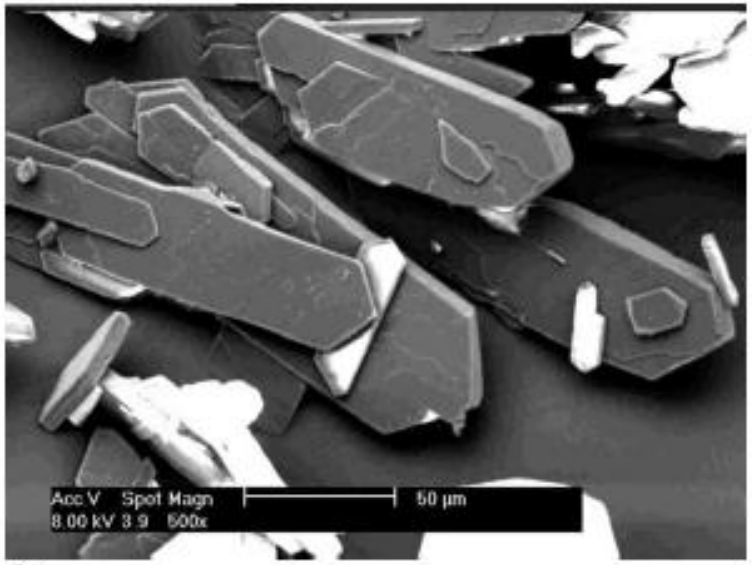
gazza

Habit I (commercial)

(a)

Habit II





(b)

I dati di PXRD, DSC, densità vera, indicano che la struttura cristallina è la stessa

Crystal habit and tableting behavior
R.Rasenack and B.W.Muller., Int. J. Pharm.,244, 45-57 (2002)

gazza

I 2 tipi di materiale sono caratterizzati in termini di scorrevolezza e caratteristiche di compattazione della polvere

	Habit I (commercial)	Habit II
Flowability	cohesive	free flowing, not cohesive
Sticking to the punches	adhesive	non adhesive
Elastic recovery (%)	24	19
F_{max}(kN)	16	15
Total energy (J)	4,2	4,9
Crushing strenght (N)	32	55

La capacità di compattazione delle 2 polveri viene confrontata attraverso il T factor

T-factor = plastic def x energy $_{total}$ x F_c/F_{max} x $S_{Fmax(up)}$ x e

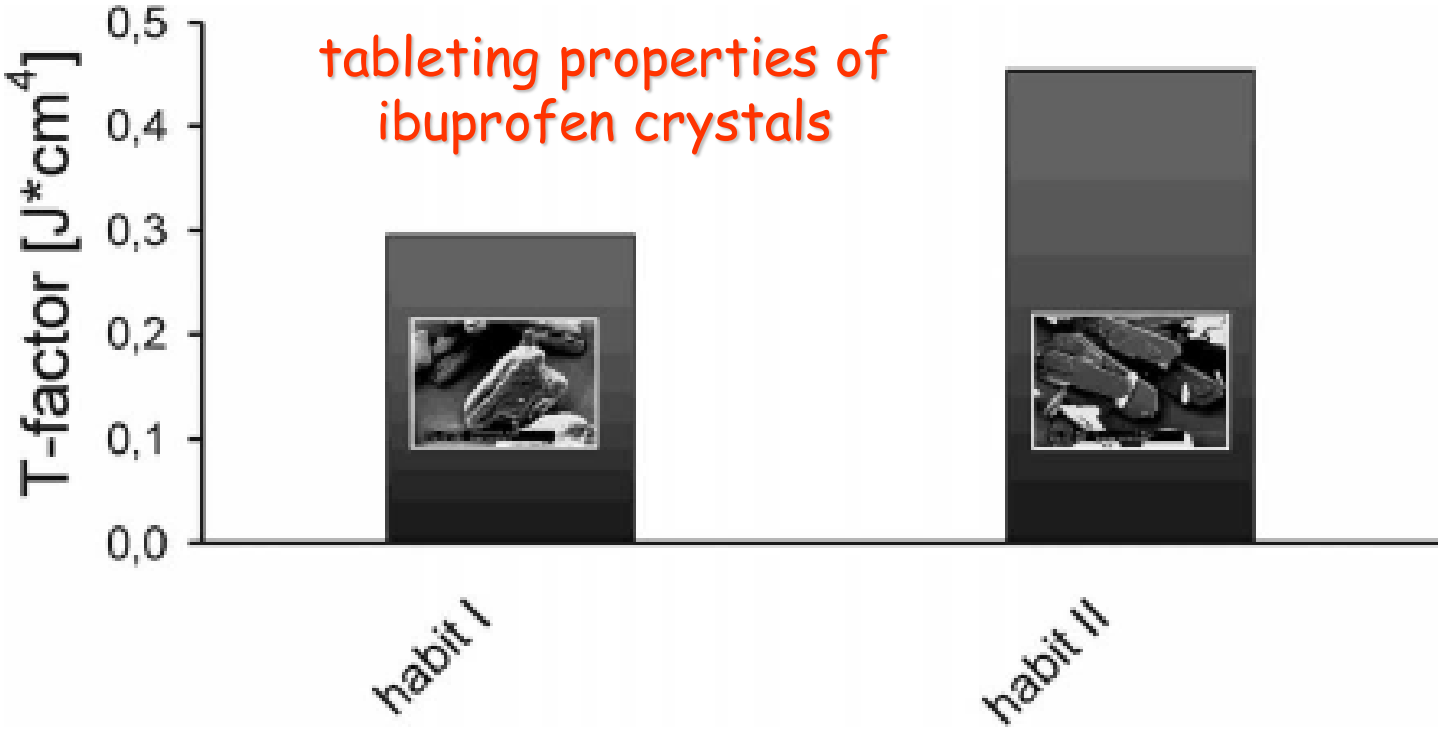
- % of plastic energy
- plastic and elastic energy (Nm)
- crushing strength (N)
- upper punch force max (kN)
- displacement of upper punch in F_{max} (mm)
- volume (true) tableted (cm^3)

gazza

T-factor = plastic def x energy $_{total}$ x F_c/F_{max} x $S_{Fmax(up)}$ x *e*

- % of plastic energy
- plastic and elastic energy (Nm)
- crushing strength (N)
- upper punch force max (kN)
- displacement of upper punch in F_{max} (mm)
- volume (true) tableted (cm^3)

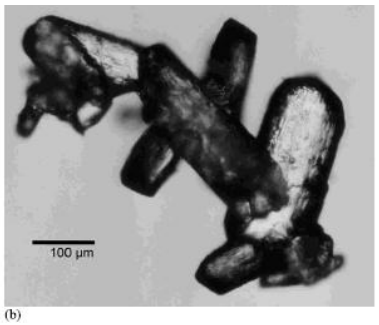
tableting properties of ibuprofen crystals

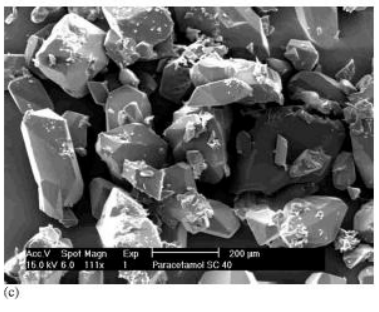


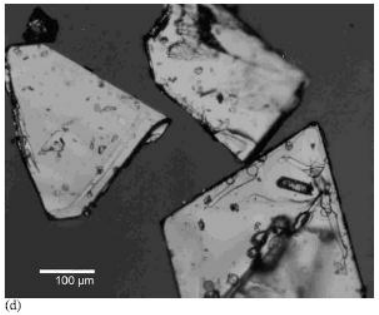
gazza

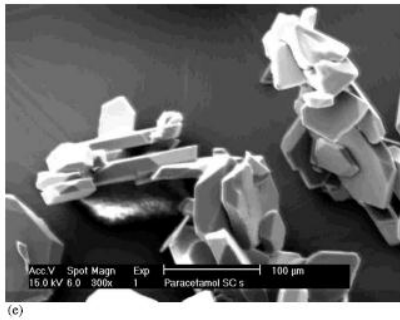
Paracetamolo

Crystal habit and tableting behavior
R.Rasenack and B.W.Muller., Int. J. Pharm.,244, 45-57 (2002)



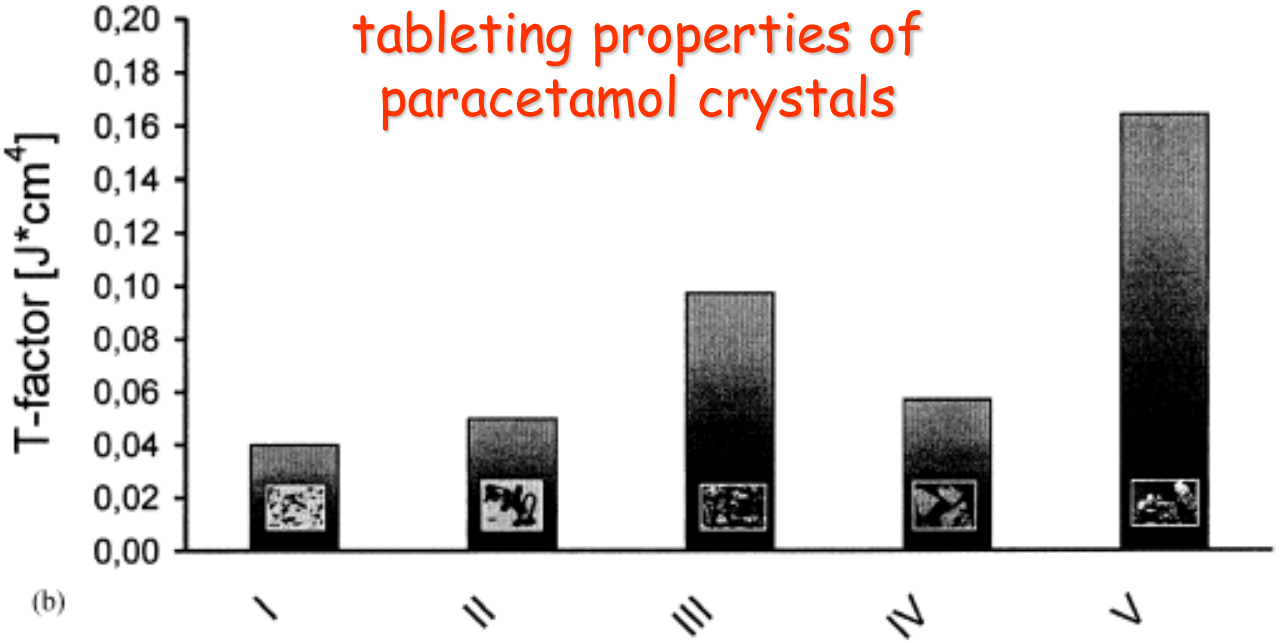






habit I ***habit II*** ***habit III*** ***habit IV*** ***habit V***

tableting properties of paracetamol crystals



gazza

L-lisina cloridrato diidrato

Lisina cloridrato diidrato scelta come **modello** per studiare le relazioni tra caratteristiche morfologiche dei cristalli e proprietà di compattazione

Nella struttura del solido sono presenti degli *slip planes* la cui orientazione nella matrice e quindi nei confonti delle forze applicate durante la compressione può dipendere dalla forma dei cristalli

Cristalli di forma diversa ma uguale struttura interna sono preparati impiegando condizioni di cristallizzazione diverse.

Vengono valutati comparativamente in termini di capacità di compattazione (tableability, compressibility e compactbility), e recovery elastico

Influence of crystal shape on the tableting performance of L-lysine monohydrochloride dihydrate
C.Sun and D.J.W.Grant, J.Pharm.Sci.,90(5), 569-579, (2001)

gazza

L-lisina cloridrato diidrato

Table 1. Thermal Analytical Data and Densities of Two Powers (S and T) Crystallized from Different Solvents[a]

Crystallization Solvent	Crystal Shape	Peak Temperature of Dehydration (°C, $n = 15$)	Sum of Enthalpies of Dehydration and Vaporization (J/g; $n = 15$)	TGA Weight Loss (%) ($n = 3$)	True Density (g/cm^3; $n = 3$)	Tapped Density (g/cm^3; $n = 3$)
Water:ethanol (1:1, v:v), $a_w = 0.80$[17]	prisms (S)	71.6 (0.5)	470.1 (4.1)	16.24 (0.12)	1.263 (0.004)	0.518 (0.003)
Water:acetone (2:1, v:v), $a_w = 0.91$[25]	plates (T)	71.5 (0.2)	468.7 (6.2)	16.31 (0.09)	1.268 (0.005)	0.504 (0.002)

[a] Standard deviations in parentheses.

= forma
≠ habitus

prism-shaped crystals

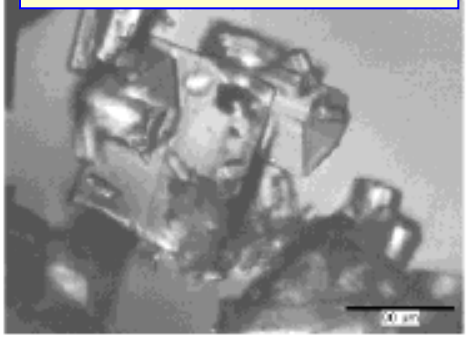
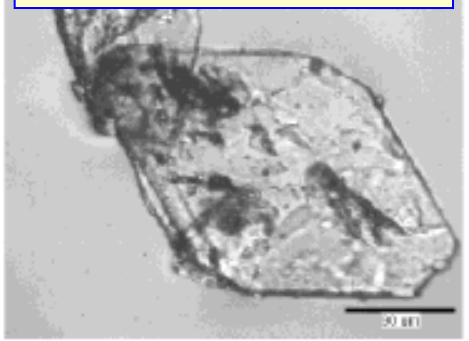


plate-shaped crystals



Influence of crystal shape on the tableting performance of L-lysine monohydrochloride dihydrate
C.Sun and D.J.W.Grant, J.Pharm.Sci.,90(5), 569-579, (2001)

gazza

Tabletability

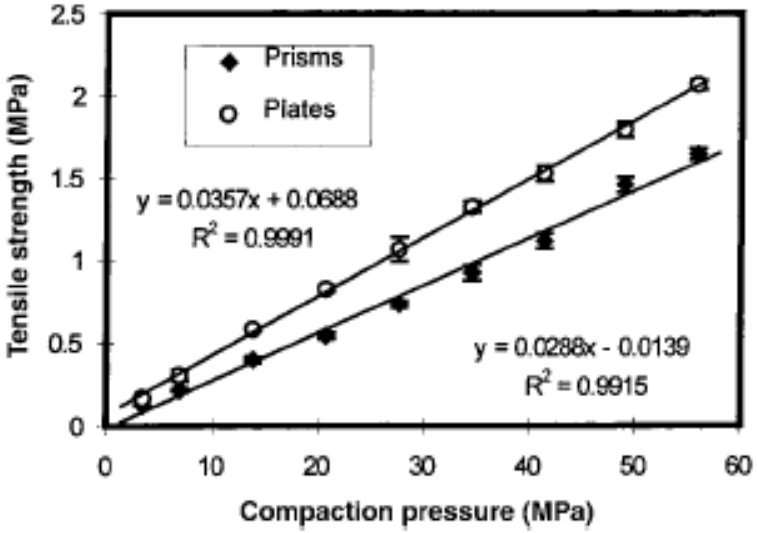
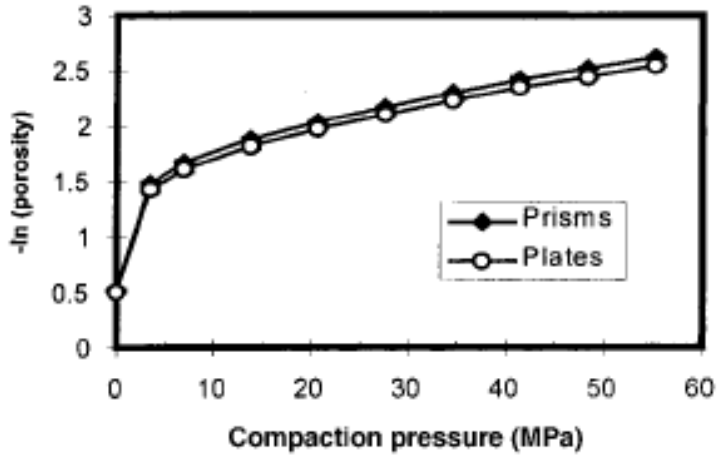


Figure 3. Plots of tensile strength against compaction pressure, showing the influence of crystal shape on the tabletability of LMH dihydrate.

plot di Heckel



I materiali hanno (simile) comportamento plastico

gazza

Compressibility

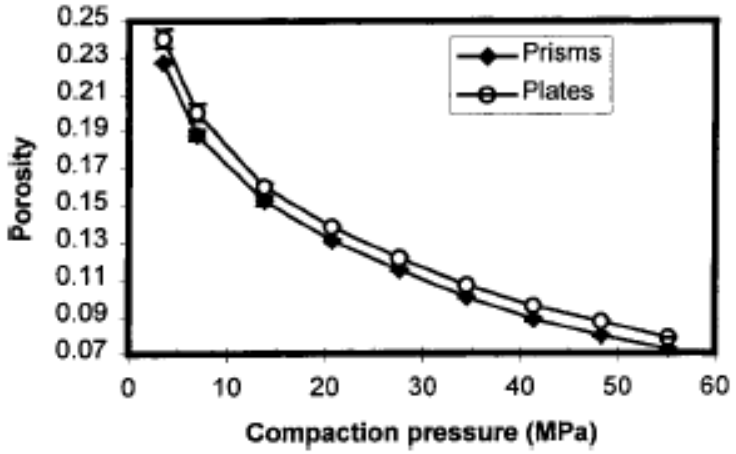


Figure 5. Plots of tablet porosity against compaction pressure, showing the influence of crystal shape on the compressibility of LMH dihydrate.

Compactability

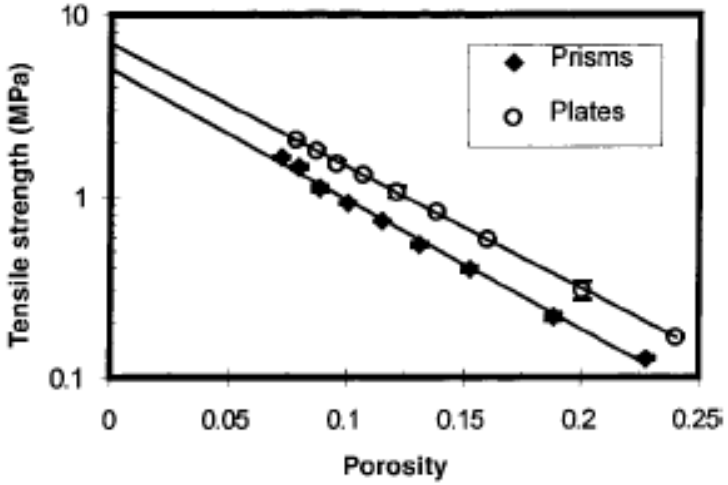


Figure 6. Plots of tensile strength against tablet porosity, showing the influence of crystal shape on the compactibility of LMH dihydrate.

gazza

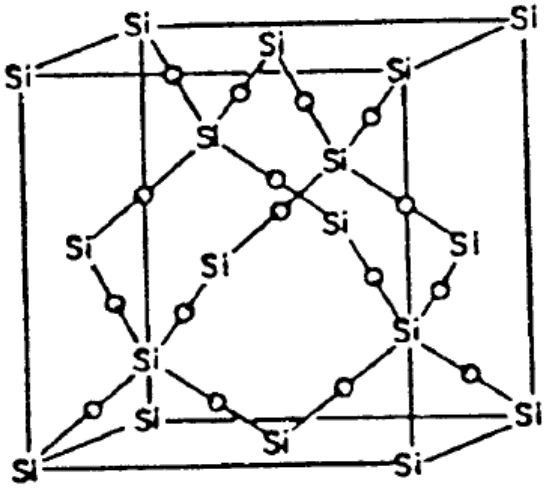
STRUTTURA INTERNA

stato cristallino

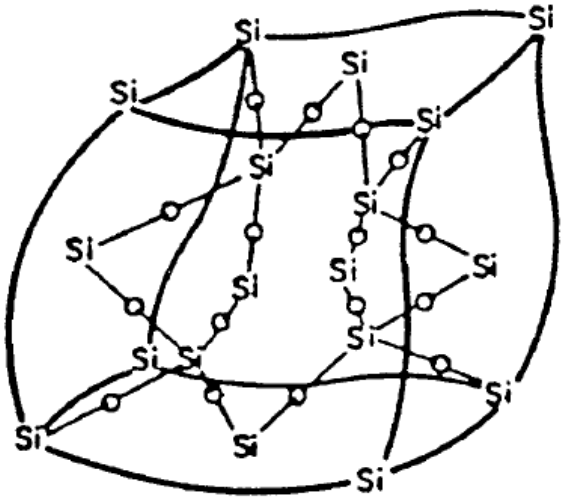
vs.

stato amorfo

solido con molecole che assumono posizioni regolari ed ordinate



solido con elevato disordine nella disposizione delle molecole



gazza

STRUTTURA INTERNA

stato cristallino	vs.	stato amorfo
solido con molecole che assumono posizioni regolari ed ordinate		solido con elevato disordine nella disposizione delle molecole
(ordine a lungo raggio)		(ordine a corto raggio)
ripetizione nelle tre dimensioni della cella elementare		assenza della cella elementare

gazza

STRUTTURA INTERNA

stato cristallino vs. **stato amorfo**

solido con molecole che assumono posizioni regolari ed ordinate

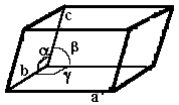
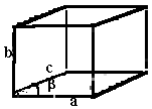
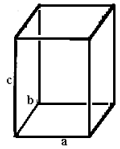
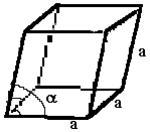
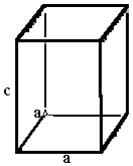
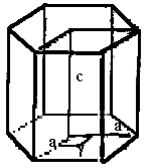
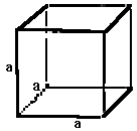
solido con elevato disordine nella disposizione delle molecole

SiO_2 quarzo

SiO_2 vetrosa

gazza

STRUTTURA INTERNA

	Sistema cristallino	Parametri della cella elementare
	Triclino	$a \neq b \neq c$ $\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90°$
	Monoclino	$a \neq b \neq c$ $\alpha = \gamma = 90° \neq \beta$
	Ortorombico	$a \neq b \neq c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90°$
	Trigonale	$a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma \neq 90°$
	Tetragonale	$a = b \neq c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90°$
	Esagonale	$a = b \neq c$ $\alpha = \beta = 90°$ $\gamma = 120°$
	Cubico	$a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90°$

gazza

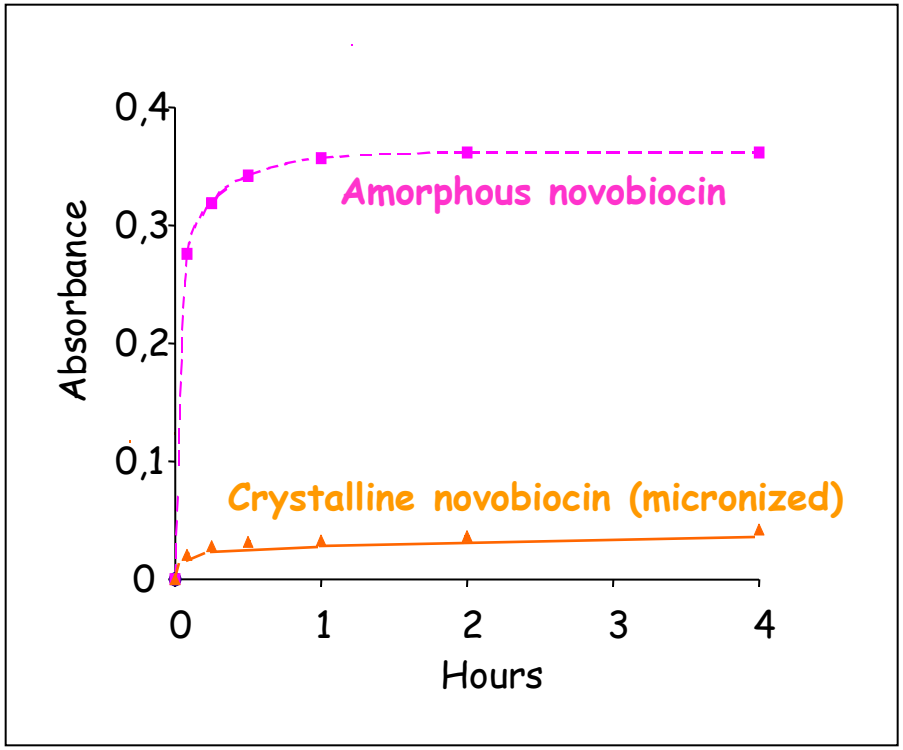
Le sostanze in forma amorfa rispetto alle corrispondenti forme cristalline presentano caratteristiche peculiari legate al loro "disordine" interno:

- maggiore solubilità (apparente)/velocità di dissoluzione
- tendenza alla cristallizzazione
- maggiore reattività allo stato solido
- maggiore igroscopicità

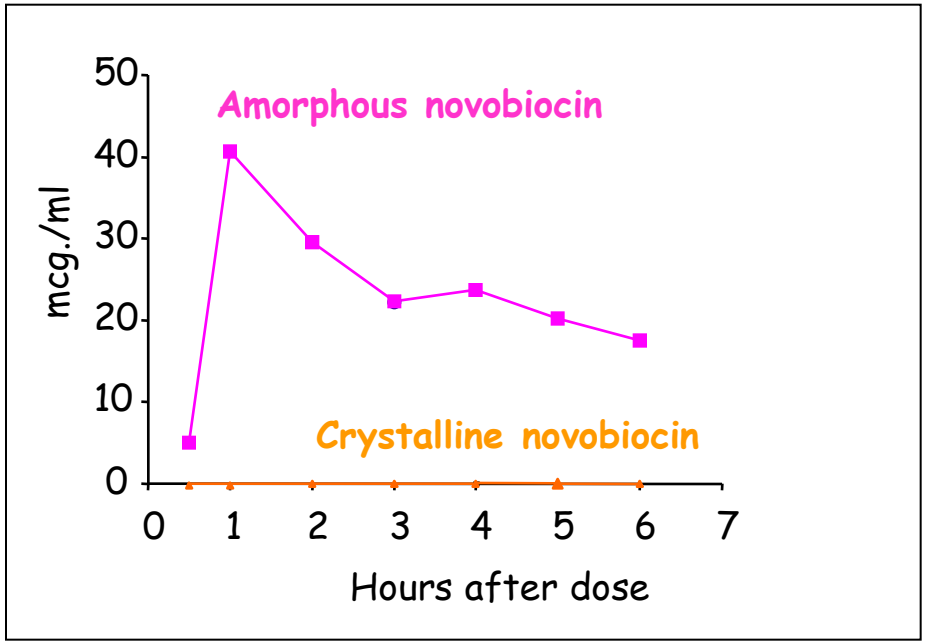
gazza

velocità di dissoluzione

in vitro



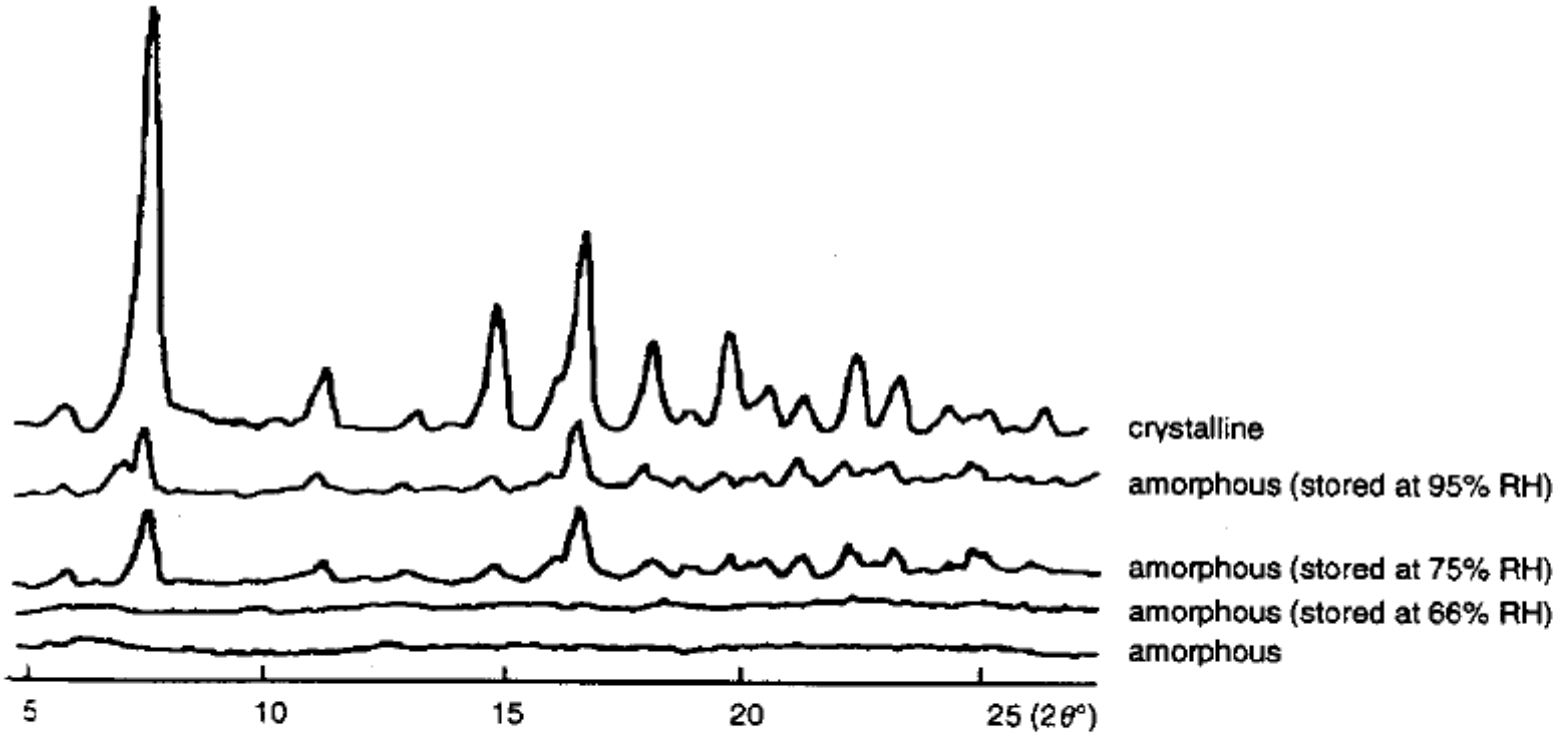
in vivo



Adapted from: J.D. Mullins and T.J. Macek, J. Pharm. Sci. ***49****, 245, 1960*

gazza

Stabilità fisica di prodotti amorfi



12.3 Change in the X-ray powder diffraction pattern of noncrystalline cephalexin stored at 35 °C in various percent relative humidities (Otsuka and Kaneniwa, 1983).

gazza

Preparazione di fasi amorfe

Spray-drying

Liofilizzazione

Precipitazione di acidi o basi per variazioni di pH

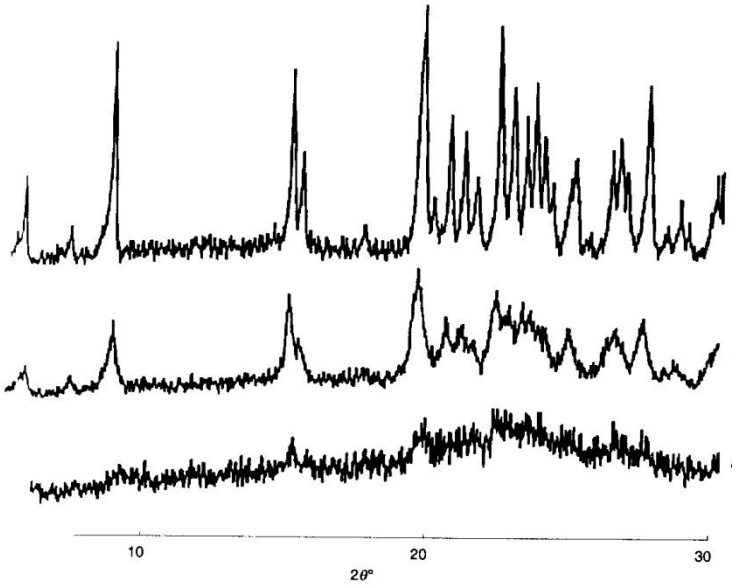
Solidificazione del fuso

Riduzione del particle size

Rimozione del solvente da solvati

……

gazza



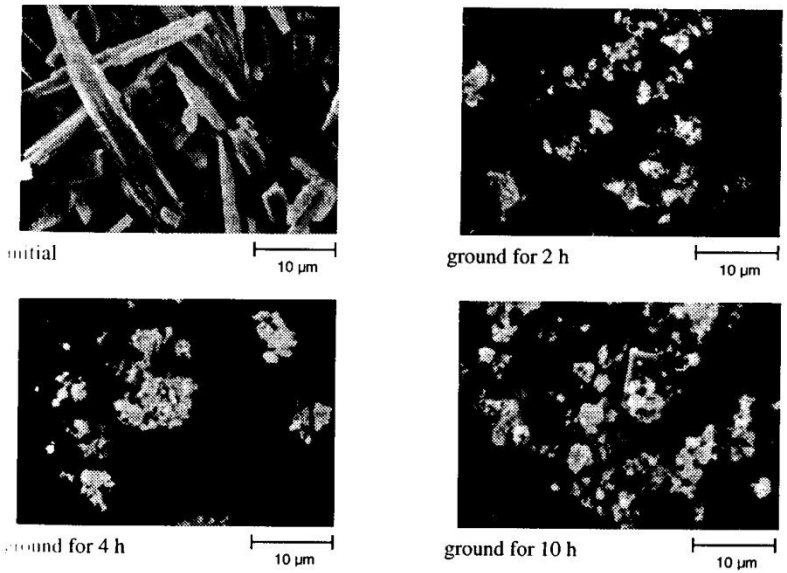
effect of grinding on the x ray pattern of cefixime trihydrate

start

after 1 h in a ball mill

after 4 h in a ball mill

effect of grinding on the morphology of cephalothin sodium



Caratterizzazione dello stato amorfo

il prodotto amorfo non presenta un caratteristico pattern ai raggi X

il prodotto amorfo non presenta il fenomeno della birifrangenza alla luce polarizzata

il prodotto amorfo non presenta un definito* punto di fusione

il prodotto amorfo è caratterizzato da una specifica Tg (temperatura di transizione vetroso-gommosa).

gazza

Glass Transition Temperature T_g

is the temperature below which the molecules are configurationally frozen in the **glassy state** and thus lack the motion of molecules in a liquid. Above the Glass Transition Temperature, the amorphous solid is said to be in the **rubbery state** and will flow (molecules have substantial configurational motion)

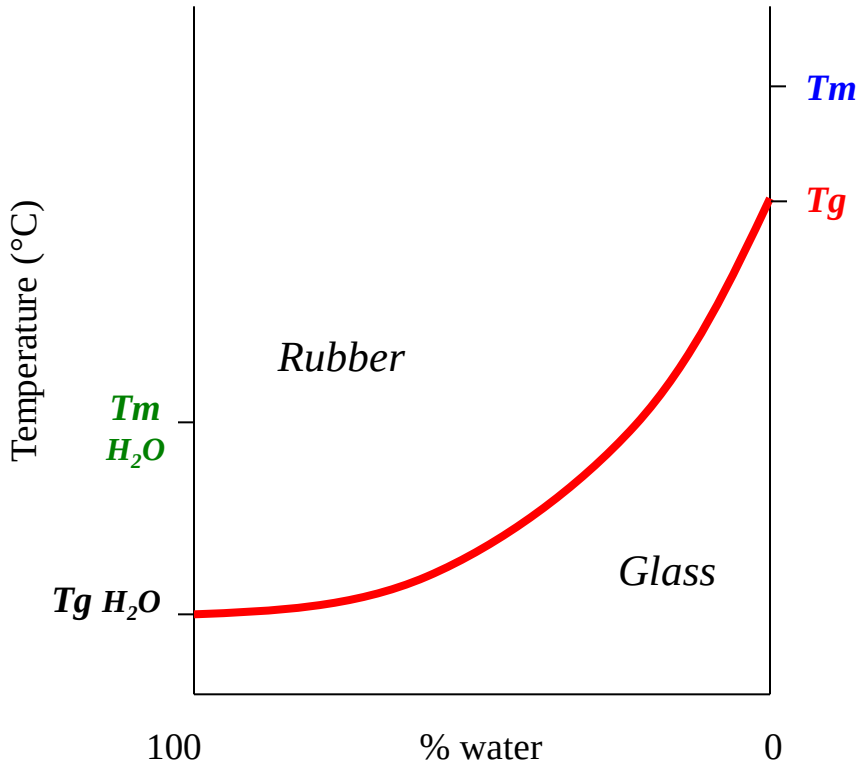
gazza

The Glass Transition Temperatures and their Relationship to the Melting Point of Amorphous Pharmaceuticals

Pharmaceutical	**T_g(K)**	**T_m(K)**	**T_g/T_m**
Acetaminophen	302	441	0.69
Antipyrine	256	380	0.67
Aspirin	243	408	0.59
Atropine	281	379	0.74
Cholecalciferol	296	352	0.84
Cholic acid	393	473	0.83
Dehydrocolic acid	348	502	0.69
Deoxycholic acid	377	447	0.84
Ergocalciferol	290	376	0.77
17 β-Estradiol	351	445	0.80
Ethacrynic acid	282	398	0.71
Flufenamic acid	290	406	0.71
Griseofulvin	370	497	0.74
Methyltestosterone	270	421	0.64
Phenobarbital	321	443	0.72
Phenylbutazone	277	377	0.73
Progesterone	279	399	0.70
Quinidine	326	445	0.73
Quinidine ethylcarbonate	278	362	0.77
Salicin	333	466	0.71
Santonin	290	434	0.67
Stilbestrol	308	439	0.70
Sulfadimethoxine	339	465	0.73
Sulfathiazole	334	471	0.71
Sulfisoxazole	306	460	0.67
Tartaric acid	289	430	0.67

gazza

Plasticization effect of water on Tg



gazza

Stabilità fisica di prodotti amorfi

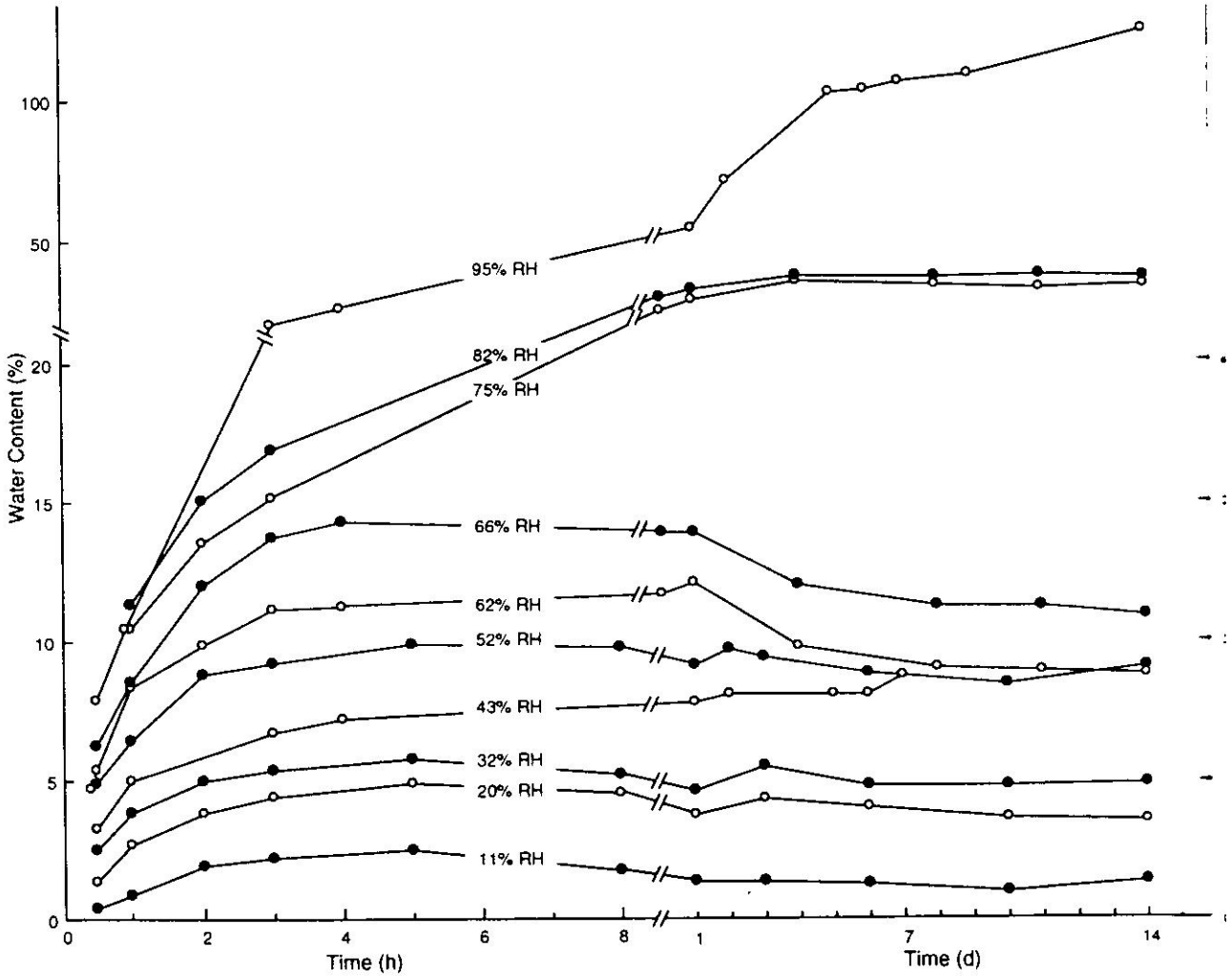


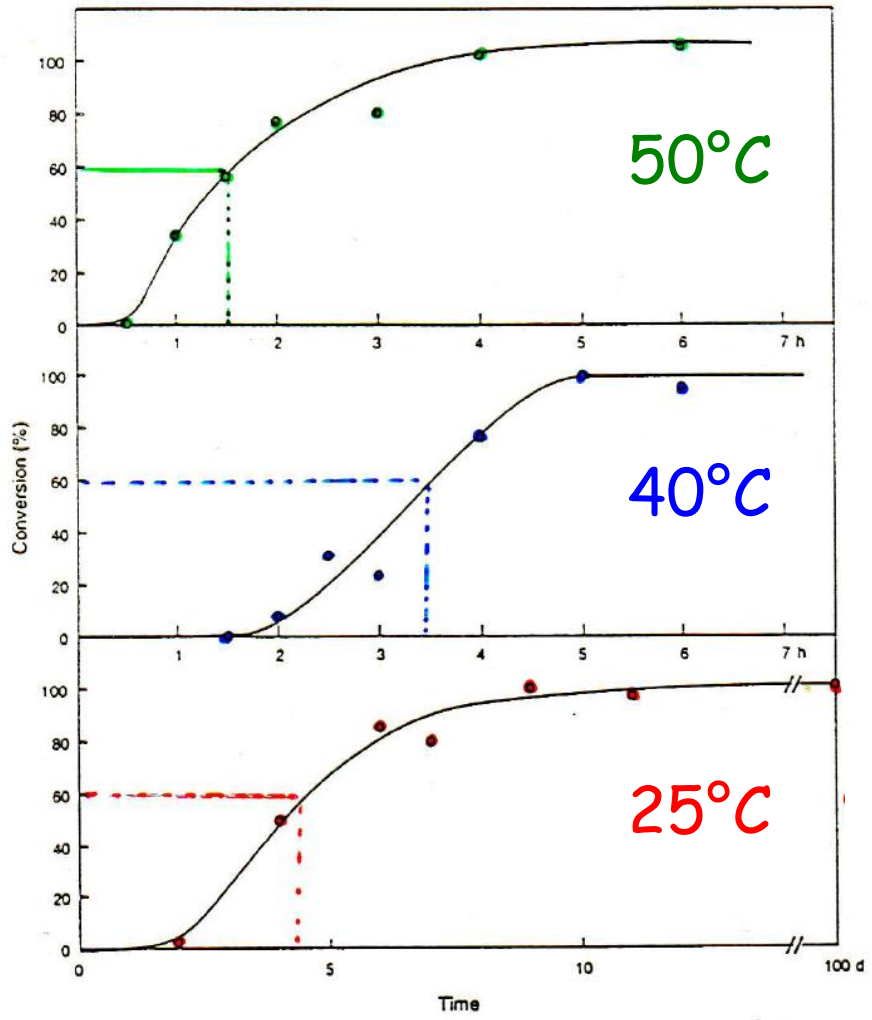
Figure 12.2 Moisture absorption curves of noncrystalline cephalexin at 35 °C in various relative midities (Otsuka and Kaneniwa, 1983).

gazza

Stabilità fisica di prodotti amorfi. *Effetto della temperatura*

ossifenbutazone amorfo $\xrightarrow{T,\ RH}$ ossifenbutazone emidrato

75% RH



~ 1,5 ore

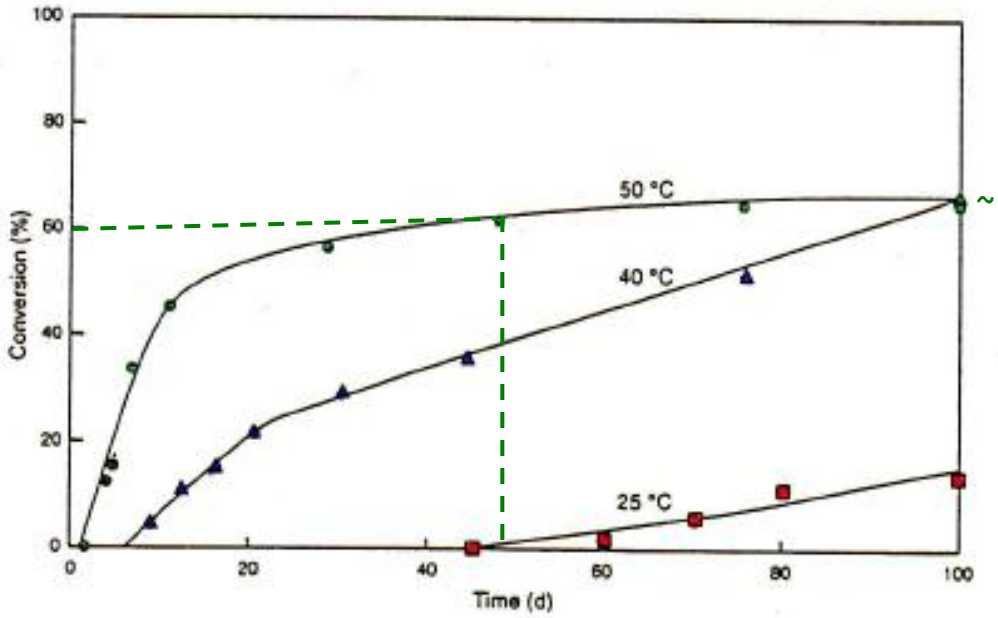
~ 3,5 ore

~ 4 giorni

gazza

Stabilità fisica di prodotti amorfi. *Effetto dell'umidità*

0 % RH



~ 45 giorni

gazza

Implicazioni del fenomeno della cristallizzazione nel processo di LIOFILIZZAZIONE

Effetto della cristallizzazione sul prodotto finito

principio attivo: ↑ STABILITA'

↓ VELOCITA' DI RICOSTITUZIONE/DISSOLUZIONE

eccipienti: ↑ "ELEGANZA"

↓ STABILITA' (proteine)

gazza

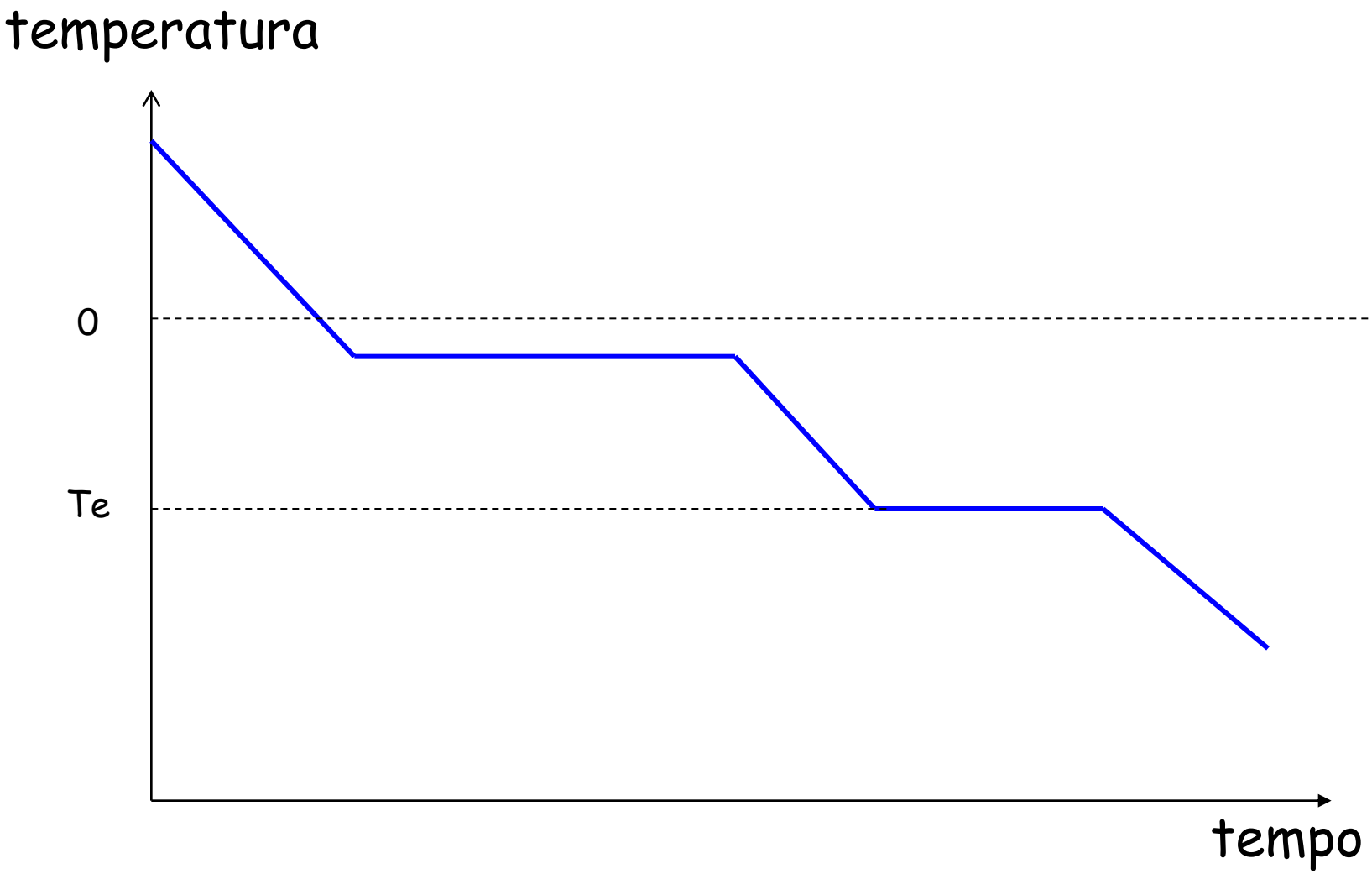
Quando può avvenire la cristallizzazione?

durante la liofilizzazione
(congelamento/essiccamento primario)

durante la conservazione del prodotto finito

gazza

Fase di congelamento



Punti eutettici di soluzioni diluite di vari sali

NaCl	-21,20°C
KCl	-10,70°C
$MgCl_2$	-33,60

Punto eutettico= T alla quale avviene la separazione di una miscela costituita da 2 fasi solide, in equilibrio con una fase liquida, avente composizione costante e ben determinata

gazza

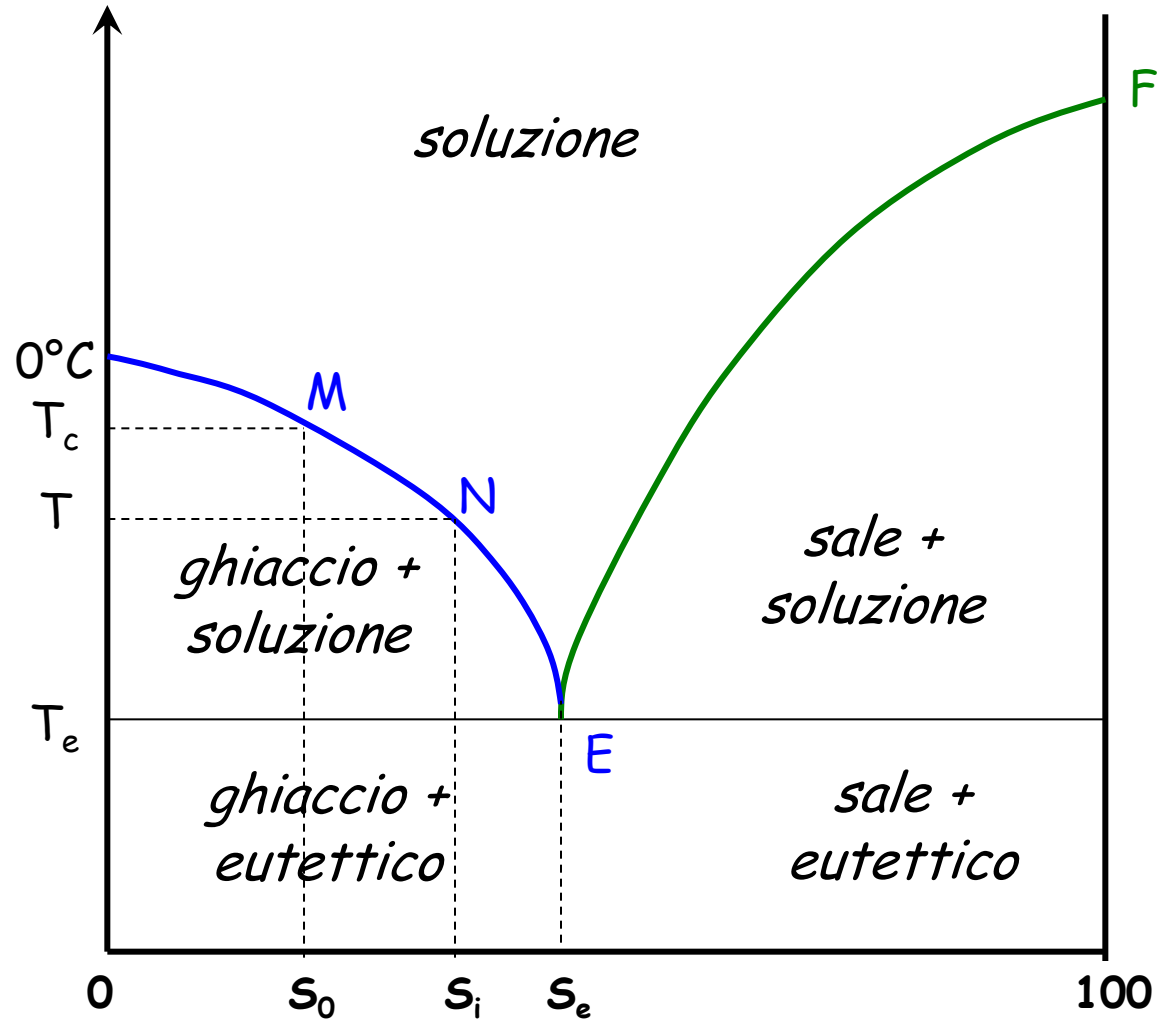


diagramma di equilibrio di una soluzione salina in funzione della concentrazione e della temperatura

gazza

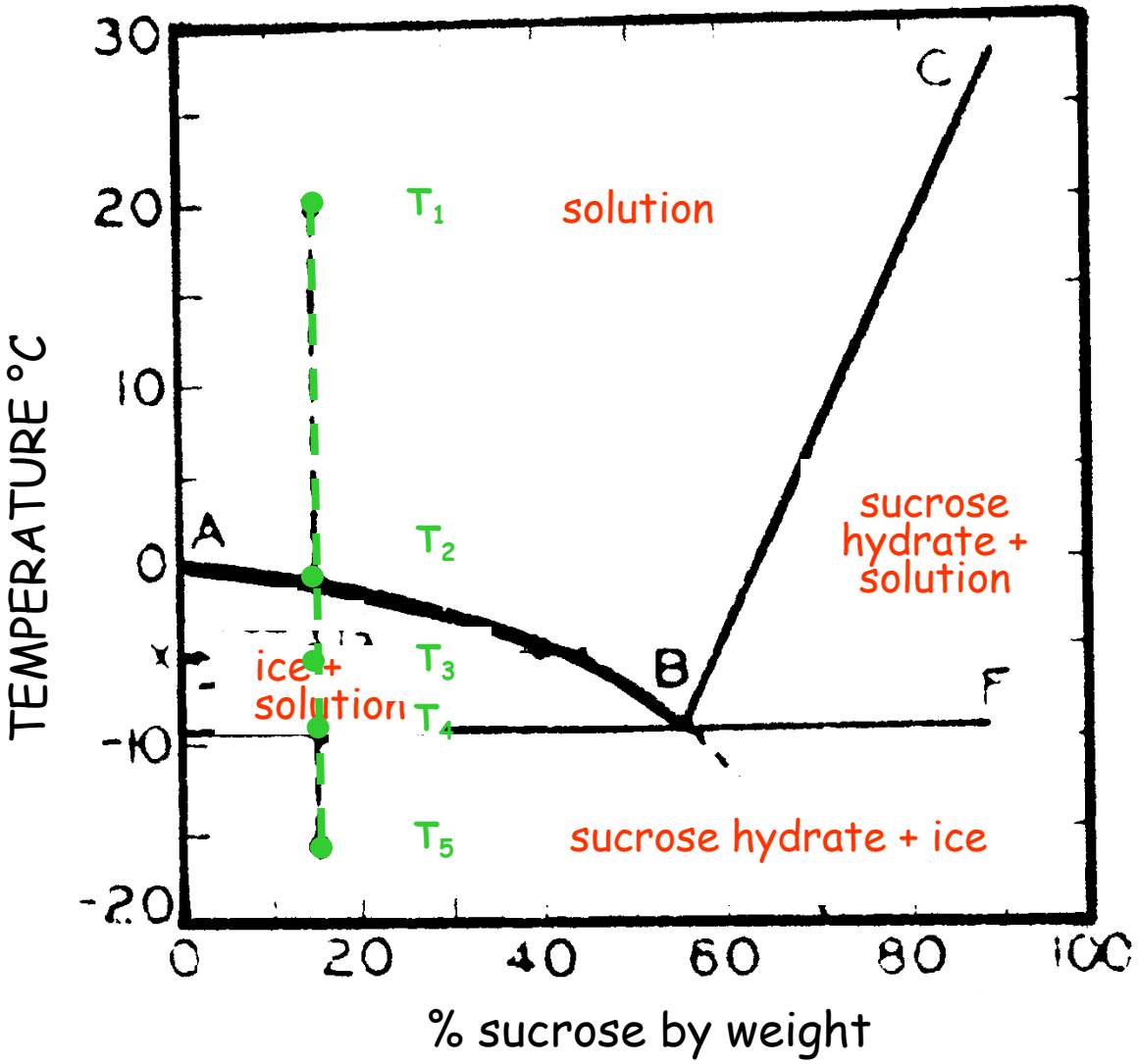
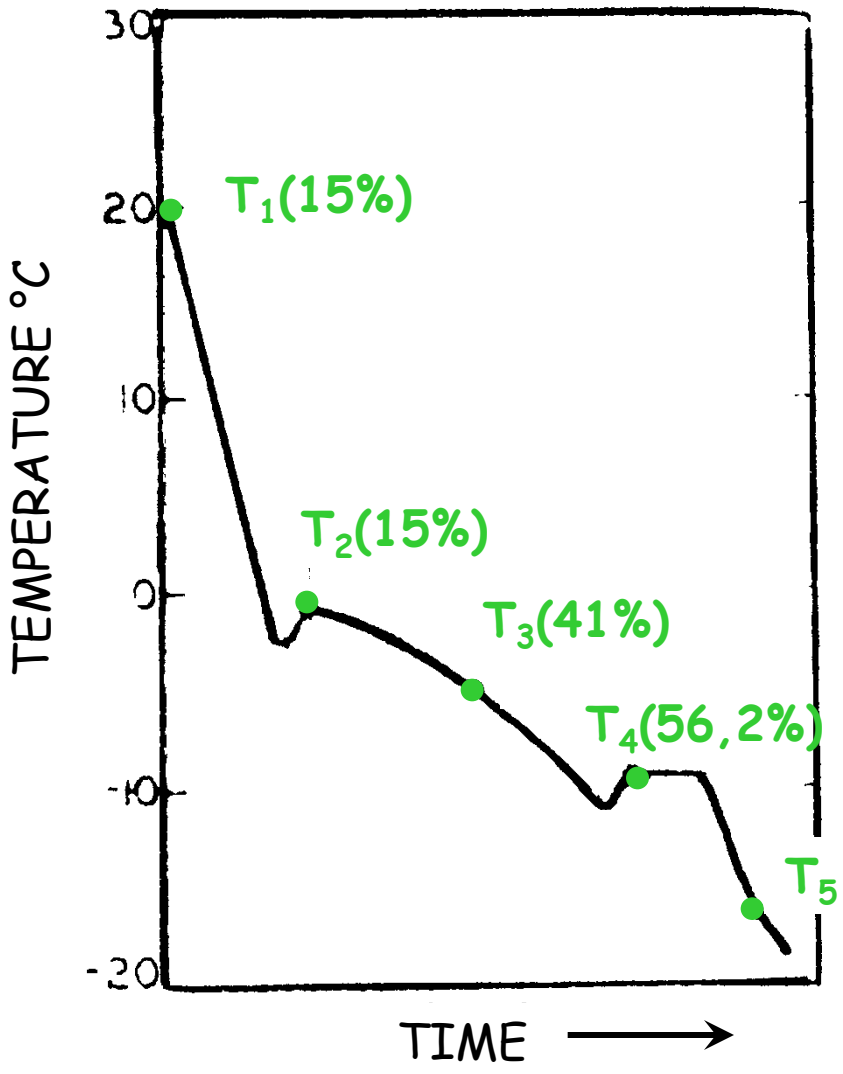


diagramma di equilibrio di una soluzione acquosa di saccarosio in funzione della concentrazione e della temperatura

gazza


30
20
10
0
-10
-20
TEMPERATURE °C
T1(15%)
T2(15%)
T3(41%)
T4(56,2%)
T5
TIME

Fasi della liofilizzazione: CONGELAMENTO per soluti che cristallizzano

+T

soluzione liquida — temperatura ambiente

- - - - - - - - - - - - - - *punto crioscopico*

sol. liquida sottoraffreddata

- nucleazione e cristallizzazione dell'H_2O
- concentrazione della soluzione
- aumento della viscosità

sol. concentrata + cristalli di ghiaccio

sol. satura sottoraffreddata + ghiaccio

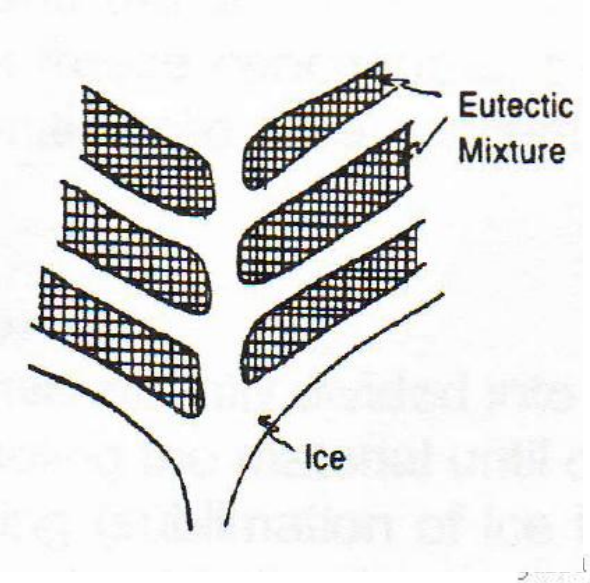
- - - - - - - - - - - - - - *punto eutettico*

soluto solido + ghiaccio

- solidificazione dei componenti dell'eutettico

Alcuni gradi al di sotto della Te

-T



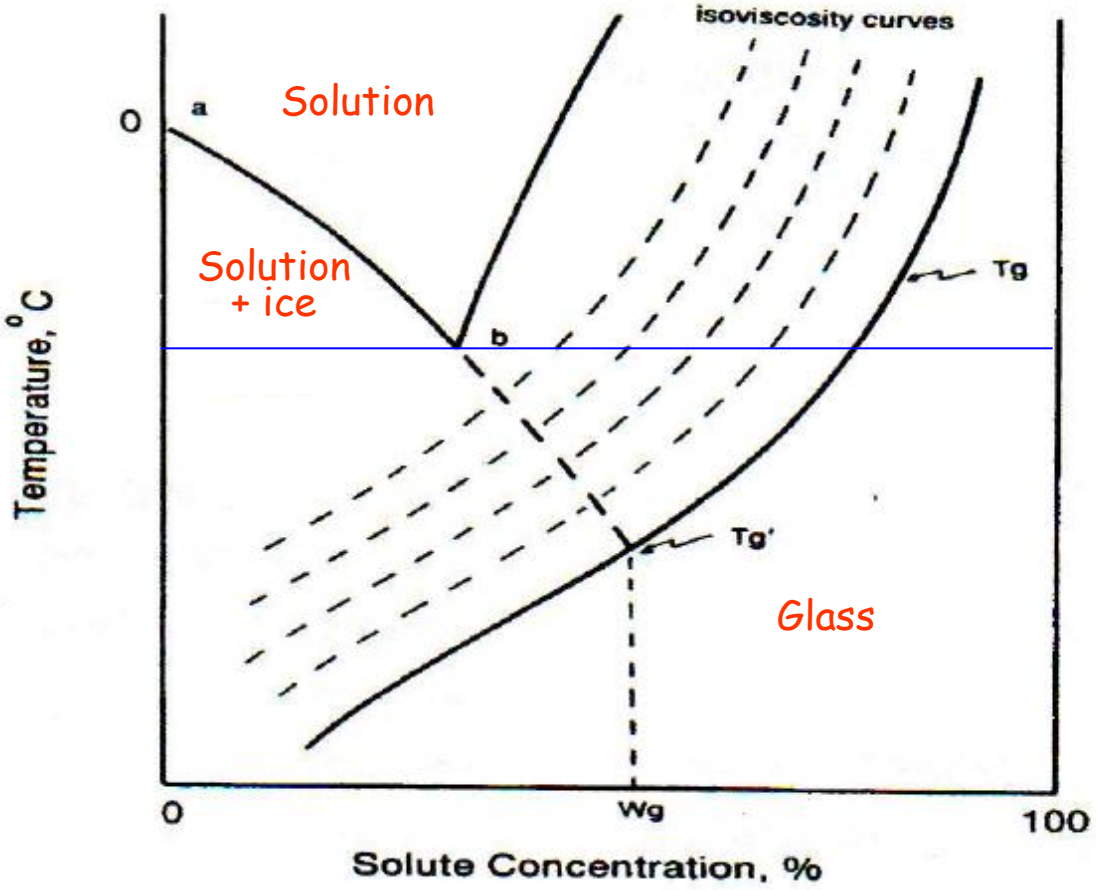


diagramma di equilibrio di una soluzione di un soluto che non cristallizza in funzione della concentrazione e della temperatura

gazza

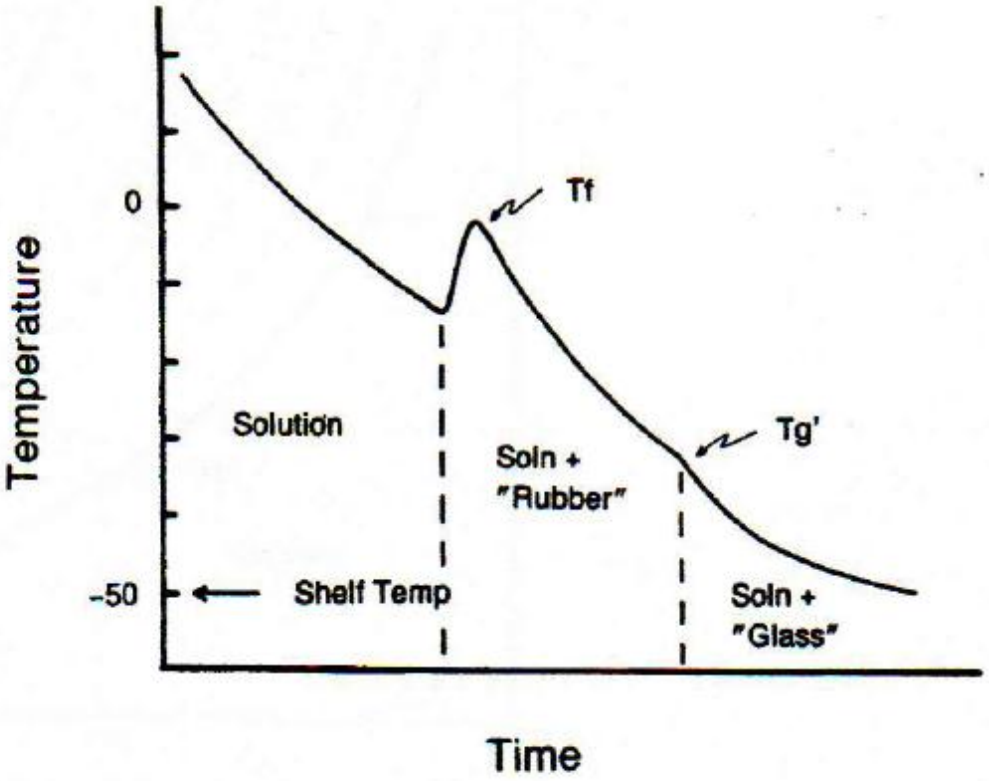


Fig. 7 – Temperature vs. time for freezing of amorphous solute

gazza

Fasi della liofilizzazione: CONGELAMENTO per soluti che NON cristallizzano

+T

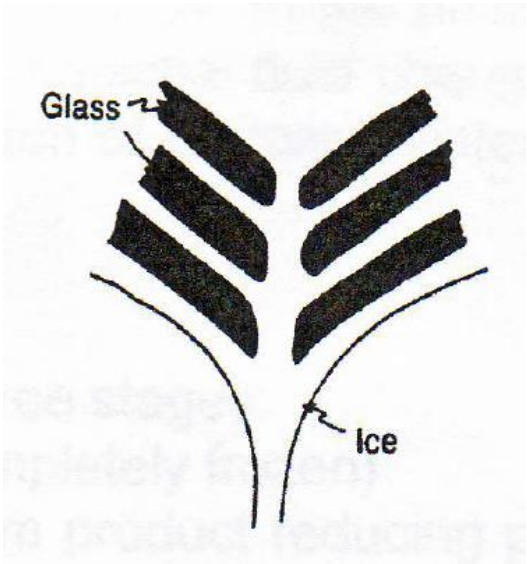
soluzione liquida — temperatura ambiente

- - - - - - - - - - - - - - *punto crioscopico*

sol. liquida sottoraffreddata

- nucleazione e cristallizzazione dell'H_2O
- concentrazione della soluzione
- aumento della viscosità

sol. concentrata + cristalli di ghiaccio



sol. satura sottoraffreddata + ghiaccio

- - - - - - - - - - - - - - *Tg*

materiale allo stato vetroso + ghiaccio

- aumento della viscosità della soluzione e formazione di un sistema vetroso

-T

Alcuni gradi al di sotto della Tg

gazza

Fasi della liofilizzazione: ESSICCAMENTO

PRIMARIO: sublimazione del ghiaccio (50-300 mTorr; -10/-40°C); processo endotermico; la velocità di allontanamento del solvente in questa fase dipende dalla temperatura*

SECONDARIO: allontanamento dell'acqua residua (bassa pressione, temperatura ambiente)

PRODOTTO FINALE

materiale molto poroso, stabile, facilmente ridispersibile

gazza

Per ottenere un prodotto finale con determinate caratteristiche qualitative, è critico e necessario il controllo della temperatura, soprattutto in fase di congelamento e di essiccamento primario

In fase di congelamento è necessario assicurare che tutto il prodotto sia in forma solida, prima di procedere all'essiccamento ($T < T_e, T_g$)

In fase di essiccamento primario un aumento di temperatura può aumentare la velocità del processo ma rischia di compromettere la *qualità* del prodotto finale. Bisogna tenere in considerazione la Te e, nel caso il soluto nel prodotto congelato sia in forma amorfa, la Tg dell'amorfo e la T di collasso del solido

gazza

La cristallizzazione di uno o più componenti della formulazione modifica la composizione della miscela da liofilizzare e quindi la sua Tg.

↑ Tg (per cristallizzazione di sali inorganici) consente di condurre il processo a temperatura maggiore

↓ Tg comporta temperature di processo più basse e tempi più lunghi

gazza

Impatto della cristallizzazione sulla messa a punto di un processo di liofilizzazione

Cristallizzazione

principio attivo: ↑ STABILITA' (chimica e fisica)

↓ VELOCITA' DI RICOSTITUZIONE/DISSOLUZIONE

eccipienti: ↑ "ELEGANZA"

↓ STABILITA' (proteine)

gazza

Quando può avvenire la cristallizzazione?

durante la liofilizzazione
(congelamento/essiccamento primario)

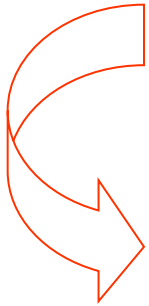
durante la conservazione del prodotto finito

gazza

Liofilizzazione di materiali di natura proteica

Eccipienti (*bulking agents*): crioprotettori

lioprotettori



Cristallini: maggiore "eleganza" e stabilità del preparato

Amorfi: maggior effetto protettivo sulle proteine

Scelta delle opportune condizioni di lioilizzazione per ottenere il/i componente/i nella forma desiderata

gazza

Effetto della cristallizzazione sulla temperatura di collasso

Human Growth Factor: glicina: mannitolo 1:1:5 w/w

congelamento rapido	congelamento lento
mannitolo amorfo	mannitolo cristallino
T collasso= -24°C	T collasso= -5°C

gazza

Effetto della cristallizzazione di un eccipiente sulla frequenza di rottura delle fiale

Frequentemente si osserva la rottura di fiale durante la liofilizzazione di preparati contenenti mannitolo, soprattutto nel caso di elevati volumi di riempimento delle stesse

La rottura si osserva all'inizio dell'essiccamento primario

gazza

Effetto della cristallizzazione di un eccipiente sulla frequenza di rottura delle fiale

durante il congelamento della soluzione si forma mannitolo amorfo

Tg mannitolo amorfo ~ -30°C

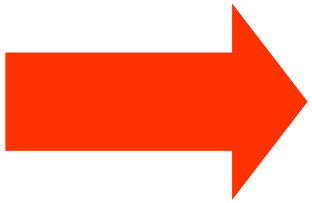
l'essiccamento primario è condotto a ~ -26°C

cristallizzazione del mannitolo durante l'essiccamento primario: l'acqua che viene liberata dall'amorfo può cristallizzare, con conseguente aumento di volume e quindi rottura delle fiale

gazza

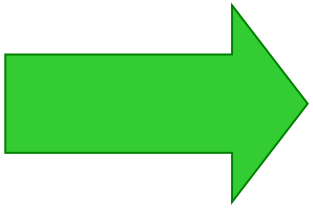
Il problema può essere risolto facendo avvenire la cristallizzazione del mannitolo lentamente e PRIMA dell'essiccamento primario, durante il congelamento

congelamento a 0.3°C/min fino a -50°C



40% di fiale rotte

congelamento a 0.1°C/min a -18°C (>Tg)



0% di fiale rotte

gazza

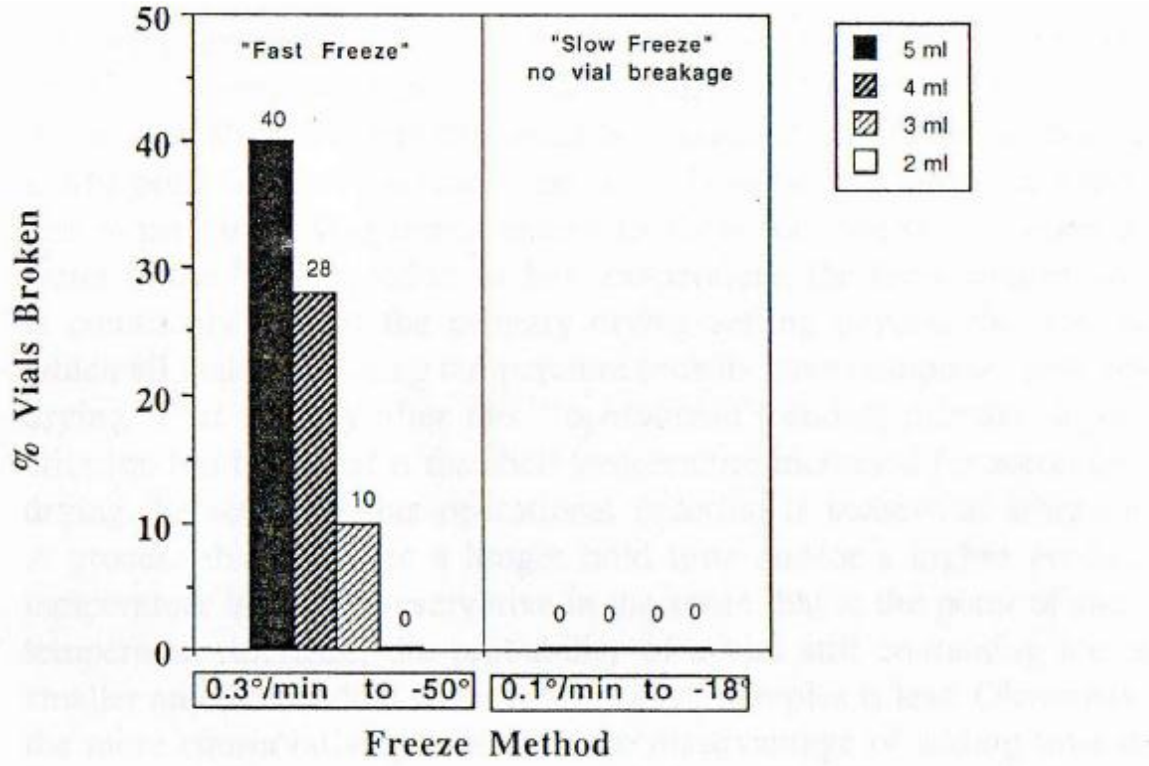


Fig. 1. Impact of process on crystallization: mannitol crystallization and vial breakage. Aqueous mannitol (5%) freeze-dried at a product temperature of −15°C during primary drying. (Data taken from Ref. 4.)

gazza

Influenza delle condizioni operative della liofilizzazione sulle caratterisitche di dissoluzione del p.a.

Dobutamina Cloridrato viene co-liofilizzata con mannitolo in rapporto 1:1 p/p per ottenere l'attivo in forma amorfa (ricostituzione del liofilizzato rapida e completa)

In qualche lotto si sono verificati problemi nella ricostituzione del prodotto

In questi lotti sono stati ritrovati sia l'attivo che il mannitolo parzialmente o completamente cristallini

gazza

Influenza delle condizioni operative della liofilizzazione sulle caratterisitche di dissoluzione del p.a.

Fattori determinanti nella formazione di prodotto cristallino sono stati individuati nella:

1) posizione dei coperchi sui flaconi sottoposti a liofilizzazione
2) "modalità" di passaggio dalle condizioni di essiccamento primario a quello secondario

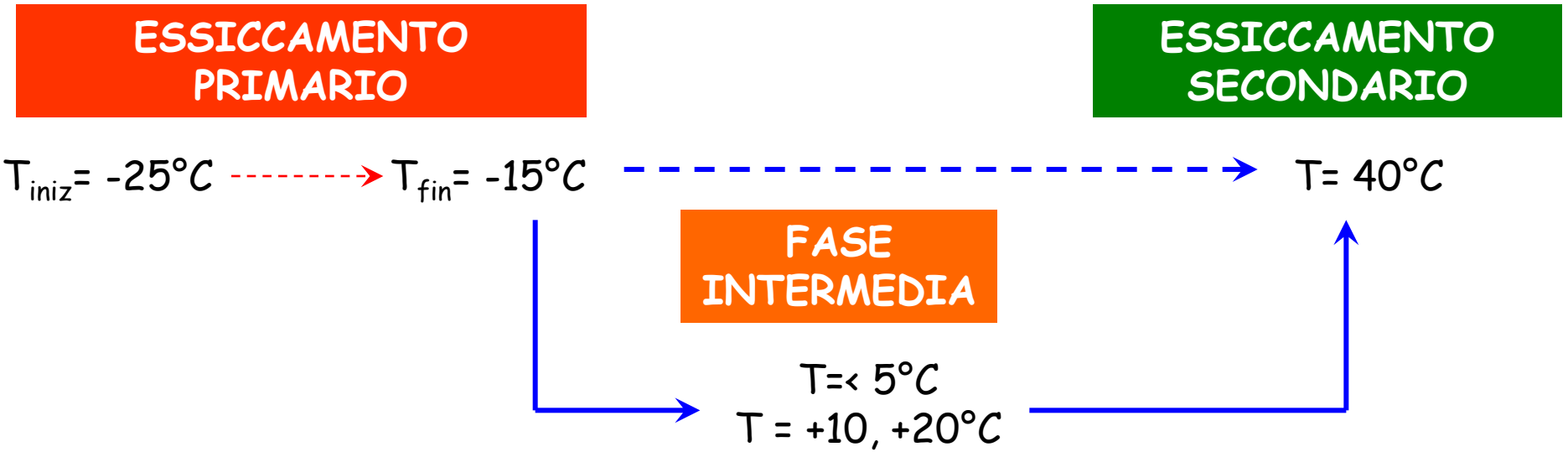
gazza

1) posizione dei coperchi sui flaconi sottoposti a liofilizzazione

se il coperchio del flacone è posizionato in modo tale ostacolare la fuoriuscita del vapore e quindi causare un rallentamento del processo di essiccamento primario, si può verificare un aumento di temperatura del materiale; questo può portare alla cristallizzazione del farmaco

gazza

2) "modalità" di passaggio dalle condizioni di essiccamento primario a quello secondario



Più lunga è la durata della fase intermedia e maggiore la temperatura alla quale è condotta, minore è il contenuta residuo di acqua nel campione. Lo svantaggio è l'allungamento dei tempi di processo

gazza

La cristallizzazione avviene generalmente quando il prodotto è conservato a T>Tg*

<u>Più lentamente</u> può avvenire anche a T<Tg

La cristallizzazione è fortemente accelerata dall'assorbimento di umidità (↓ Tg)

** nella formulazione si utilizzano materiali che fanno aumentare la Tg dell'amorfo*

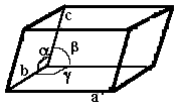
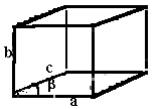
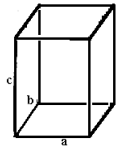
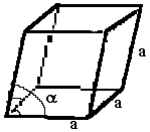
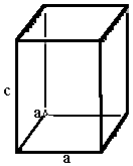
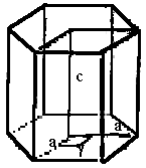
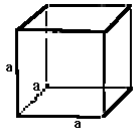
gazza

La liofilizzazione permette di arrivare ad un basso contenuto di umidità nel solido

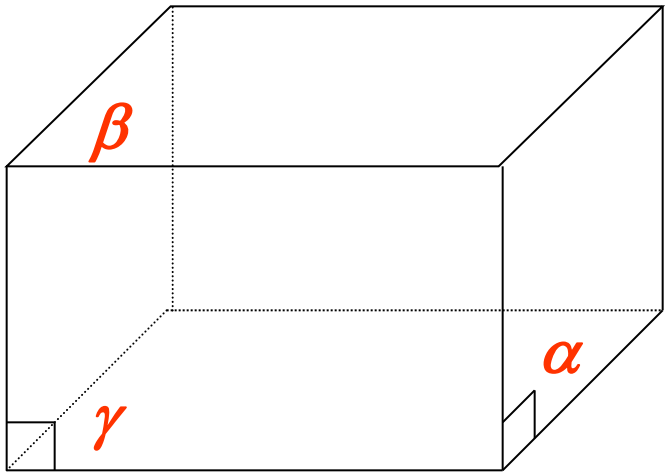
Il solido però può assumere l'umidità presente nell'ambiente della fiale (di scarsa entità), ma soprattutto quella ceduta dal materiale del coperchio (materiali di natura gommosa, se non opportunamente trattati possono trattenere l'umidità in fase di sterilizzazione al vapore)

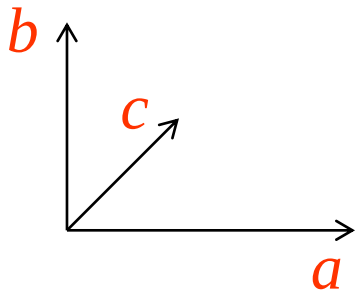
gazza

STRUTTURA INTERNA

	Sistema cristallino	Parametri della cella elementare
	Triclino	$a \neq b \neq c$ $\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90°$
	Monoclino	$a \neq b \neq c$ $\alpha = \gamma = 90° \neq \beta$
	Ortorombico	$a \neq b \neq c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90°$
	Trigonale	$a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma \neq 90°$
	Tetragonale	$a = b \neq c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90°$
	Esagonale	$a = b \neq c$ $\alpha = \beta = 90°$ $\gamma = 120°$
	Cubico	$a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90°$

gazza





Unit cell: the smallest three-dimensional volume element from which the crystal can be constructed

Unit cell parameters: the parameters (a, b, c, α, β, γ) that define the crystallographic unit cell.

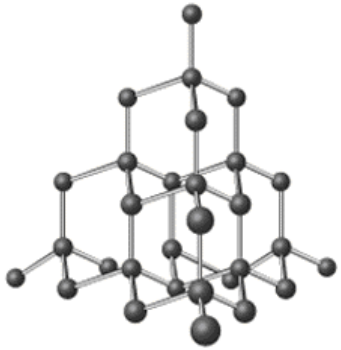
gazza

POLIMORFISMO

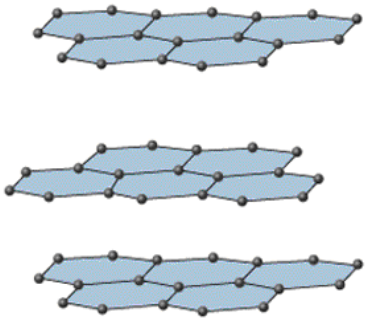
capacità di una sostanza di esistere in almeno due fasi cristalline *chimicamente identiche* ma differenti nella disposizione e/o nella conformazione delle molecole nella cella elementare

gazza

forme solide del carbonio



diamante

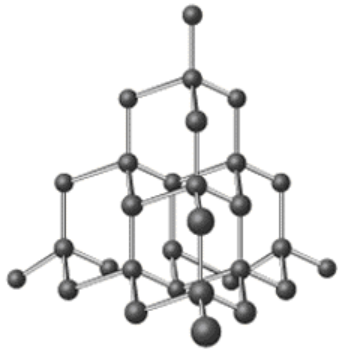


grafite

solidi macromolecolari o covalenti: la struttura è determinata dalla direzionalità dei legami covalenti. Il **diamante** e la **grafite** sono due forme *allotropiche* del carbonio.

gazza

DIAMANTE

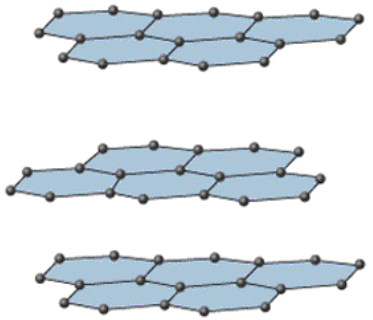


Ogni cristallo di diamante è come un'unica, grande molecola in cui ciascun atomo di carbonio forma legami covalenti con quattro atomi vicini disposti a tetraedro.

gazza

GRAFITE

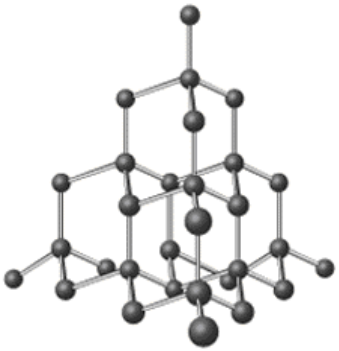
La grafite si compone di estesi piani di atomi di carbonio legati tra loro con legame covalente con orbitali ibridi sp^2 in modo da formare una serie di esagoni concatenati.



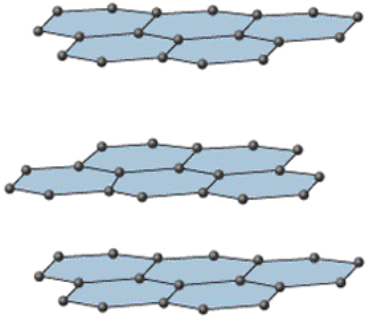
I piani si dispongono parallelamente l'uno sull'altro. Ogni atomo di carbonio dispone ancora di un elettrone in un orbitale p perpendicolare al piano della macromolecola. La sovrapposizione di questi orbitali genera un legame π esteso su tutta la superficie.

gazza

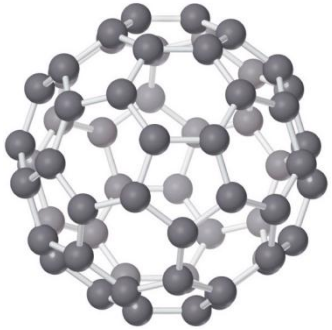
forme solide del carbonio



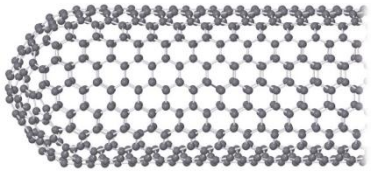
diamante



grafite



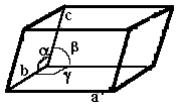
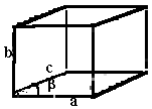
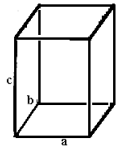
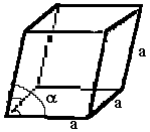
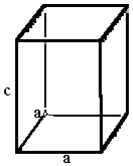
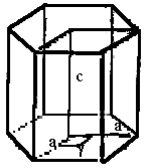
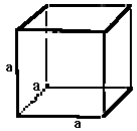
fullereni



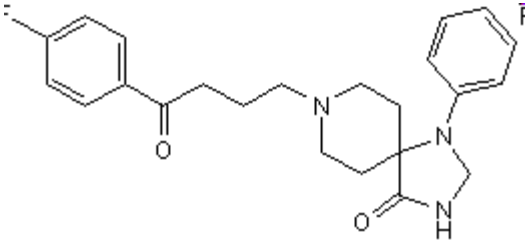
nanotubi

gazza

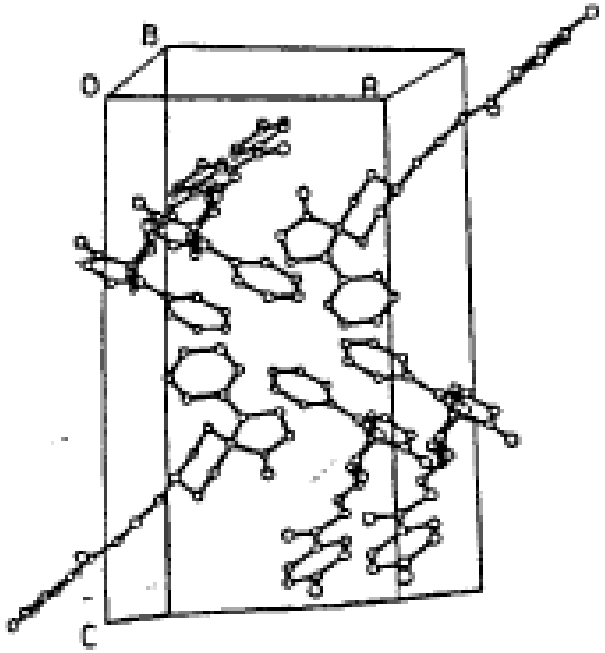
Struttura cristallina

	Sistema cristallino	Parametri della cella elementare
	Triclino	$a \neq b \neq c$ $\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90°$
	Monoclino	$a \neq b \neq c$ $\alpha = \gamma = 90° \neq \beta$
	Ortorombico	$a \neq b \neq c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90°$
	Trigonale	$a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma \neq 90°$
	Tetragonale	$a = b \neq c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90°$
	Esagonale	$a = b \neq c$ $\alpha = \beta = 90°$ $\gamma = 120°$
	Cubico	$a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90°$

gazza



Spiperone



Forma I
(monoclina)

gazza

Forze responsabili dell'impaccamento delle molecole nel cristallo

Solidi ionici: legami ionici

Solidi organici: legami a idrogeno

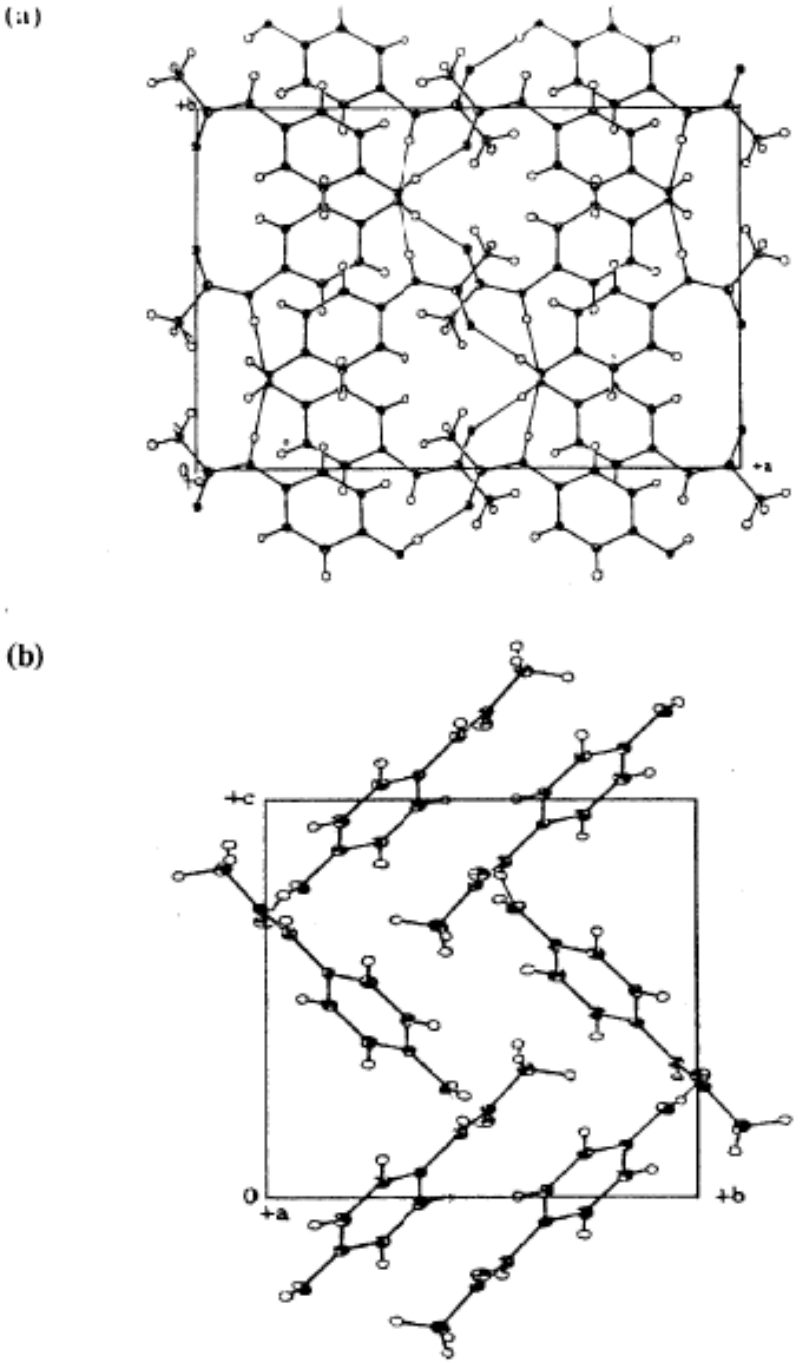
altri legami non covalenti (forze che dipendono dal momento dipolare, dalla polarizzabilità e dalla distribuzione elettronica dnlla molecola)

gazza

Paracetamolo

ortorombico

monoclino

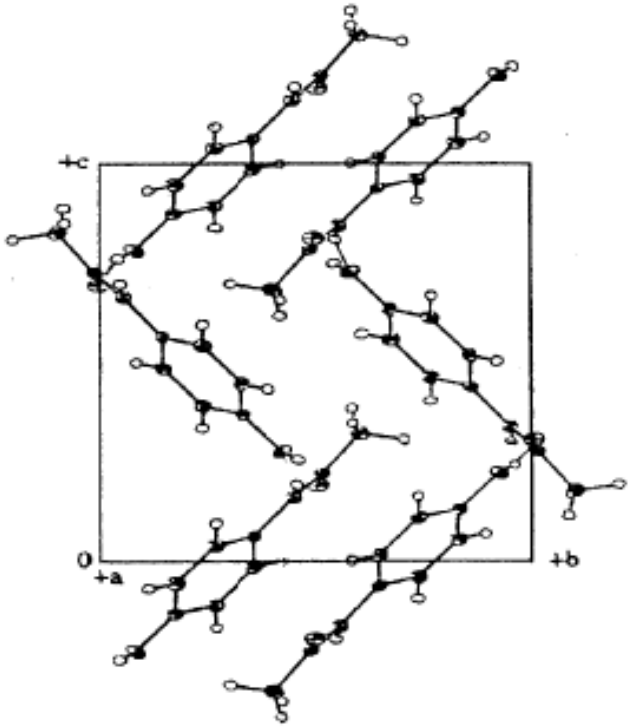


gazza

Table 1 Crystal Data for Two Polymorphs of Acetaminophen

Crystal data and structure refinement	Orthorhombic phase	Monoclinic phase
Empirical formula	$C_8H_9NO_2$	$C_8H_9NO_2$
Formula weight	151.16	151.16
Crystal system	Orthorhombic	Monoclinic
Space group	*Pbca*	$P2_1/n$
Unit cell dimensions	a = 17.1657(12) Å	a = 7.0941(12) Å
	b = 11.7773(11) Å	b = 9.2322(11) Å
	c = 7.212(2) Å	c = 11.6196(10) Å
	α = 90.000°	α = 90.000°
	β = 90.000°	β = 97.821(10)°
	γ = 90.000°	γ = 90.000°
Volume	1458.1(4) Å^3	753.9(2) Å^3
Z	8	4
Density (calculated)	1.377 g/cm^3	1.332 g/cm^3
Crystal size	0.28 × 0.25 × 0.15 mm	0.30 × 0.30 × 0.15 mm
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	Full-matrix least-squares on F^2
Hydrogen bond lengths and angles		
H(5)O(2)	1.852(26) Å	1.772(20) Å
H(6)O(1)	2.072(28) Å	2.007(18) Å
O(1)—H(5)O(2)	170.80(2.35)°	166.15(1.75)°
N(1)—H(6)O(1)	163.52(2.19)°	163.93(1.51)°

simmetria



gazza

Operazione di simmetria: movimento di un corpo tale per cui dopo che il movimento è avvenuto, ogni punto del corpo è coincidente con un punto equivalente (o addirittura con il punto stesso) del corpo nella sua orientazione precedente

Elemento di simmetria: entità geometrica, come una retta un piano o un punto, rispetto al quale possono essere eseguite una o più operazioni i simmetria

Elementi di simmetria:
- identità
- piano di simmetria
- centro di inversione (simmetria)
- asse di simmetria
- asse-piano di simmetria

gazza

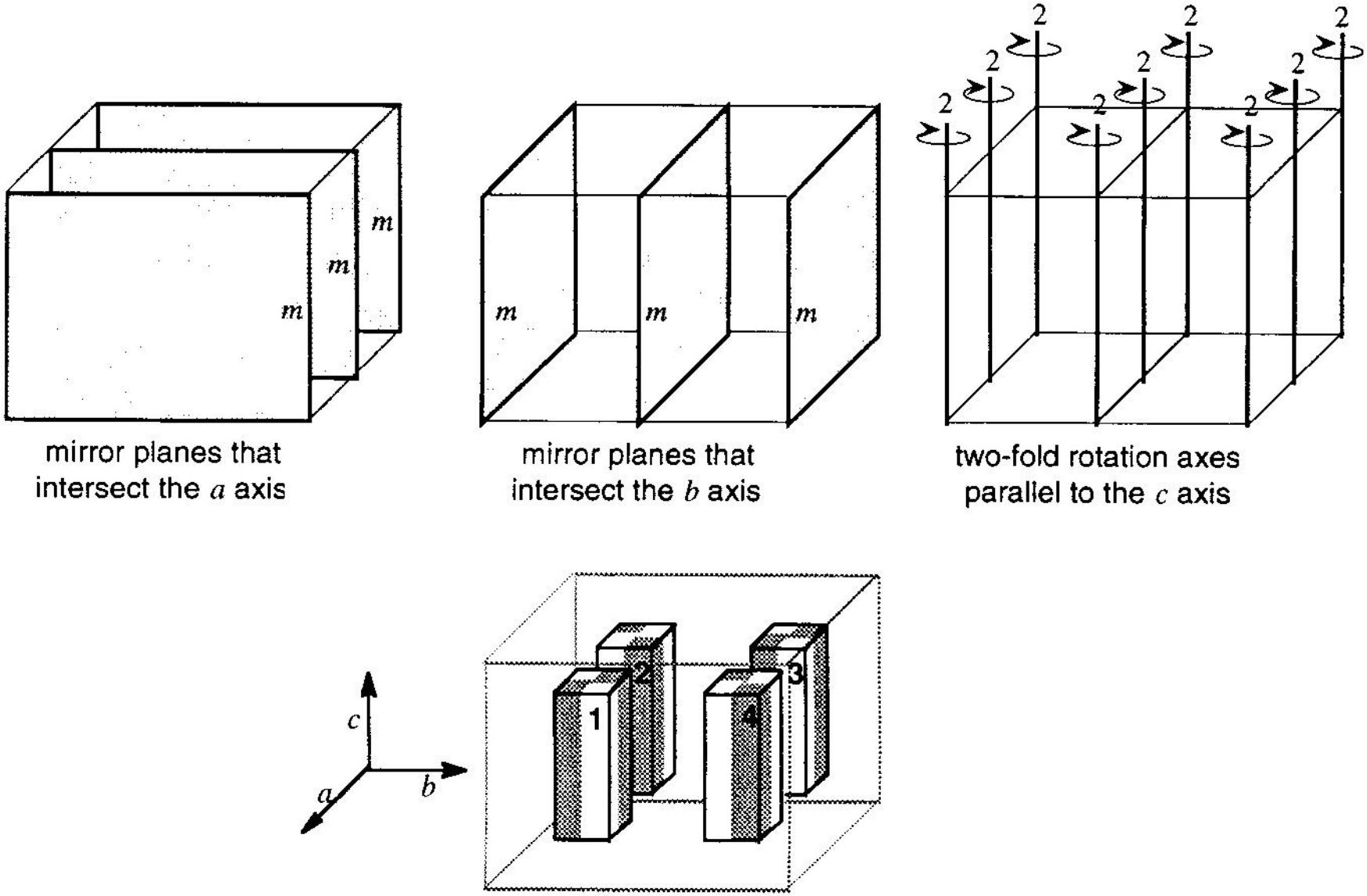


Figure 1.5 Symmetry elements for space group *Pmm*2.

gazza

Sistema cristallino	Parametri della cella elementare	Classi di simmetria	Gruppi spaziali
Triclino	$a \neq b \neq c$ $\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90°$	2	2
Monoclino	$a \neq b \neq c$ $\alpha = \gamma = 90° \neq \beta$	3	13
Ortorombico	$a \neq b \neq c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90°$	3	59
Trigonale	$a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma \neq 90°$	5	25
Tetragonale	$a = b \neq c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90°$	7	68
Esagonale	$a = b \neq c$ $\alpha = \beta = 90° \gamma = 120°$	7	27
Cubico	$a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90°$	5	36

gazza

"highly polymorphic materials"

> 3 polymorphs

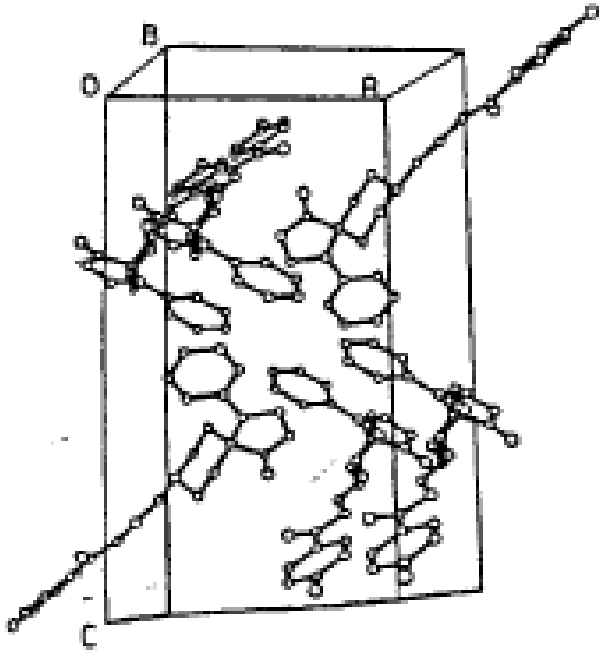
S. Morissette et al., Adv. Drug Deliv. Rev., 56(3), 275-300, 2004

Composto	n° polimorfi	altre forme
Fenobarbital	12	*1 idrato*
Cimetidina	7	*idrati*
Testosterone	7	
Sulfatiazolo	5	*vari solvati*
Carbamazepina	4	*1 diidrato, solvati*
Ritonavir	2	*3 solvati*
Furosemide	4	*2 solvati*

S. Bryn et al., Solid State Chemistry of Drugs, 1999

gazza

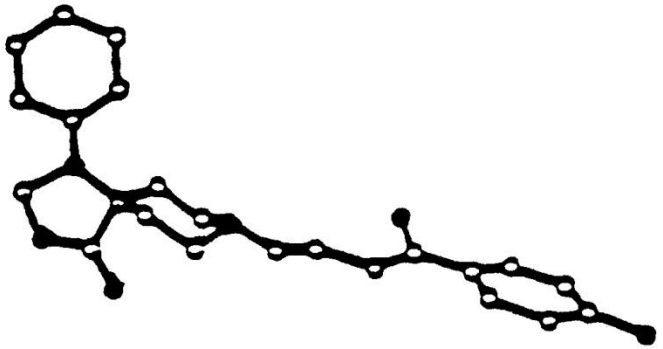
Spiperone



Forma I

gazza

Form I



Form II

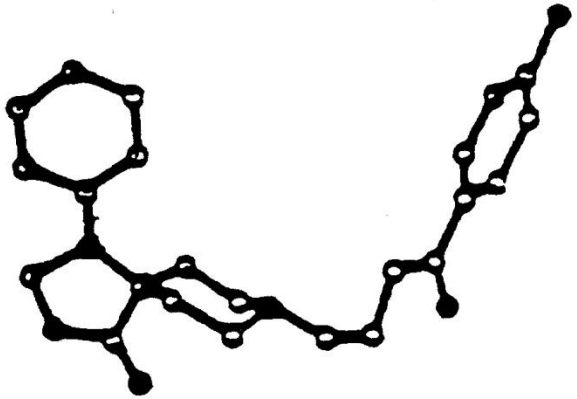


Fig. 3 The molecular conformations of the spiperone molecule in polymorphic forms I and II [8]. (Reproduced with permission of the copyright owner, the American Pharmaceutical Association, Washington, DC.)

gazza

Table 2 Crystal Data for Two Polymorphs of Spiperone

	Form I	Form II
Empirical formula	$C_{23}H_{26}FN_3O_2$	$C_{23}H_{26}FN_3O_2$
Molecular weight	395.46	395.46
Crystal system	Monoclinic	Monoclinic
Space group	$P2_1/a$	$P2_1/c$
Unit cell dimensions	$a = 12.722$ Å	$a = 18.571$ Å
	$b = 7.510$ Å	$b = 6.072$ Å
	$c = 21.910$ Å	$c = 20.681$ Å
	$\alpha = 90.00°$	$\alpha = 90.00°$
	$\beta = 95.08°$	$\beta = 118.69°$
	$\gamma = 90.00°$	$\gamma = 90.00°$
Unit cell volume	2085.1 Å^3	2045.7 Å^3
Z	4	4

Source: Ref. 8. Reproduced with permission of the copyright owner, the American Pharmaceutical Association, Washington, DC.

gazza

frequenza di forme solide diverse

su 150 sistemi analizzati:

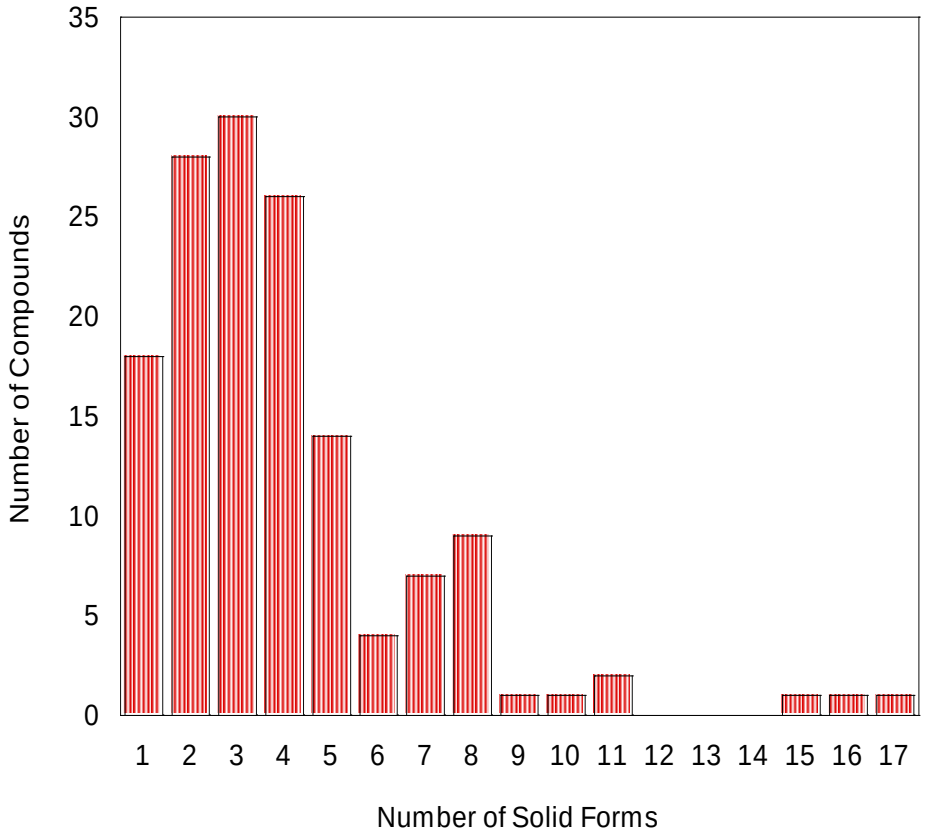
87% > 1 forma

51% > 2 polimorfi

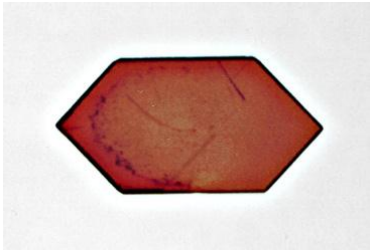
37% idrati

39% amorfi

31% solvati

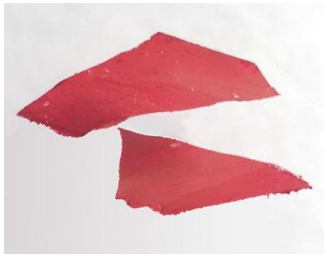


gazza

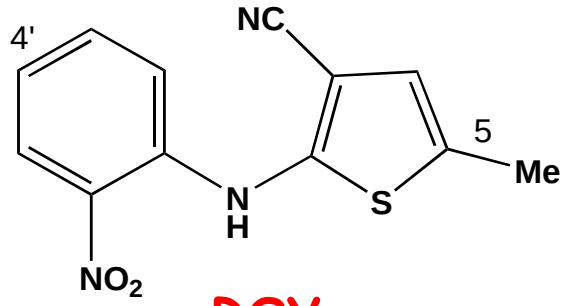


OP
orange plates

ON
orange needles



ORP
orange-red prisms

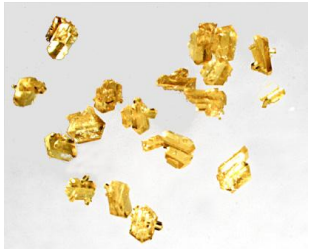


ROY

5-methyl-2-[(2-nitrophenyl)amino]-3-thiophene carbonitrile

ON
yellow needles

R
red prisms



Y
yellow prisms

L.Yu et al., J. Am. Chem. Soc., 122, 585-591 (2000)

gazza

Differenze tra le proprietà fisiche dei polimorfi

di maggiore impatto farmaceutico

Impaccamento

volume molare
densità
indice di rifrazione
conduttività elettrica e termica
igroscopicità

Proprietà termodinamiche

temperatura di fusione
temperatura di sublimazione
energia interna
entalpia, capacità termica
entropia
energia libera e potenziale chimico
tensione di vapore e solubilità

Proprietà cinetiche

velocità di dissoluzione
velocità di reazione allo stato solido
stabilità

Proprietà superficiali

energia libera superficiale
tensione superficiale
habitus cristallino

Proprietà meccaniche

durezza
forza tensile
compattabilità
processabilità

gazza

Ogni struttura cristallina costituisce una fase il cui campo di stabilità è determinato dalla temperatura e dalla pressione; fissate queste variabili, tra tutte le disposizioni possibili delle molecole di una stessa sostanza, una sola è stabile rispetto alle altre ed è quella con minore energia libera.

La trasformazione da una forma polimorfica all'altra richiede la demolizione di una struttura e la costruzione di un'altra: in questo modo la transizione, a basse temperature soprattutto, avviene in genere con grande lentezza o addirittura può non avvenire affatto. Per questa ragione la possibilità di avere fasi cristalline in condizioni di instabilità (fasi metastabili) è tutt'altro che rara

gazza

STABILITA'

FATTORI CONCOMITANTI

TERMODINAMICI

- ✓ COSA È POSSIBILE ottenere
- ✓ l'ordine di STABILITÀ
- ✓ le differenze di ENERGIA tra le varie forme

CINETICI

- ✓ COME OPERARE per ottenere/*mantenere* la forma cristallina desiderata

gazza

ASPETTI TERMODINAMICI DEL POLIMORFISMO

relazioni (di stabilità) tra coppie di fasi polimorfe

Enantiotropia

un polimorfo è stabile al di sotto della temperatura di transizione mentre l'altro è stabile al di sopra di tale temperatura (*tolbutamide, carbamazepina, ...*); le due fasi possono trasformarsi l'una nell'altra

Monotropia

un solo polimorfo è stabile nel campo di temperature di esistenza del solido (*metolazone, cloramfenicolo palmitato, ...)*

gazza

- quale forma è stabile a temperatura ambiente?
- quale relazione di stabilità esiste tra coppie di polimorfi isolati?
- in caso di enantiotropia qual è la temperatura di transizione?
- *può una forma termodinamicamente metastabile rimanere immodificata per un periodo sufficientemente lungo per essere considerata impiegabile in una preparazione farmaceutica?*

gazza

Equazione di Gibbs-Helmholtz

$$G = H - TS \qquad \textit{a P cost.}$$

G = energia libera di Gibbs o entalpia libera molare

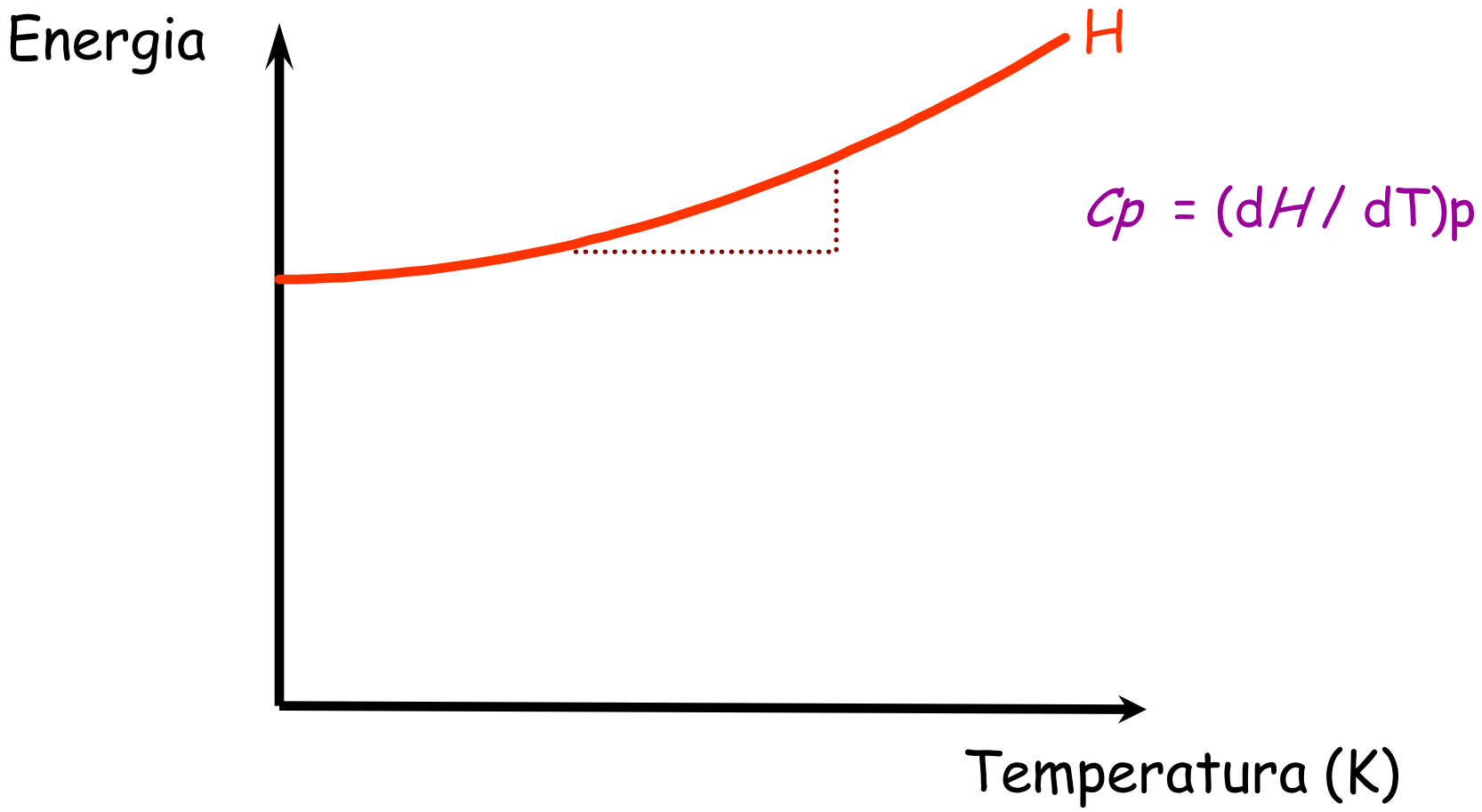
H= entalpia o contenuto termico*

S = entropia

T= temperatura assoluta (K)

H è legata all'energia interna (E) o intrinseca dall'equazione: H= E+PV
H rappresenta l'energia interna nel vuoto, quando p=0

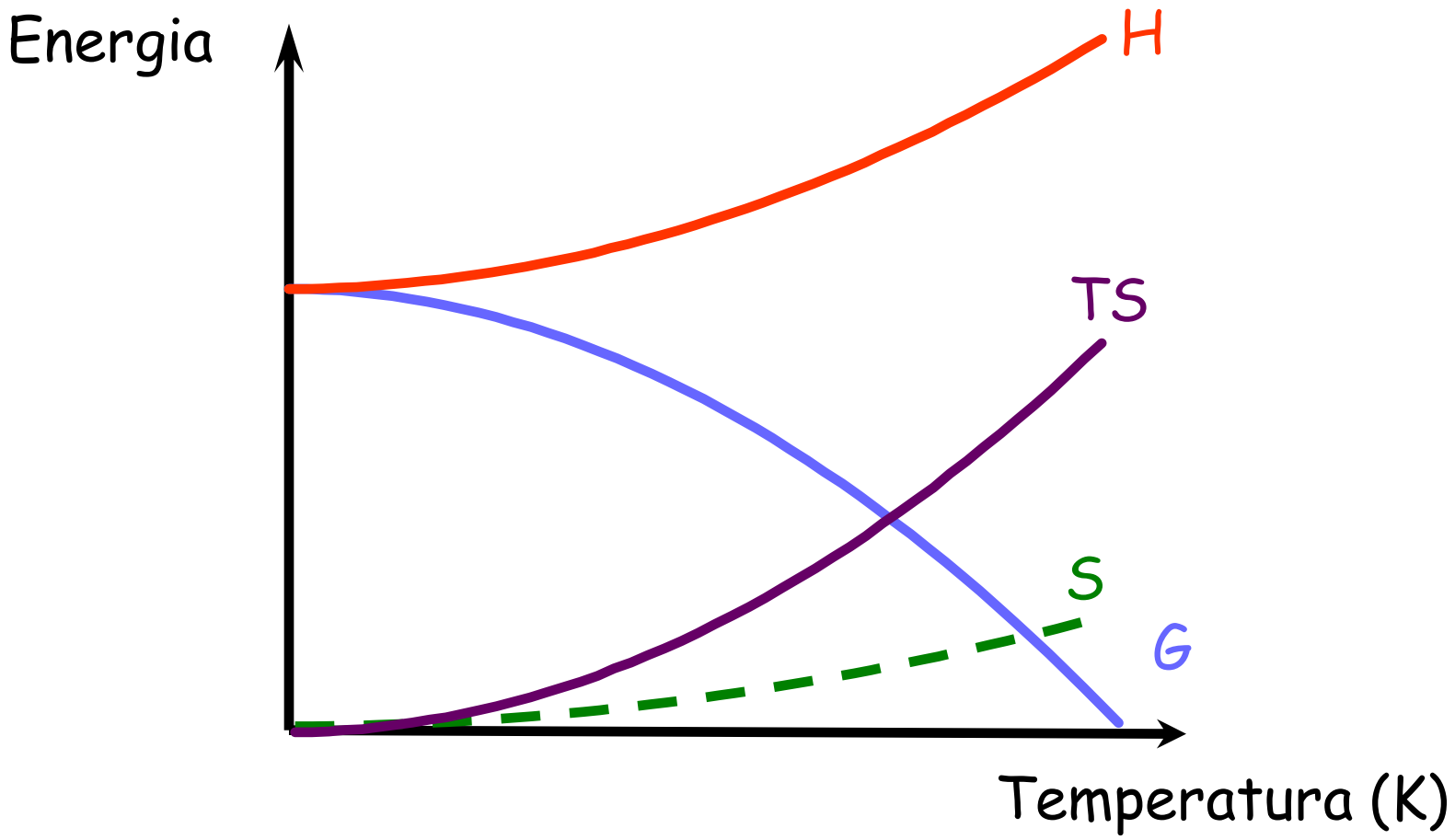
gazza



Cp= capacità termica a p cost = quantità di calore necessaria per aumentare di 1K la temperatura di un grammo di sostanza

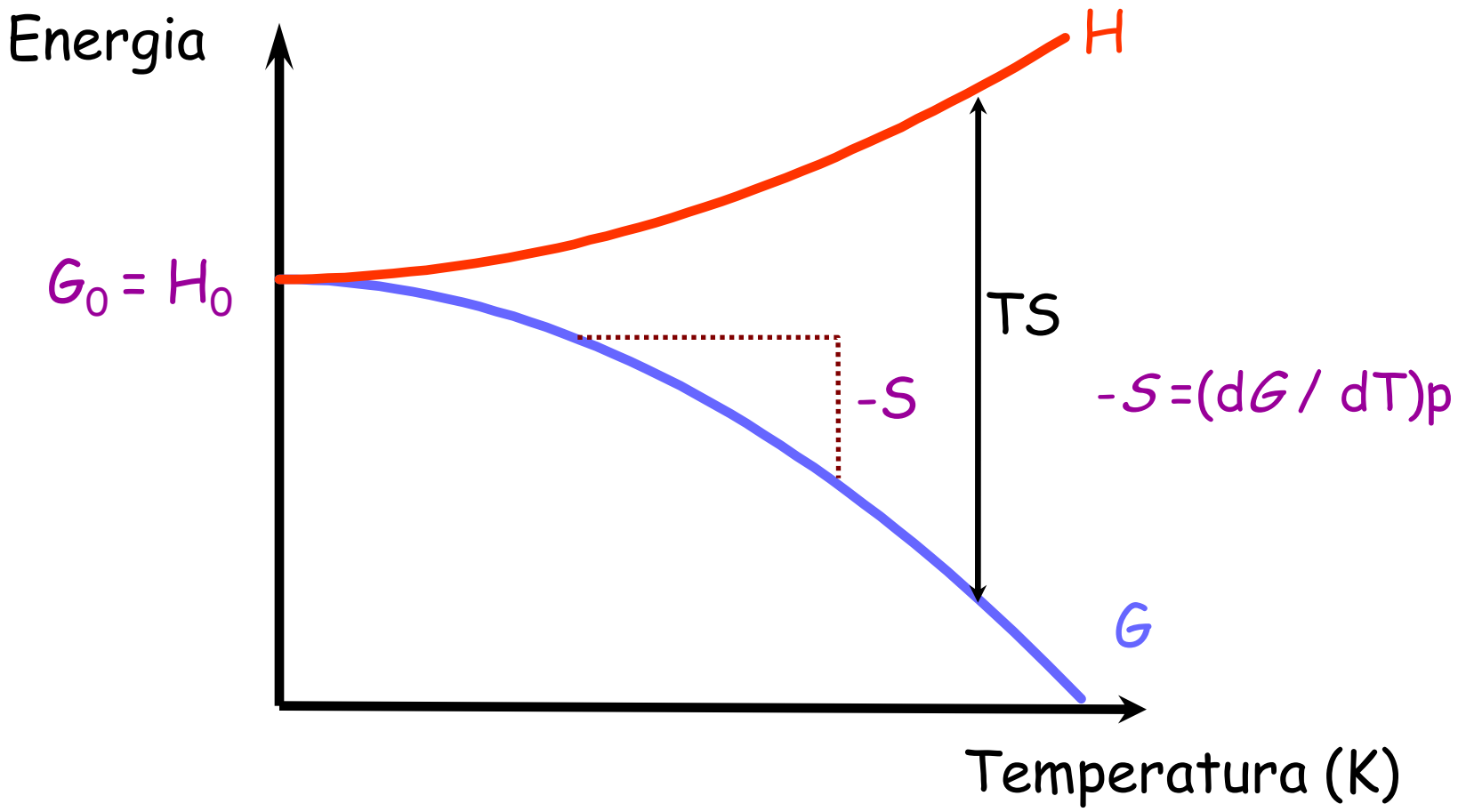
⟶ *grandezza misurabile mediante analisi termica*

gazza



T=0 K, S=0 (III principio della termodinamica)

gazza



gazza

Per confrontare le proprietà termodinamiche di 2 forme polimorfe (1 e 2) o di una forma polimorfa e la fase liquida:

$$\Delta G = G_2 - G_1$$

$$\Delta S = S_2 - S_1$$

$$\Delta H = H_2 - H_1$$

$$\Delta V = V_2 - V_1$$

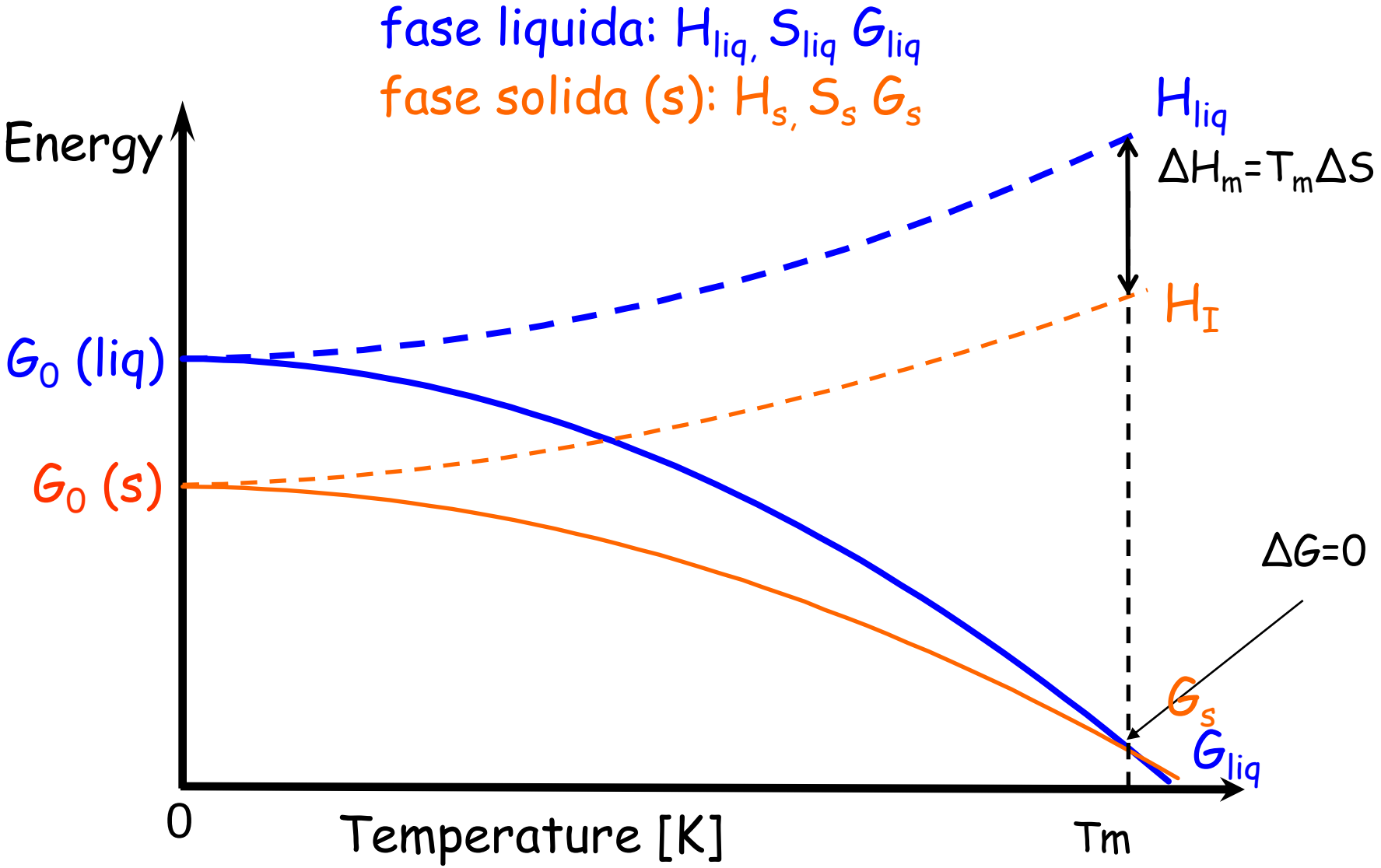
A T e pressione costante la *driving force* per la conversione di fase è la differenza di energia libera di Gibbs

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

sono spontanee le transizioni con $\Delta G < 0$

sono all'equilibrio 2 fasi con $\Delta G = 0$

gazza



Plots of the Gibbs free energy G and the enthalpy H at constant pressure against the absolute temperature T for a system consisting of a solid and a liquid. Tm is the melting temperature and S is the entropy.

gazza

fase solida (I): Forma I altofondente

fase solida (II): Forma II bassofondente

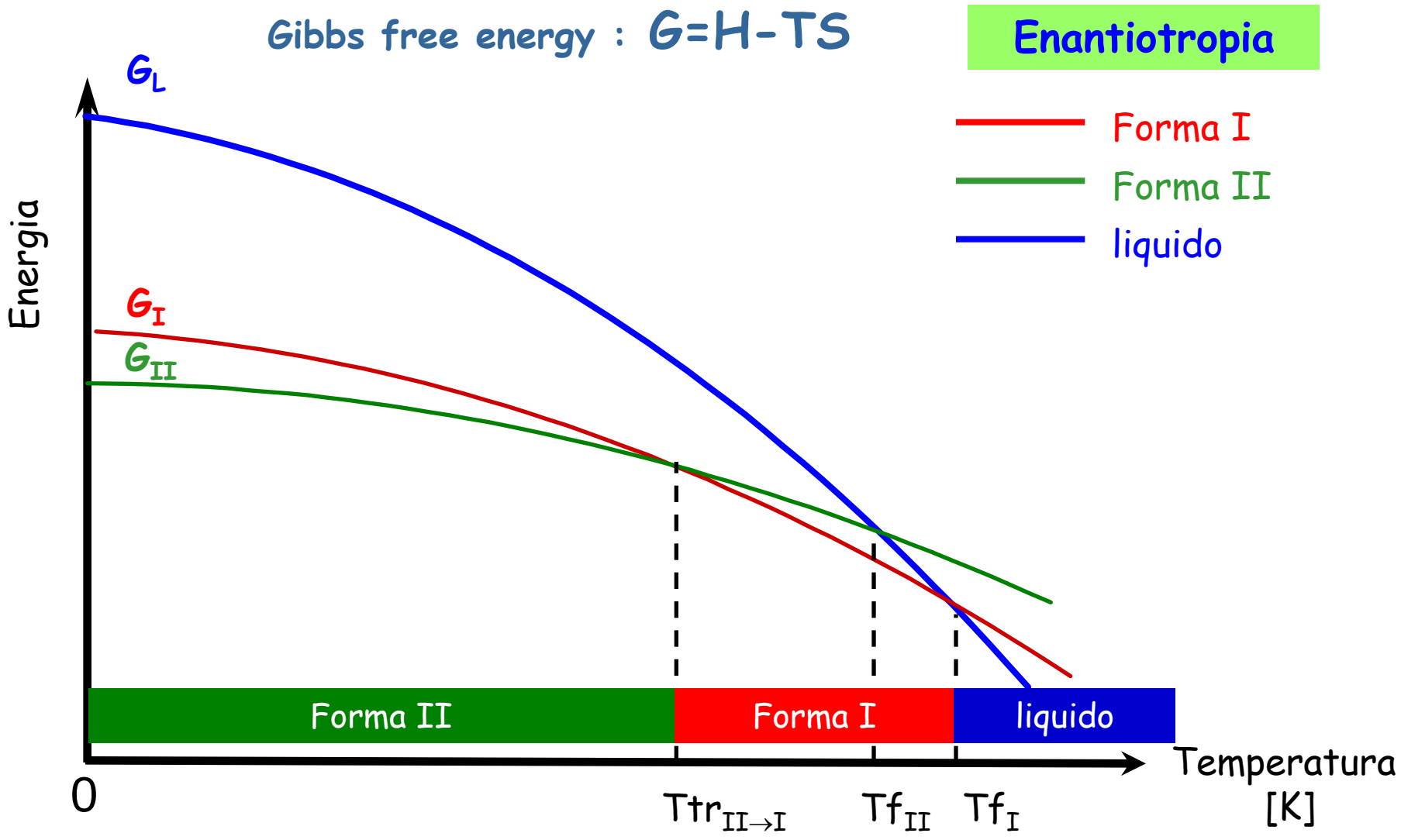
fase liquida

Enantiotropia

Monotropia

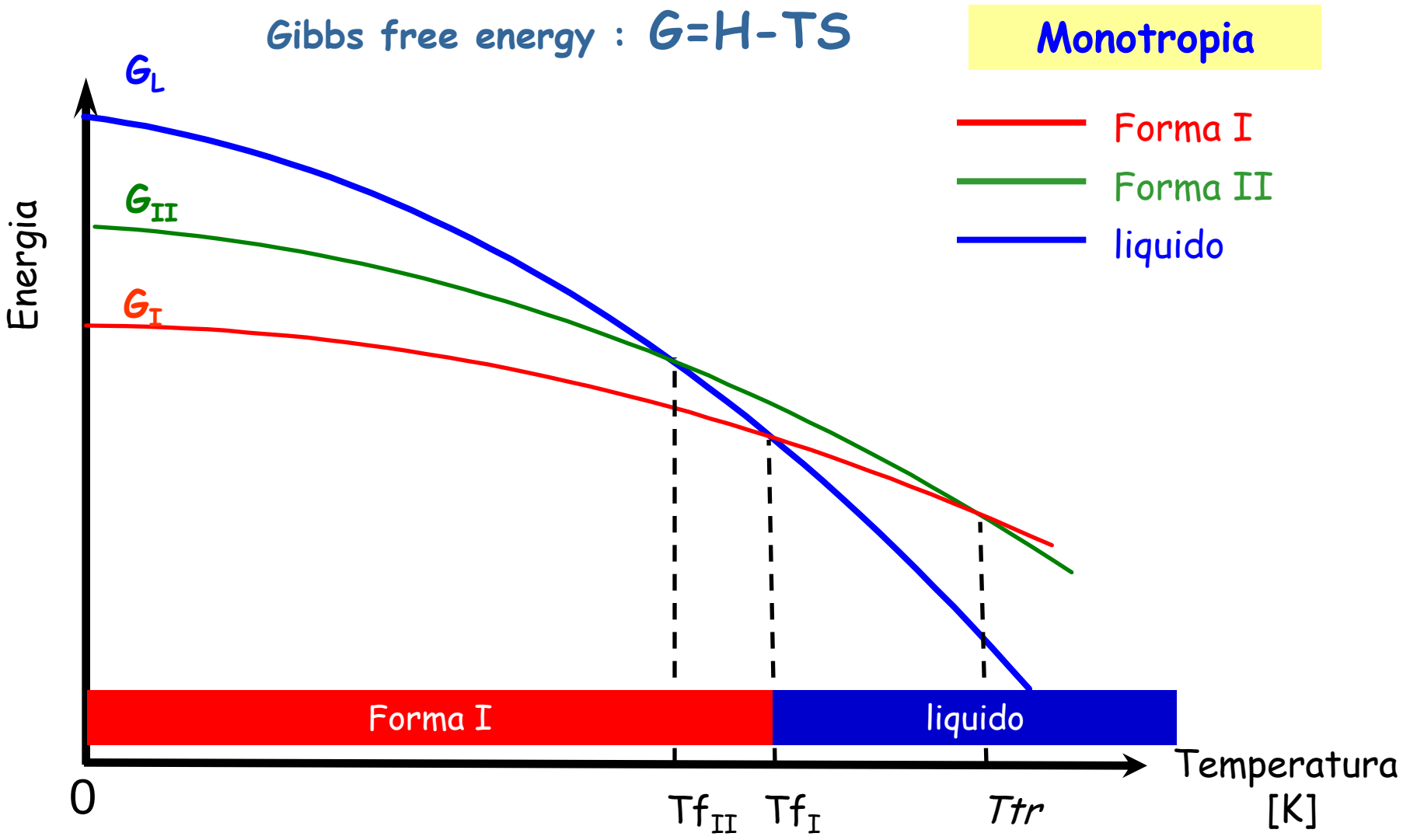
gazza

relazioni tra coppie di fasi polimorfe



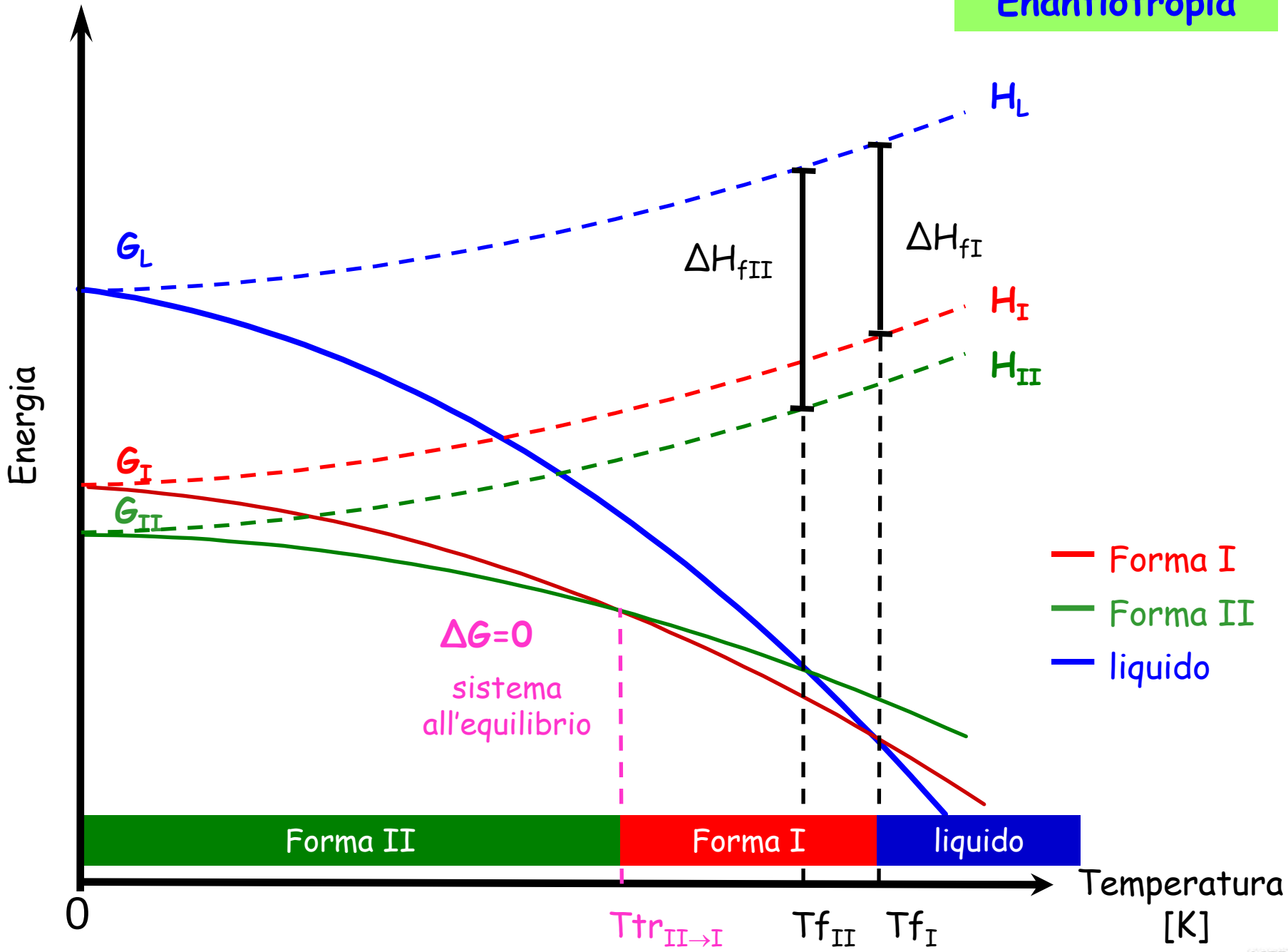
gazza

relazioni tra coppie di fasi polimorfe



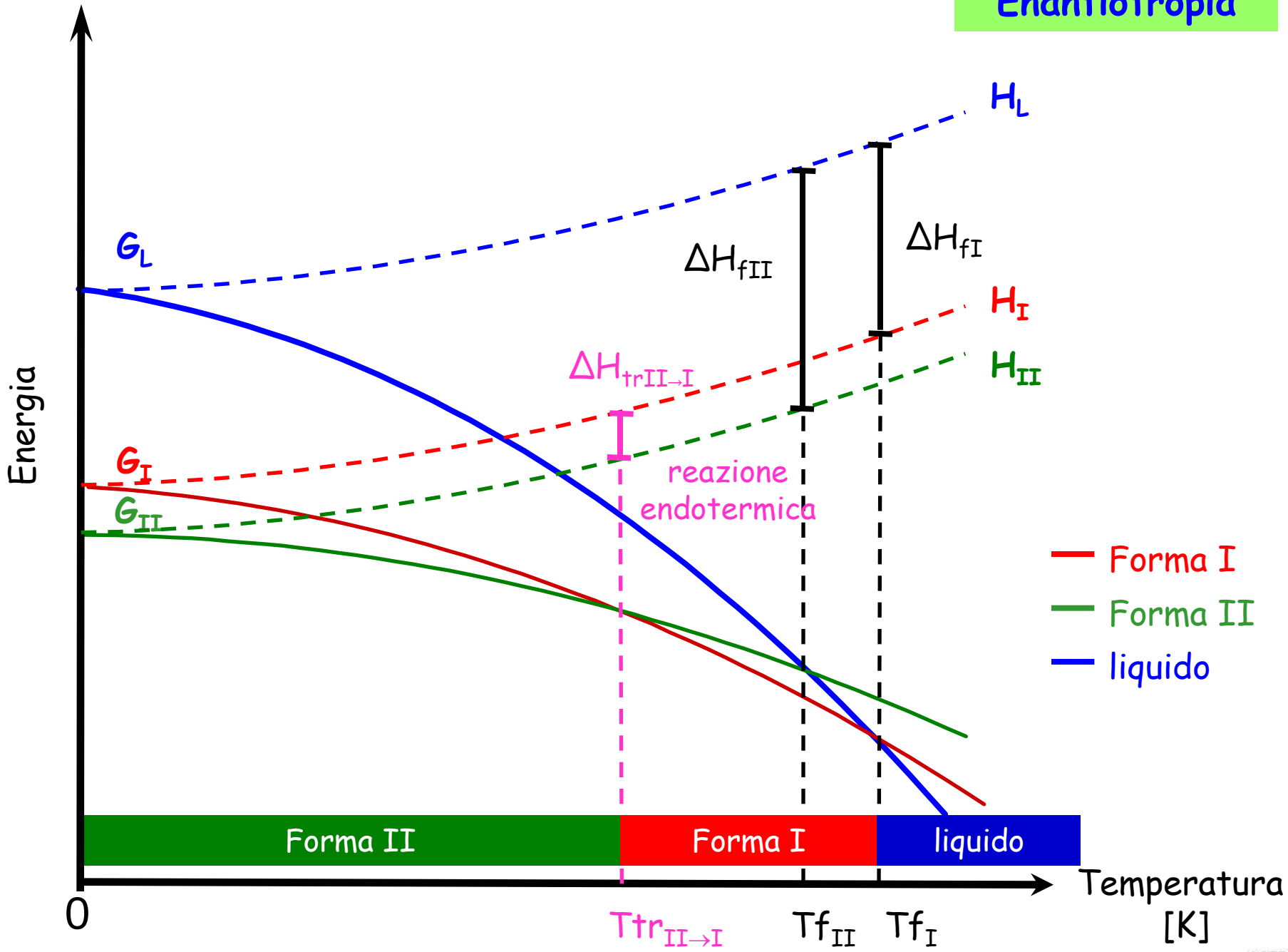
gazza

Enantiotropia



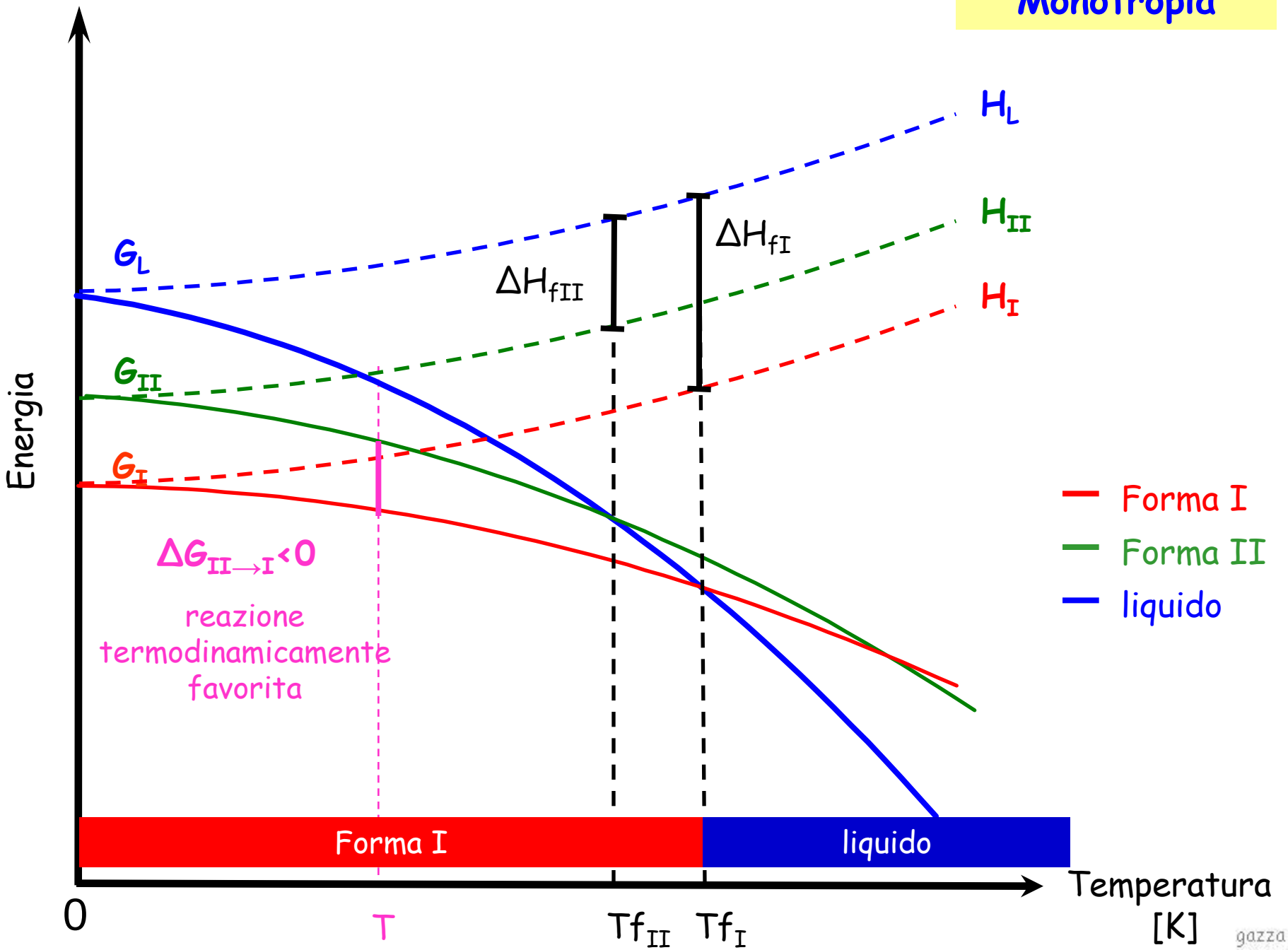
gazza

Enantiotropia

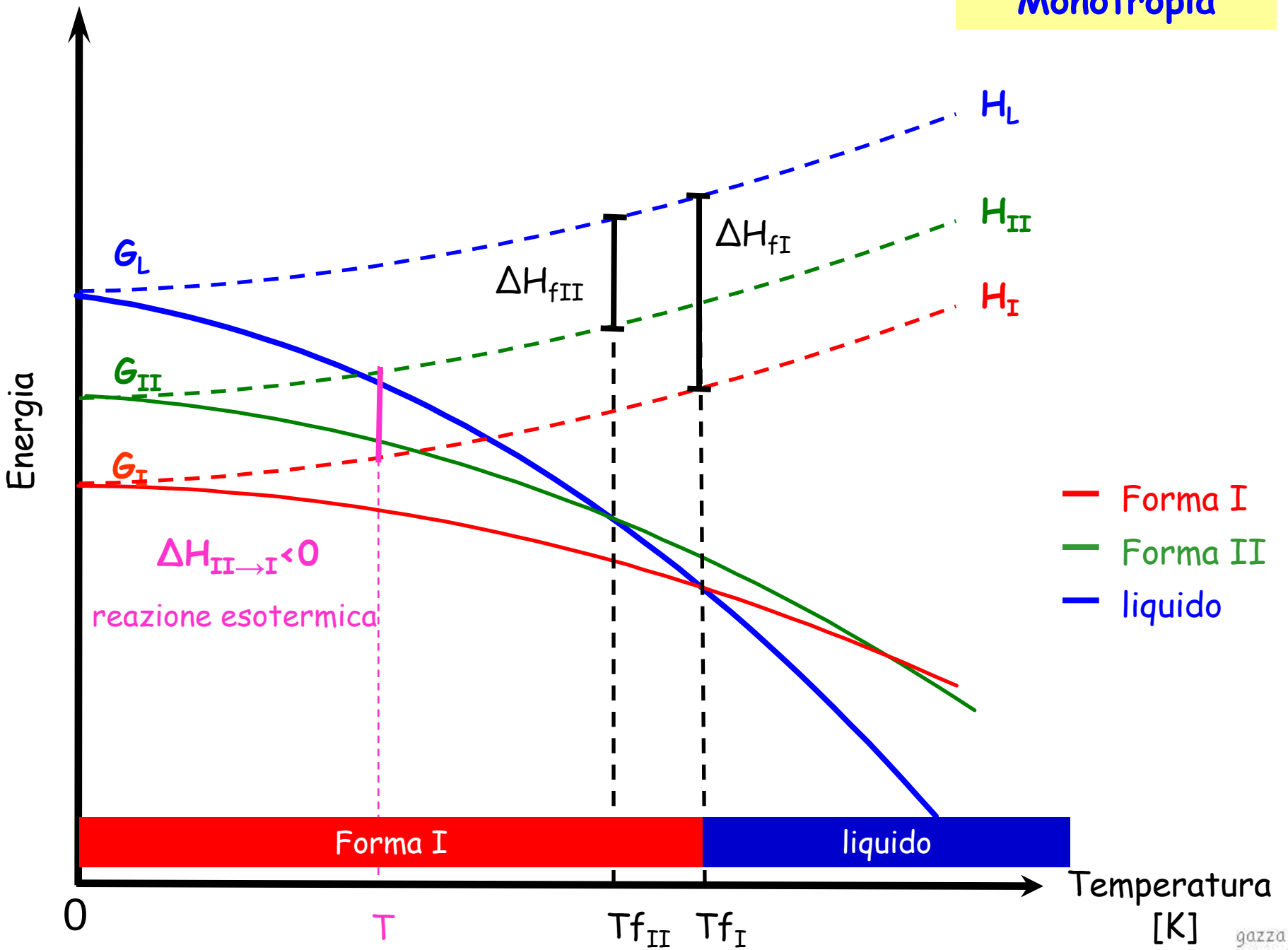


gazza

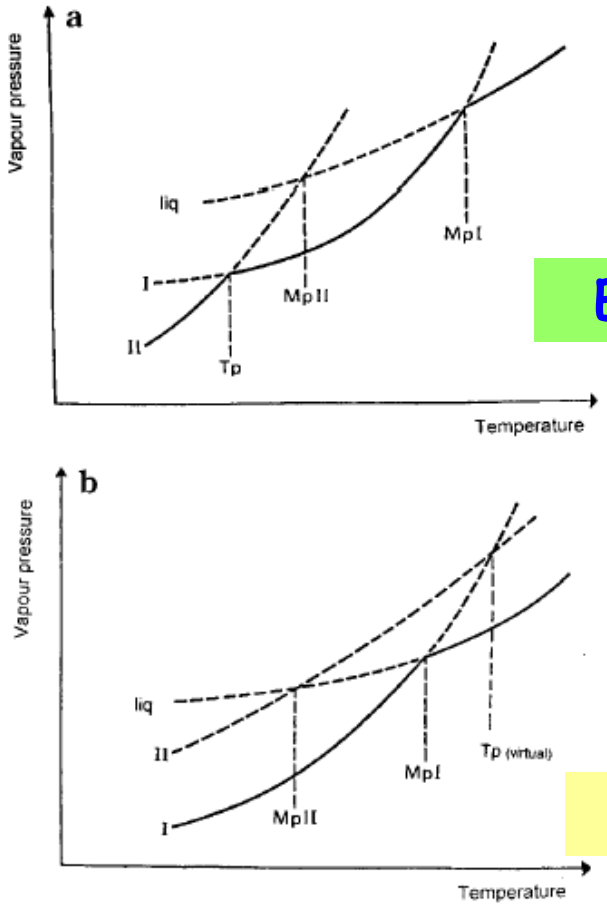
Monotropia


H_L
H_{II}
H_I
ΔH_{fII}
ΔH_{fI}
G_L
G_{II}
G_I
Energia
$\Delta G_{II \rightarrow I} < 0$
reazione termodinamicamente favorita
Forma I
Forma II
liquido
Forma I
liquido
0
T
Tf_{II}
Tf_I
Temperatura [K]

Monotropia


Energia
H_L
H_{II}
H_I
G_L
G_{II}
G_I
ΔH_{fII}
ΔH_{fI}
$\Delta H_{II \rightarrow I} < 0$
reazione esotermica
Forma I
Forma II
liquido
Forma I
liquido
0
T
Tf_{II}
Tf_I
Temperatura
[K]

Phase diagram vs Energy/Temperature diagram



Enantiotropia

Monotropia

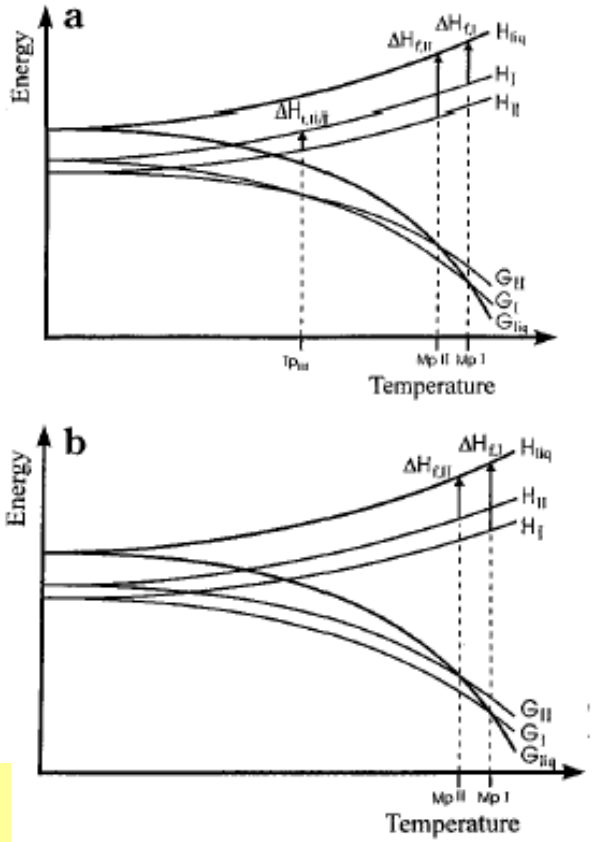


Figure 1—(a) Vapor pressure/temperature diagram: enantiotropy (*Mp*, melting point; *Tp*, thermodynamic transition point). (b) Vapor pressure/temperature diagram: monotropy (*Mp*, melting point; *Tp (virtual)*, thermodynamic transition point).

Figure 2—(a) Energy/temperature diagram: enantiotropy (*G*, free energy; *H*, enthalpy; ΔH_f, enthalpy of fusion; *liq*, melt; *Mp*, melting point; *Tp*, thermodynamic transition point; ΔH_t, enthalpy of transition). (b) Energy/temperature diagram: monotropy (*G*, free energy; *H*, enthalpy; ΔH_f, enthalpy of fusion; *liq*, melt; *Mp*, melting point).

gazza

Thermodynamic rules for polymorphic transitions according to Burger and Ramberger

ENANTIOTROPY	MONOTROPY
Transition < melting I	Transition > melting I
I stable > transition	I always stable
II stable < transition	
transition reversible	transition irreversible
solubility I higher < transition	solubility I always lower than II
solubility II higher > transition	

gazza

Thermodynamic rules for polymorphic transitions according to Burger and Ramberger

ENANTIOTROPY	MONOTROPY
Transition < melting I	Transition > melting I
I stable > transition	I always stable
II stable < transition	
transition reversible	transition irreversible
solubility I higher < transition	solubility I always lower than II
solubility II higher > transition	
Transition II→I is endothermic	Transition II→I is exothermic

regola del calore di transizione

gazza

Thermodynamic rules for polymorphic transitions according to Burger and Ramberger

ENANTIOTROPY	MONOTROPY
Transition < melting I	Transition > melting I
I stable > transition	I always stable
II stable < transition	
transition reversible	transition irreversible
solubility I higher < transition	solubility I always lower than II
solubility II higher > transition	
Transition II→I is endothermic	Transition II→I is exothermic
$\Delta H_{fI} < \Delta H_{fII}$	$\Delta H_{fI} > \Delta H_{fII}$

regola del calore di fusione

gazza

Thermodynamic rules for polymorphic transitions according to Burger and Ramberger

ENANTIOTROPY	MONOTROPY
Transition < melting I	Transition > melting I
I stable > transition	I always stable
II stable < transition	
transition reversible	transition irreversible
solubility I higher < transition	solubility I always lower than II
solubility II higher > transition	
Transition II→I is endothermic	Transition II→I is exothermic
$\Delta H_{fI} < \Delta H_{fII}$	$\Delta H_{fI} > \Delta H_{fII}$
IR* peak I before II	IR* peak I after II

regola dell'infrarosso

** Ci si riferisce alla prima banda di assorbimento nello spettro infrarosso relativa ai legami idrogeno che tengono unite le molecole nella struttura cristallina*

gazza

Thermodynamic rules for polymorphic transitions according to Burger and Ramberger

ENANTIOTROPY	MONOTROPY
Transition < melting I	Transition > melting I
I stable > transition	I always stable
II stable < transition	
transition reversible	transition irreversible
solubility I higher < transition	solubility I always lower than II
solubility II higher > transition	
Transition II→I is endothermic	Transition II→I is exothermic
$\Delta H_{fI} < \Delta H_{fII}$	$\Delta H_{fI} > \Delta H_{fII}$
IR peak I before II	IR peak I after II
Density I <density II	Density I > density II

regola della densità

gazza

Example: Polymorphism of Nimodipine[1]

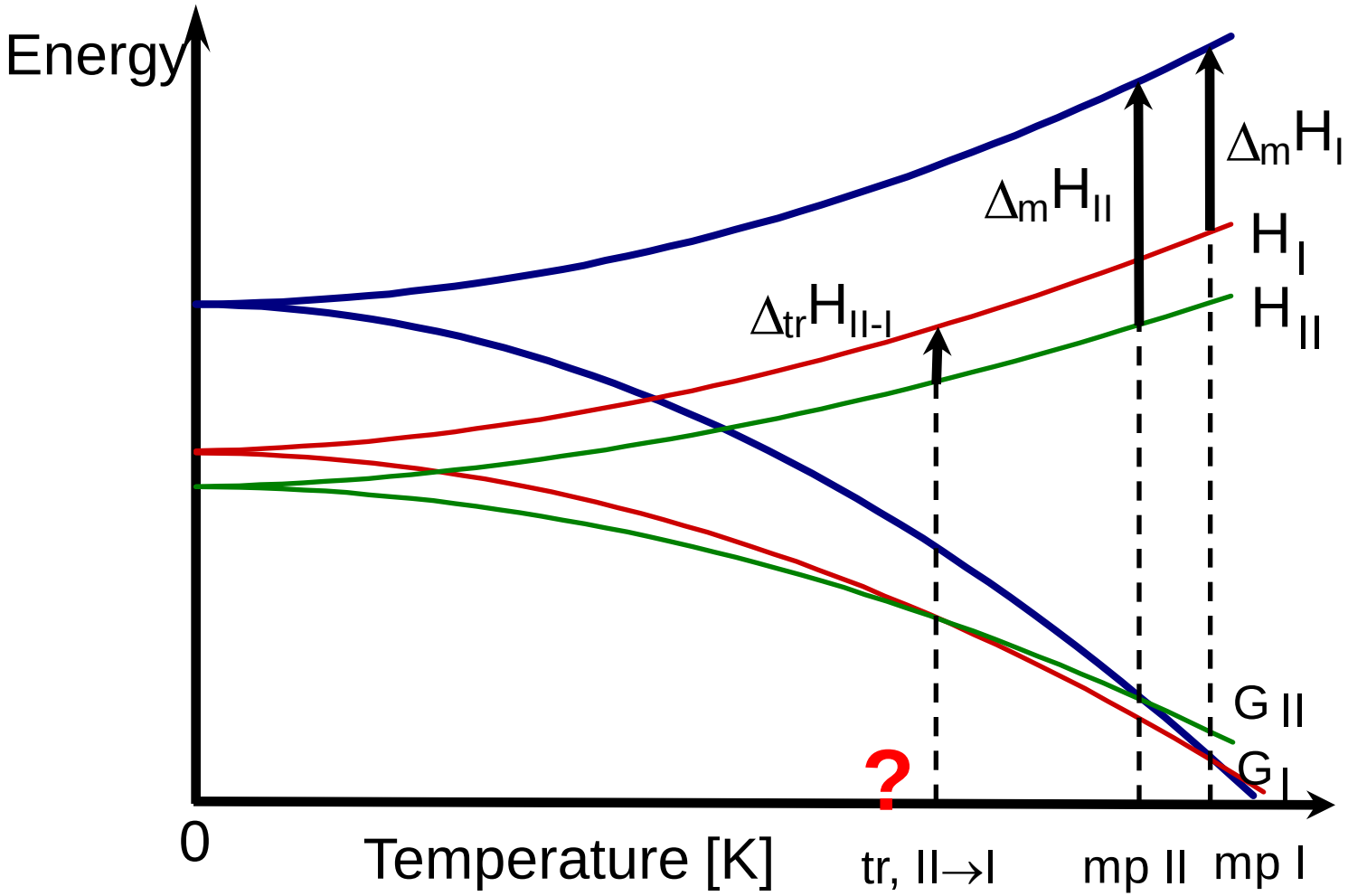
Two modifications, which can be obtained in macroscale at room temperature showing the following data:

	Mod.I	***Mod.II***
Melting point [°C]	124	116
Heat of fusion [kJ mol^{-1}]	39	46
True density [g cm^{-3}]	1.27	1.30
Calculated density Xray [g cm^{-3}]	1.271	1.303
Solubility in water at 25°C [mg/100mL]	0.036	0.018

[1] Grunenberg, A., Keil, B. and Henck, J.-O. *Int. J. Pharmaceutics* 118 (1995) 11-21.

gazza

Nimodipine



gazza

Sistemi enantiotropi: come si determina T_{tr}

Esperimenti *di slurry* a diversa T

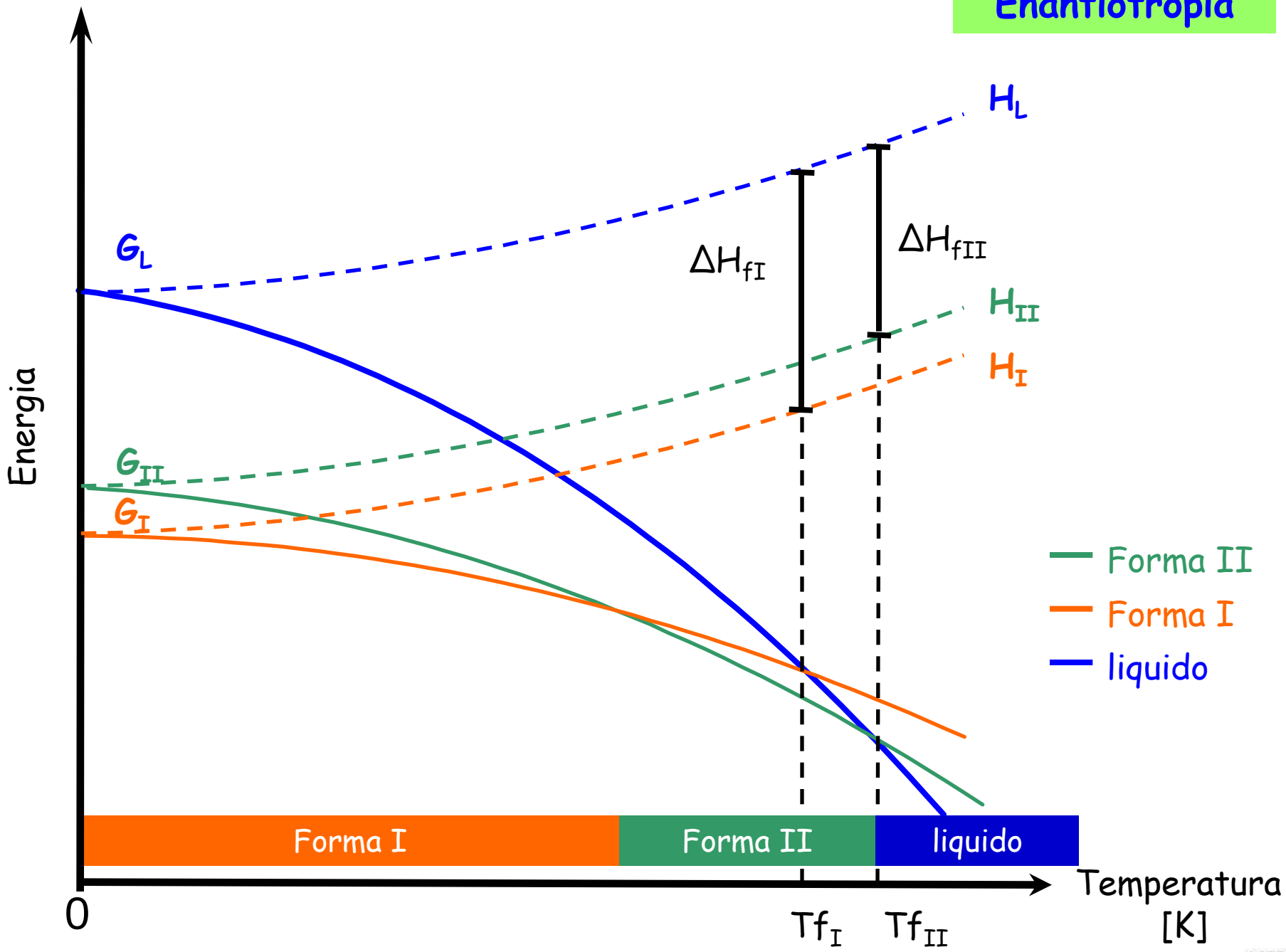
Analisi termica: - osservazione diretta della transizione (endotermica)

- estrapolazione dai dati di fusione

Estrapolazione dai dati di solubilità/velocità di dissoluzione a diversa T

gazza

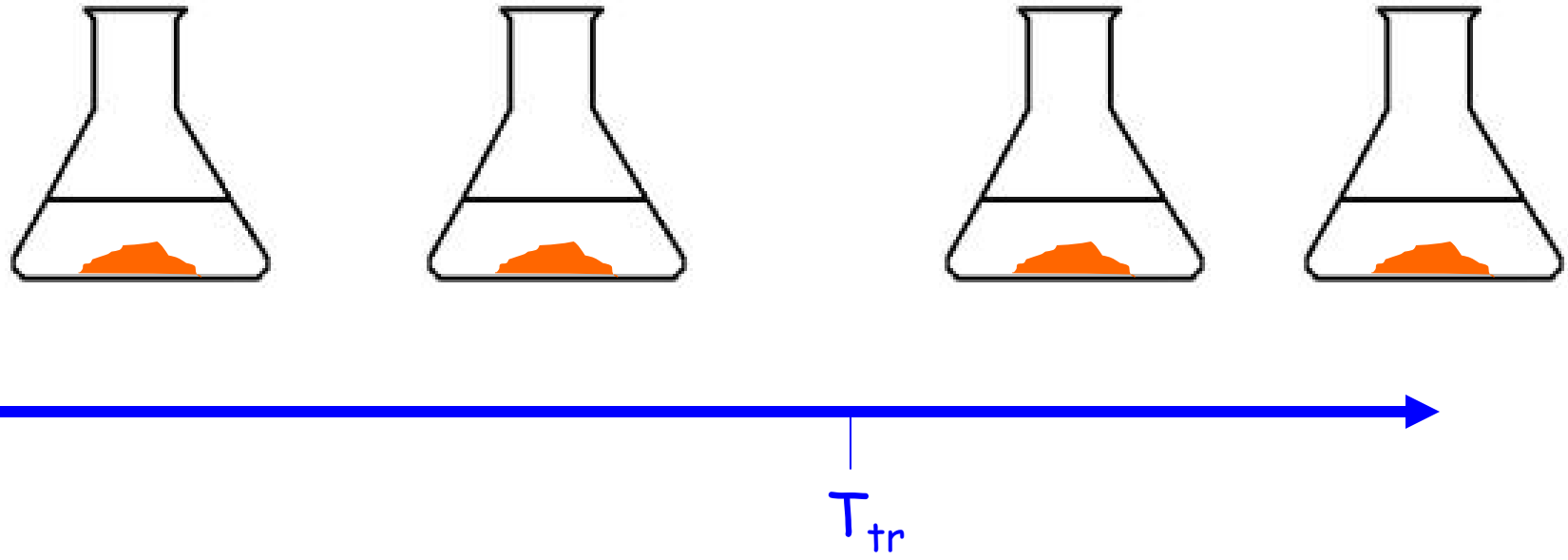
Enantiotropia



gazza

Esperimenti *di slurry* a diversa T

sospensioni di forma I a diversa T



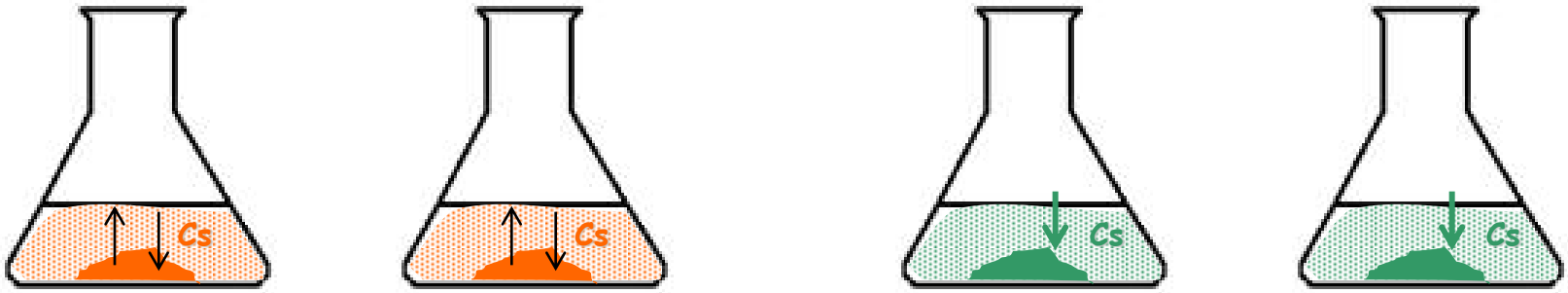
gazza

Esperimenti *di slurry* a diversa T

forma I

$C_{sI} > C_{sII}$

forma II



T_{tr}

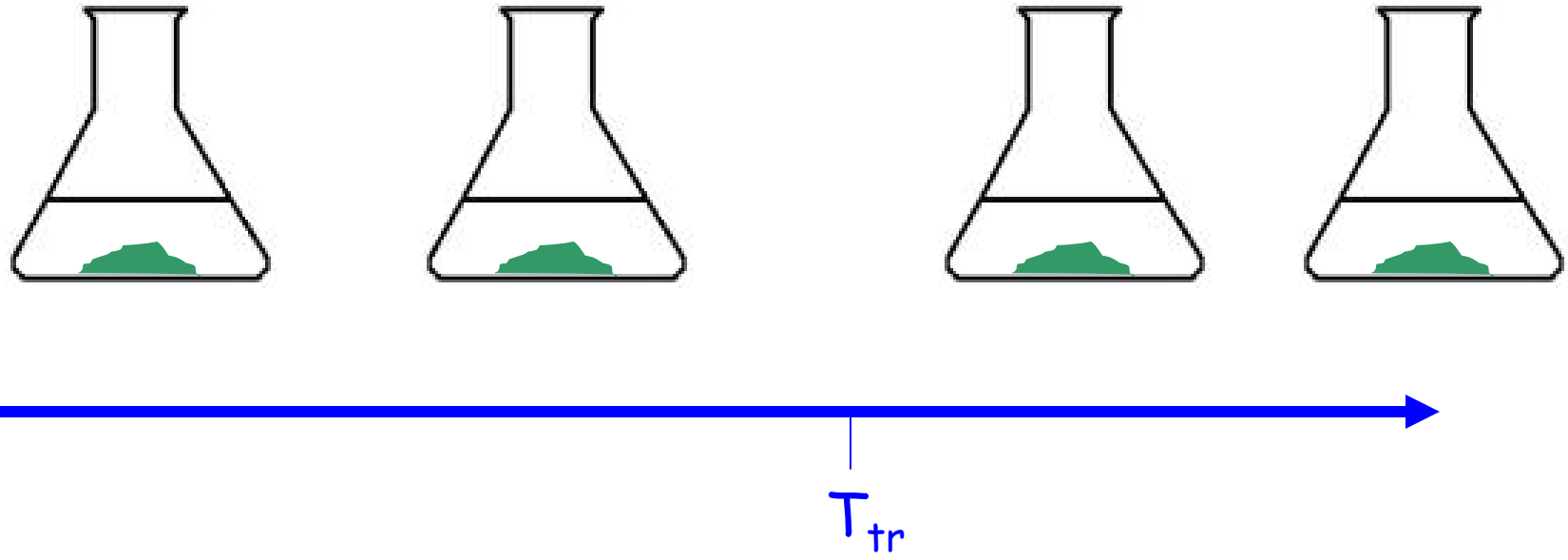
Forma I stabile
meno solubile

Forma II stabile
meno solubile

gazza

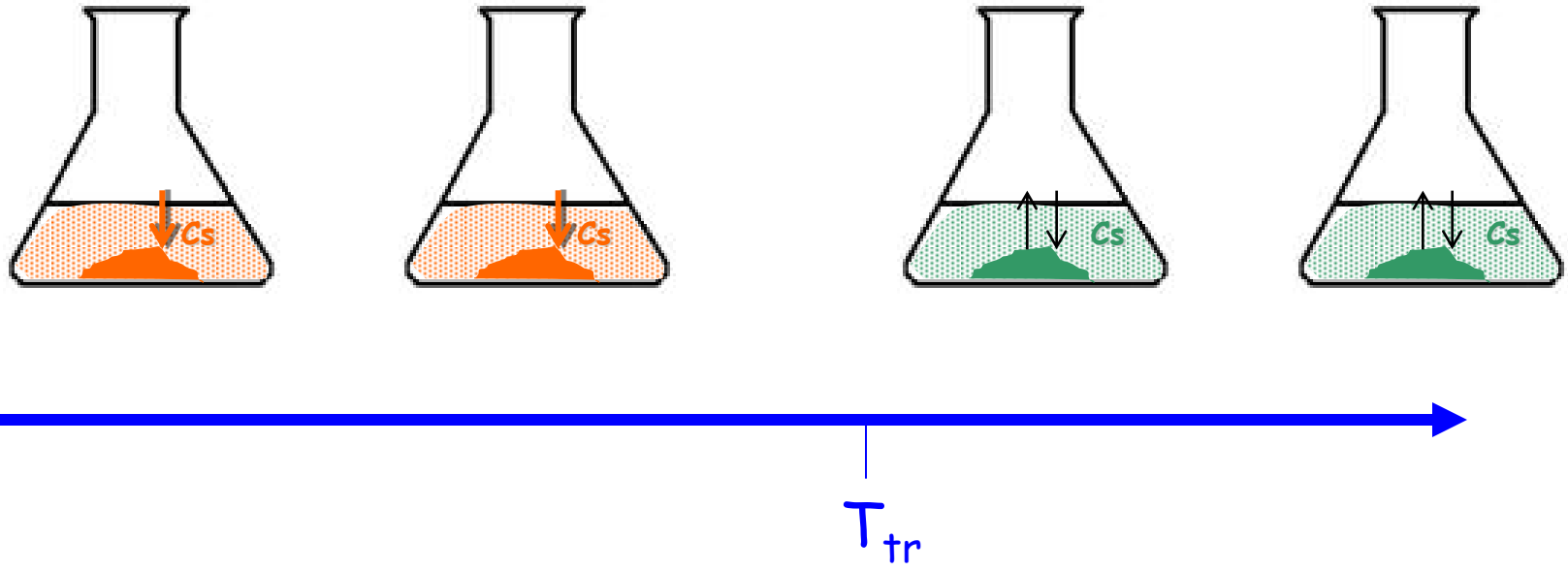
Esperimenti *di slurry* a diversa T

sospensioni di forma II a diversa T



gazza

Esperimenti *di slurry* a diversa T



gazza

Analisi termica: estrapolazione dai dati di fusione

è necessario conoscere: T_{fI}, T_{fII}, ΔH_{fI}, ΔH_{fII}, Cp_{liq} e Cpf_I

$$T_p = \frac{\Delta H_{f,2} - \Delta H_{f,1} + (C_{p,liq} - C_{p,1}) \cdot (T_{f,1} - T_{f,2})}{\frac{\Delta H_{f,2}}{T_{f,2}} - \frac{\Delta H_{f,1}}{T_{f,1}} + (C_{p,liq} - C_{p,1}) \cdot \ln\left(\frac{T_{f,1}}{T_{f,2}}\right)}$$

and

$$(C_{p,liq} - C_{p,1}) = k \cdot \Delta H_{f,1} \qquad k = 0.005$$

Yu, L., J. Pharm. Sci. 84 (1995) 966-974; Henck, J.-O., Ph.D.Thesis 1996

gazza

Example: Polymorphism of Nimodipine

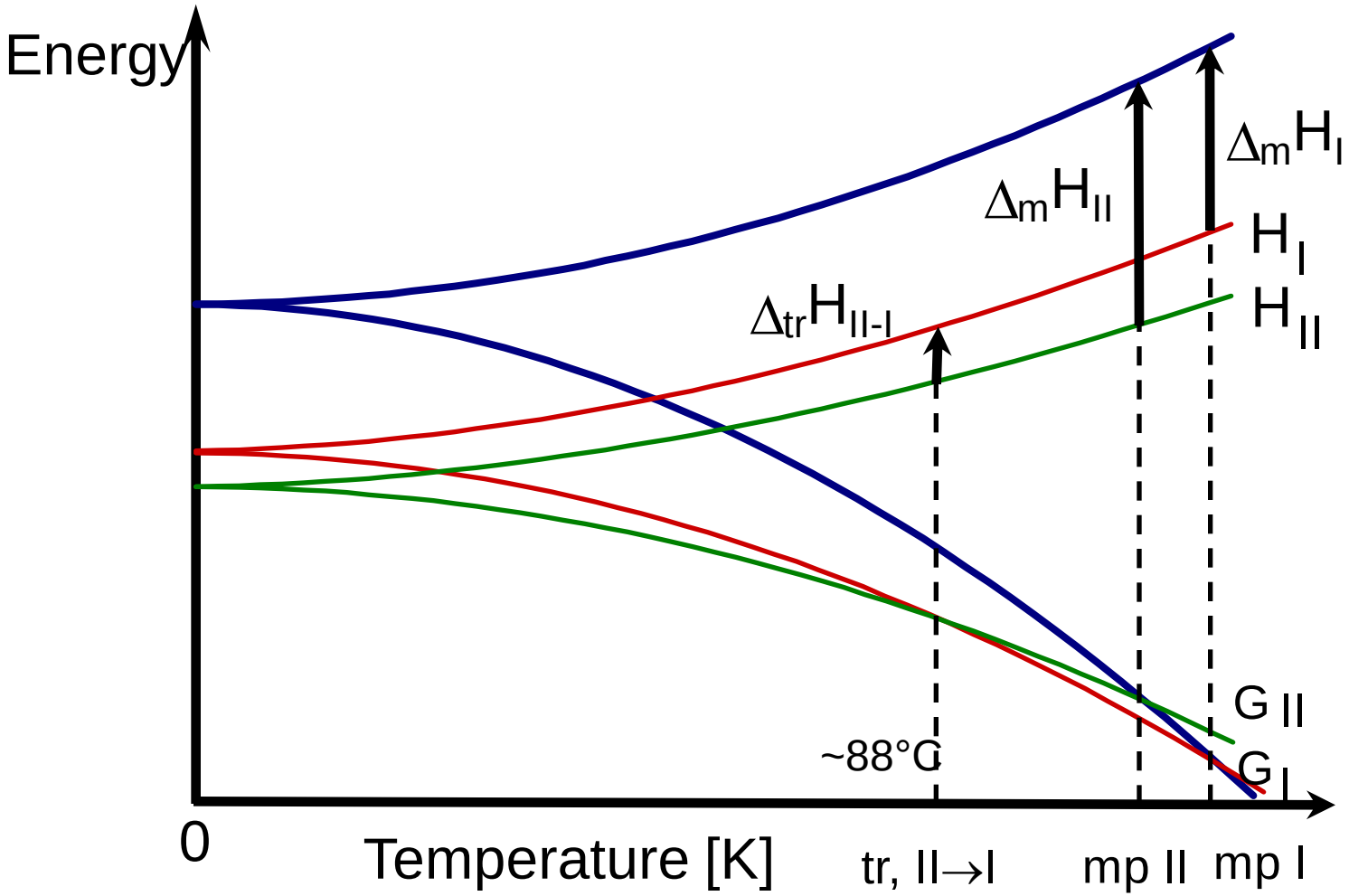
	Mod.I	*Mod.II*
Melting point [°C]	124	116
Heat of fusion [kJ mol^{-1}]	39	46

$T_{pcalc.} = 82\ °C$

$T_{pexp.} = 88 \pm 8\ °C$ (by slurry conversion experiments)

gazza

Nimodipine



gazza

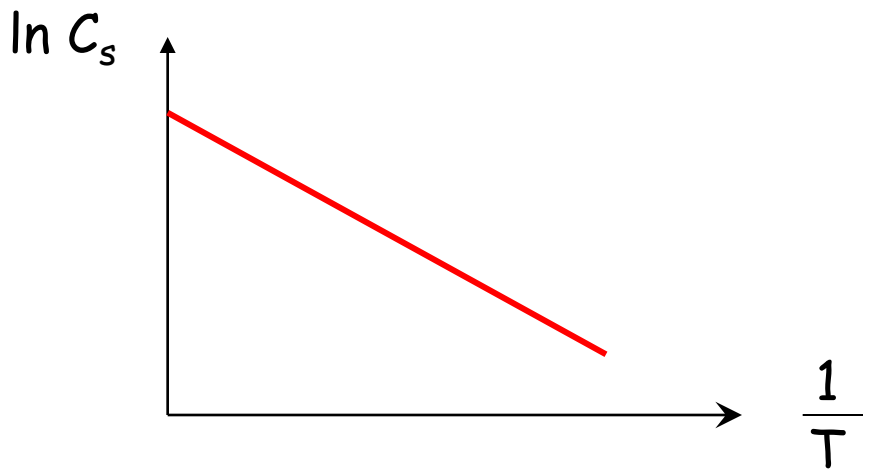
Estrapolazione da dati di solubilità/velocità di dissoluzione a diversa T

si basa sull'eq. di Van't Hoff

$$\ln C_s = - \frac{\Delta H_{sol}}{R} \cdot \frac{1}{T} + c$$

dove:

C_s, solubilità
ΔH_{sol}, calore di soluzione
R, costante dei gas (8.314 J/Kmol)
T, temperatura in K
c, constante



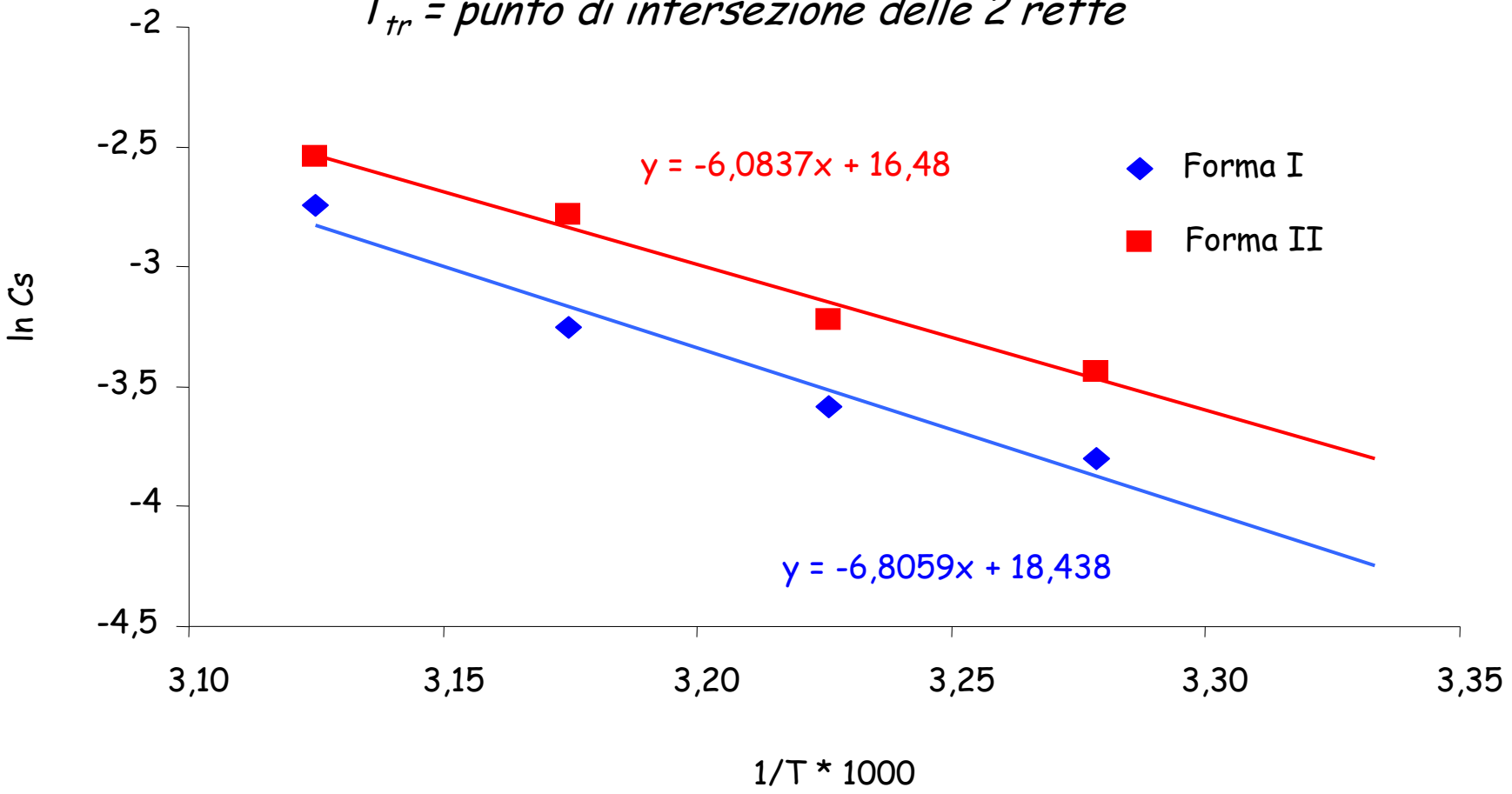
gazza

Per una sostanza con 2 forme polimorfe

$$\ln C_{sI} = -\frac{\Delta H_{sol\,I}}{R} \cdot \frac{1}{T} + c$$

$$\ln C_{sII} = -\frac{\Delta H_{sol\,II}}{R} \cdot \frac{1}{T} + c$$

T_{tr} = punto di intersezione delle 2 rette

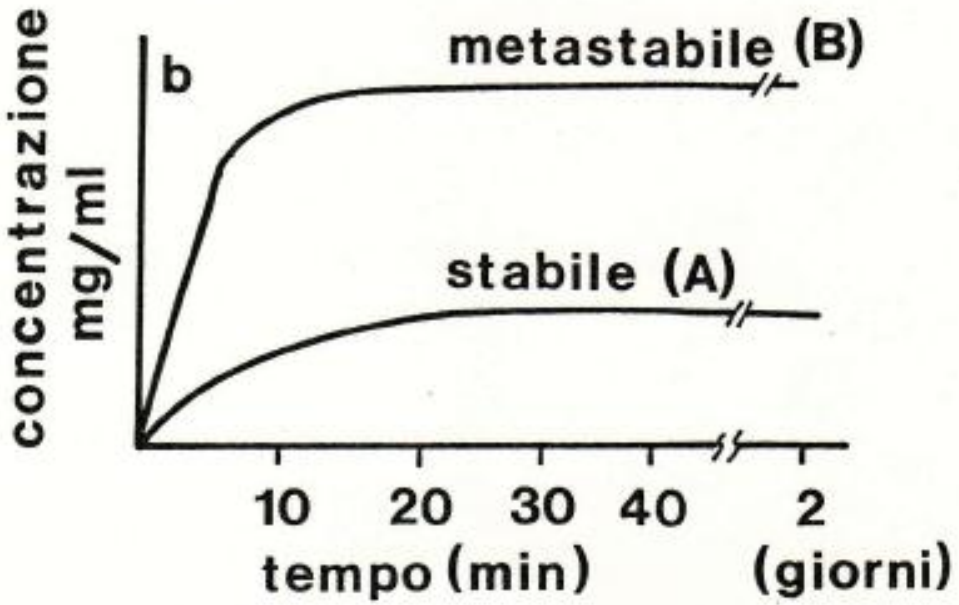


gazza

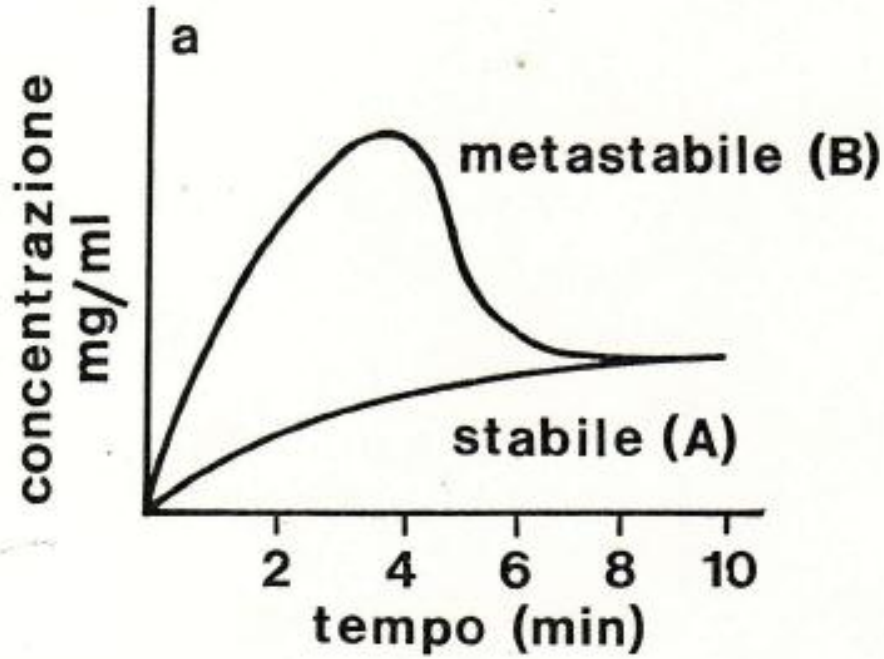
$$\Delta G_{II \rightarrow I} = -R\,T \ln \frac{s_{II}}{s_I}$$

s_{II}: saturation solubility of mod.II in a given solvent
s_I: saturation solubility of mod.I in the same (as for mod.II) given solvent

gazza



S_B ; S_A



S_B ?

S_A

gazza

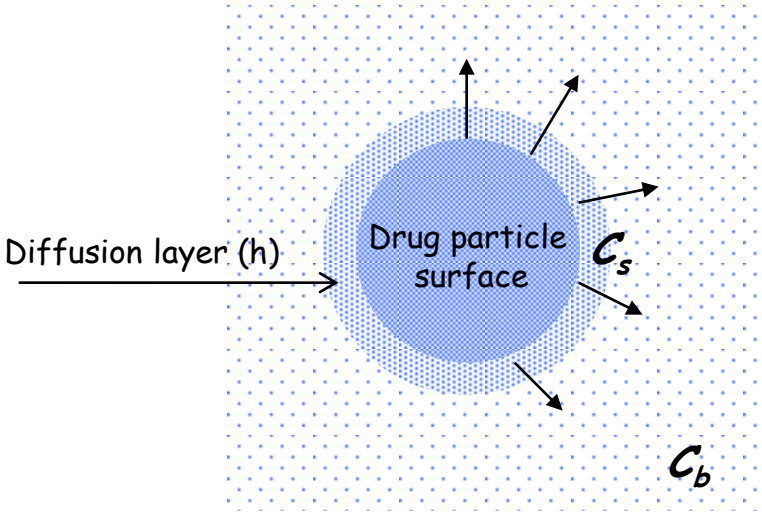
solubilità

velocità di dissoluzione

velocità di dissoluzione intrinseca (IDR)

gazza

velocità di dissoluzione



$dm/dt = K_D A(Cs-Cb)$

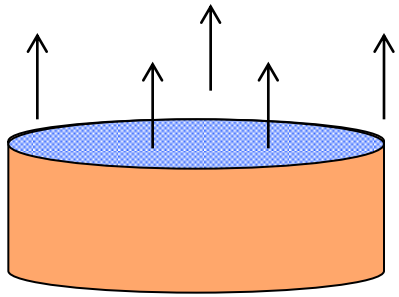
dm/dt = velocità di dissoluzione

K_D= costante (D/h)

A = superficie del solido

C_s = solubilità del solido

C_b = concentrazione del solido nel bulk

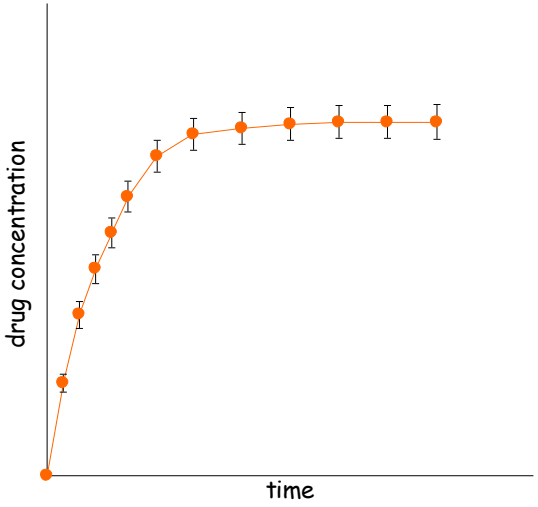


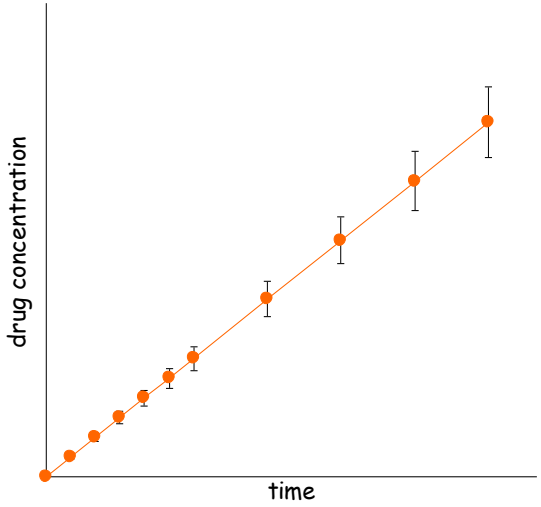
IDR

$dm/dt = K_D (Cs-Cb)$

dm/dt = velocità di dissoluzione ad area costante

gazza





velocità di dissoluzione

$$dm/dt = K_D A(Cs-Cb)$$

IDR

$$dm/dt = K_D (Cs-Cb)$$

dm/dt = velocità di dissoluzione

K_D= costante (D/h)

A = superficie del solido

C_s = solubilità del solido

C_b = concentrazione del solido nel bulk

dm/dt = velocità di dissoluzione

ad area costante in condizioni *sink*

gazza

The intrinsic dissolution rate is defined as the rate of dissolution of a pure pharmaceutical active when conditions such as surface area, temperature, stirring speed, pH and ionic-strength of the dissolution medium are kept constant. The determination of this parameter allows for screening of drug candidates and in understanding their solution behavior under different bio-physiological conditions[1].

gazza

IDR sistema Distek

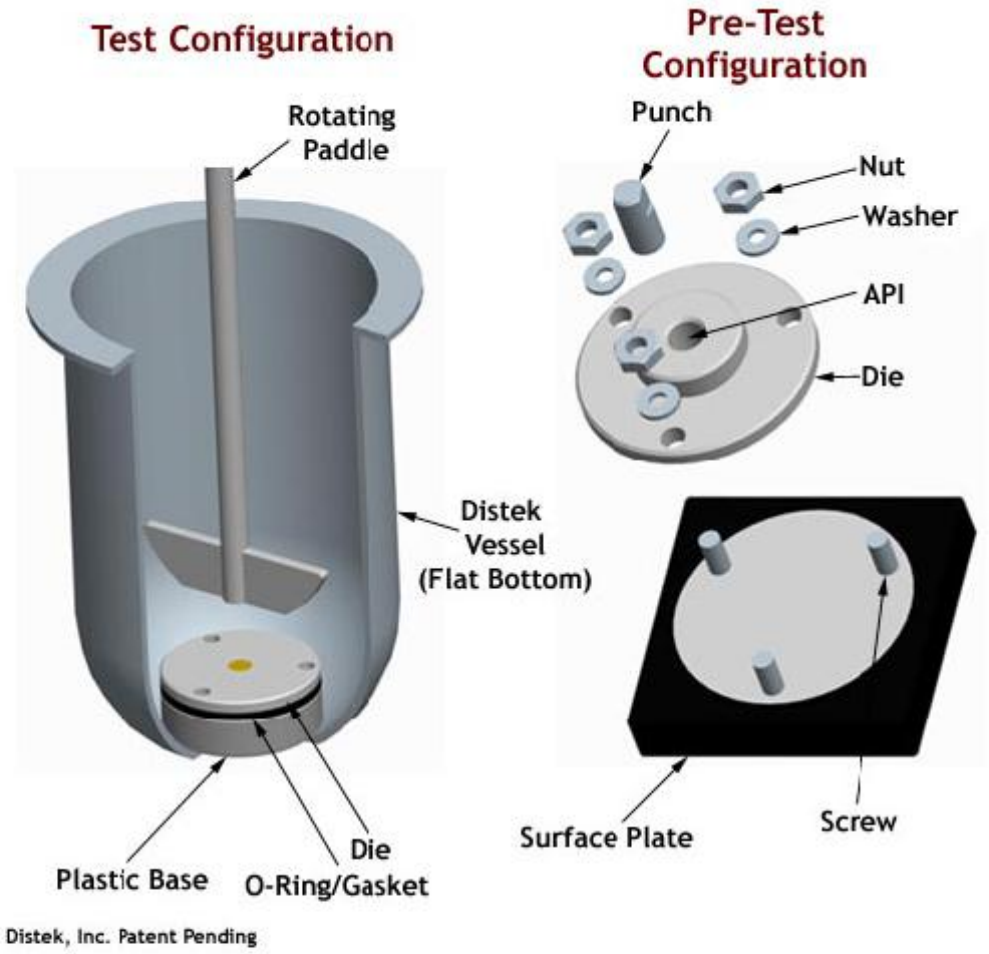
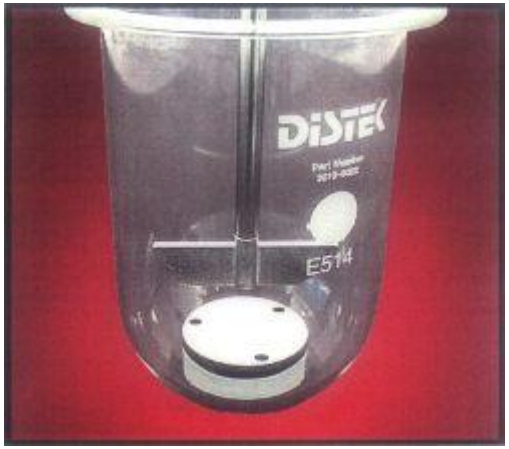


Figure 2-1. Distek Intrinsic Dissolution Apparatus
(Fixed/Static Disk System*)



gazza

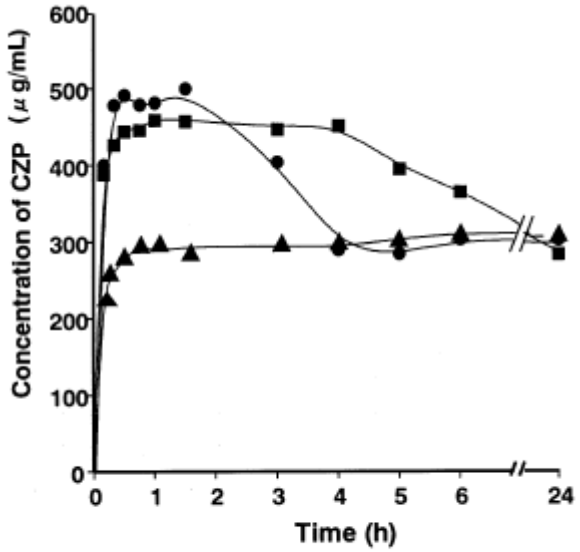


Fig. 6. Dissolution patterns of CZP polymorphs and dibydrate in JP13 1st fluid at 37°C, ■: form I, ●: form III, ▲: dihydrate.

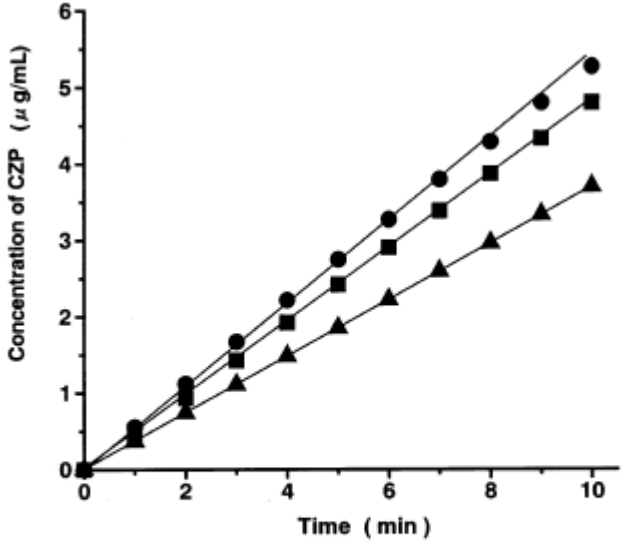


Fig. 4. Dissolution patterns of CZP polymorphs and dibydrate determined by the static disk method in JP13 1st fluid at 37°C, (0–10 min), ■: form I, ●: form III, ▲: dihydrate.

Physicochemical properties and bioavalability of carbamazepine polymorphs and dihydrate
A.L.Grzesiak, et al. J.Pharm.Sci., 92(11), 2260-2271, (2003),

gazza

Table 2
Intrinsic dissolution rates (IDR) and solubilities of CZP polymorphs and dihydrate in JP13 1st fluid at 37°C

	IDR ($\mu g/cm^2/min$)	solubility ($\mu g/ml$)
Form I	61.8	460.2[a]
Form III	67.4	501.9[a]
Dihydrate	41.8	311.1[b]

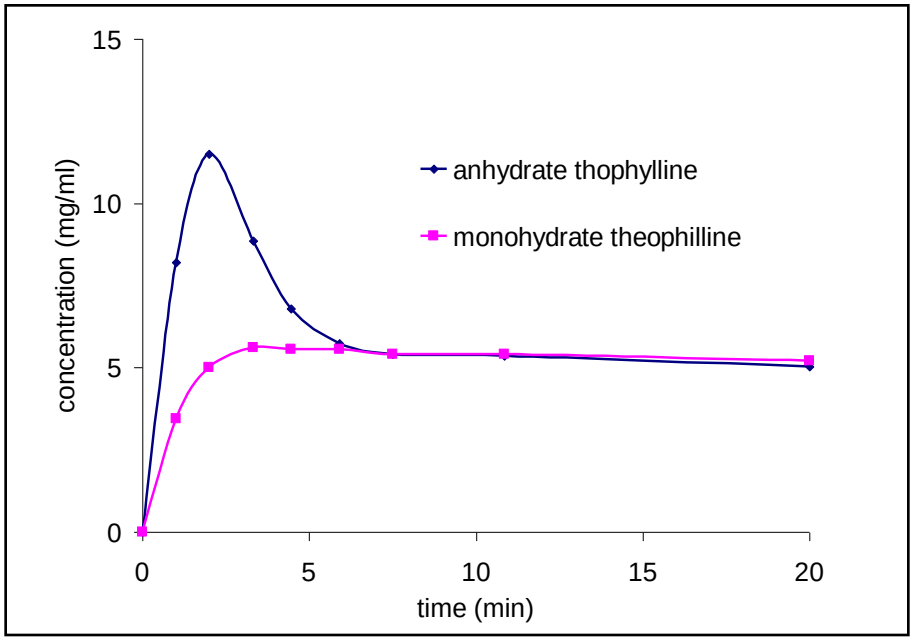
[a] Estimated value.
[b] Determined by dispersion method.

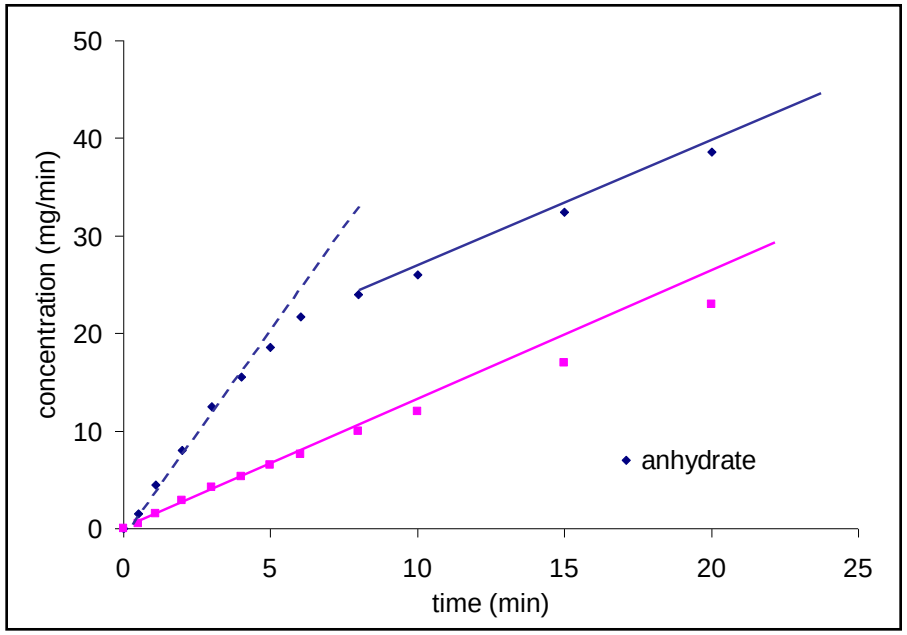
ordine di solubilità/IDR:

Forma III> Forma I> CZP.$2H_2O$

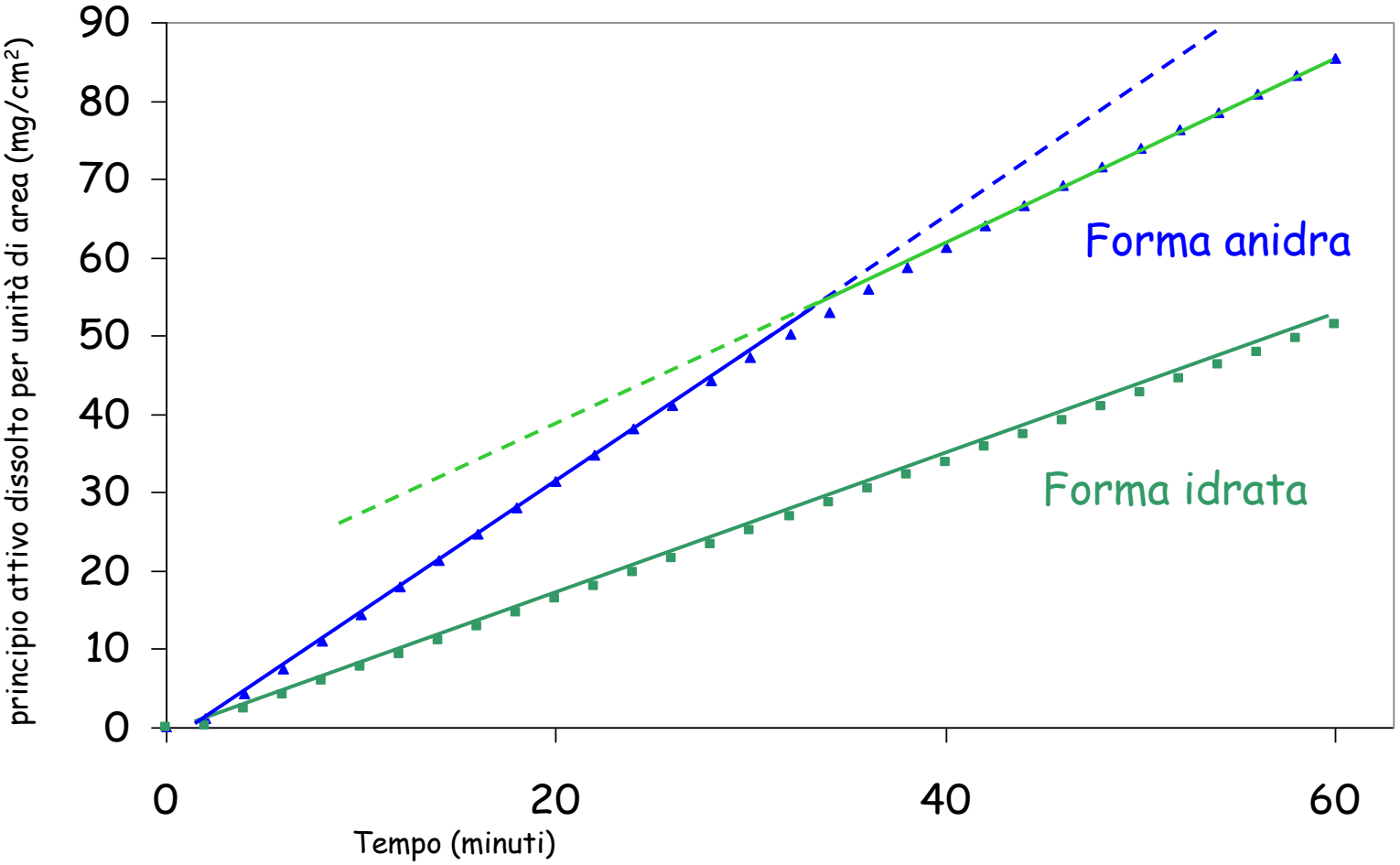
la Forma I è la forma stabile a 37°C (converte nella III a 71°C)

gazza


15
10
5
0
concentration (mg/ml)
0
5
10
15
20
time (min)
anhydrate thophylline
monohydrate theophilline


50
40
30
20
10
0
concentration (mg/min)
0
5
10
15
20
25
time (min)
anhydrate

gazza


principio attivo dissolto per unità di area (mg/cm²)
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
20
40
60
Tempo (minuti)
Forma anidra
Forma idrata

processi farmaceutici che possono indurre transizione di fase

Macinazione

Compressione

Granulazione

Essiccamento

Spray-drying

Freeze-drying

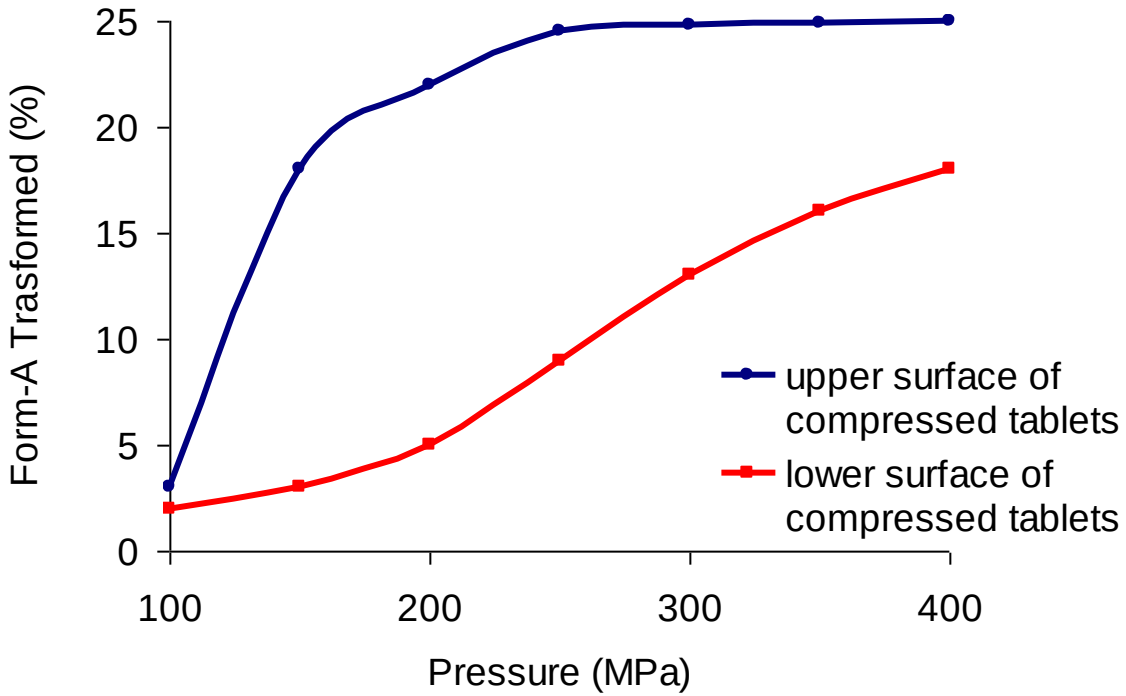
.....

gazza

Effetto della compressione sulla conversione di fase della caffeina

la caffeina ha 2 forme polmorfe, *A (metastabile, T_{tr} 141°C)*
B (stabile, punto di fusione 236°)

per effetto della compressione la forma A converte in B; si osserva un diverso grado di conversione in funzione della pressione applicata e in diversi punti della compressa



la forma solida presente nella porzione inferiore della compressa subisce, soprattutto a basse pressioni applicate, una minore forza e quindi converte in misura minore rispetto a quella presente nella porzione superiore

Polymorphic transformation of some drugs under compression
H.K. Chan and E. Doelker, Drug Dev. Ind. Pharm., 11, 315-332, 1985

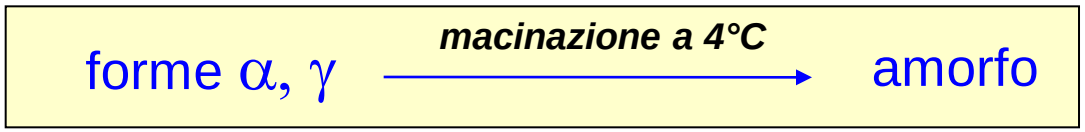
gazza

Effetto della macinazione sulla conversione di fase dell'indometacina

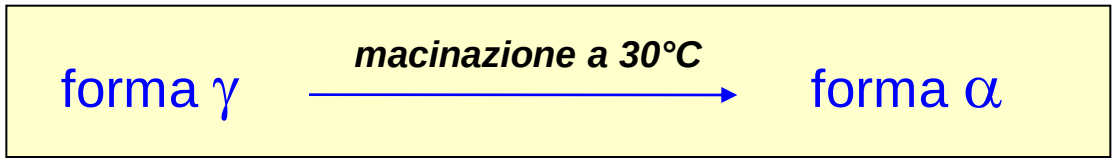
Le forme polimorfe dell'indometacina tendono a convertire per effetto della macinazione.

Il tipo e il grado di conversione dipende dalla temperatura alla quale il processo è condotto

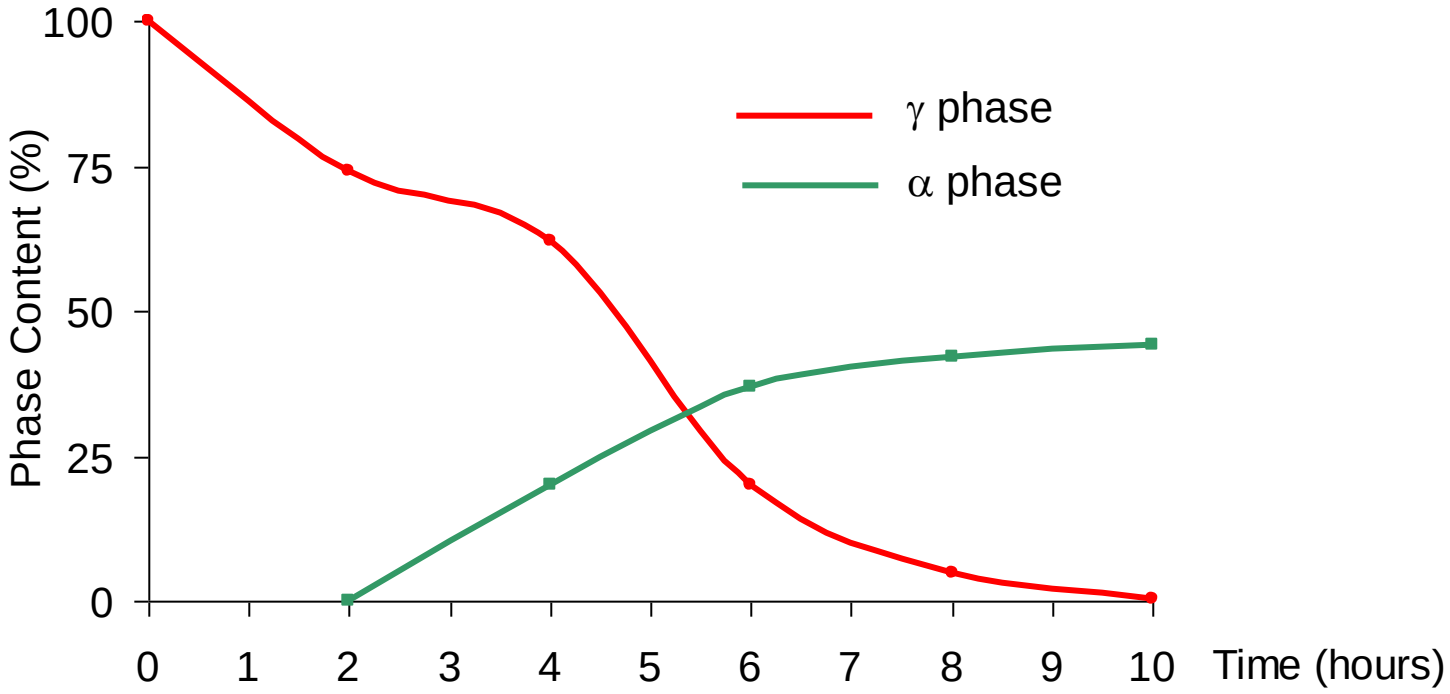
Ad esempio,se le forme α e γ vengono macinate a 4°C si produce una forma amorfa (stabile a 4°C)



Se però la macinazione è condotta a 30°C, si osserva la conversione di fase da γ ad α. Il meccanismo proposto per questa osservazione è che la forma γ sottoposta a macinazione diventa amorfa, ma l'amorfo a questa temperatura tende a cristallizzare nella forma α.



gazza



Relation between polymorphic transformation pathway during grinding and the physicochemical properties of bulk powders for pharmaceutical preparations

Otsuka M., Otsuka K. and Kaneniwa N., Drug Dev. Ind. Pharm., 20(9), 1649-1660 (1994).

gazza

ASPETTI CINETICI DEL POLIMORFISMO

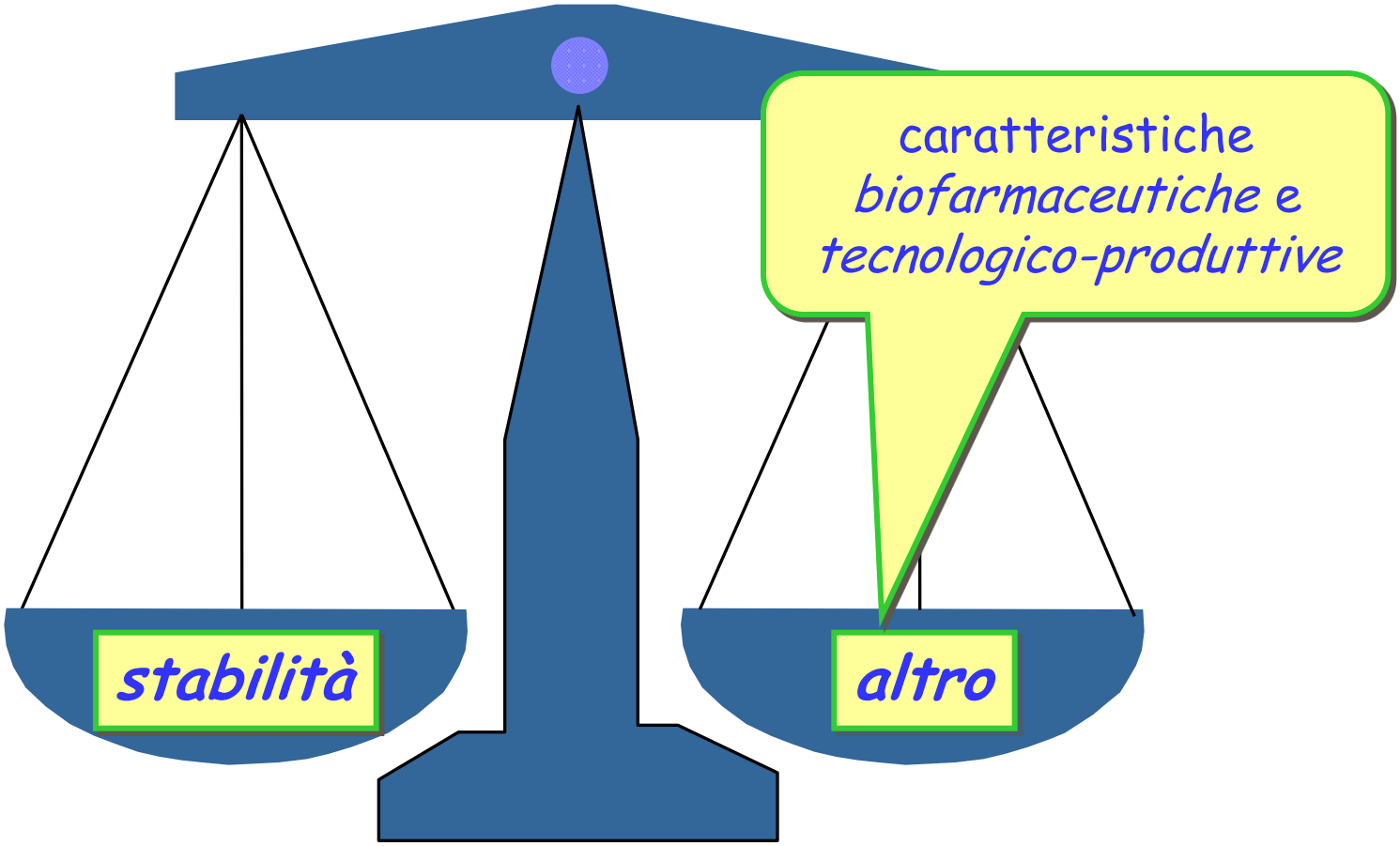
Legge di Ostwald

Nei processi di cristallizzazione ***non*** è la forma più stabile con il minore contenuto energetico che cristallizza *per prima*, bensì la forma ***meno*** stabile più vicina allo stato liquido.

W. Ostwald, The formation and changes of solids, Z. Physik. Chem. 22, 289-330, 1897.

gazza

SCELTA della FORMA SOLIDA del FARMACO

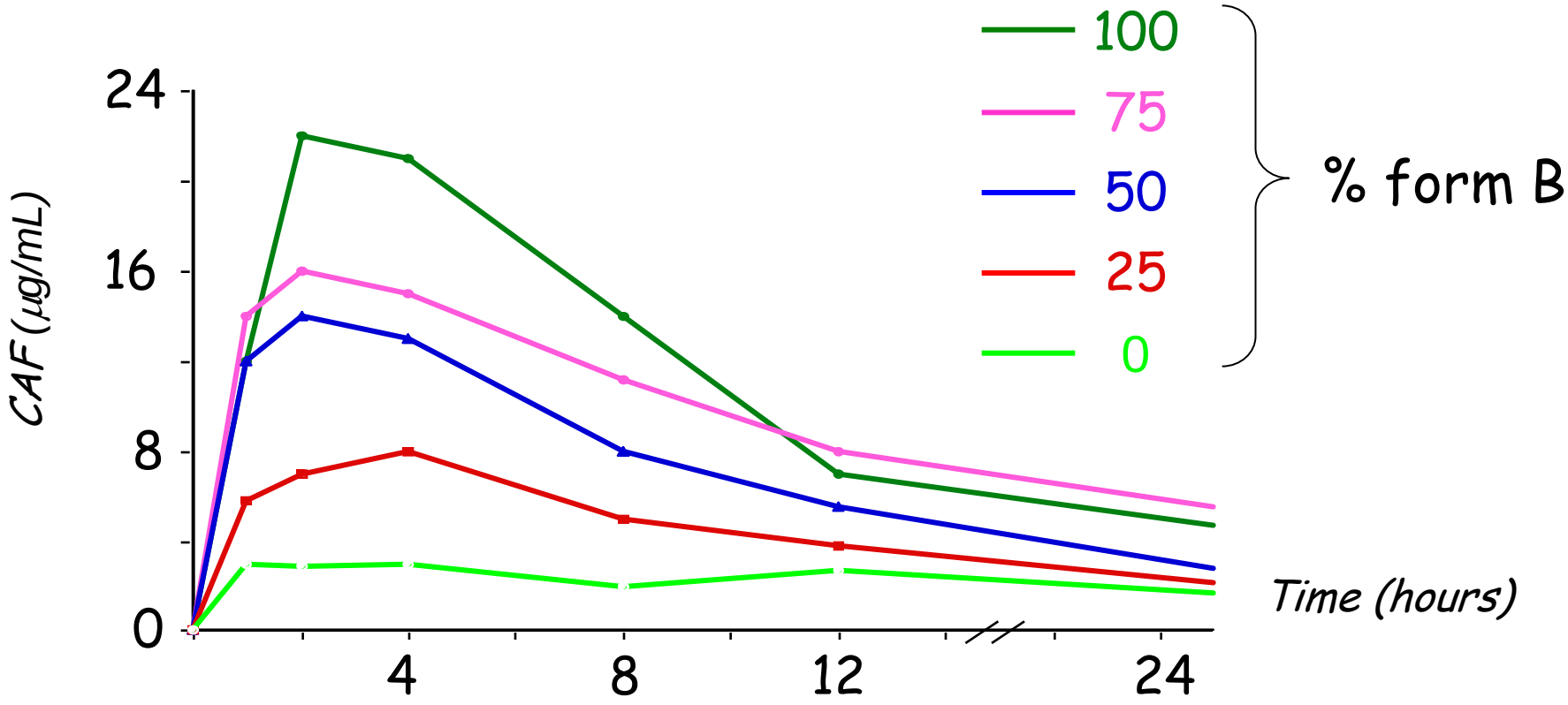


termodinamica & cinetica

gazza

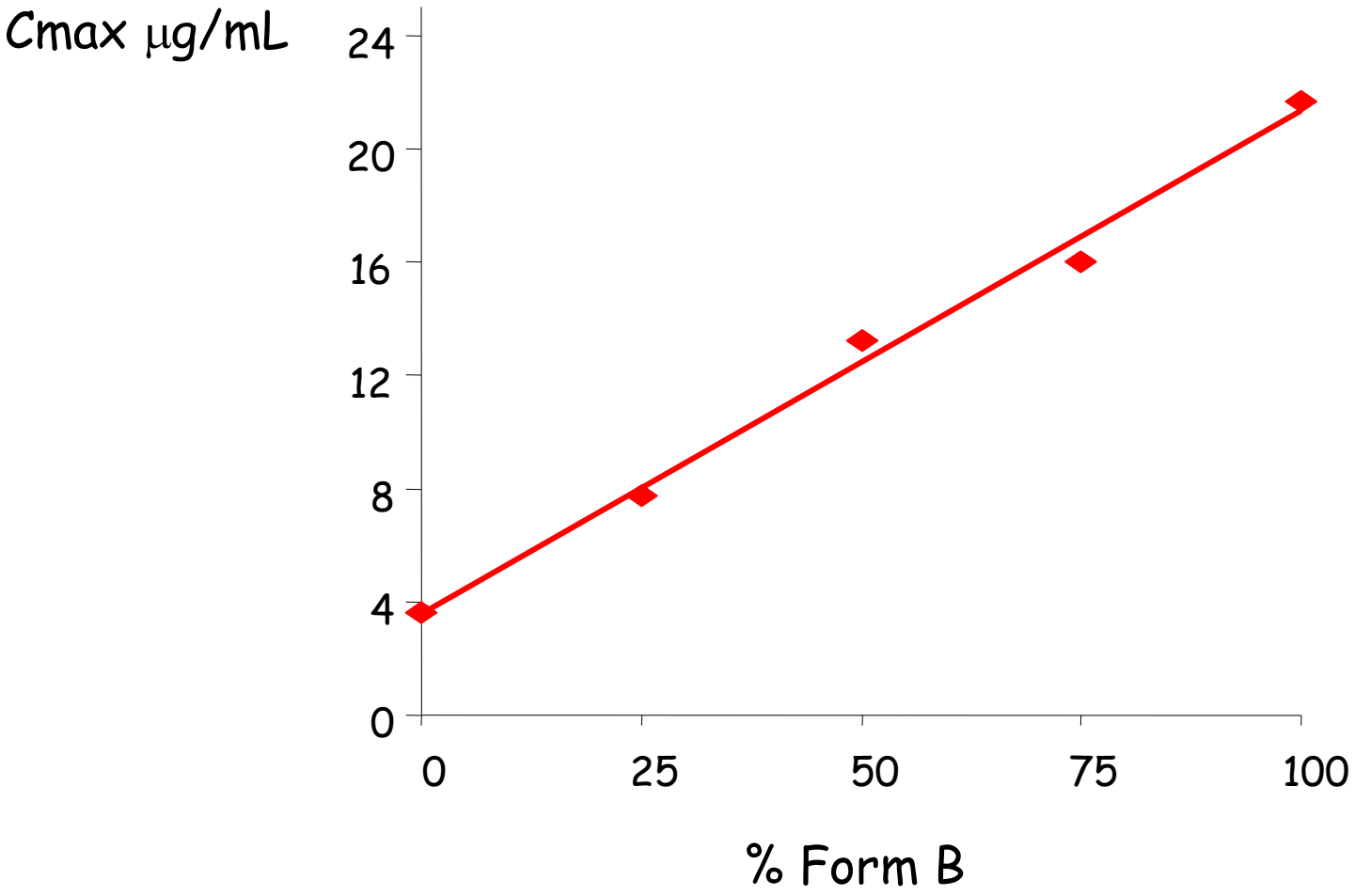
Implicazioni biofarmaceutiche

CAF palmitato



*Comparison of serum levels (μg ml^{-1}) obtained with suspension of **Chloramphenicol Palmitate** after oral administration of a dose equivalent to 1.5 g of Chloramphenicol.*

gazza


Cmax µg/mL
24
20
16
12
8
4
0
0
25
50
75
100
% Form B

Implicazioni biofarmaceutiche

Carbamazepina

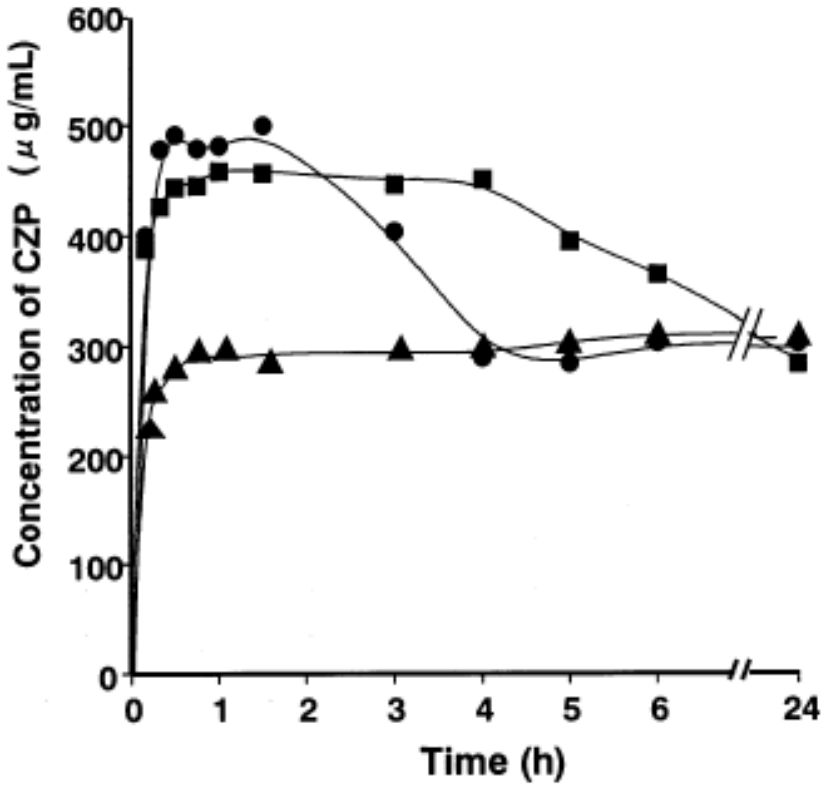


Fig. 6. Dissolution patterns of CZP polymorphs and dibydrate in JP13 1st fluid at 37°C, ■: form I, ●: form III, ▲: dihydrate.

□ CZP forma I

○ CZP forma III

△ CZP.2H_2O

gazza

Implicazioni biofarmaceutiche

Carbamazepina

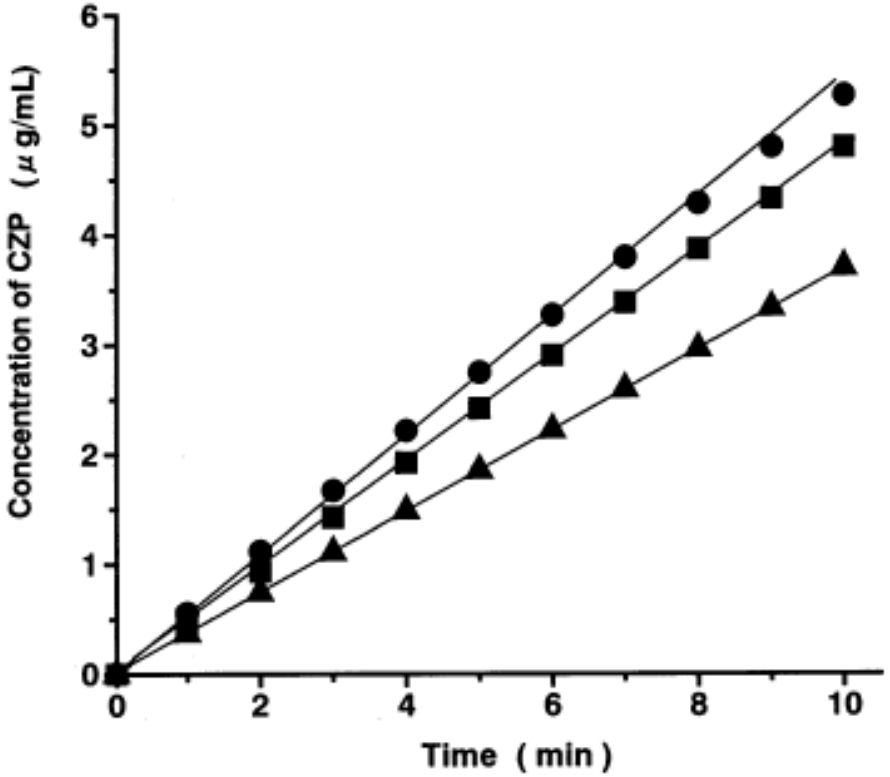


Fig. 4. Dissolution patterns of CZP polymorphs and dibydrate determined by the static disk method in JP13 1st fluid at 37°C, (0–10 min), ■: form I, ●: form III, ▲: dihydrate.

□ CZP forma I

○ CZP forma III

△ CZP.2H_2O

gazza

Implicazioni biofarmaceutiche

Carbamazepina

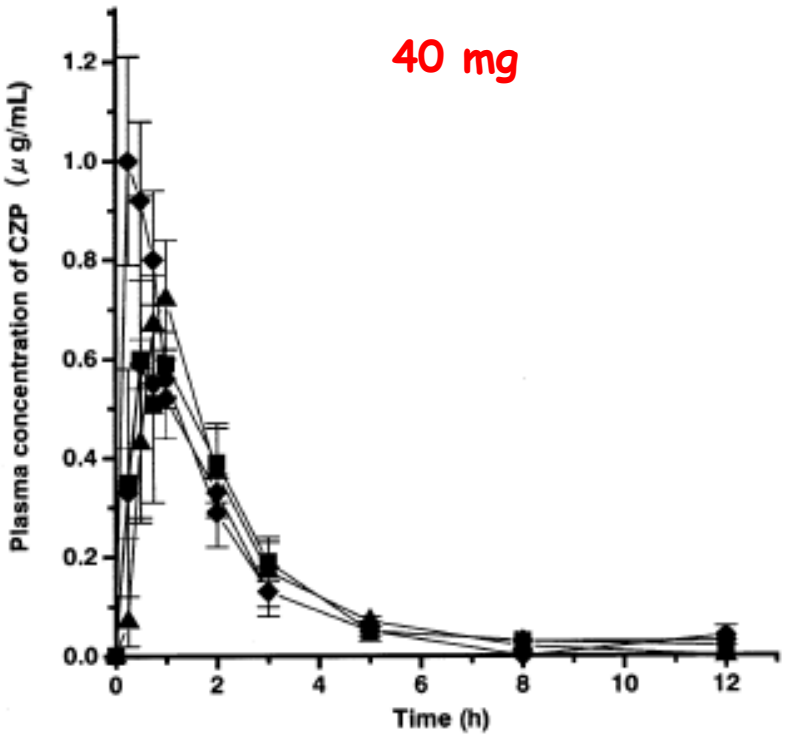


Fig. 9. Plasma concentration–time curves of CZP polymorphs and dihydrate after oral administration to dogs ($n = 4$; mean ± S.E.). Dose: 40 mg/body, ◆: solution, ■: form I, ●: form III, ▲: dihydrate.

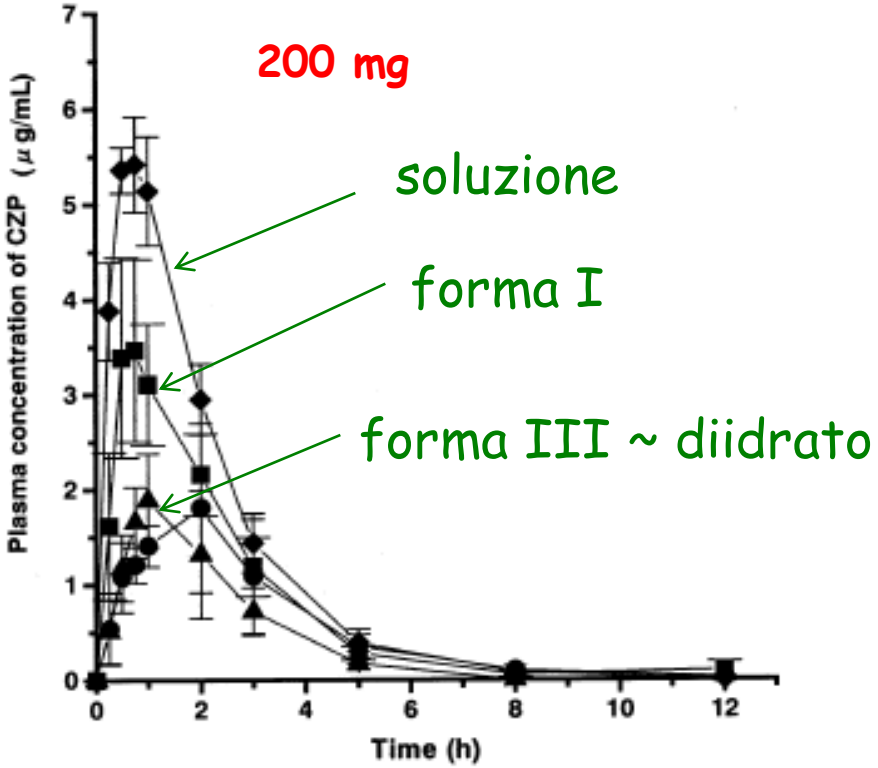


Fig. 10. Plasma concentration–time curves of CZP polymorphs and dihydrate after oral administration to dogs ($n = 4$; mean ± S.E.). Dose: 200 mg/body, ◆: solution, ■: form I, ●: form III, ▲: dihydrate.

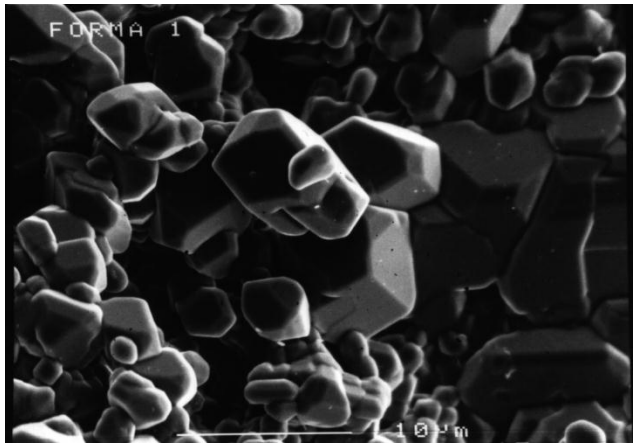
gazza

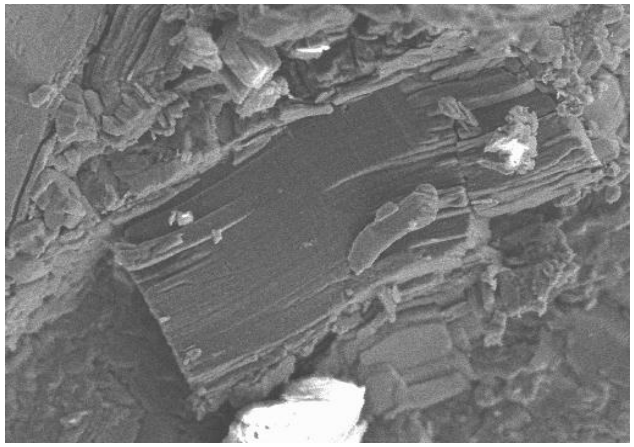
Implicazioni tecnologico-produttive

Es. (1) Effetto della forma cristallina sulla capacità di compattazione del paracetamolo

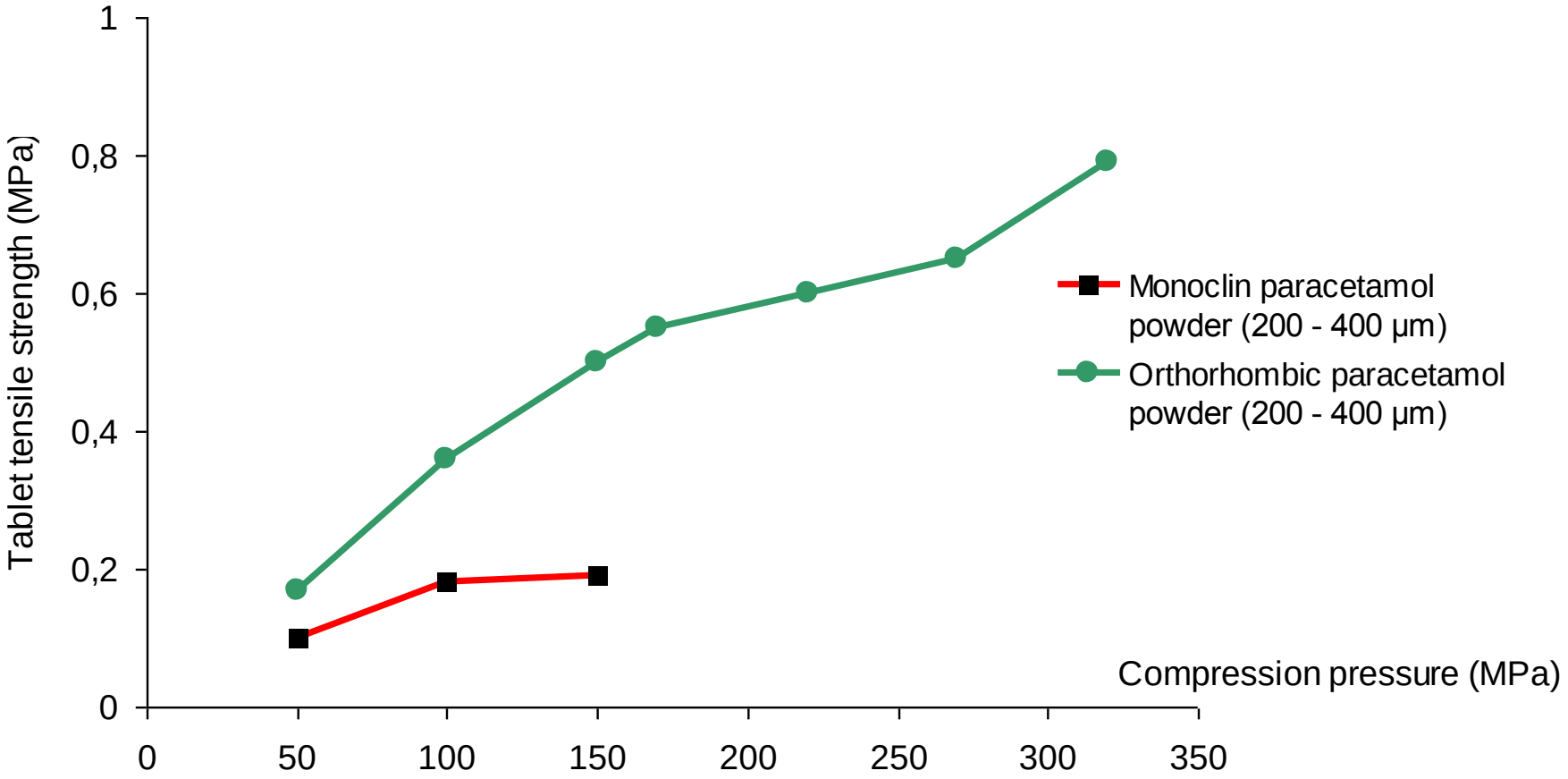
Sono noti due polimorfi del PARACETAMOLO:
in commercio si trova la forma monoclina;
la forma cristallina ortorombica è direttamente comprimibile.

Le differenze di comportamento meccanico e coesivo delle particelle dipendono dal *crystal packing* a livello molecolare.





gazza



Compression Behaviour of Orthorhombic Paracetamol
P.Di Martino et al., Pharma. Res.; 15 (7); 1122-1130 (1998)

gazza

ESISTONO METODI CHE CONSENTANO DI ESCLUDERE CHE UN PRODOTTO ABBIA ALTRE FORME CRISTALLINE, OLTRE A QUELLE GIÀ NOTE?

gazza

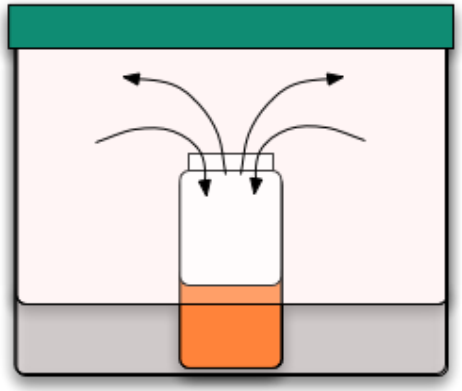
…..the number of forms known for a given compound is proportional to the time and energy spent in research on that compound

W.C. McCrone, Physics and Chemistry of the Organic Solid State, 1965

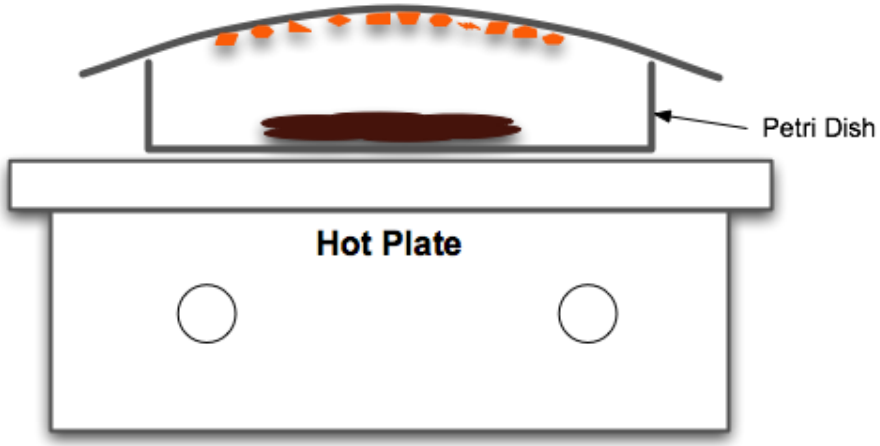
gazza

Ricerca di Polimorfi

- riscaldamento/raffreddamento
- evaporazione
- aggiunta di antisolvente
- diffusione di vapori
- fusione
- sublimazione



diffusione di vapori



sublimazione

gazza

pseudopolimorfismo- PSEUDOPOLIMORFI

capacità di alcune sostanze di incorporare molecole di solvente, generalmente di cristallizzazione, in rapporto stechiometrico nel reticolo cristallino per dare *nuove entità solide* con composizione chimica differente.

gazza

~~*pseudopolimorfismo*– PSEUDOPOLIMORFI~~

solvatomorfismo – FORME SOLVATE

capacità di alcune sostanze di incorporare molecole di *solvente*, generalmente di cristallizzazione, in rapporto stechiometrico nel reticolo cristallino per dare *nuove entità solide* con composizione chimica differente.

gazza

Abbondanza percentuale dei solventi presenti nelle strutture cristalline di forme solvate:

(Cambridge Crystallographic Database)

Acqua	61.4
Cloruro di metilene	5.9
Benzene	4.7
Metanolo	4.1
Acetone	2.8
Cloroformio	2.8
Etanolo	2.6
Tetraidrofurano	2.3
Toluene	2.2
Altri	11.2

gazza

- forme solvate a diversa stechiometria
- forme polimorfe di un determinato solvato

gazza

ISOSTRUTTURALITA'

fenomeno opposto al polimorfismo

elementi o sostanze chimicamente differenti presentano, allo stato solido, la stessa struttura cristallina (stesso gruppo spaziale, dimensioni della cella elementare molto simili, coordinate atomiche in stretta corrispondenza per gli atomi comuni)

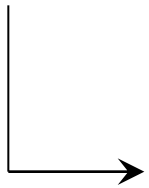
gazza

Implicazioni del fenomeno del solvatomorfismo in campo farmaceutico:

processabilità

solubilità → biodisponibilità

stabilità fisica (rispetto a T e RH)



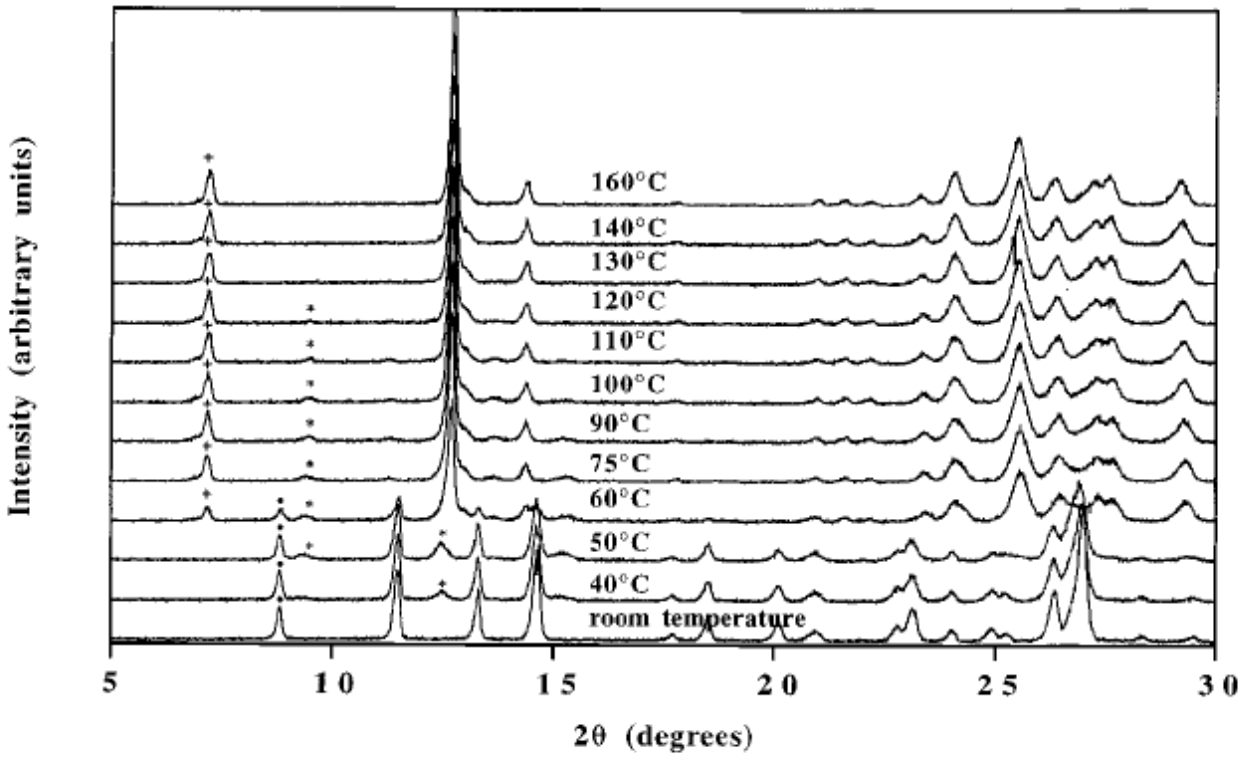
possibilità di disidratazione o passaggio ad uno stato di idratazione maggiore

gazza

La desolvatazione (rimozione del solvente dalla struttura cristallina) di un solvato può comportare:

- amorfizzazione
- cambiamento della struttura cristallina (formazione di un anidro cristallino)
- mantenimento della struttura cristallina del solvato

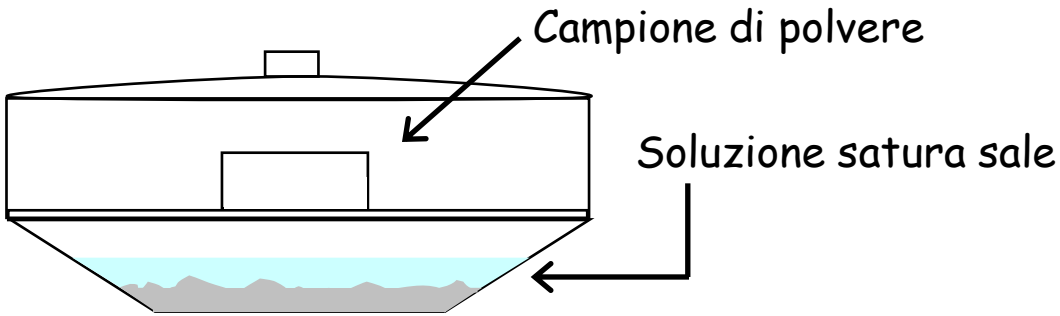
gazza



Analisi ai raggi x a temperatura variabile su polveri di teofillina monoidrato

gazza

la tendenza di un materiale a formare idrati può essere valutata anche attraverso studi a umidità relativa controllata (T costante)



gazza

la tendenza di un materiale a formare idrati può essere valutata anche attraverso studi a umidità relativa controllata (T costante)

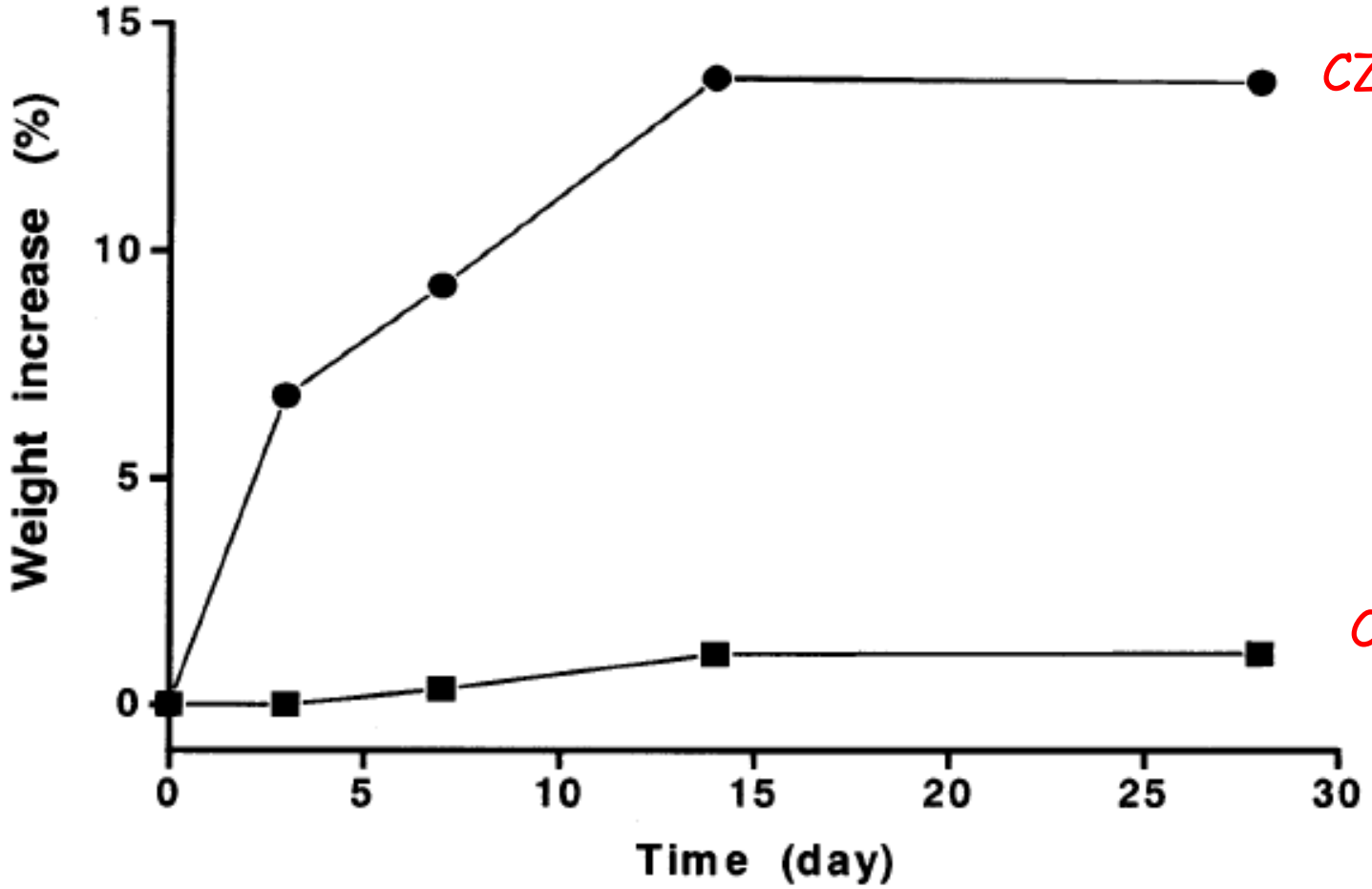


Fig. 7. Hygroscopicity study of polymorphs at 40°C and 98% RH, ■: form I, ●: form III.

gazza

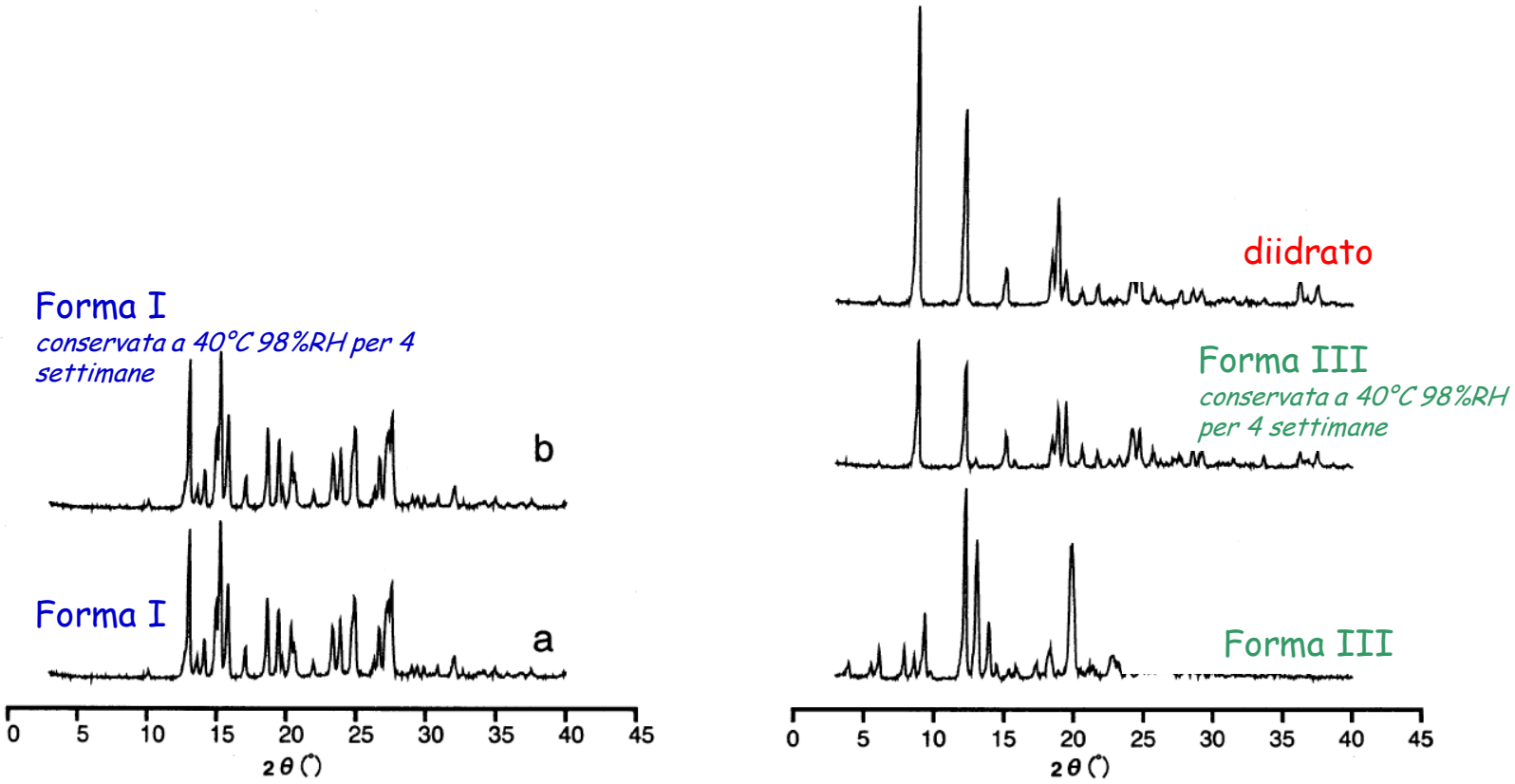


Fig. 8. Powder X-ray diffraction patterns of CZP polymorphs stored at 40°C and 98% RH for 4 weeks. a: Intact form I, b: form I stored at 40°C and 98% RH for 4 weeks, c: intact form III, d: form III stored at 40°C and 98% RH for 4 weeks, e: dihydrate.

gazza

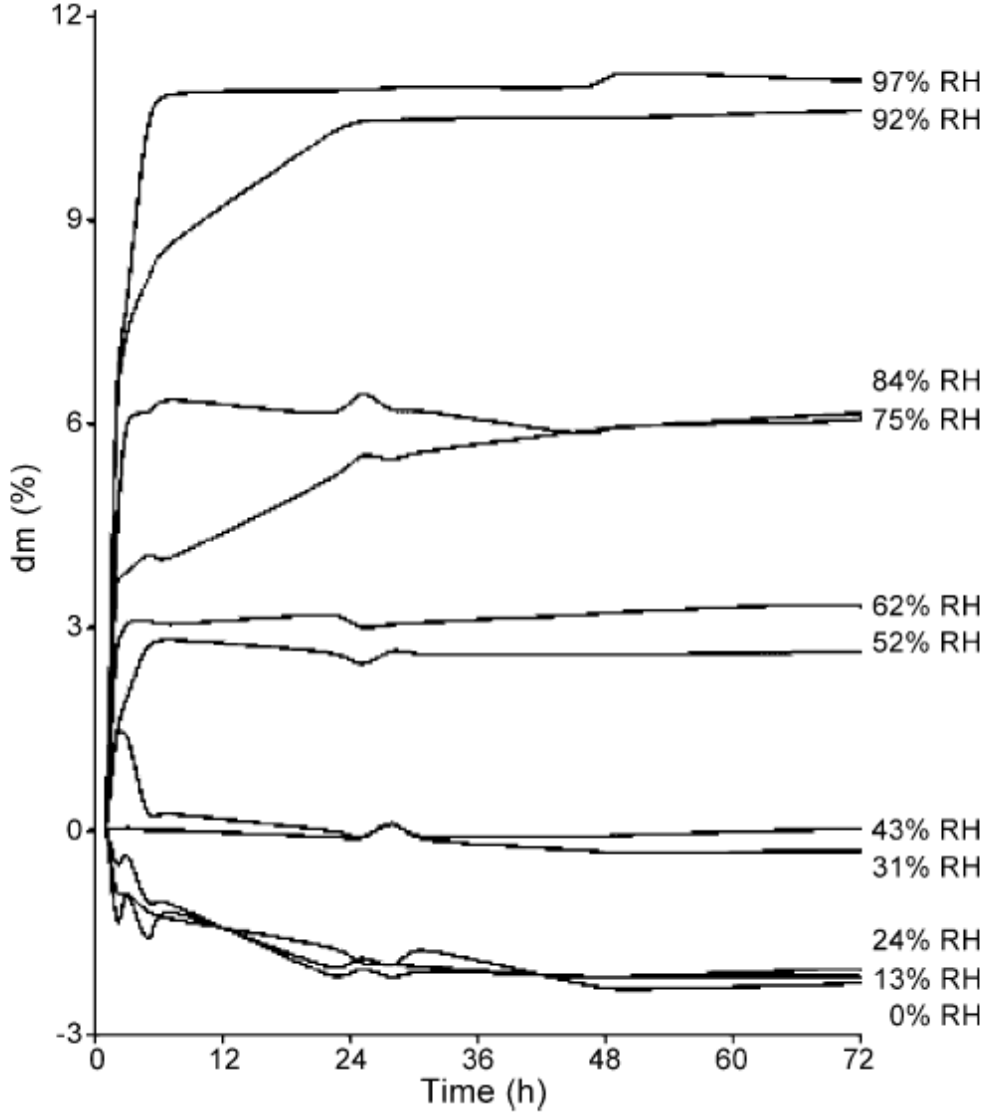


Fig. 12. Integral desorption isotherms of TCHC at 25 °C. The water content nearly stays constant at 31–43% RH (room conditions). At lower humidities water is desorbed, at higher humidities water is absorbed by the crystals.

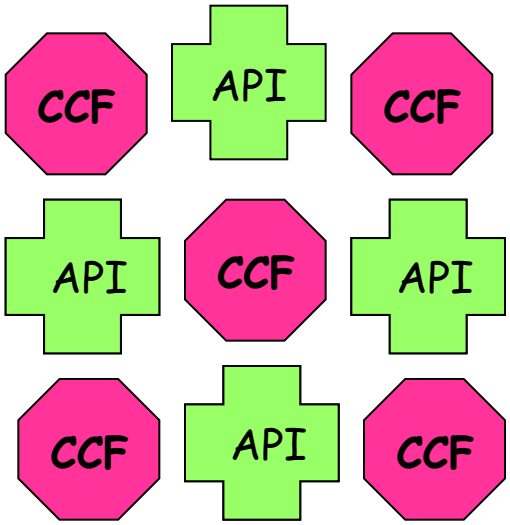
gazza

CO-CRISTALLI

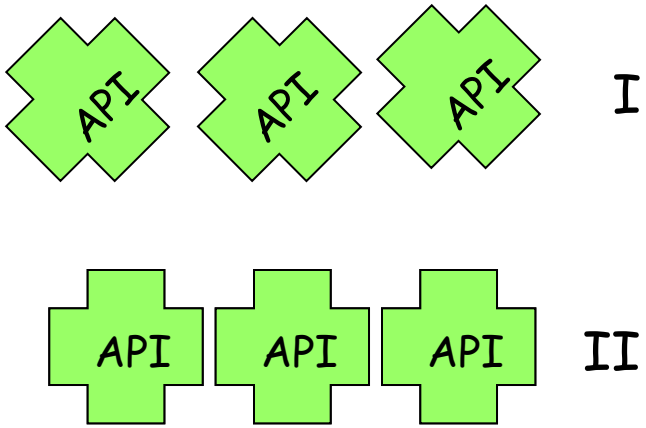
solidi cristallini costituiti da un API e da un'altra sostanza (co-crystal former CCF) accettabile da un punto di vista farmaceutico

- *CFF deve essere solido a t.a.*
- *l'interazione tra API e CCF è dovuta a legami a H, interazioni di van der Waals, π stacking, ecc.*

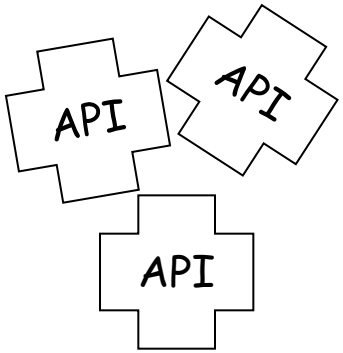
gazza

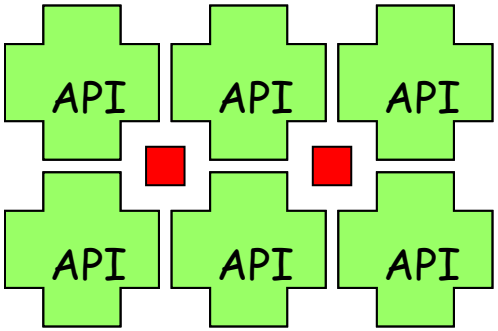


CO-CRISTALLI

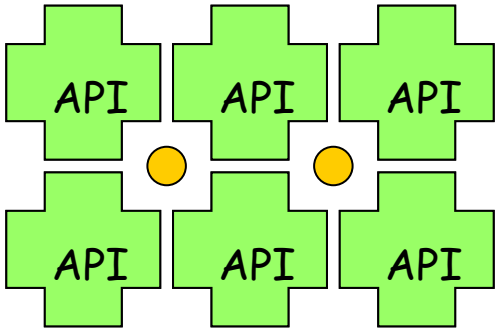


POLIMORFI





SOLVATI, IDRATI



SALI

gazza

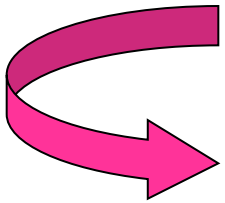
CCF

Co-Crystal Former

CCF può essere un API, un eccipiente o più in generale una qualsiasi sostanza GRAS (*generally regarded as safe*)

CCF può essere scelto in modo da conferire al co-cristallo le caratteristiche desiderate

CCF è una sostanza in grado di interagire anche con API non salificabili



-COOH

-$CONH_2$

gazza

CLATRATI

composti di addizione formati per inclusione di molecole in cavità presenti nel reticolo cristallino di una seconda sostanza

gazza

SOLUZIONI SOLIDE

sistemi cristallini nei quali si ha mutua solubilità di componenti simili allo stato solido

sostanze che cristallizzano nello stesso gruppo spaziale, con celle elementari e coordinate atomiche degli atomi in comune simili, POSSONO dare soluzioni solide

(es. etil e propilparabene)

gazza

METODI DI ANALISI DELLO STATO SOLIDO

- diffrattometria raggi X su polveri e su cristallo singolo
- metodi termici (DTA, DSC, TGA, microcalorimetria, calorimetria di dissoluzione)
- studi di solubilità e velocità di dissoluzione
- microscopia
- spettroscopia IR/Raman
- risonanza magnetica nucleare allo stato solido (SSNMR)
-studi di adsorbimento di umidità
- .....

gazza

DIFFRAZIONE DI RAGGI X

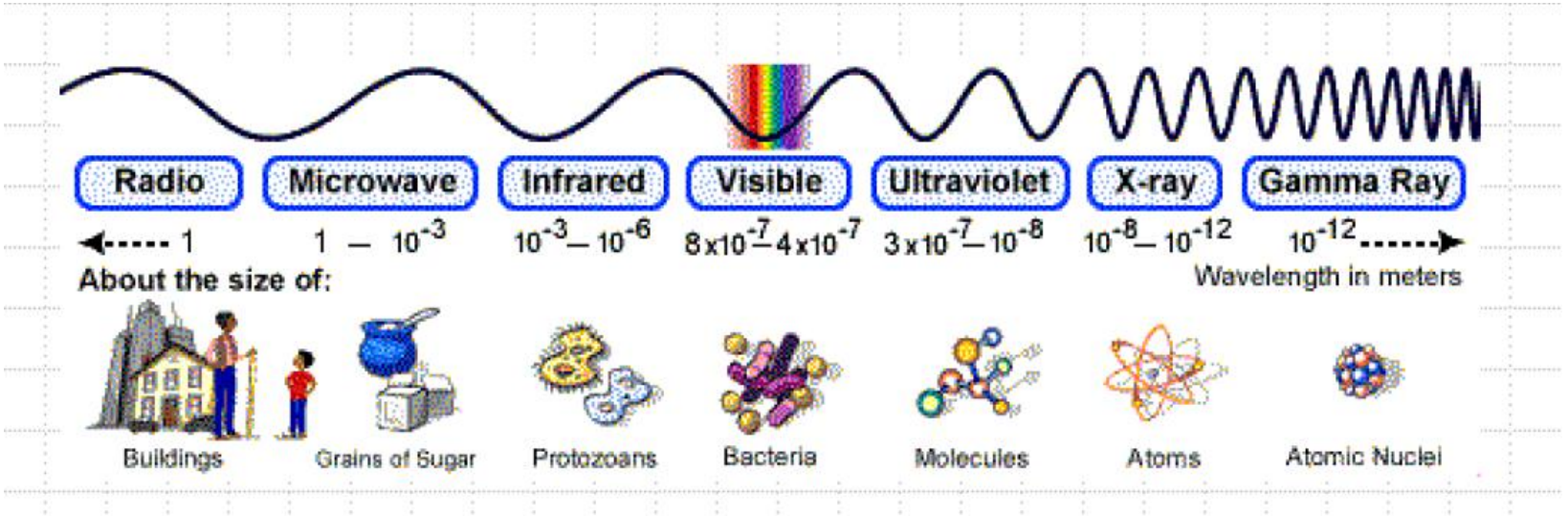
- Single Crystal XRD
- Powder X-Ray Diffraction (PXRD)

Principio: un cristallo, costituito dal punto di vista della struttura interna da un complesso di particelle disposte in maniera ordinata e periodica nello spazio, può agire da reticolo di diffrazione tridimensionale delle radiazioni che hanno lunghezze d'onda confrontabili con le distanze interatomiche (alcuni Amstrongs; 1Å=10^{-8} cm)

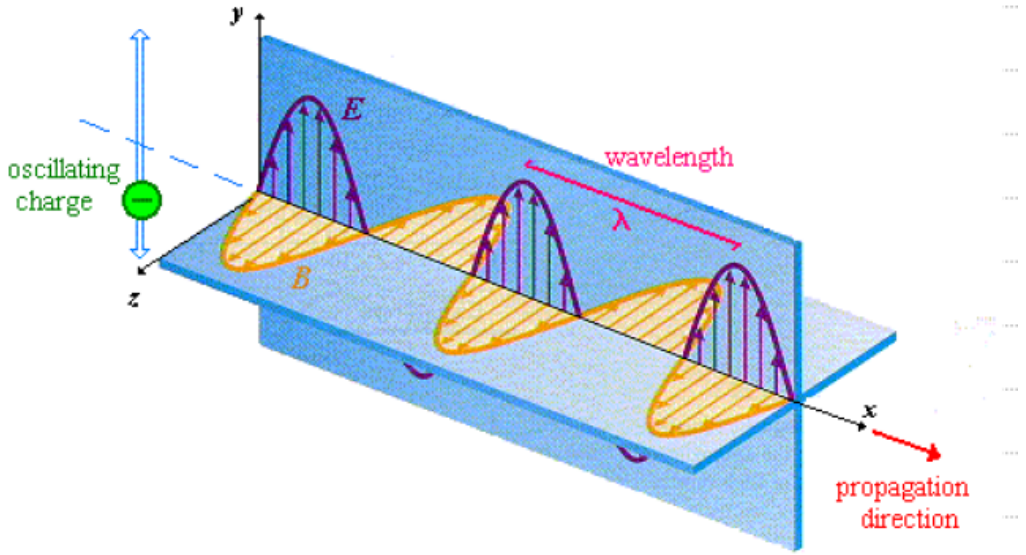
gazza

Raggi X

radiazioni elettromagnetiche con lunghezza d'onda nel range 0,5-2,5 Å



gazza



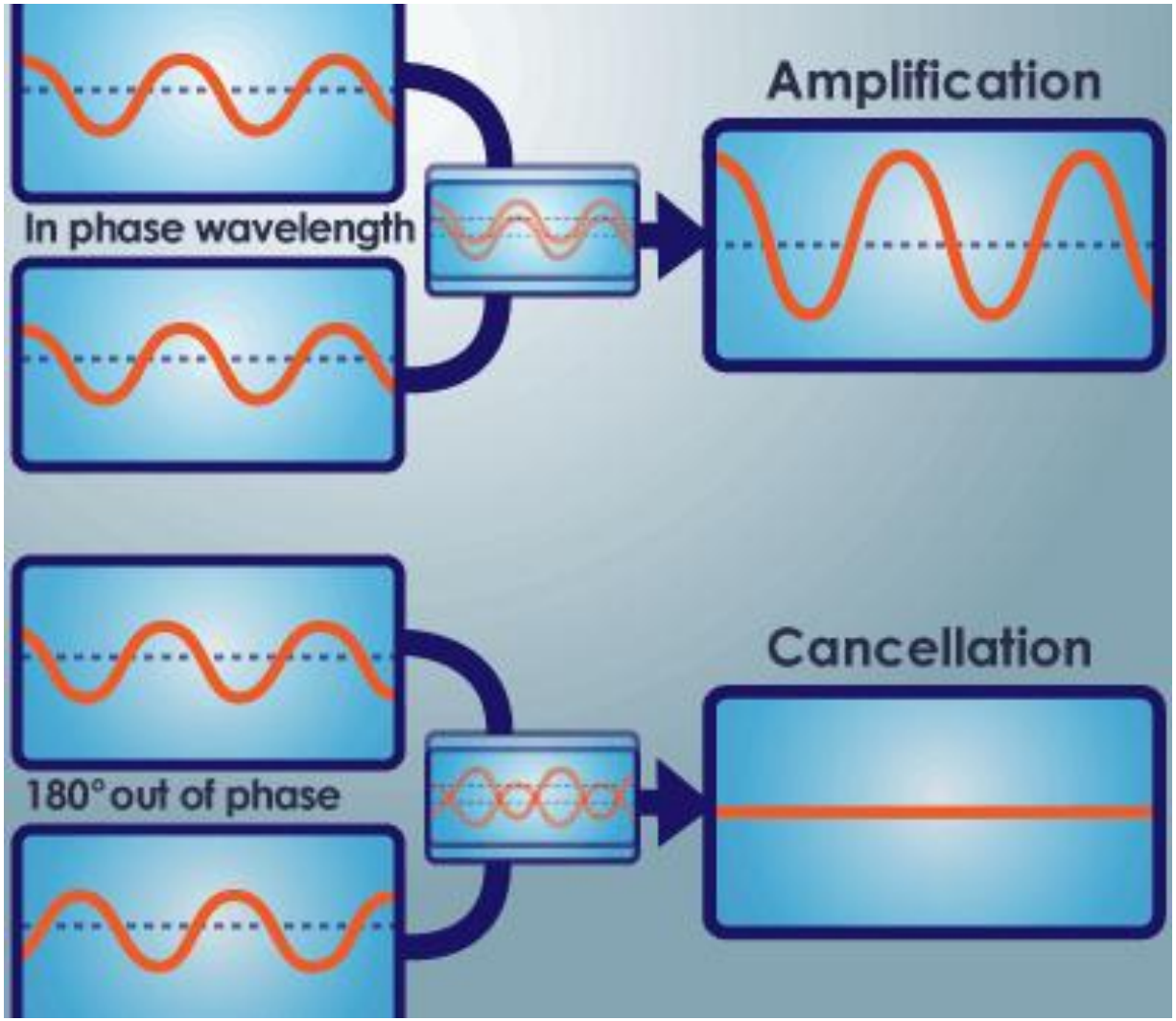
Relationship between wavelength and frequency:

$$\lambda = c/\nu$$

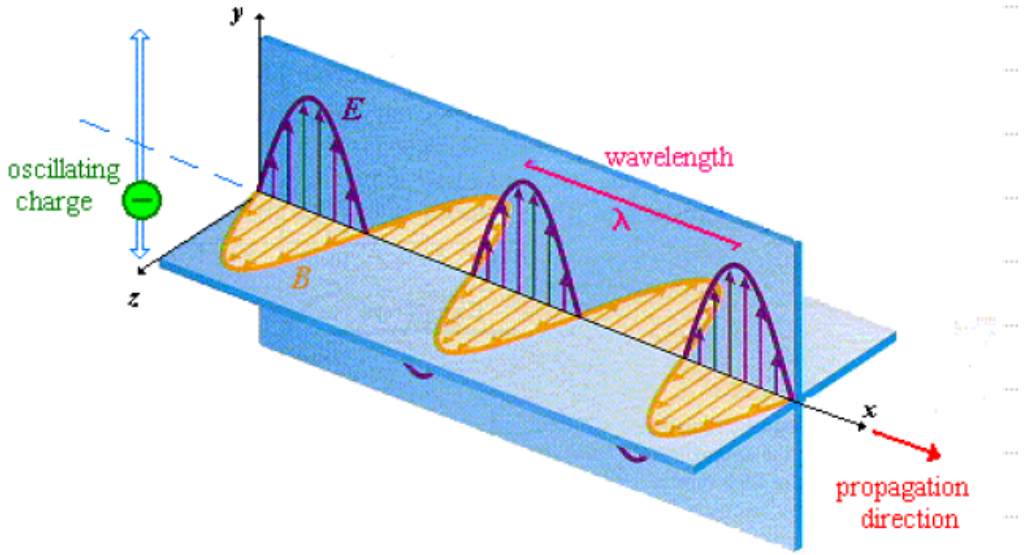
c – velocity of light ($\sim 3 \times 10^8$ m/s)

gazza

Fenomeni di interferenza



gazza



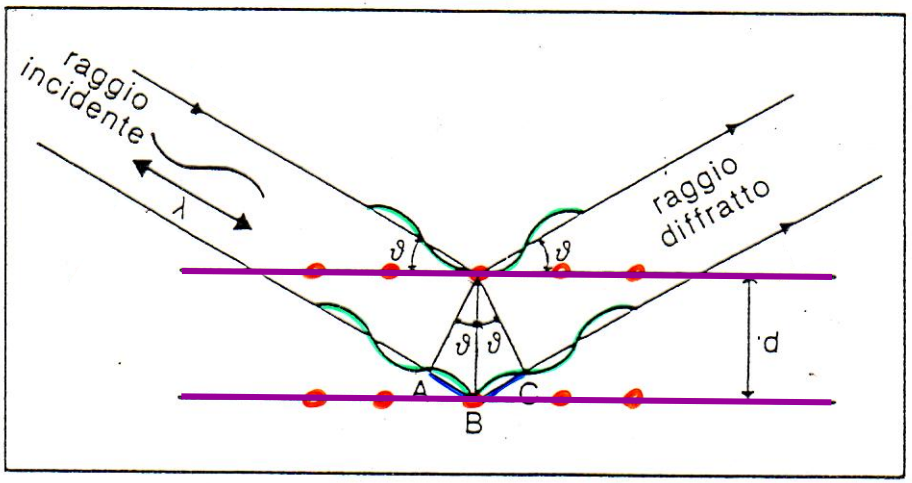
Relationship between wavelength and frequency:

$$\lambda = c/\nu$$

c – velocity of light ($\sim 3 \times 10^8$ m/s)

gazza

Un fascio monocromatico di raggi x incide sul cristallo (con un angolo θ). Viene diffuso in ogni direzione dagli elettroni delle particelle di ciascuna cella elementare.



piani reticolari paralleli

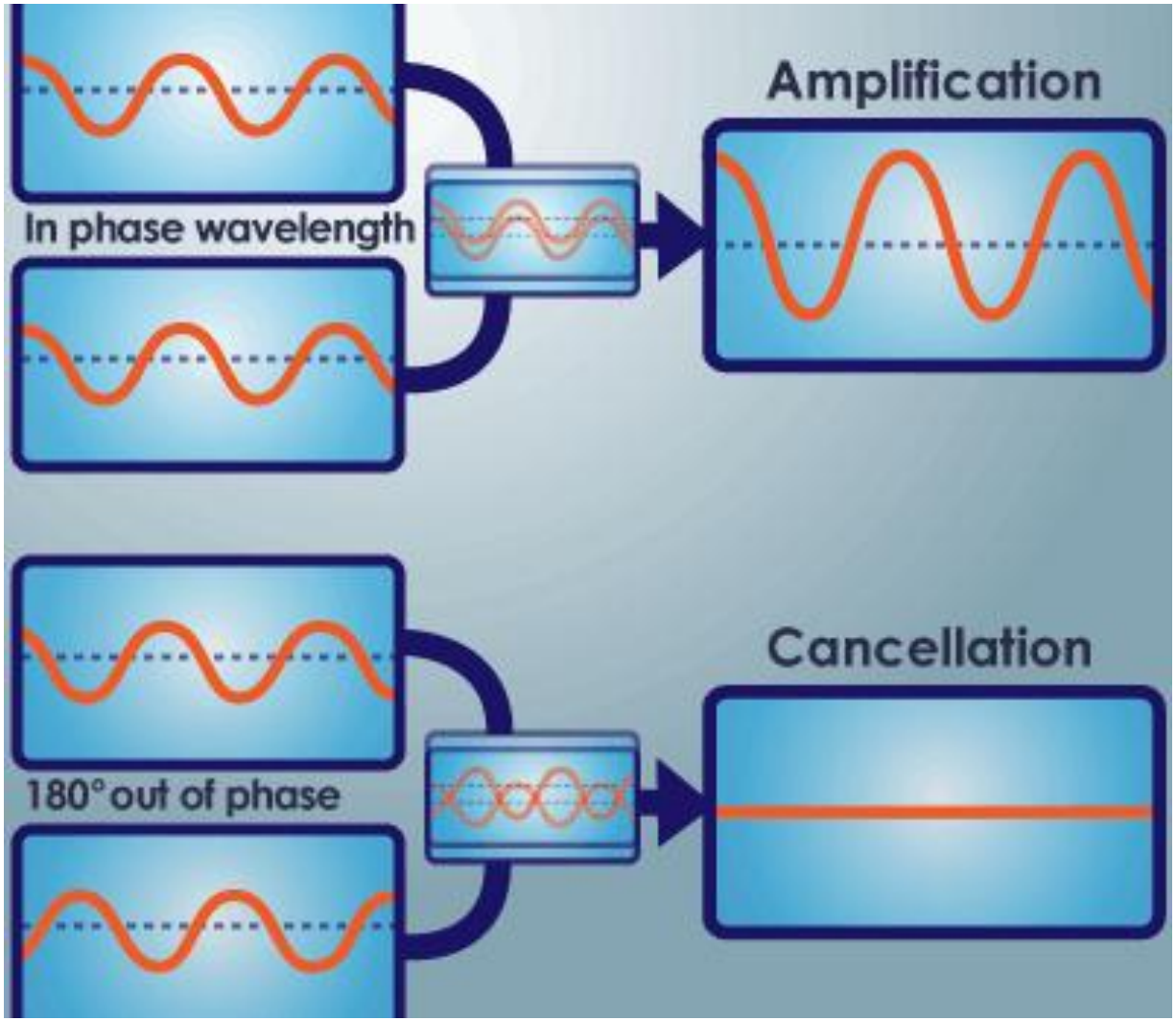
Lo spettro di diffrazione da parte di un solido cristallino è il risultato di un insieme di fenomeni di interferenza che hanno esito costruttivo soltanto quando è soddisfatta l'equazione di Bragg:

$$n\lambda = 2d \operatorname{sen}\theta$$

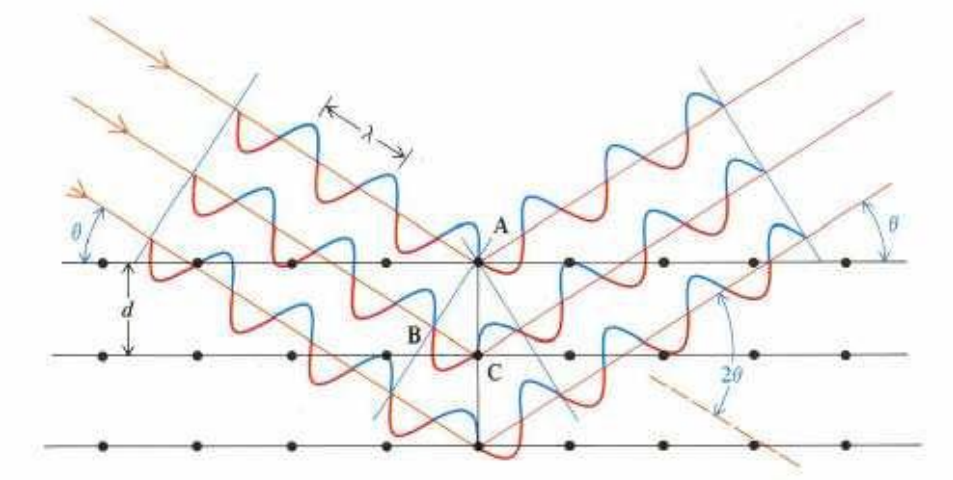
n=numero intero
λ=lunghezza d'onda della radiazione incidente
d=distanza interplanare di una famiglia di piani reticolari del cristallo
θ=angolo del raggio incidente rispetto al piano

gazza

Fenomeni di interferenza



gazza

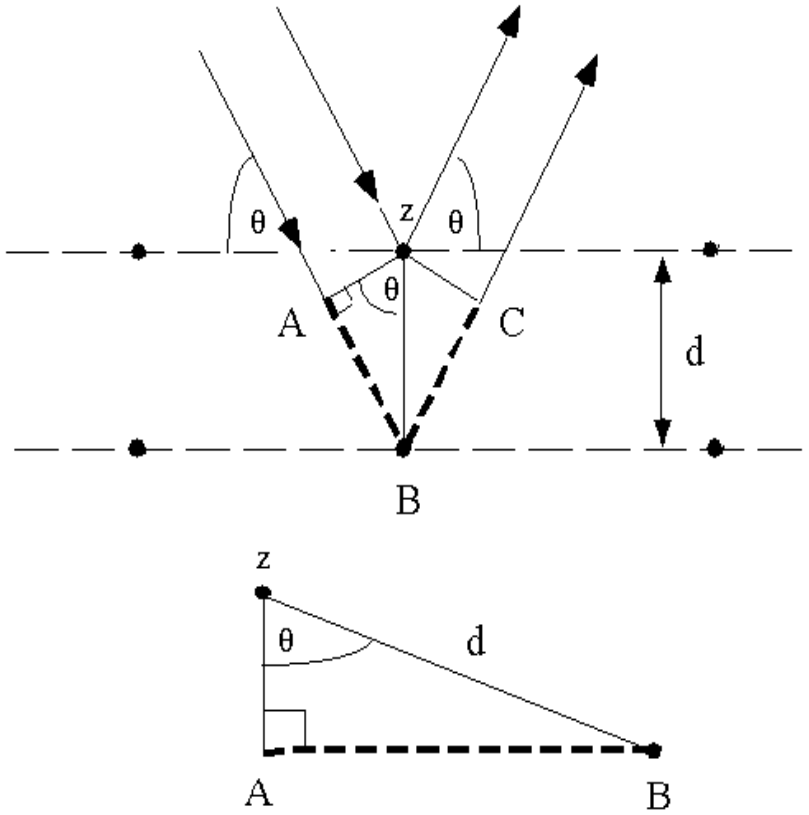


il fenomeno macroscopico della diffrazione nasce dalla somma coerente di tutte le onde elettromagnetiche diffuse dagli atomi che si trovano lungo una stessa famiglia di piani reticolari.

gazza

Per avere interferenza costruttiva (somma coerente di tutte le onde elettromagnetiche diffuse) deve essere soddisfatta l'equazione di Bragg

$$n\lambda = 2d \operatorname{sen}\theta$$



n= numero intero

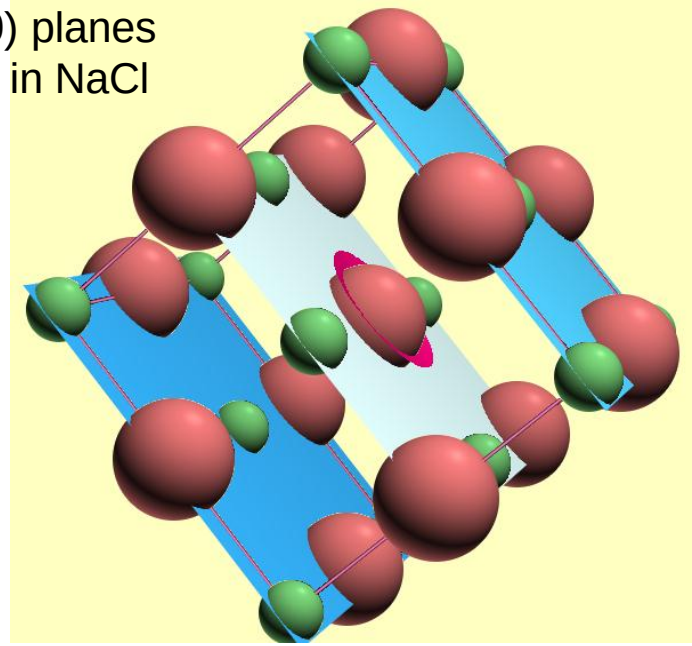
λ= lunghezza d'onda della radiazione incidente

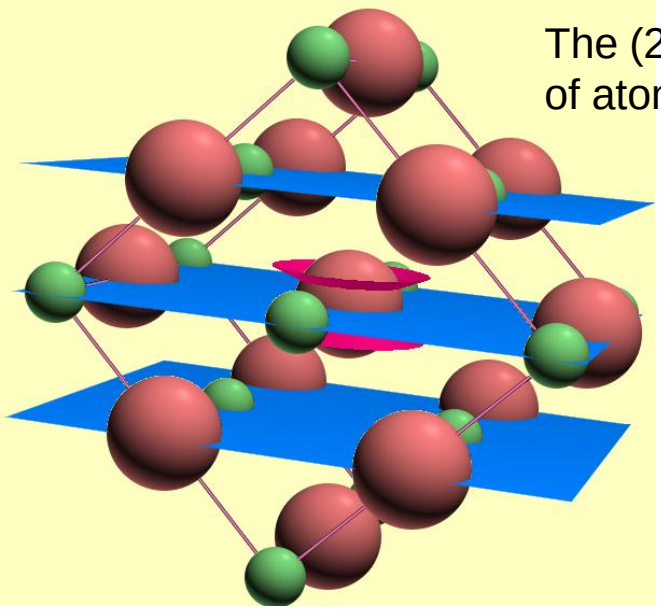
d= distanza interplanare di una famiglia di piani reticolari del cristallo

θ= angolo del raggio incidente rispetto al piano

gazza

The (200) planes of atoms in NaCl



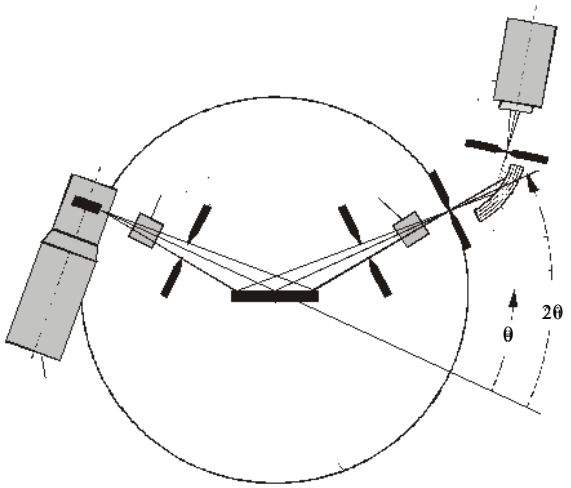


The (220) planes of atoms in NaCl

Parallel **planes of atoms** intersecting the unit cell are used to define directions and distances in the crystal.

These crystallographic planes are identified by **Miller indices**.

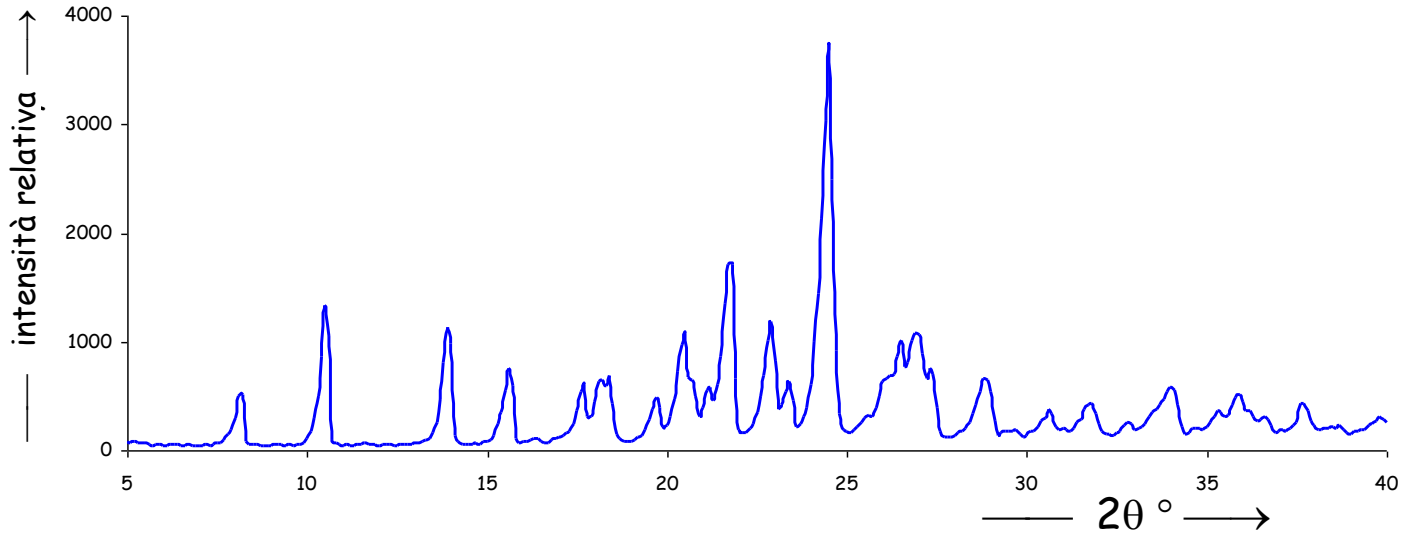
gazza



Bragg-Brentano (flat plate geometry)

gazza

Spettro di diffrazione su polveri



Spettro di diffrazione su polveri: diagramma dell'intensità diffratta da una famiglia di piani reticolari con distanza interplanare ***d*** in funzione dell'angolo di incidenza ***θ***

Può essere considerato **l'impronta digitale** della sostanza in esame

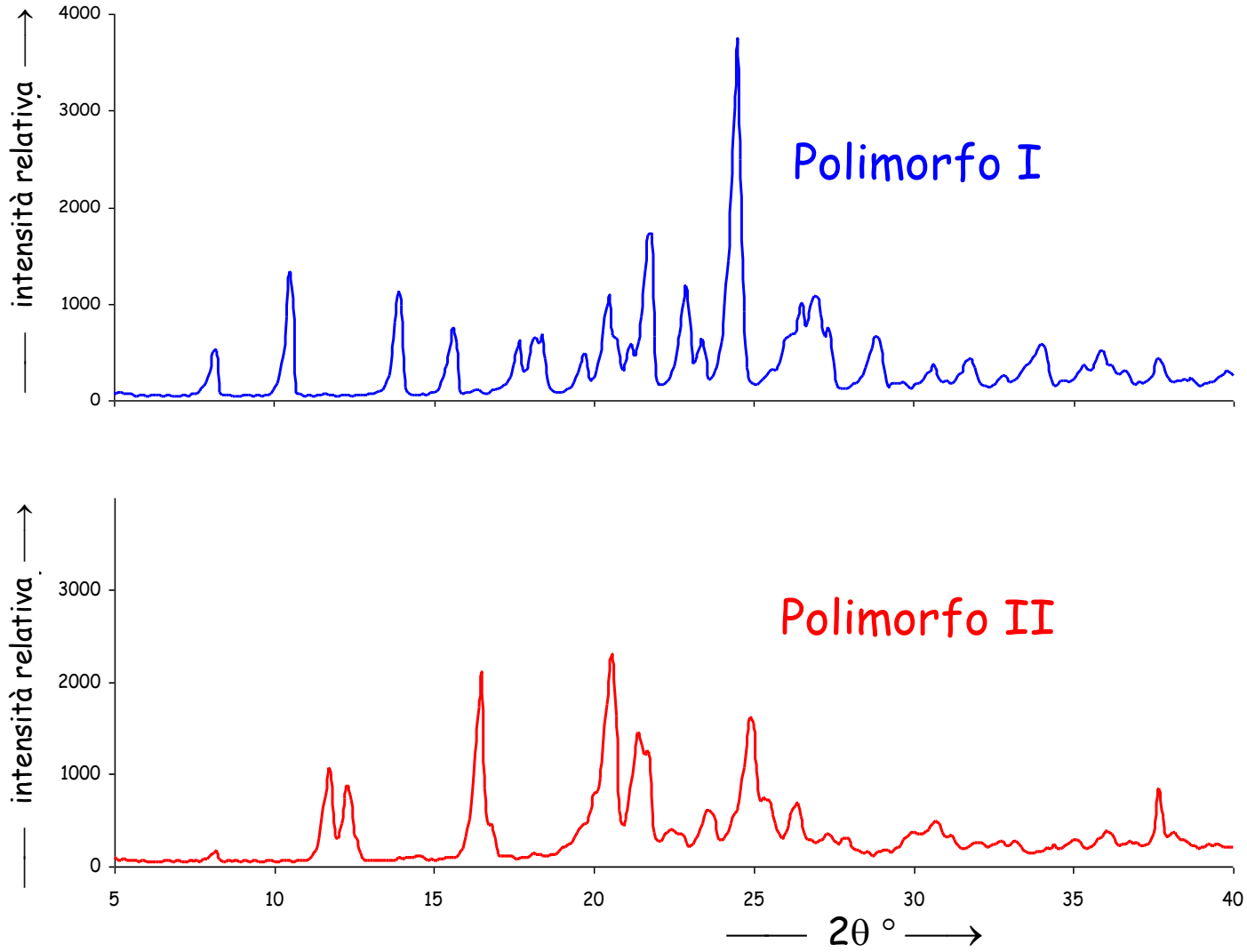
Posizione angolare (2θ) dei picchi dipende dalle distanze interatomiche;

Intensità dei picchi (area del picco) dipende dagli atomi presenti nella cella elementare e dalle loro posizioni

gazza

Spettro di diffrazione su polveri

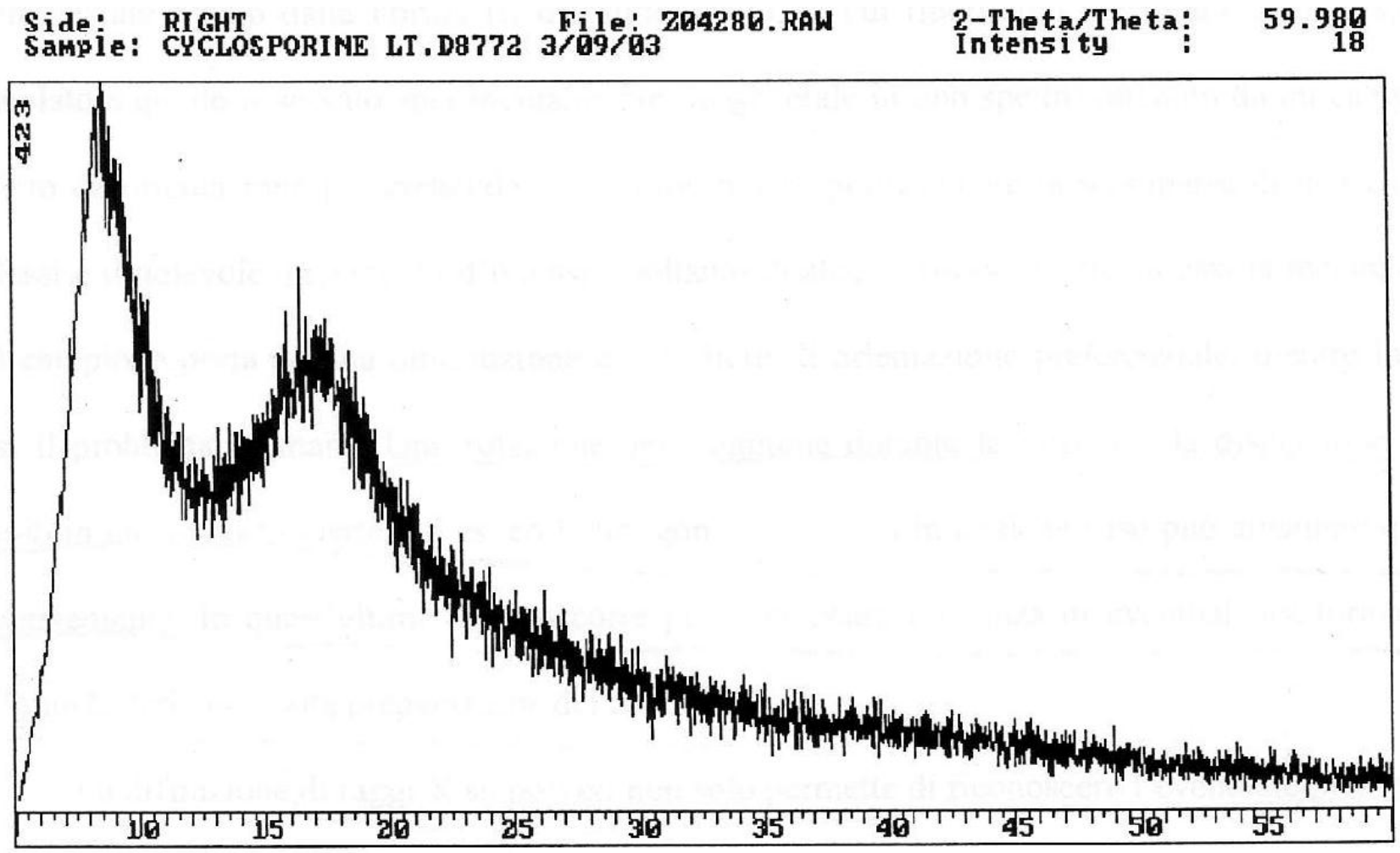
i polimorfi essendo sostanze solide con diverse celle elementari e diversa disposizione molecolare all'interno di esse, hanno spettro di diffrazione diverso



Cu-K_a radiation (λ = 1.5418Å) , scanning rate 0.5 °/min, 40kV and 20 mA

gazza

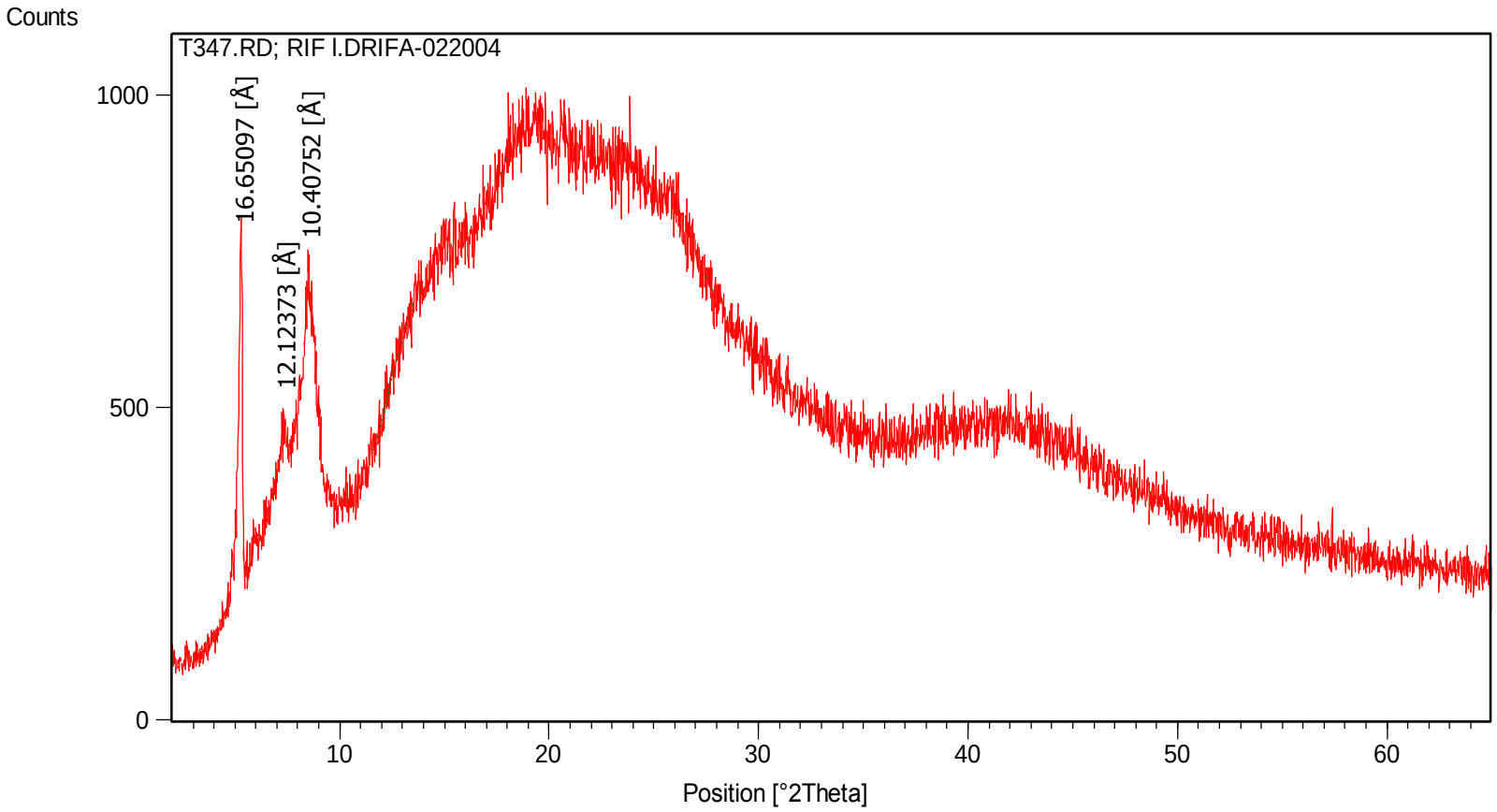
Spettro di diffrazione su polveri



Diffrattogramma di una ciclosporina in forma amorfa

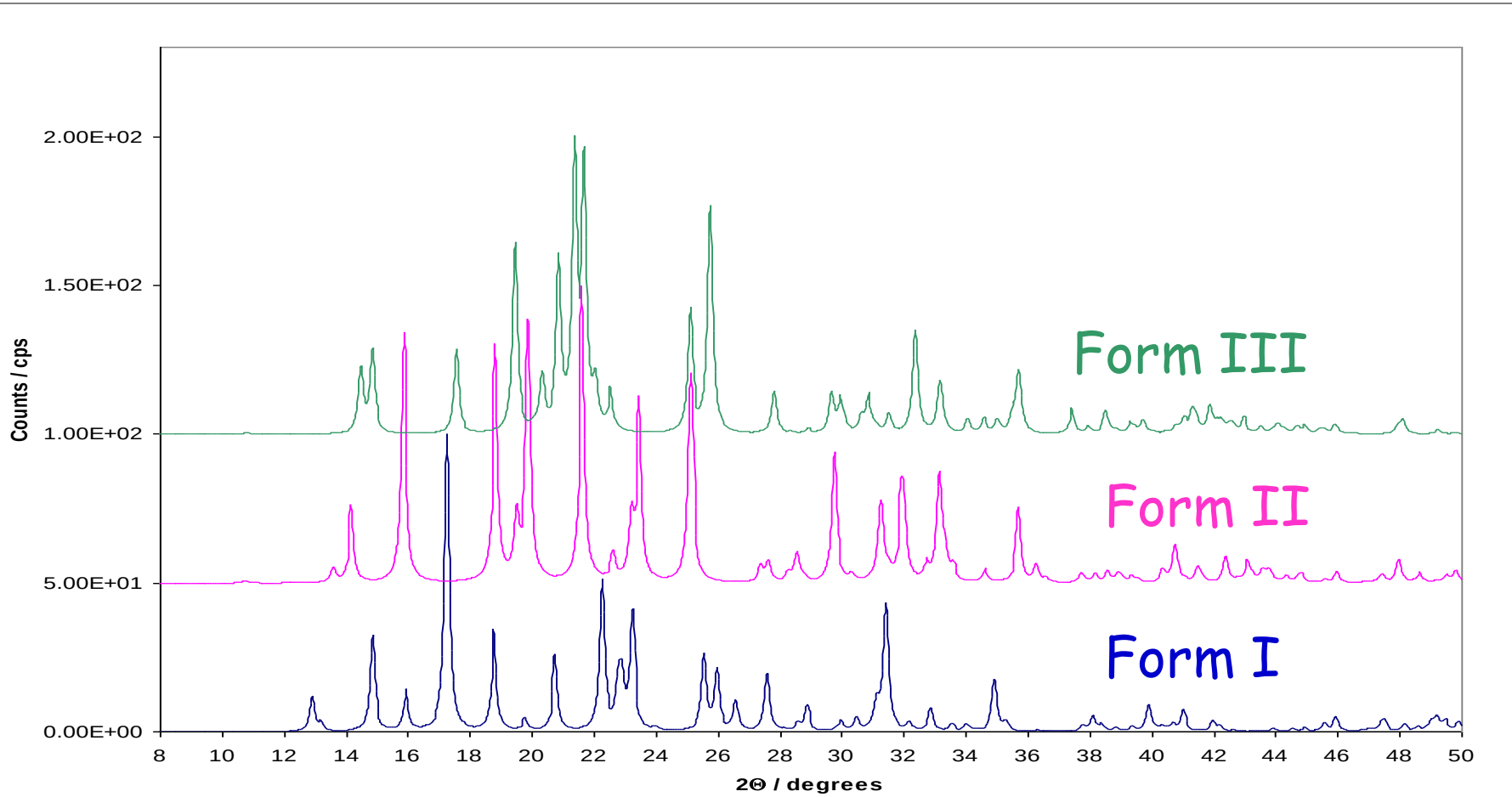
gazza

Spettro di diffrazione su polveri



Diffrattogramma di un prodotto in forma amorfa

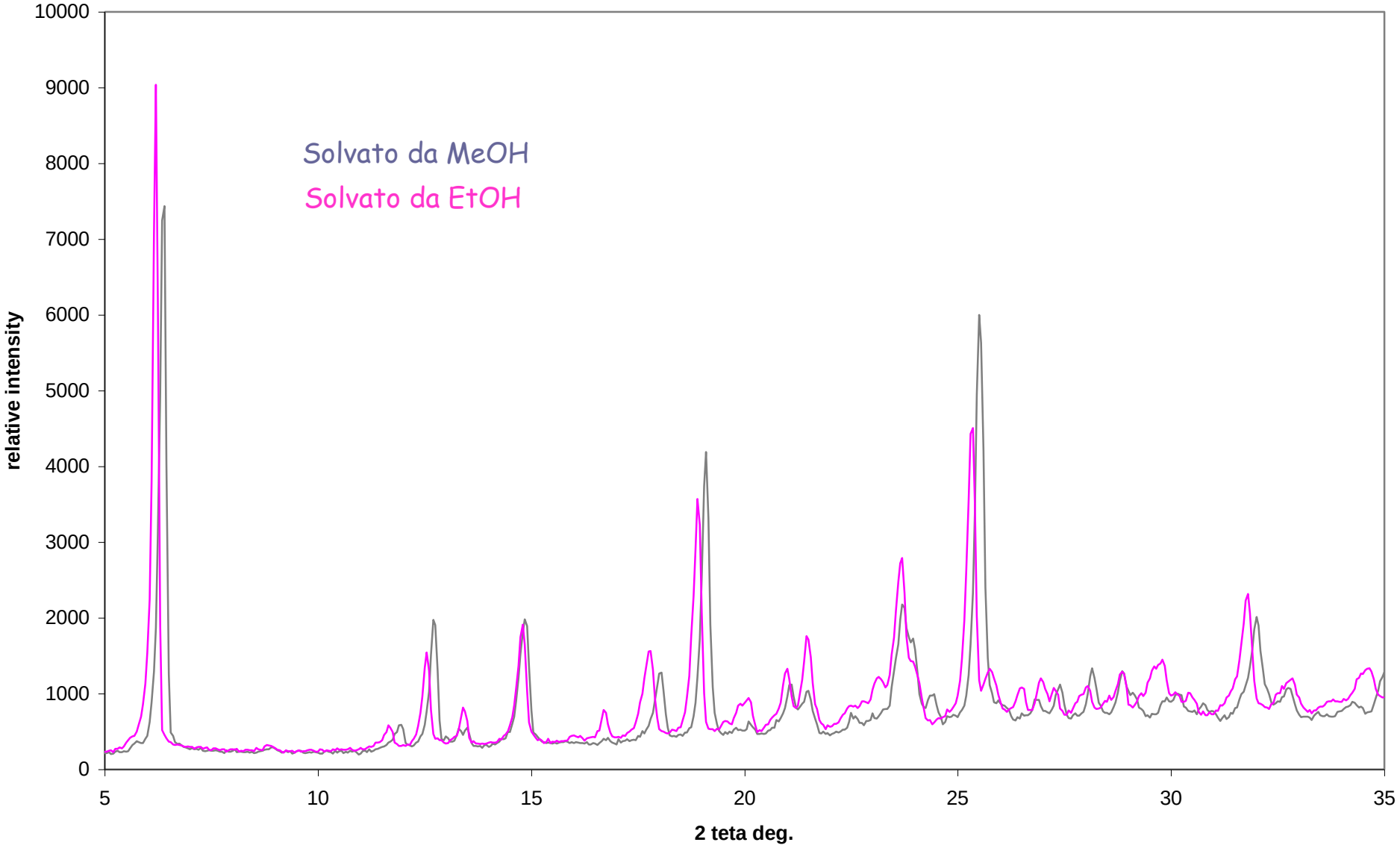
gazza



Piracetam polymorphs diffraction patterns.

gazza

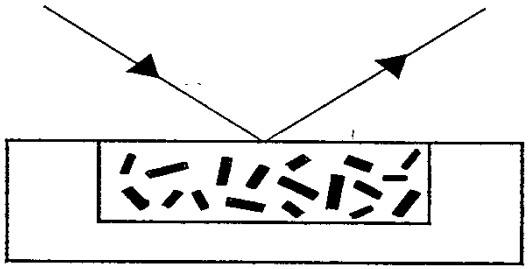
ISOSTRUTTURALITA'



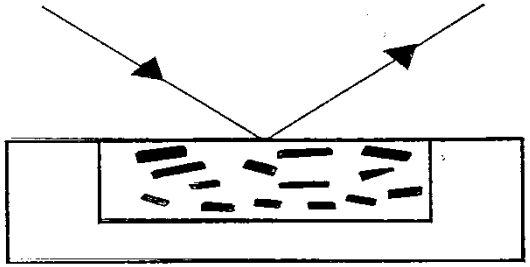
Diffrattogrammi di 2 forme solvate isostrutturali

gazza

XRD su polveri : preparazione del campione



orientazione random

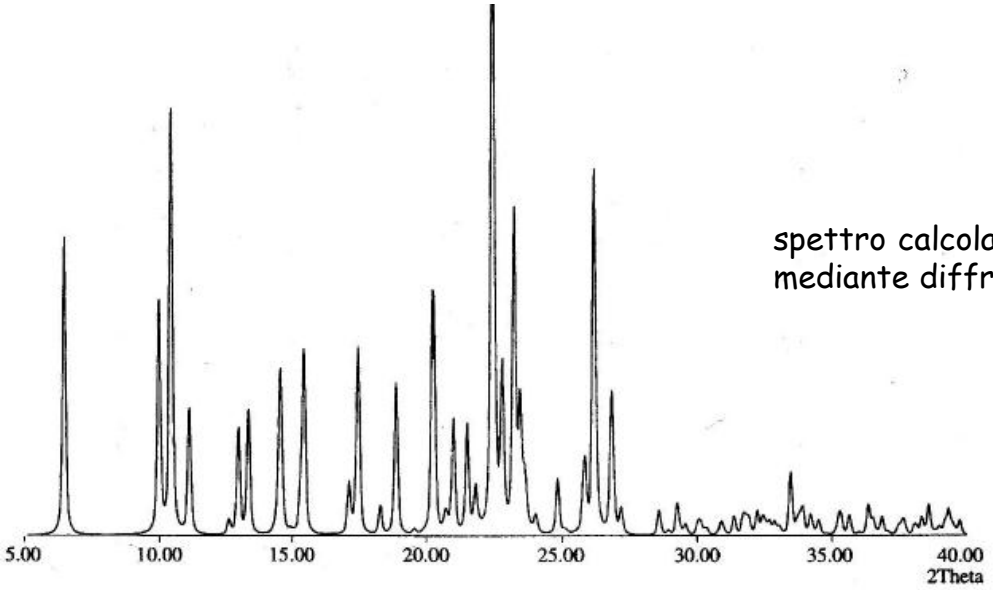


orientazione preferenziale
(es. nel caso di cristalli aghiformi o piattine)

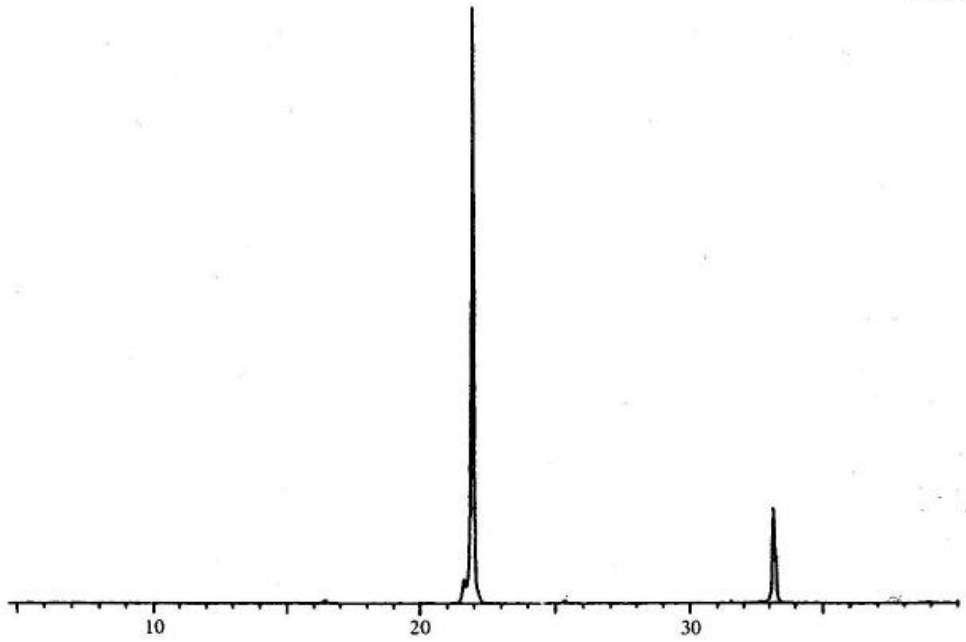
L'orientazione non casuale dei cristalliti provoca una diminuzione delle intensità di quei riflessi che non entrano in condizioni di diffrazione con la stessa probabilità degli altri

gazza

esempio di orientazione preferenziale: cristalli di sulfatiazolo forma III



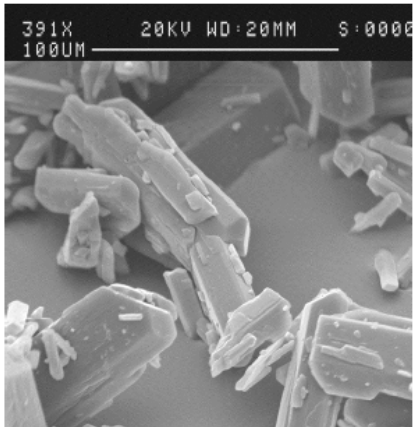
spettro calcolato sulla base dei dati strutturali ottenuti mediante diffrattometria su singolo cristallo



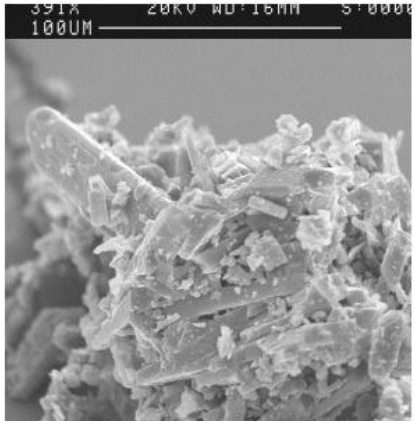
spettro misurato su polvere

gazza

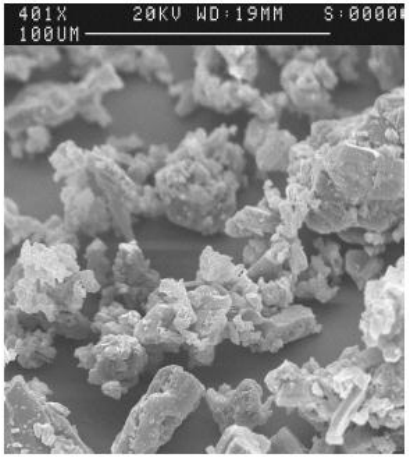
Lotto 1

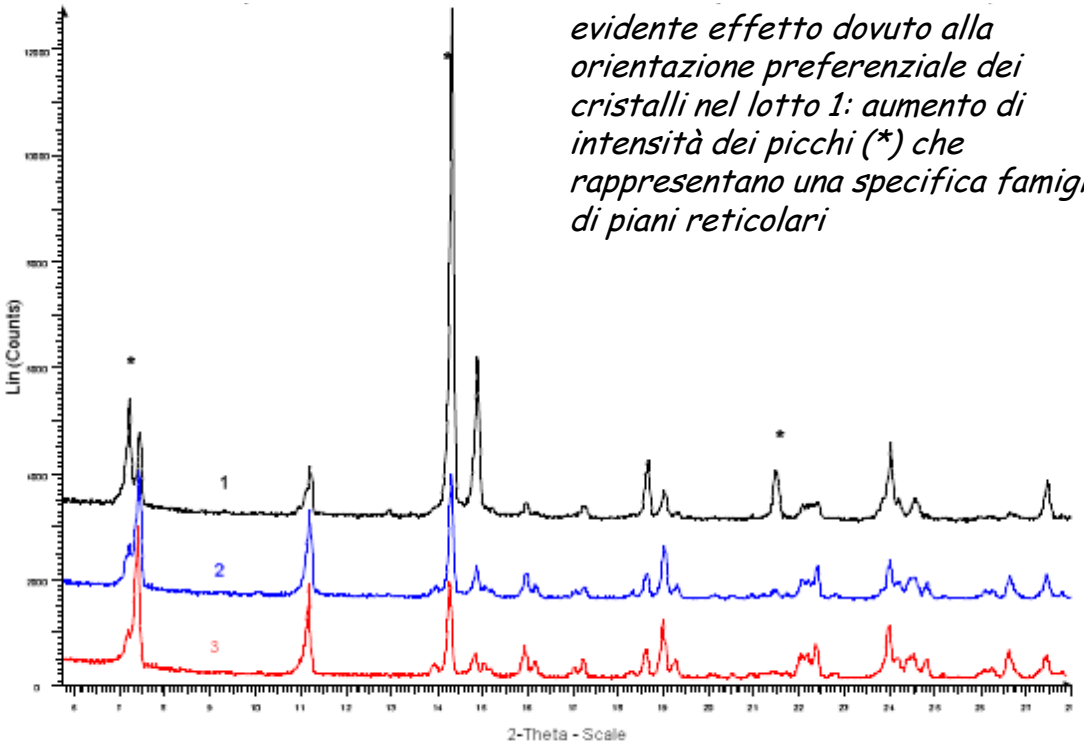


Lotto 2



Lotto 3

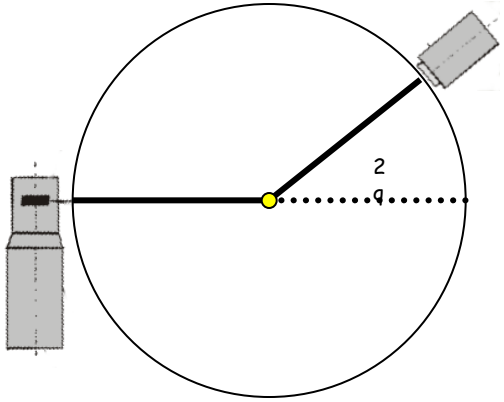


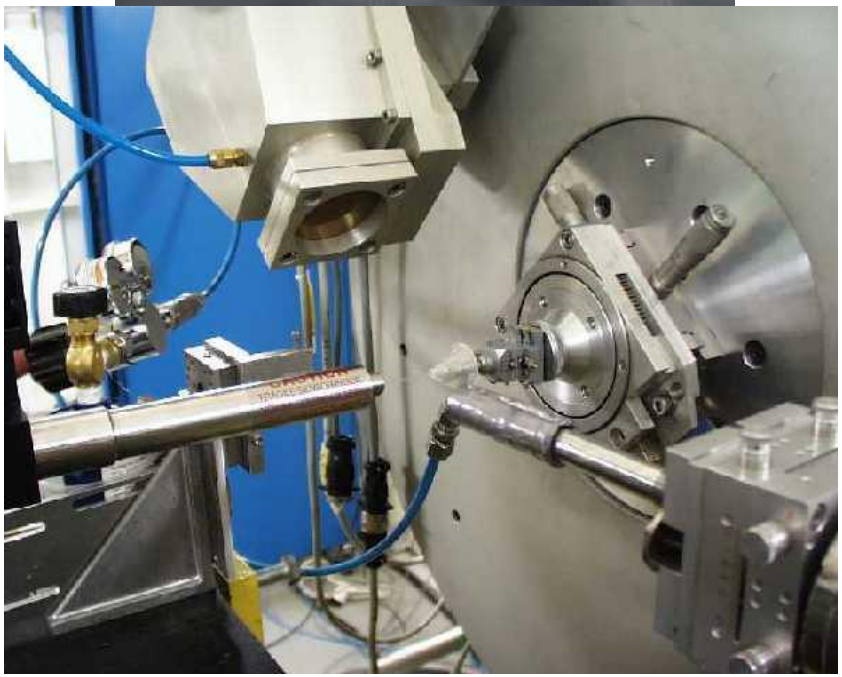


evidente effetto dovuto alla orientazione preferenziale dei cristalli nel lotto 1: aumento di intensità dei picchi (*) che rappresentano una specifica famiglia di piani reticolari

confronto tra PXRD di tre lotti di polvere di un principio attivo

gazza



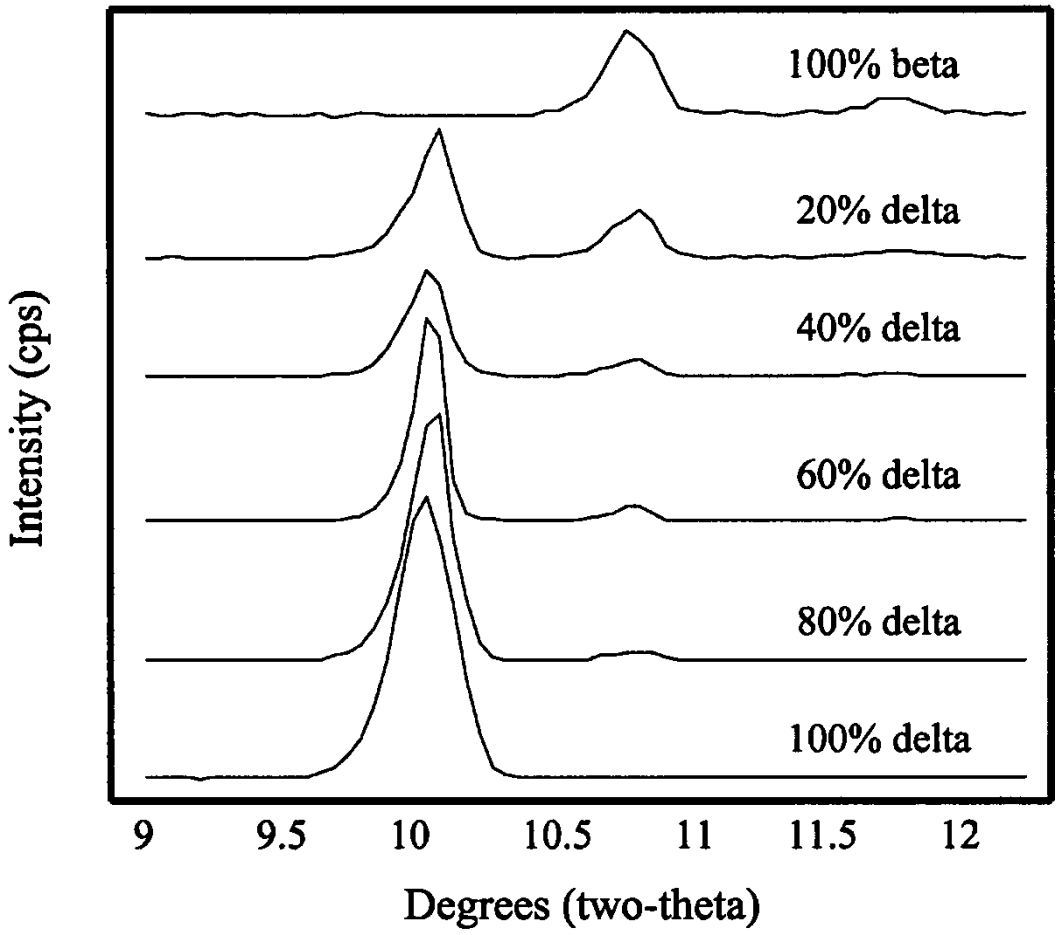


Debye-Scherrer (capillary geometry)

gazza

PXRD: *analisi quantitativa*

In una miscela di forme cristalline, l'intensità o l'area di un picco di diffrazione di una data forma sono proporzionali alla quantità di forma presente nella miscela (in assenza di isoorientamento o di assorbimento cospicuo della radiazione)

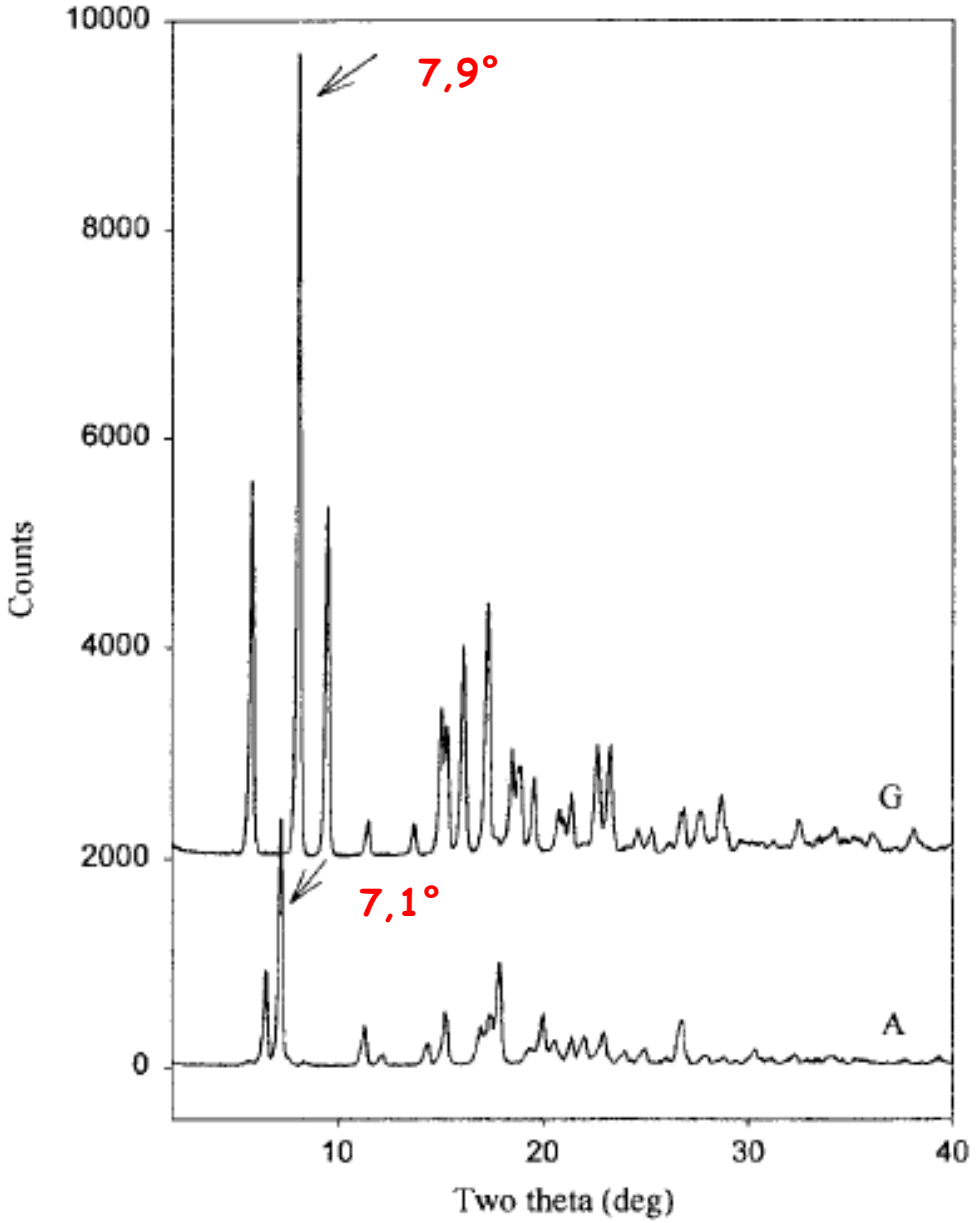


XRPD profiles (9–12° 2θ region) of various compositions of beta and delta mannitol.

gazza

PXRD: *analisi quantitativa*

Neotame: presenta diverse forme polimorfe



PXRD delle forme A e G del neotame

gazza

Curva di calibrazione

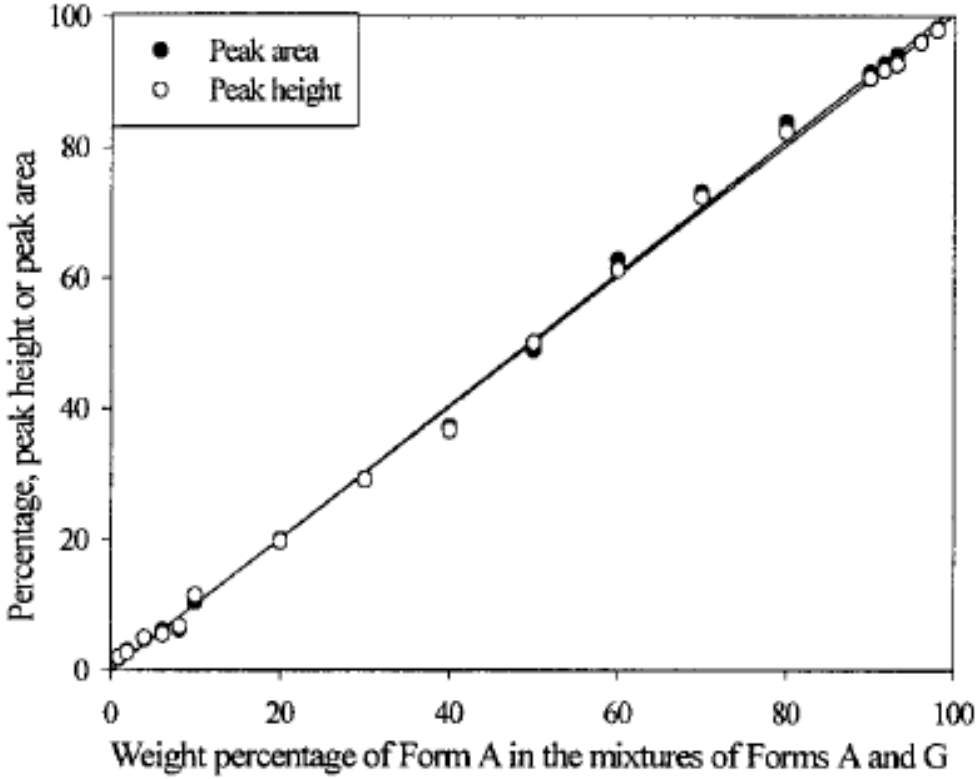
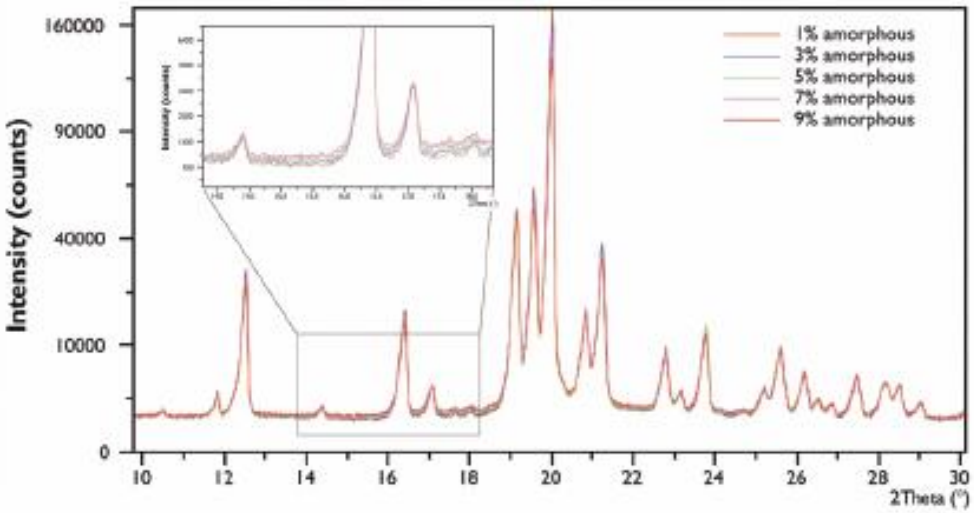


Fig. 2. Standard plots for the quantitative analysis of polymorphic mixtures of Forms A and G based on peak area (●) and peak height (○), using powder X-ray diffractometry at 7.1° 2θ for Form A and 7.9° 2θ for Form G.

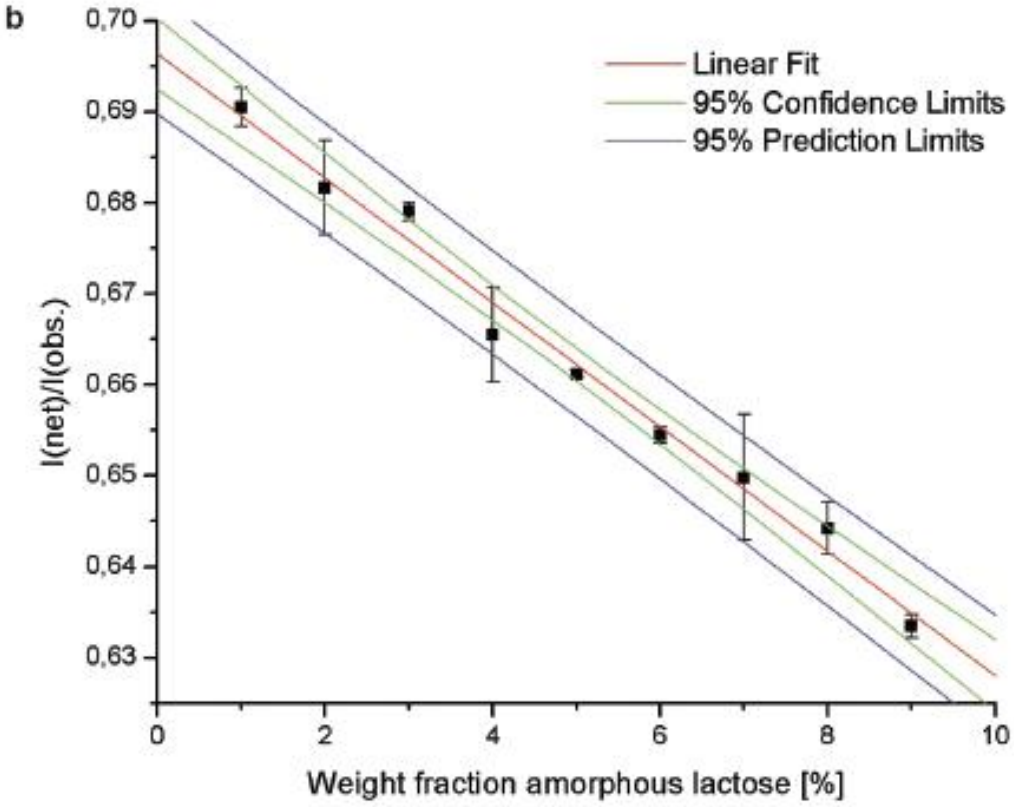
In una miscela di forme cristalline, l'intensità o l'area di un picco di diffrazione di una data forma sono proporzionali alla quantità di forma presente nella miscela (in assenza di isoorientamento o di assorbimento cospicuo della radiazione)

gazza



Lattosio

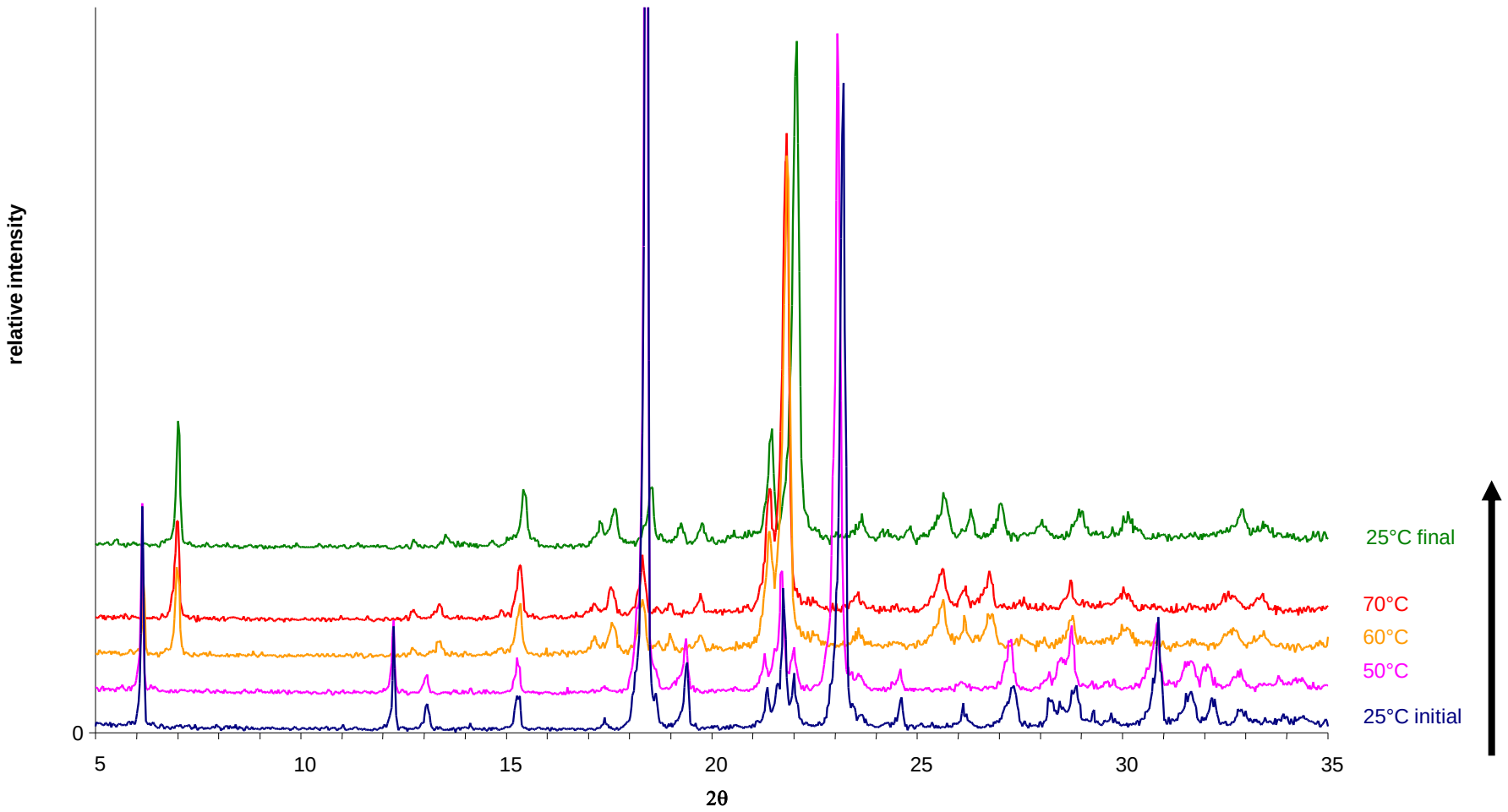
miscela di amorfo e cristallino



Curva di calibrazione

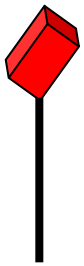
gazza

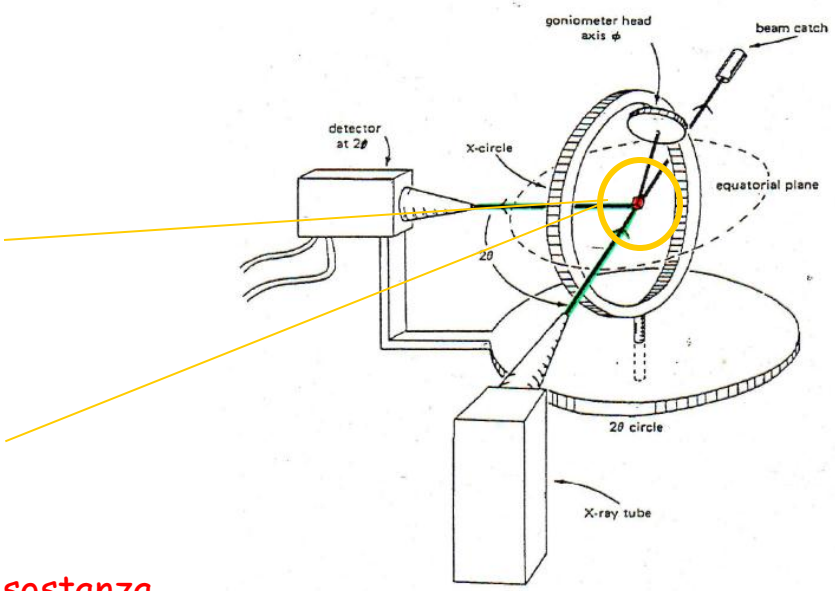
XRD su polveri a temperatura variabile: *studio delle transizioni di fase*



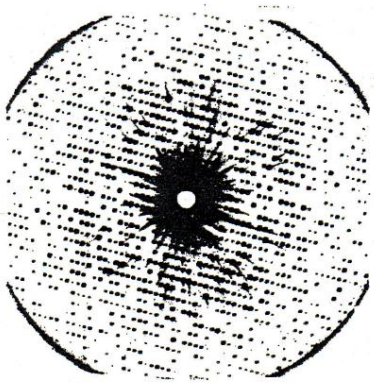
gazza

DIFFRATTOMETRIA RAGGI X su SINGOLO CRISTALLO





Cristallo singolo della sostanza
(forma cristallina) in esame
DI ADEGUATE DIMENSIONI
(1x1x1 mm)



gazza

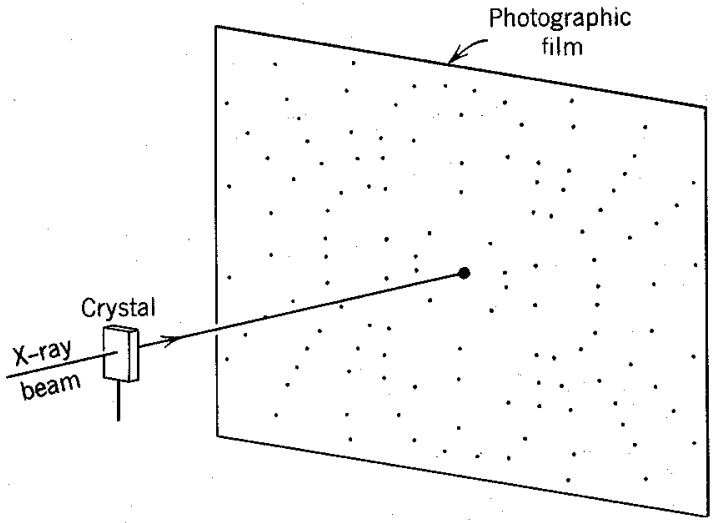
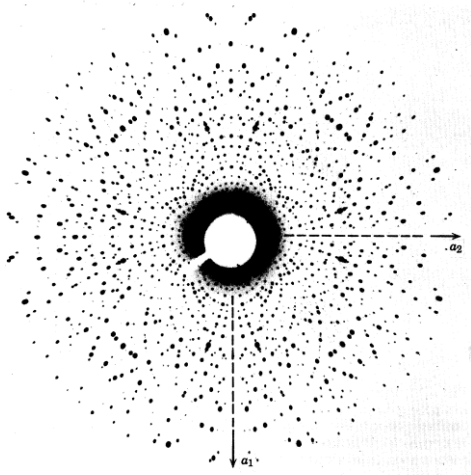


FIG. 7.8. Obtaining a Laue photograph with a stationary crystal.



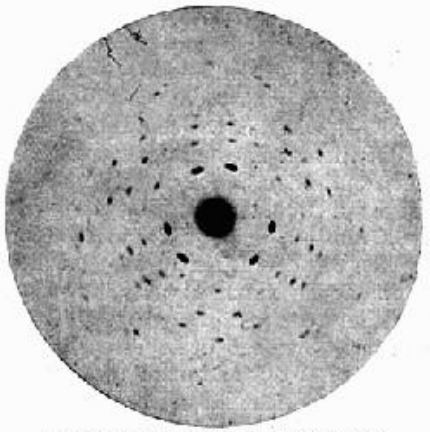
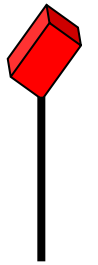


Fig. 814 Laue-diagram of zinc blende perpendicular to threefold axis of symmetry

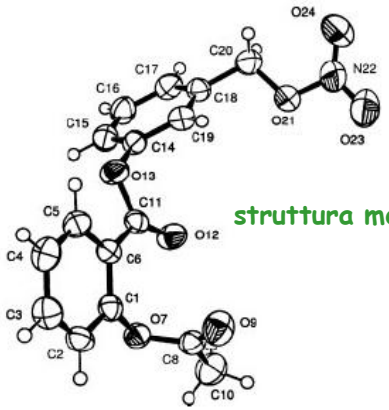
gazza

DIFFRATTOMETRIA RAGGI X su SINGOLO CRISTALLO

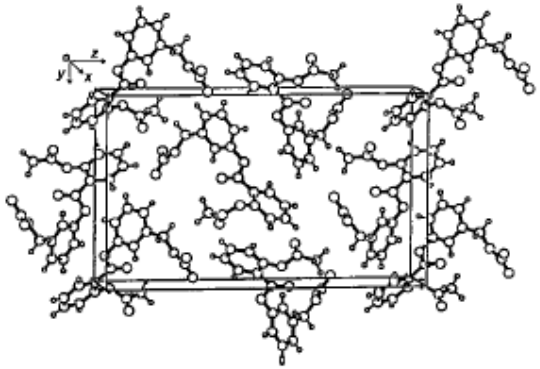
RADIAZIONE X



Cristallo singolo della sostanza (forma cristallina) in esame



struttura molecolare



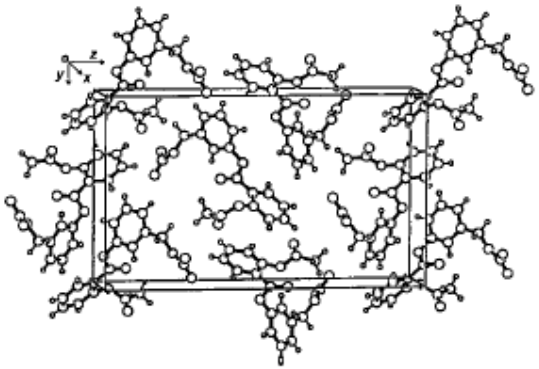
struttura cristallina

distanze e angoli di legame, parametri conformazionali

Bond Lengths (Å)		Bond Angles (°)	
C1–C2	1.379 (4)	C1–C2–C3	120.0 (3)
C2–C3	1.372 (5)	C2–C3–C4	120.3 (3)
C3–C4	1.367 (4)	C3–C4–C5	120.0 (3)
C4–C5	1.385 (4)	C4–C5–C6	120.8 (3)
C5–C6	1.394 (4)	C1–C6–C5	117.9 (3)
C1–C6	1.387 (4)	C2–C1–C6	121.0 (3)
C1–O7	1.399 (3)	C1–O7–C8	117.2 (2)
O7–C8	1.374 (4)	O7–C8–O9	122.1 (3)
C8–O9	1.195 (4)	O7–C8–C10	110.4 (3)
C8–C10	1.483 (5)	O9–C8–C10	127.4 (3)
C6–C11	1.480 (4)	O7–C1–C2	117.7 (2)
C11–O12	1.193 (4)	O7–C1–C6	121.1 (2)
C11–O13	1.366 (3)	C1–C6–C11	121.1 (3)
O13–C14	1.410 (4)	C5–C6–C11	121.0 (2)
C14–C15	1.370 (4)	O12–C11–C6	127.3 (3)
C15–C16	1.370 (5)	O13–C11–C6	110.5 (3)
C16–C17	1.385 (5)	O12–C11–O13	122.2 (3)
C17–C18	1.384 (5)	C11–O13–C14	116.9 (2)
C18–C19	1.387 (5)	O13–C14–C15	118.5 (3)
C19–C14	1.366 (4)	O13–C14–C19	119.5 (2)
C18–C20	1.504 (4)	C15–C14–C19	121.9 (3)
C20–O21	1.438 (5)	C14–C15–C16	118.9 (3)
O21–N22	1.385 (4)	C15–C16–C17	120.4 (3)
N22–O23	1.195 (5)	C16–C17–C18	120.0 (3)
N22–O24	1.184 (5)	C17–C18–C19	119.3 (3)
		C14–C19–C18	119.4 (3)
		C17–C18–C20	120.8 (3)
		C19–C18–C20	119.8 (3)
		O21–C20–C18	107.1 (3)
		N22–O21–C20	114.6 (3)
		O21–N22–O23	112.5 (3)
		O21–N22–O24	118.7 (3)
		O23–N22–O24	128.8 (4)

Torsion Angles (°)	
C1–O7–C8–O9	2.4 (5)
C6–C1–O7–C8	84.0 (3)
C1–C6–C11–O12	−21.9 (4)
C1–C6–C11–O13	157.4 (2)
C6–C11–O13–C14	−177.7 (2)
C11–O13–C14–C15	106.1 (3)
C17–C18–C20–O21	−130.0 (3)
C18–C20–O21–N22	−158.4 (3)
C20–O21–N22–O23	176.4 (3)
C20–O21–N22–O24	−5.2 (4)

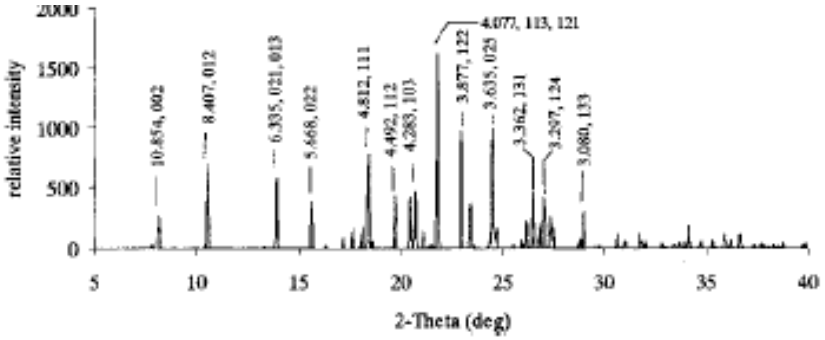
gazza



dalla struttura risolta

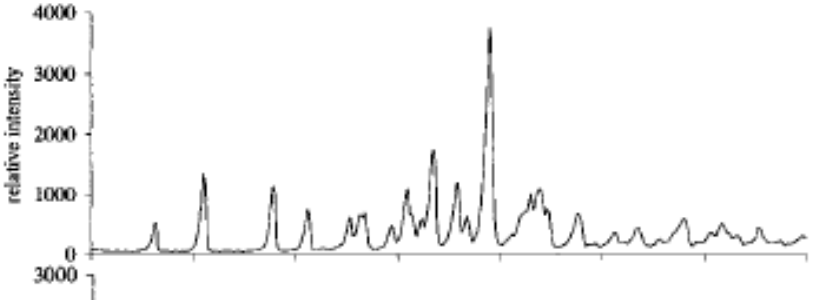
calcolo

PXRD calcolato



confronto

PXRD sperimentale



gazza

Metodi termici

Si basano sul principio secondo cui un cambiamento di stato fisico comporta

-liberazione o assorbimento di calore in funzione della temperatura (DTA, DSC)

- variazione di peso in funzione della temperatura (TGA)

gazza

Analisi termica: tecniche

Analisi termica differenziale (DTA)

- misura la differenza di temperatura ($\Delta T = T_S - T_R$) tra un campione e un riferimento, quando sottoposti a un identico trattamento ermico

Calorimetria a scansione differenziale (DSC)

- misura il calore richiesto per mantenere uguale a zero la differenza di temperatura tra un campione e un riferimento. the sample and reference are maintained at the same temperature, even during a thermal event (in the sample)

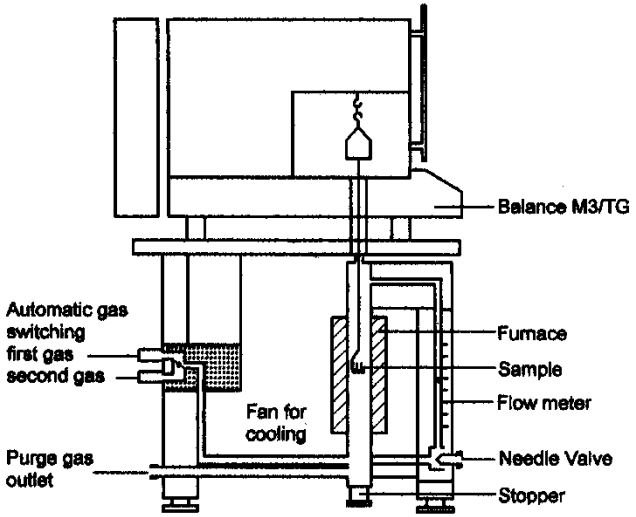
Analisi termogravimetrica (TGA)

- misura la variazione di masssa di un campione sottoposto a riscaldamento

gazza

Thermogravimetric Analysis (TGA)

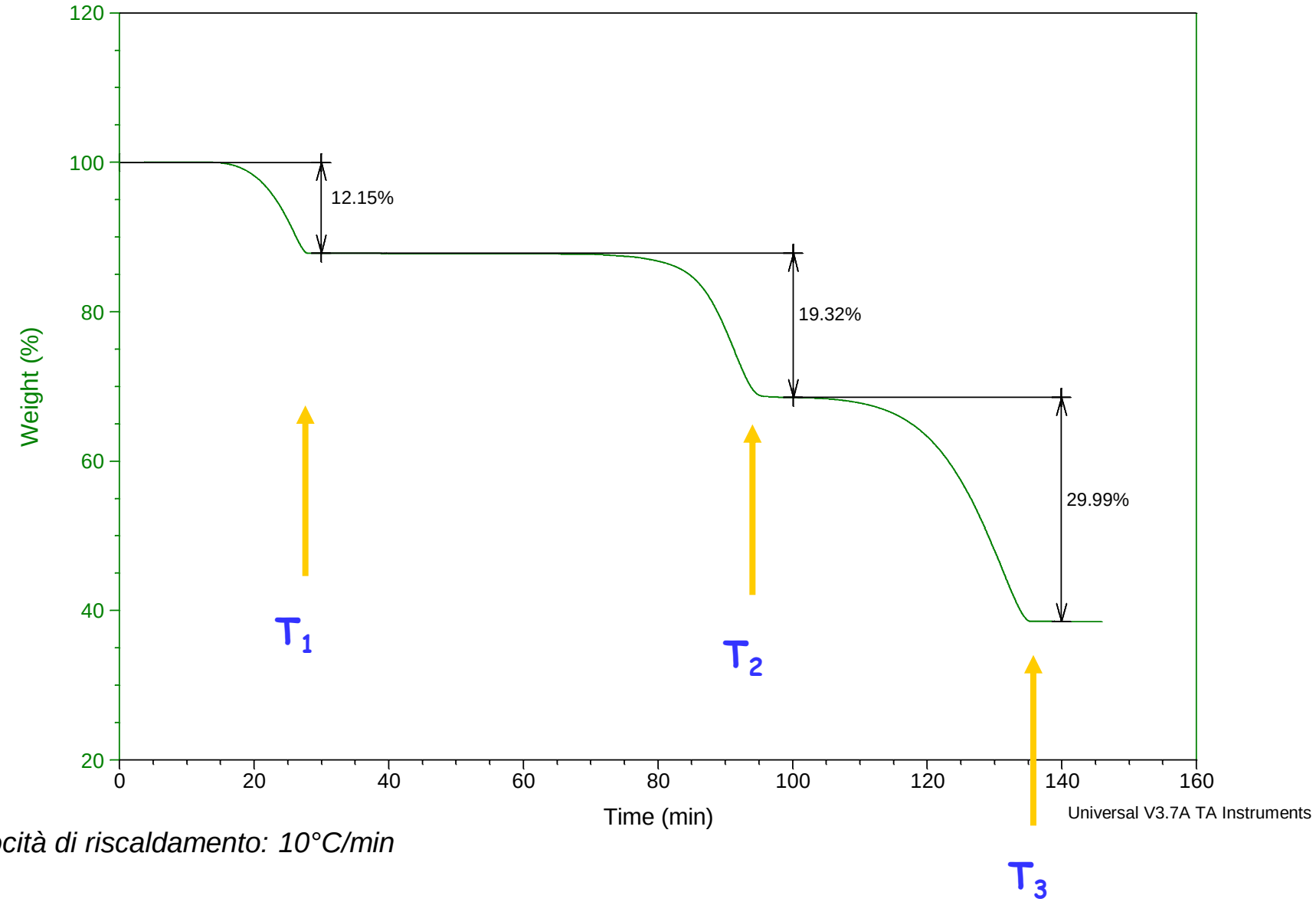
- thermobalance allows for monitoring sample weight as a function of temperature
- weight calibration using calibrated weights
- temperature calibration based on ferromagnetic transition of Curie point standards (e.g., Ni)
- larger sample masses, lower temperature gradients, and higher purge rates minimize undesirable buoyancy effects



Phenomena studied by TG with the effects observed during heating of the sample

Phenomenon	Weight change	
	Gain	Loss
→ Melting	-	-
Adsorption of gas	✓	-
Desorption of gas	-	✓
Vaporisation	-	✓
Dehydration	-	✓
Decomposition	-	✓
Sublimation	-	✓
→ Crystalline transition	-	-

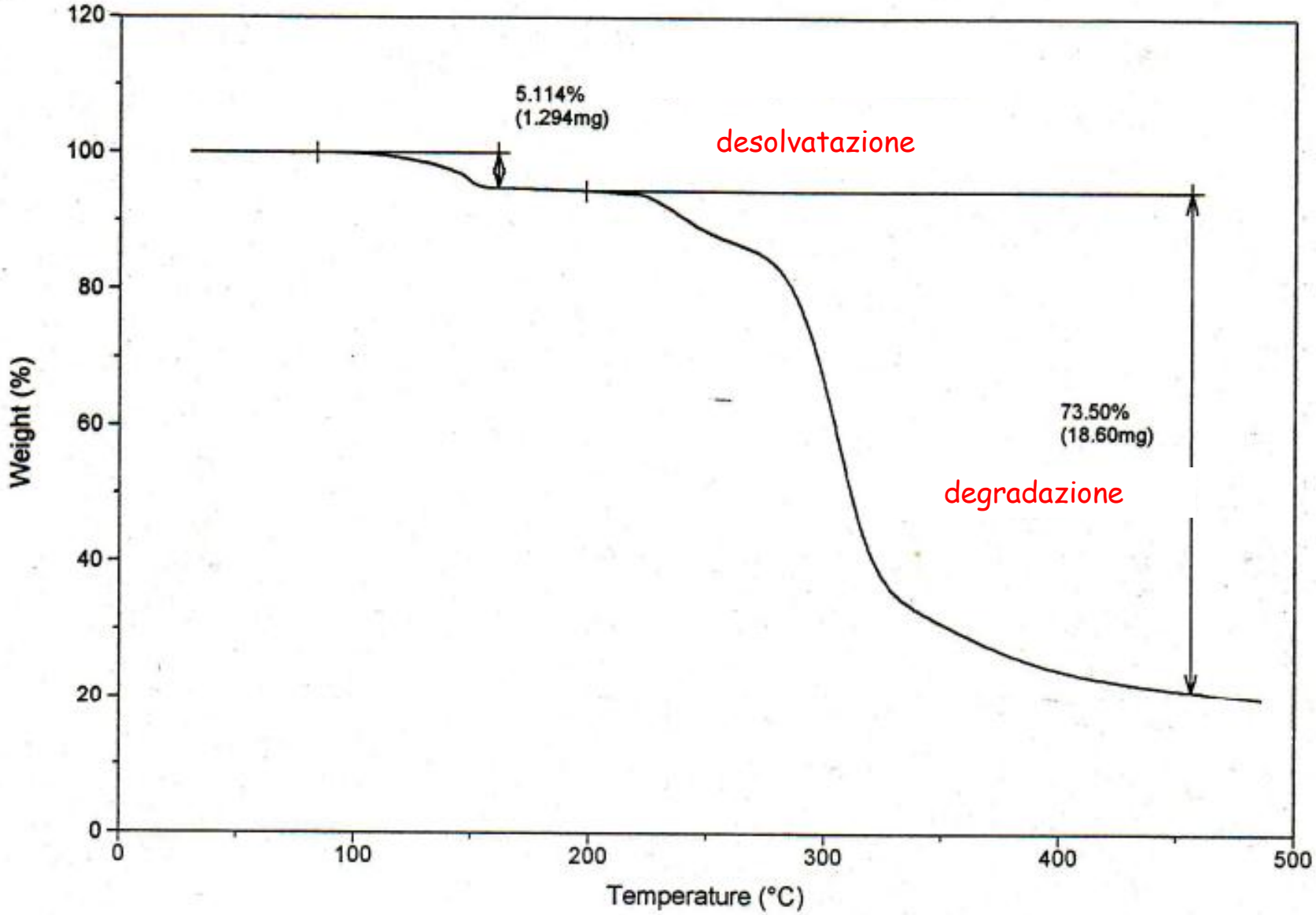
gazza



Velocità di riscaldamento: 10°C/min

Analisi termogravimetrica del calcio ossalato

gazza



Analisi termogravimetrica di Lattosio FU (a monoidrato)

gazza

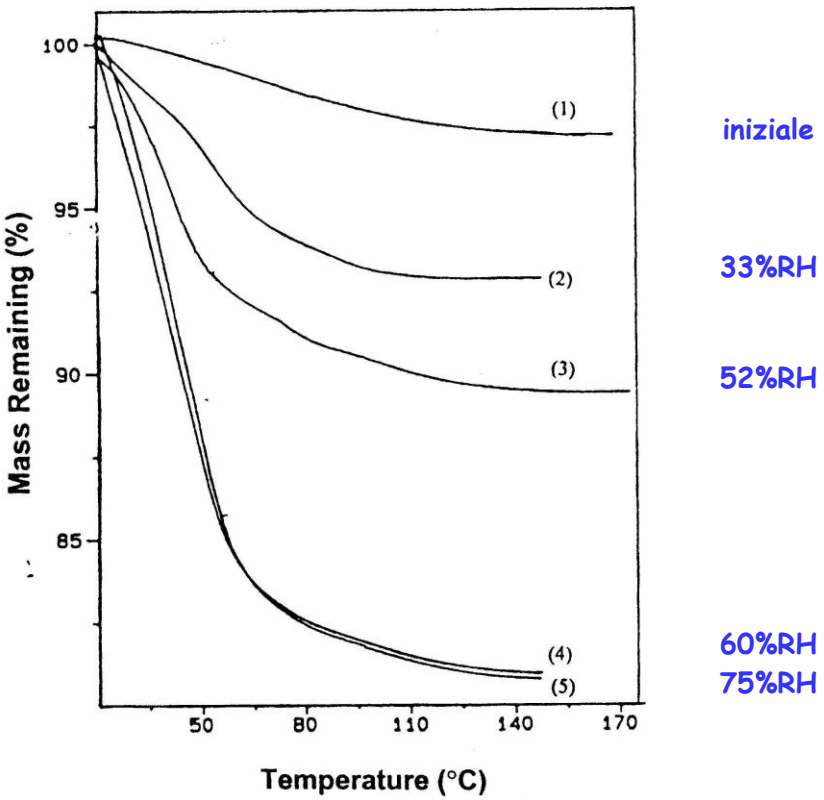
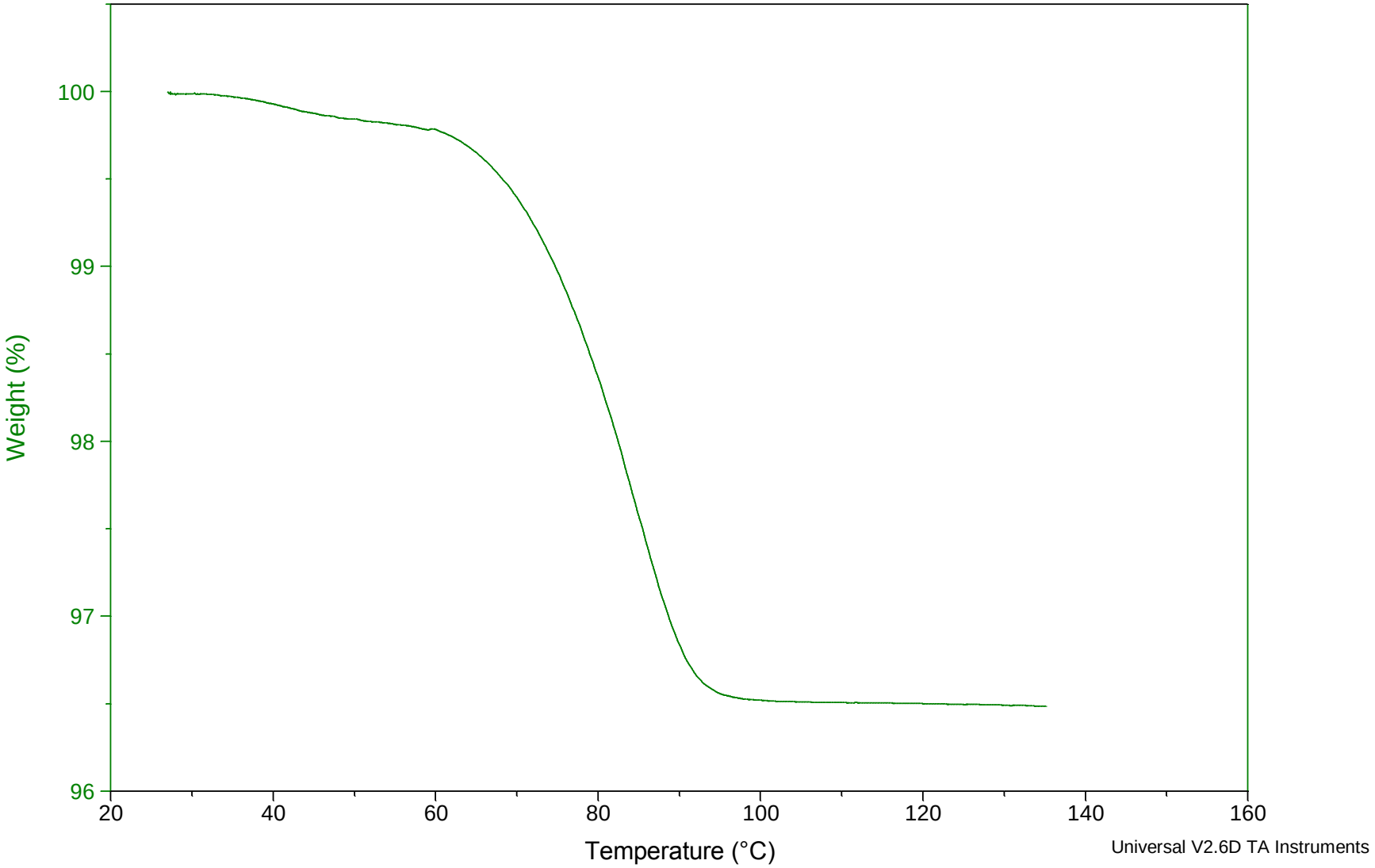


Fig. 5 Thermogravimetric analysis of (*S*)-4-[[[1-(4-fluorophenyl)-3-(1-methylethyl)-1H-indol-2-yl]-ethynyl]-hydroxyphosphinyl]-3]-hydroxybutanoic acid, disodium salt. Shown are the thermograms for (1) the initial material containing approximately 3% water, and materials obtained after exposure to relative humidities of (2) 33%, (3) 52%, (4) 60%, and (5) 75%.

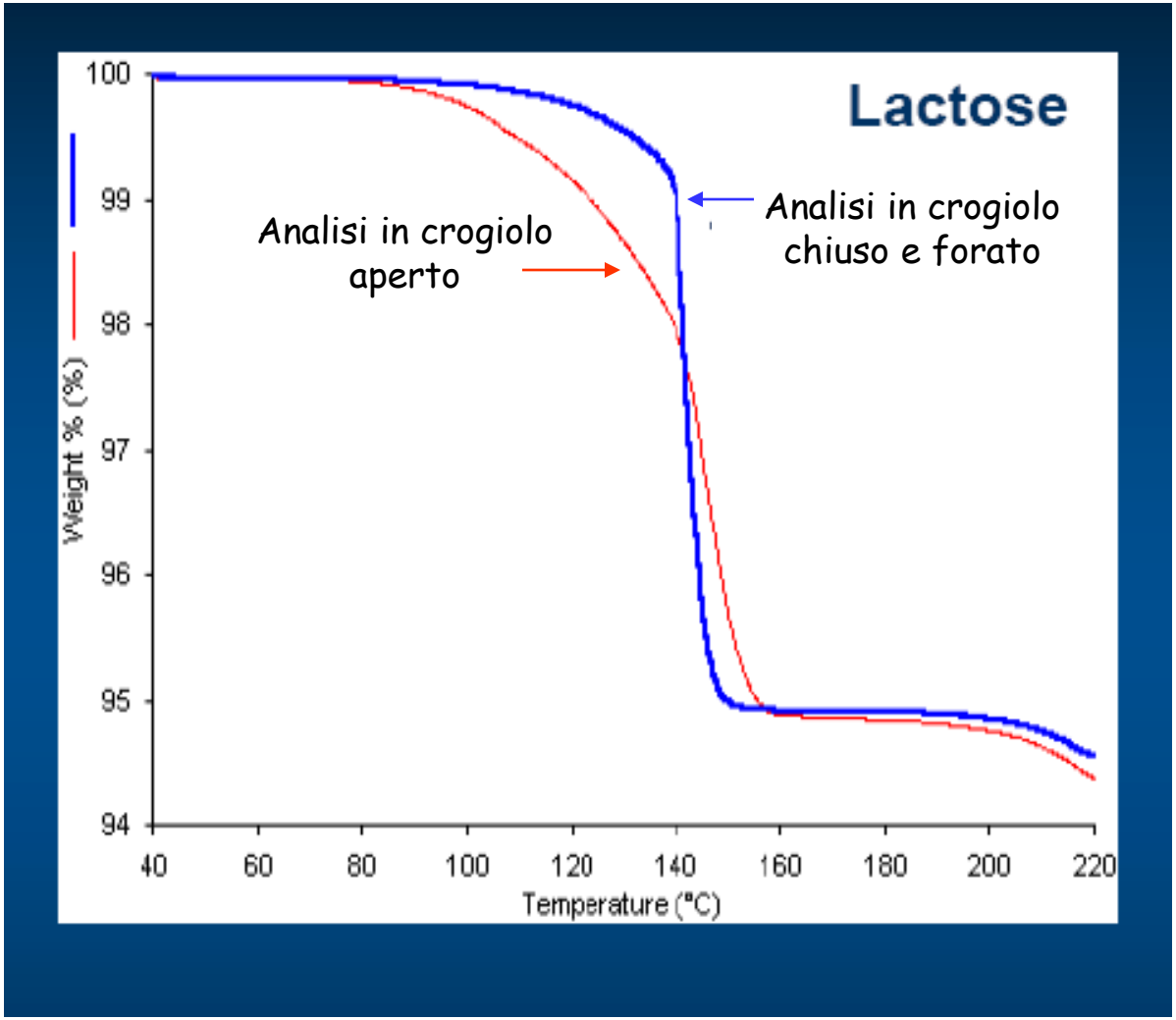
gazza

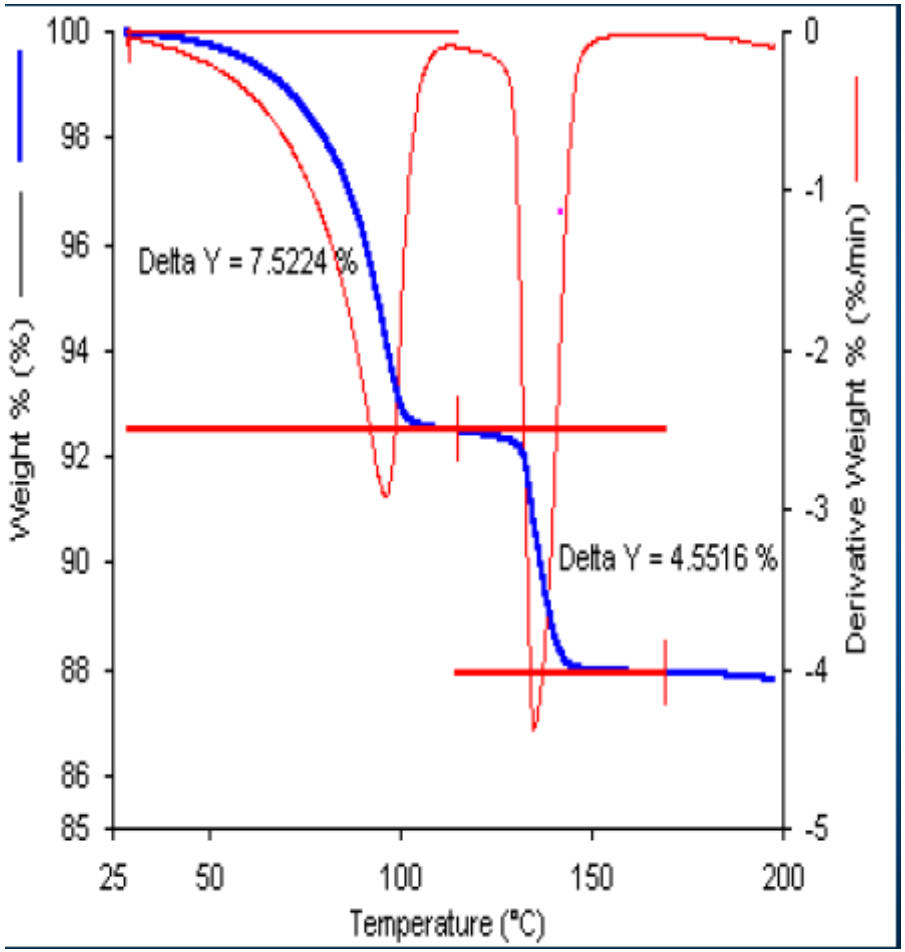
Acqua libera e acqua legata



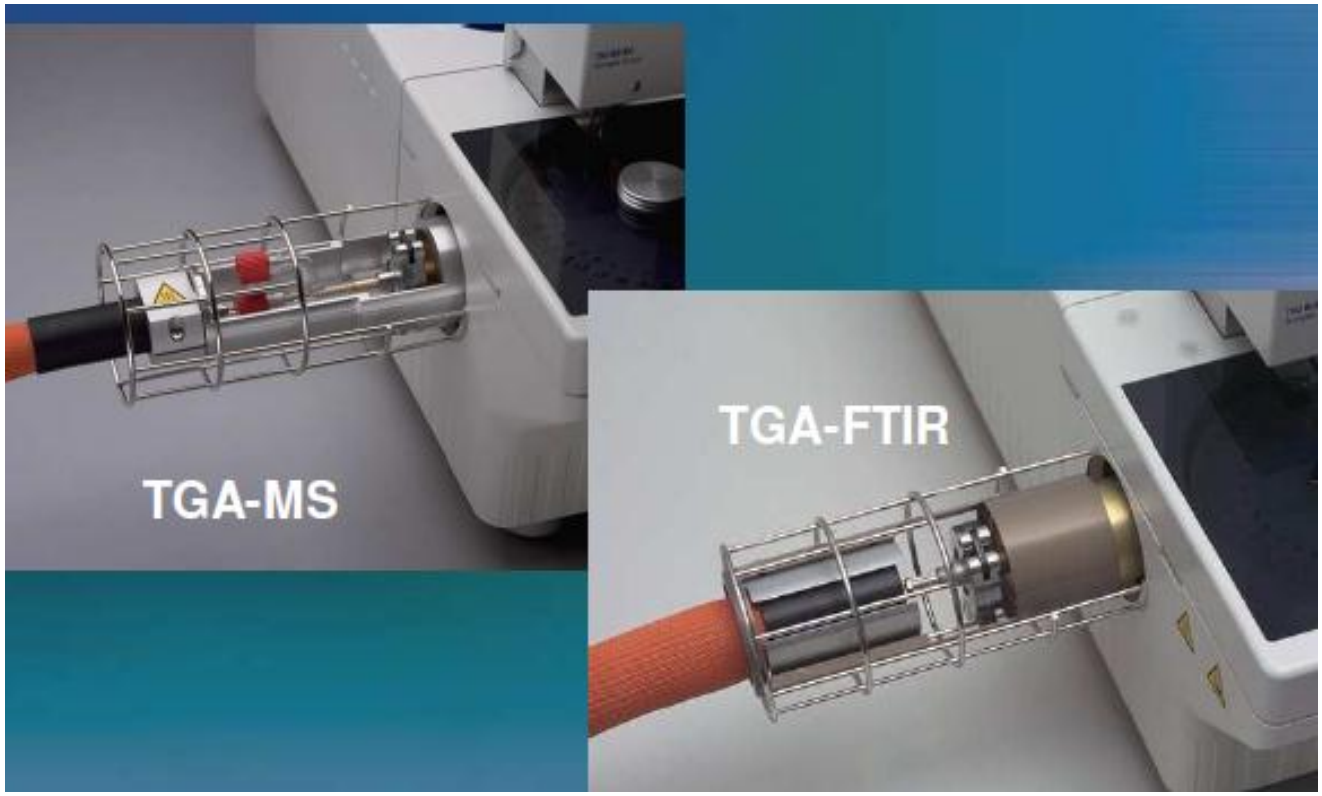
gazza

Acqua libera e acqua legata

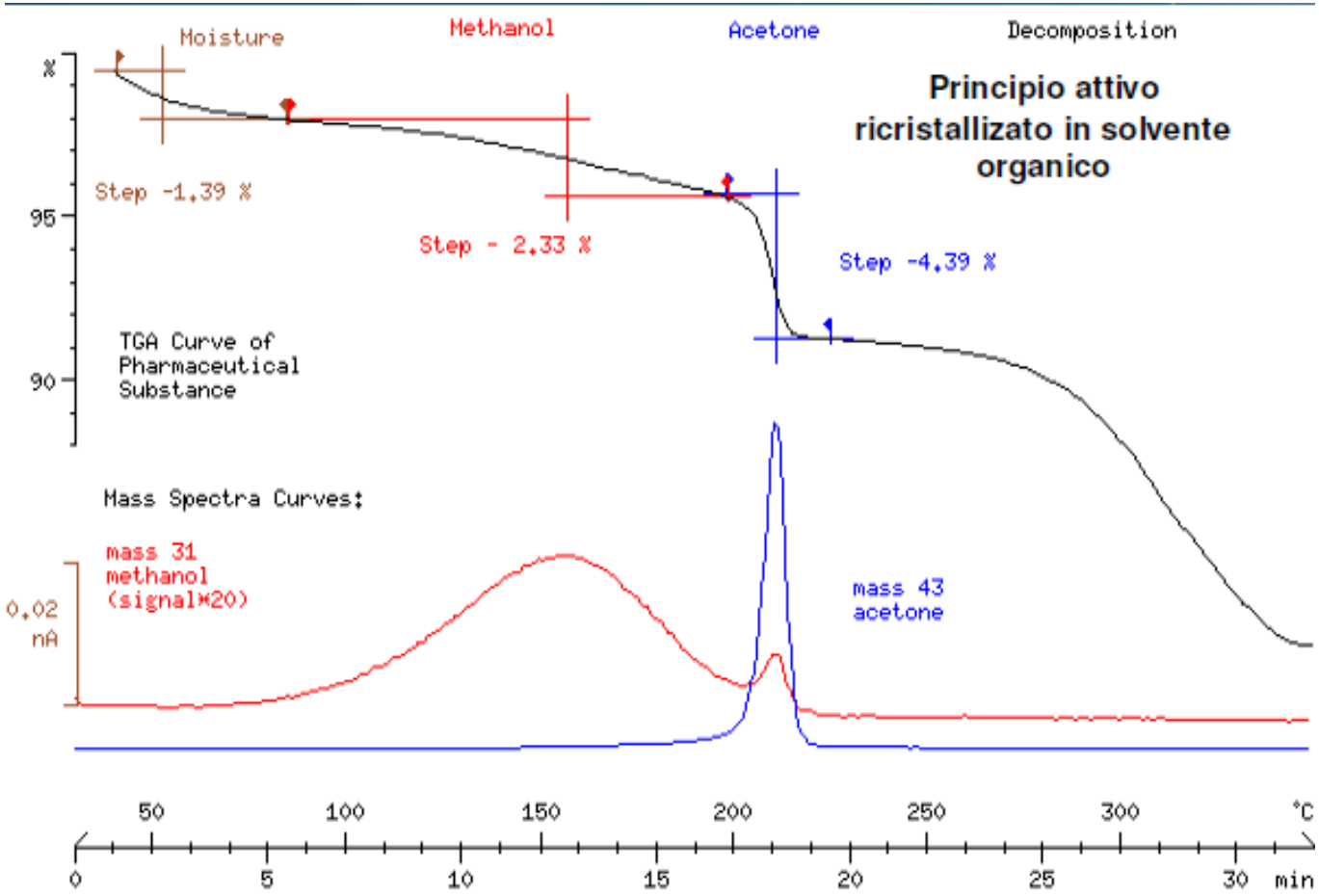



Weight % (%)
Derivative Weight % (%/min)
Delta Y = 7.5224 %
Delta Y = 4.5516 %
Temperature (°C)
100
98
96
94
92
90
88
86
85
0
-1
-2
-3
-4
-5
25
50
100
150
200

Tecniche combinate: TGA-EGA (Evolved Gas Analysis)



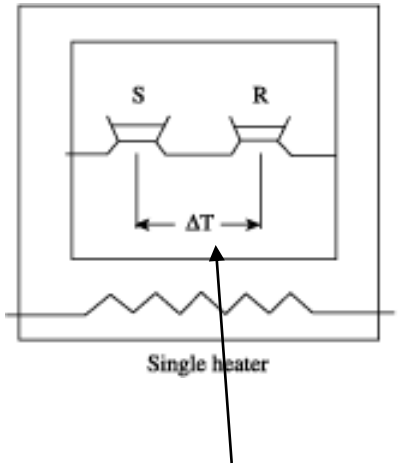
gazza


Moisture
Methanol
Acetone
Decomposition
%
95
90
Step -1,39 %
Step - 2,33 %
Step -4,39 %
Principio attivo ricristallizato in solvente organico
TGA Curve of Pharmaceutical Substance
Mass Spectra Curves:
mass 31
methanol
(signal*20)
0,02
nA
mass 43
acetone
50
100
150
200
250
300
°C
0
5
10
15
20
25
30
min

Analisi Termica Differenziale (DTA)

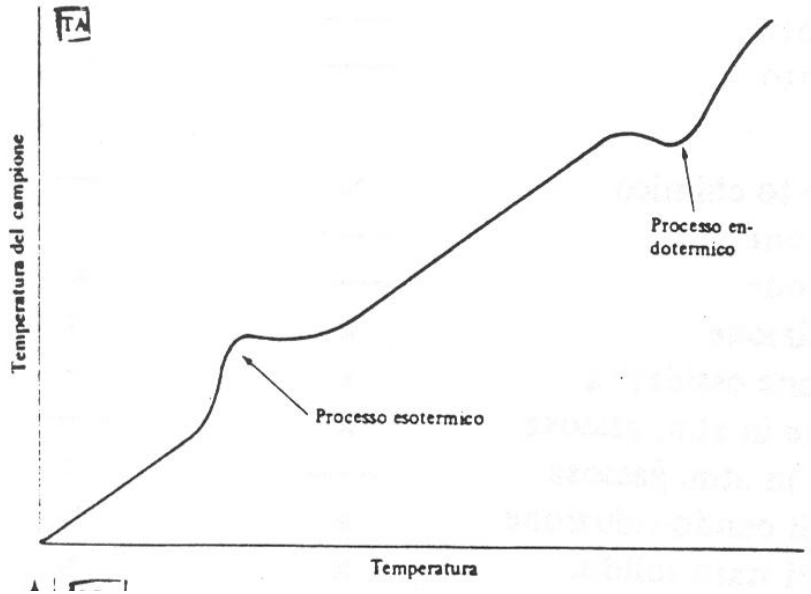
Registra una differenza di temperatura ΔT che si crea tra un campione ed un riferimento inerte quando le due sostanze sono sottoposte ad identici regimi di temperatura in un ambiente riscaldato o raffreddato a velocità costante.

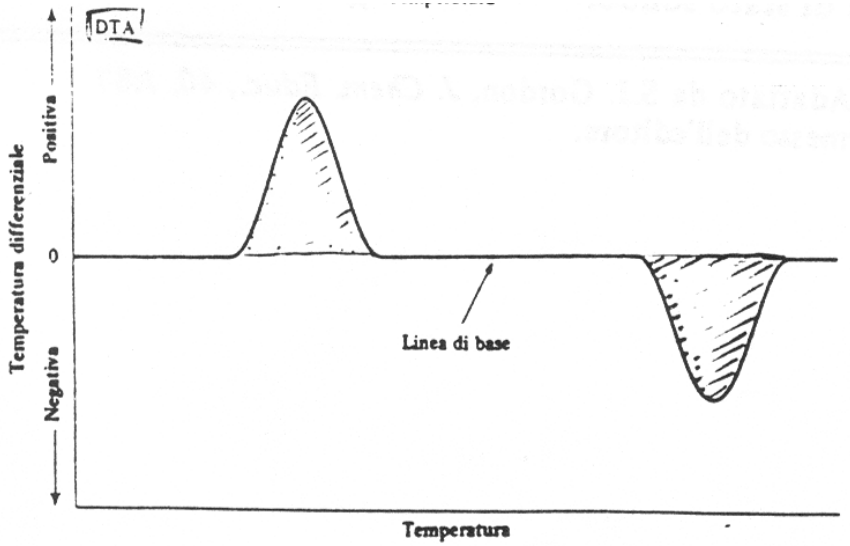
Se il campione analizzato dà luogo, nell'intervallo di temperature analizzato, a trasformazioni chimico-fisiche che comportano variazioni di entalpia, si ottiene una curva con picchi endo o esotermici



gazza

Analisi Termica Differenziale (DTA)



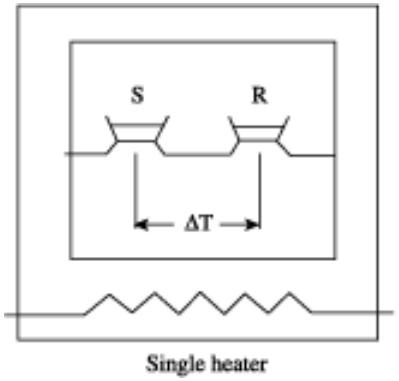


gazza

Analisi Termica Differenziale (DTA)

Fattori che influenzano la curva DTA

- Quantità di campione
- Particle size/area superficiale specifica del campione (*per reazioni superficiali e/o controllate dalla diffusione di prodotti gassosi*)
- Atmosfera gassosa presente nella cella
- Velocità di riscaldamento

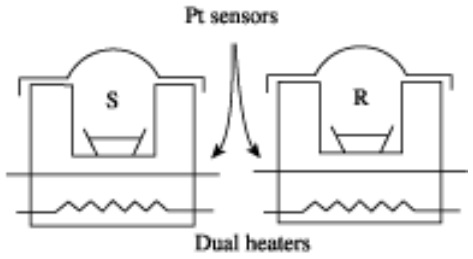


DTA

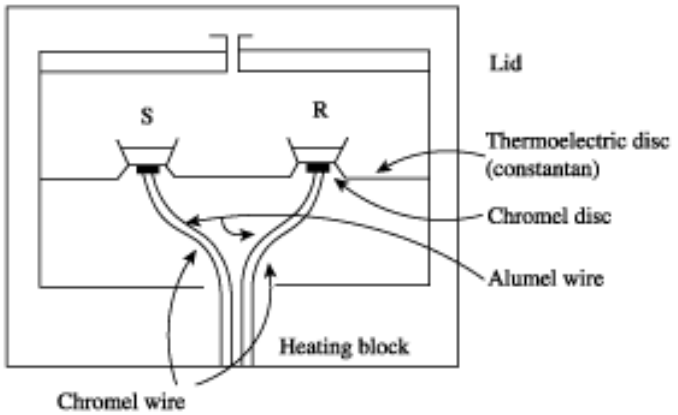
gazza

Calorimetria Differenziale a Scansione (DSC)

- misura la quantità di energia, calore, ceduta o assorbita dal campione quando questo viene riscaldato, raffreddato o mantenuto a temperatura costante (isotermica)
- differisce fondamentalmente dalla DTA per il fatto che sia il campione che il riferimento sono mantenuti alla temperatura impostata dal programma di riscaldamento.
- durante un evento termico il sistema trasferisce calore al campione o al riferimento in modo da mantenerli sempre alla stessa temperatura.
- esistono due tipo di calorimetri DSC basati su principi diversi: DSC a compensazione di potenza e a flusso di calore



power compensation DSC



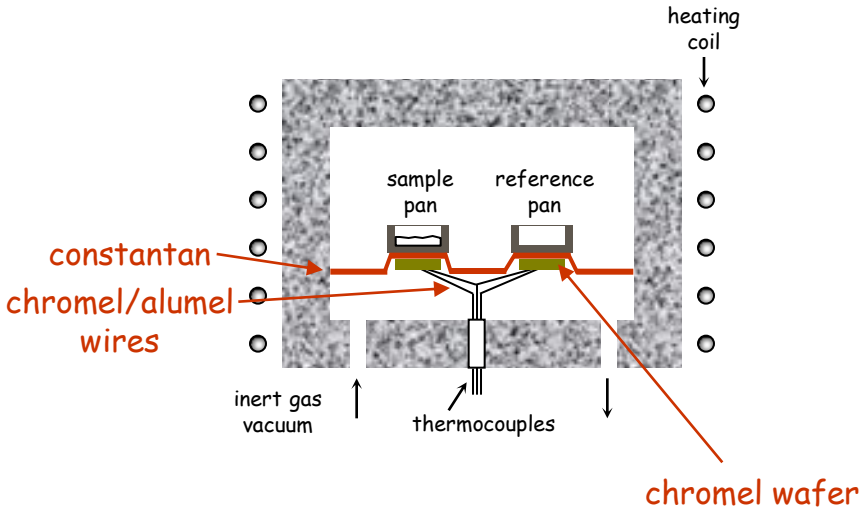
heat flux DSC

gazza

DSC a flusso di calore

La cella per il campione e quella di riferimento sono riscaldate dalla stessa fornace.

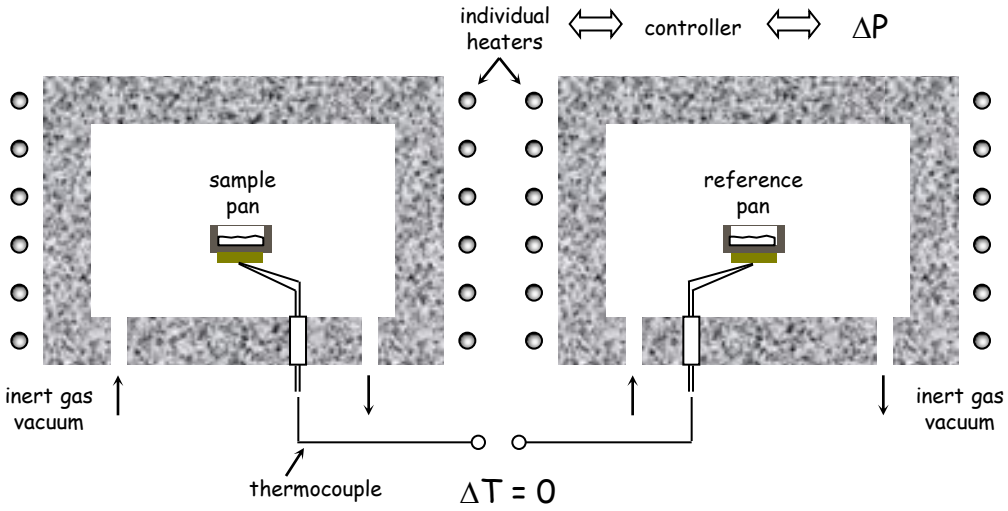
Il paramentro misurato direttamente non è il flusso di calore ma la ΔT tra campione e riferimento



A differenza della DSC a compensazione di potenza il flusso di calore differenziale viene calcolato a partire dalla ΔT mediante una procedura di conversione matematica

gazza

DSC a compensazione di potenza



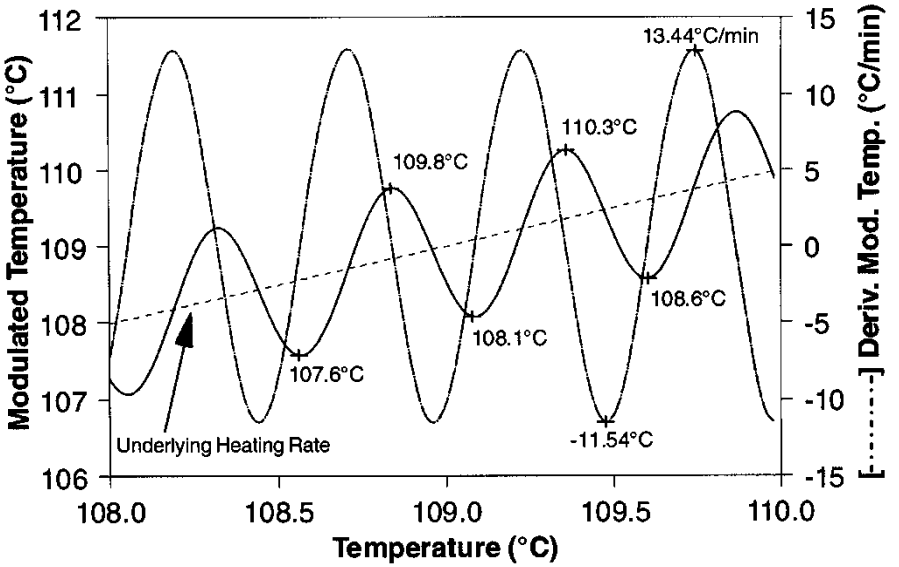
La cella per il campione e quella di riferimento sono riscaldate da 2 fornaci indipendenti inserite in un blocco a temperatura controllata. Cio consente di misurare direttamente il flusso di calore ceduto o assorbito dal campione

gazza

DSC a temperatura Modulata (MDSC)

- introdotta nel 1993; "heat flux" design
- alla rampa lineare di riscaldamento viene sovrapposta una modulazione sinusoidale di riscaldamento
- Il flusso di calore totale riflette tutte le transizioni termiche di un DSC convenzionale
- Si utilizza l'analisi in trasformata di Fourier per separare il flusso di calore totale nelle 2 componenti:

profilo di riscaldamento di una MDSC



Componente termodinamica
capacità termica (flusso di calore reversing)

transizione vetrosa
fusione

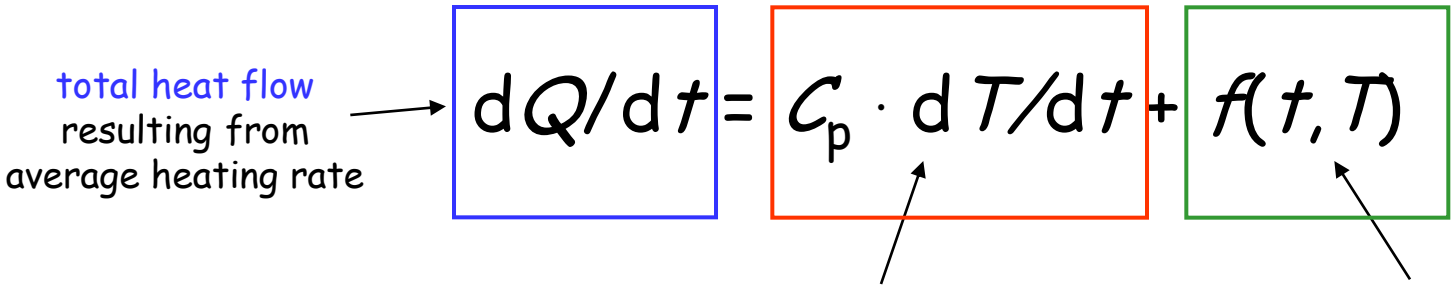
componente cinetica
(flusso di calore non reversing)
cristallizzazione
decomposizione
evaporazione
rilassamento entalpico

Vantaggi rispetto al DSC convenzionale:

picchi più netti, migliore separazione di transizioni che si sovrappongono

gazza

Reversing and Non-Reversing contributions to total DSC heat flow



gazza

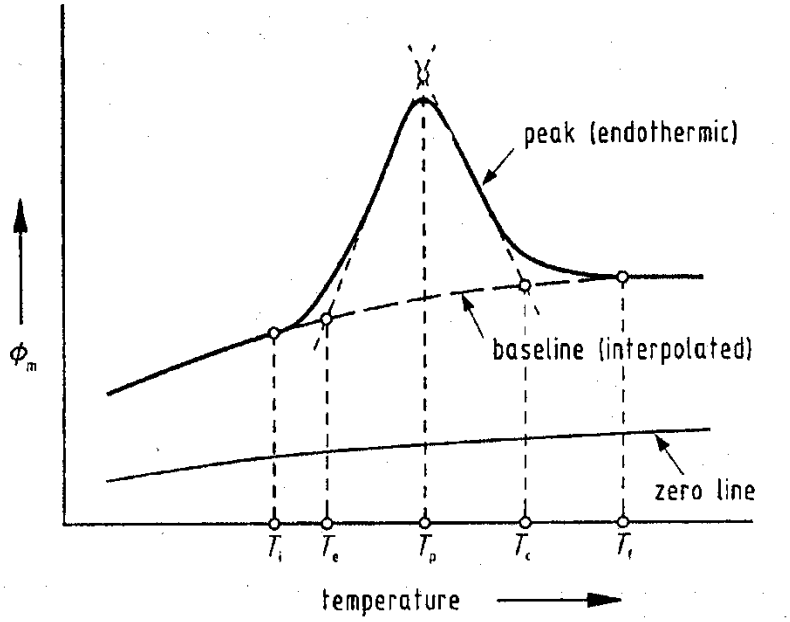
DSC Calibration

baseline

- evaluation of the thermal resistance of the sample and reference sensors
- measurements over the temperature range of interest

2-step process

  - the temperature difference of two empty crucibles is measured
  - the thermal response is then acquired for a standard material, usually sapphire, on both the sample and reference platforms



- amplified DSC signal is automatically varied with temperature to maintain a constant calorimetric sensitivity with temperature

gazza

DSC Calibration

temperature

- goal is to match the melting onset temperatures indicated by the furnace thermocouple readouts to the known melting points of standards analyzed by DSC

- should be calibrated as close to the desired temperature range as possible

heat flow

- use of calibration standards of known heat capacity, such as sapphire, slow accurate heating rates (0.5–2.0 °C/min), and similar sample and reference pan weights

calibrants

- high purity
- accurately known enthalpies
- thermally stable
- light stable ($h\nu$)
- nonhygroscopic
- unreactive (pan, atmosphere)

metals

- In 156.6 °C; 28.45 J/g
- Sn 231.9 °C
- Al 660.4 °C

inorganics

- KNO_3 128.7 °C
- $KClO_4$ 299.4 °C

organics

- polystyrene 105 °C
- benzoic acid 122.3 °C; 147.3 J/g
- anthracene 216 °C; 161.9 J/g

gazza

Analisi DSC: preparazione del campione

- campioni accuratamente pesati (~3-20 mg)
- crogiolo (pan)di piccole dimensioni (0.1 mL) costituito da metallo inerte o trattato (Al, Pt, Ni, etc.)
- varie possibili configurazioni del campione: crogiolo aperto, chiuso ermeticamente, chiuso e forato, ecc.,
- reference e campione devono essere preparati allo stesso modo
- il materiale da analizzare dovrebbe ricoprire totalmente il fondo del pan per garantire una buona trasmissione del calore
- è necessario limitare la quantità di campione nel crogiolo per minimizare la differenza termica tra il bulk del campione e il sensore

* piccole quantità di campione e bassa velocità di riscaldamento aumentano la risoluzione ma riducono la sensibilità

Al Pt alumina Ni Cu quartz

gazza

Impiego dei metodi termici nella caratterizzazione di solidi

Stabilità termica

- fusione
- cristallizzazione
- trasformazioni allo stato solido
- desolvatazione
- glass transition
- sublimazione
- decomposizione

Flusso di calore

- Calore di fusione
- Calore di transizione
- Capacità termica

Analisi di miscele

- Purezza chimica
- Purezza fisica (forma cristallina, grado di cristallinità)

Diagrammi di fase

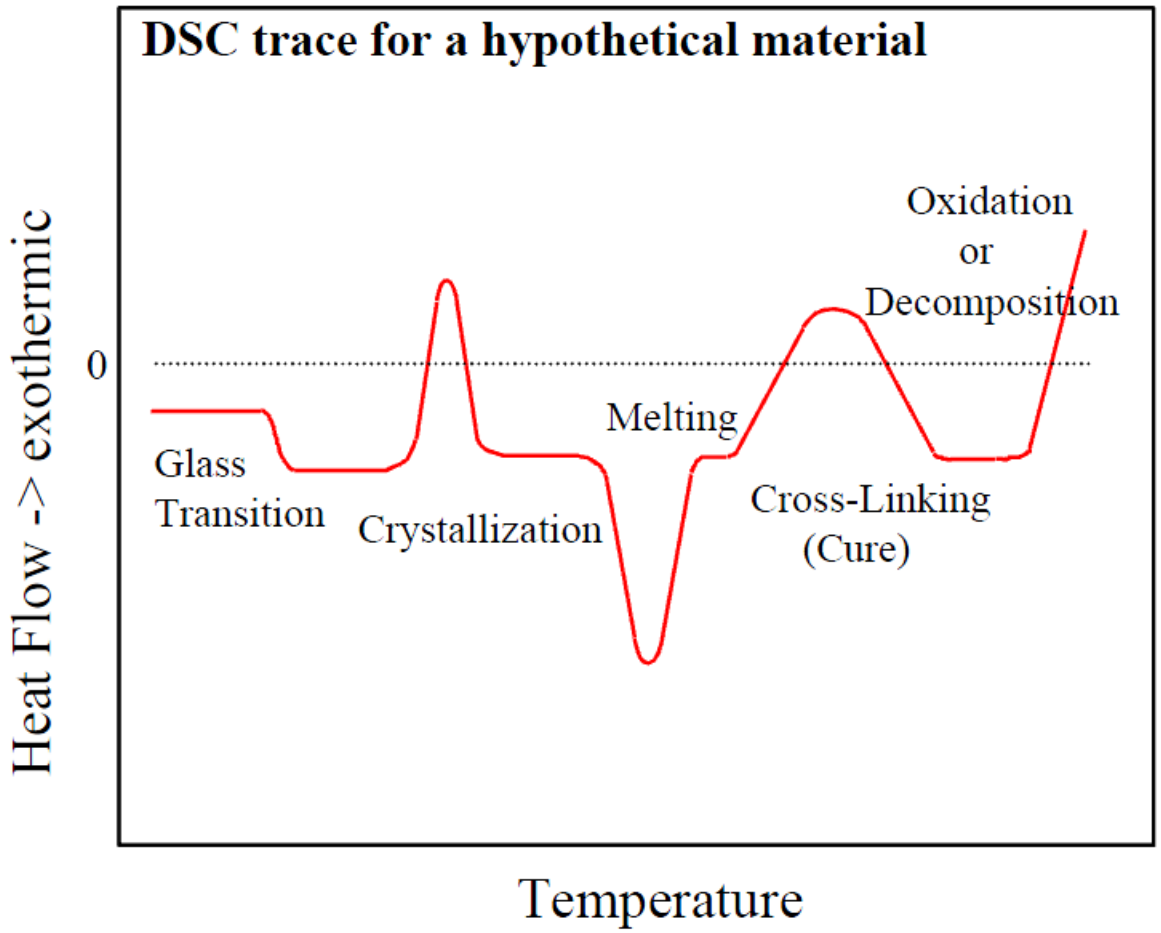
- Formazione di eutettici

gazza

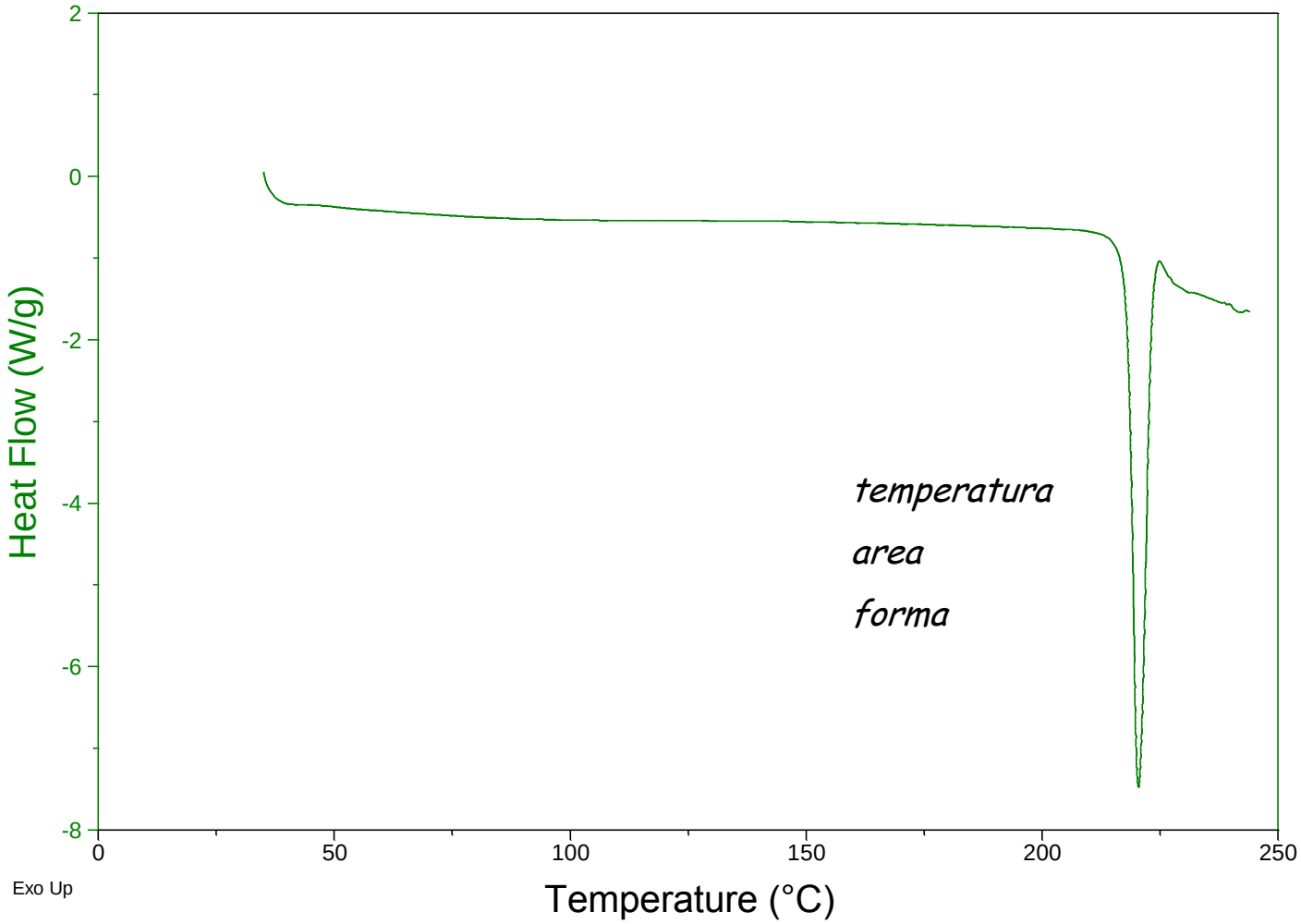
FENOMENO	VARIAZIONE PONDERALE		EFFETTO TERMICO	
	↑	↓	endo	eso
Cristallizzazione	-	-	-	x
Fusione	-	-	x	-
Adsorbimento di gas	x	-	-	x
Desorbimento di gas	-	x	x	-
Evaporazione	-	x	x	-
Desolvatazione	-	x	x	-
Decomposizione	-	x	x	x
Sublimazione	-	x	x	-
Transizione di fase (solido-solido)	-	-	x	x

gazza

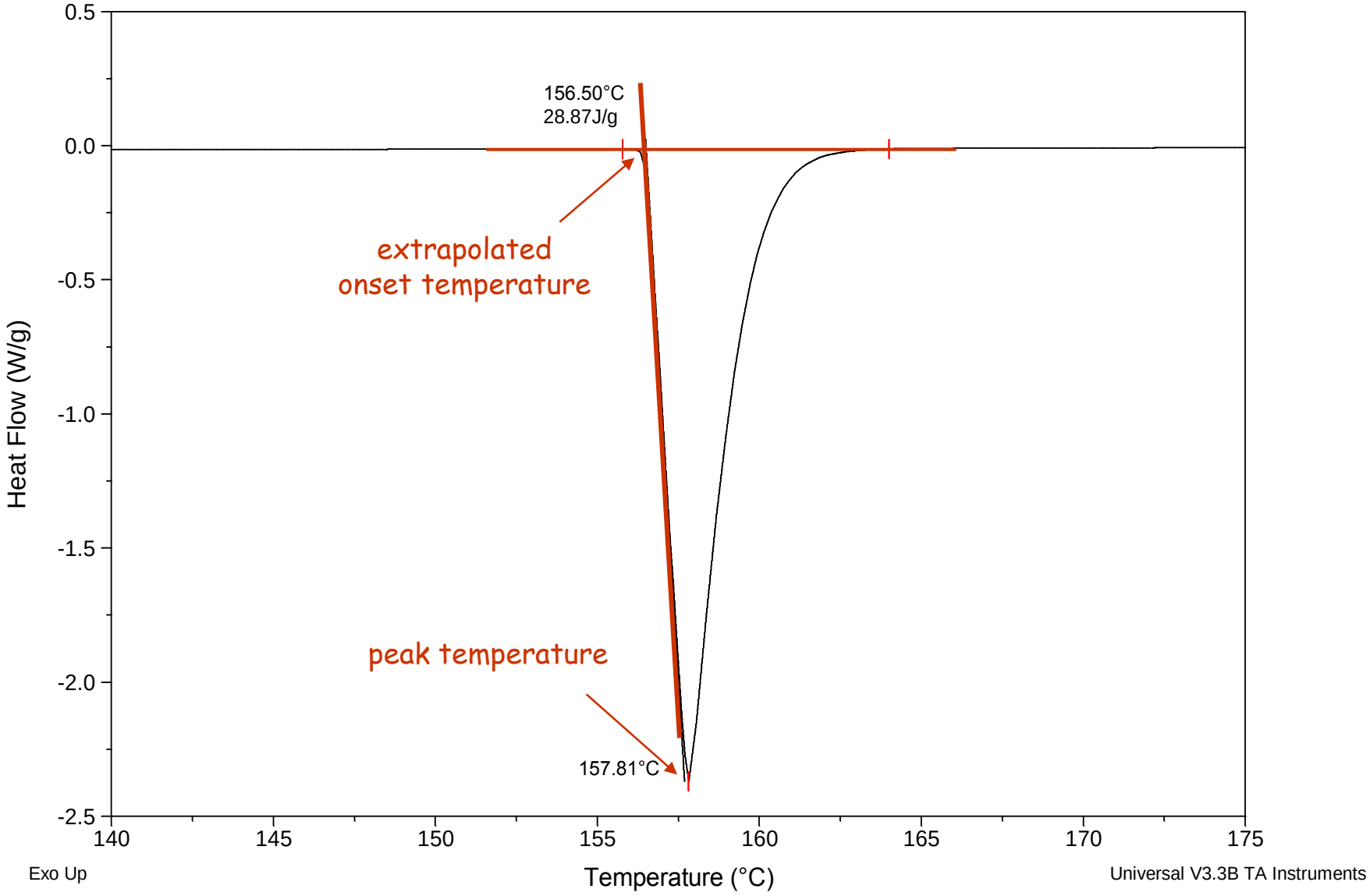
Segnali registrabili in DSC



gazza

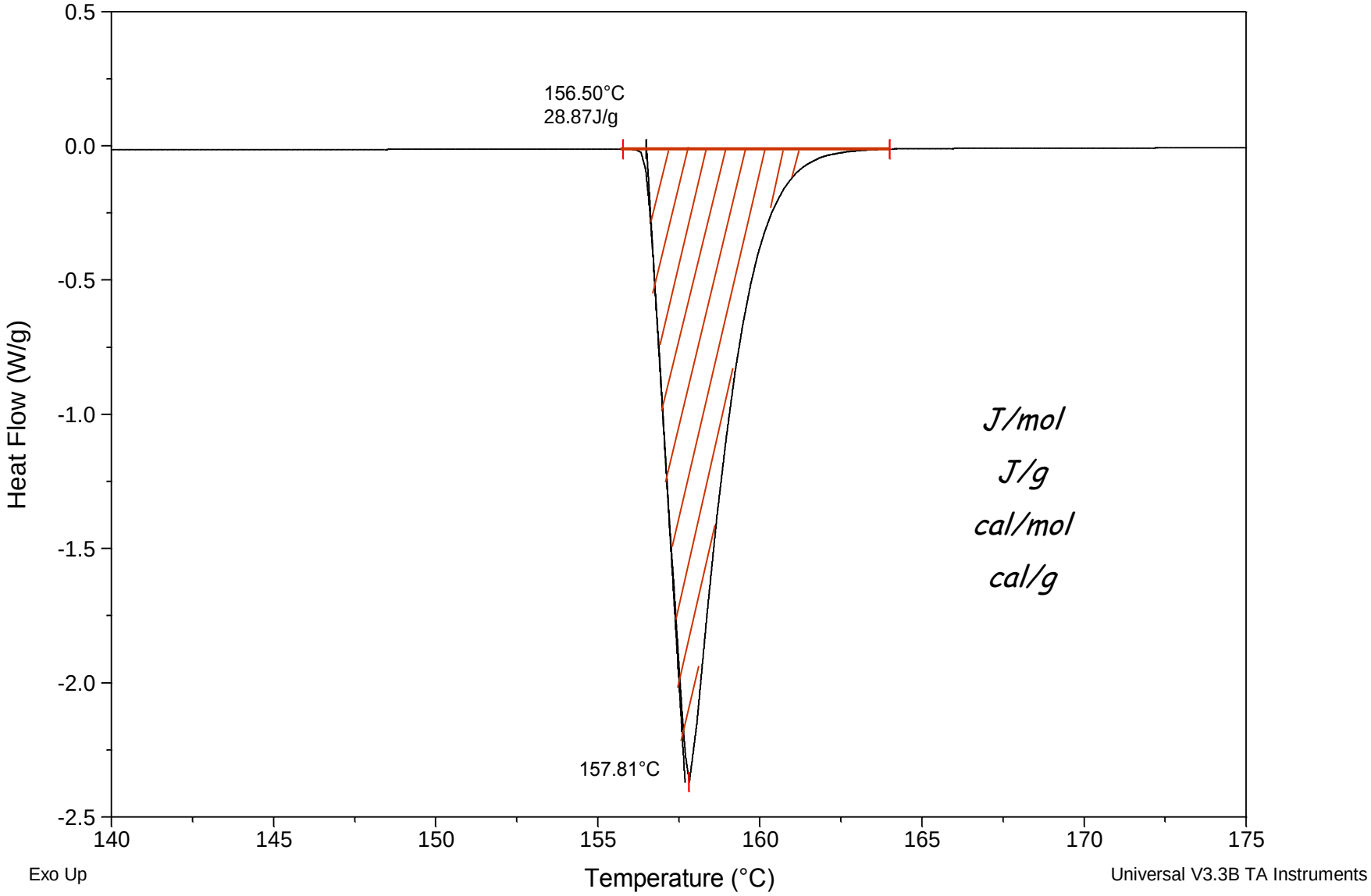

Heat Flow (W/g)
2
0
-2
-4
-6
-8
0
50
100
150
200
250
Temperature (°C)
Exo Up
temperatura
area
forma

temperatura di transizione



gazza

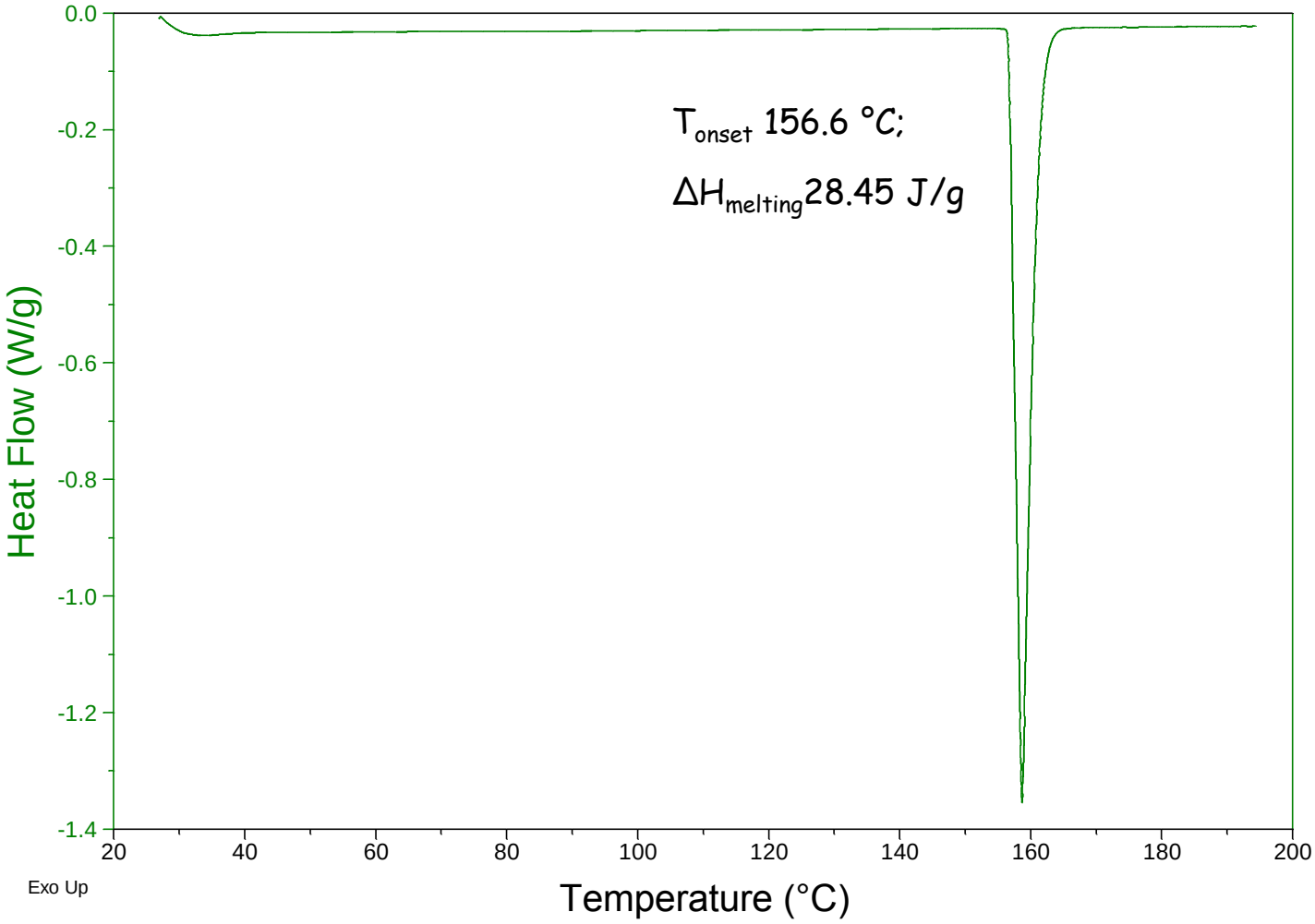
entalpia di transizione



gazza

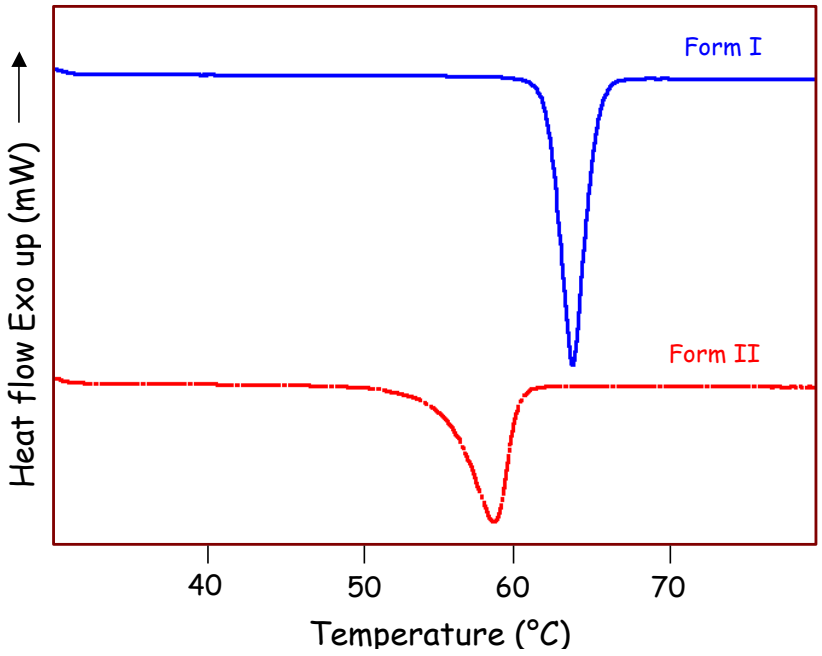
Sample: Indium
Size: 13.7700 mg

Comment: 10°C/min



gazza

processo di fusione (sistemi polimorfici) analizzato in DSC



scanning rate: 5 K/min,
N_2 purge: 70 m/min.

Melting point and heat of fusion for Forms I and II *mean (s.d.), n = 3*

Form	T_f*(°C)	ΔH_f (J/g)
I	62.0 (0.3)	102 (4)
II	55.3 (0.2)	81 (1)

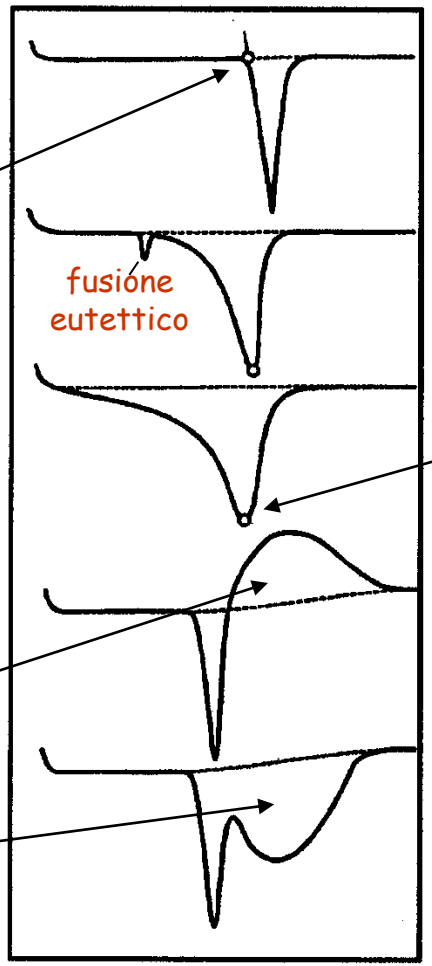
** extrapolated onset temperature*

gazza

processo di fusione analizzato in DSC

sostanza pura

- endoterma di fusione stretta e affilata
- la temperatura di fusione è definita da T_{onset}



sostanza con impurezze

- endoterma di fusione allargata
- la temperatura di fusione è definita da T_{max}
- impurezze che formano un eutettico con la sostanza in esame determinano un secondo picco endoermico

fusione accompagnata da decomposizione

- esotermica
- endotermica

gazza

analisi della purezza mediante DSC

- impurezze che formano un eutettico determinano un abbassamento della temperatura di fusione

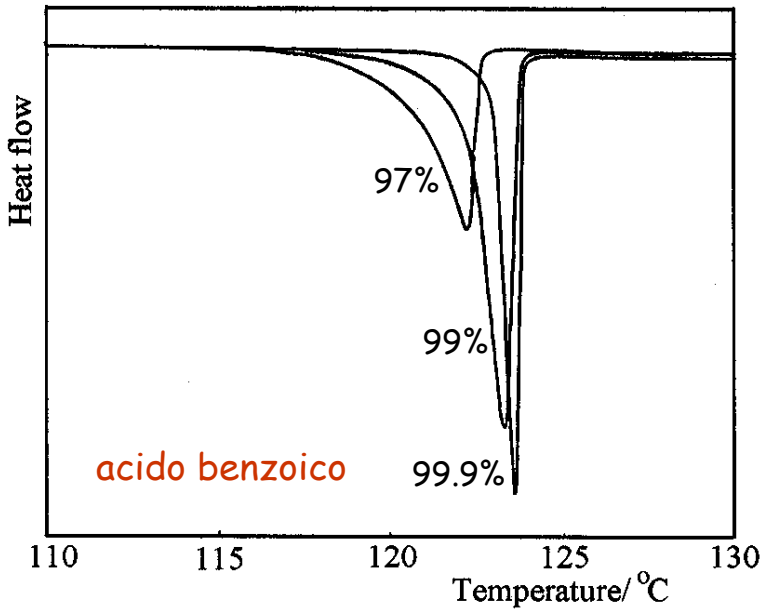
- la determinazione della purezza mediante DSC si basa sull'eq. di Van't Hoff

$$T_m = T_o - \frac{R T_o^2 \chi}{\Delta H_o} \cdot \frac{1}{f}$$

•si applica a sostanze relativamente pure (purezza ≥98%)

•è consigliabile impiegare 1-3 mg di campione in crogiolo chiuso ermeticamente

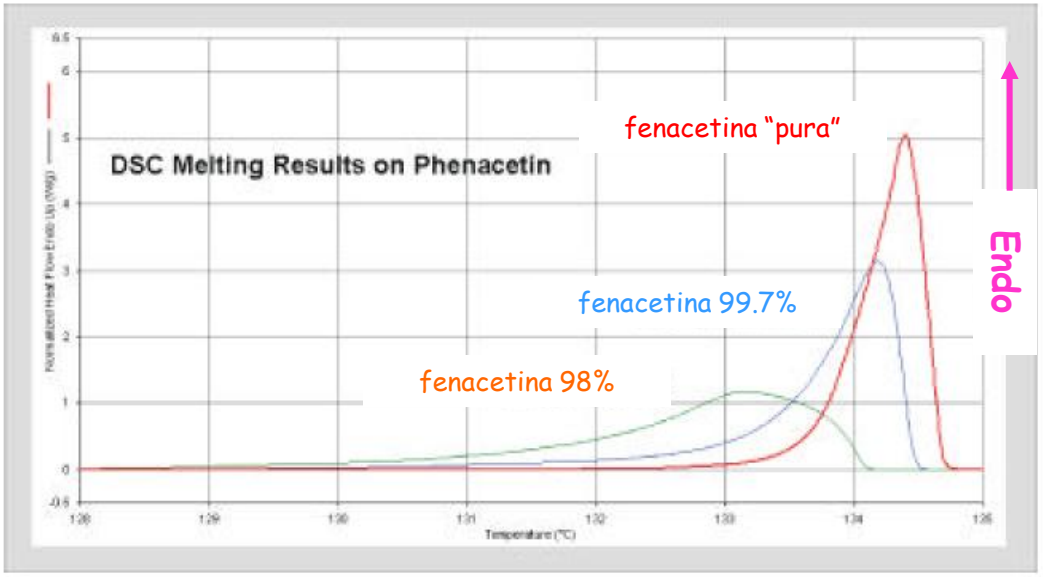
•il polimorfismo della sostanza può interferire con la determinazione della sua purezza

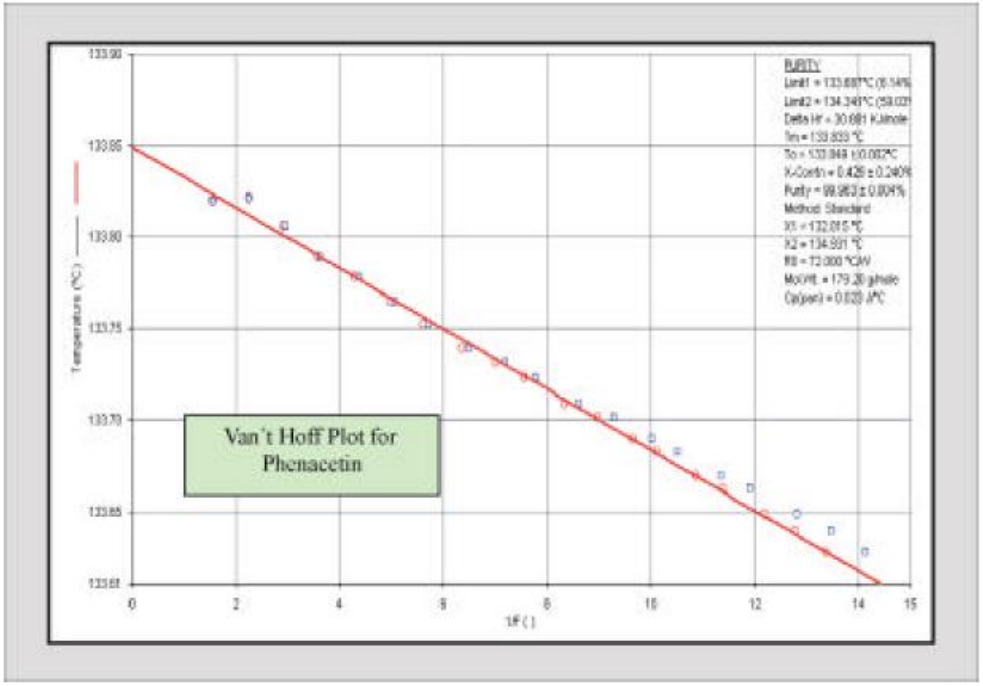


endoterme di fusione di campioni a diverso grado di purezza

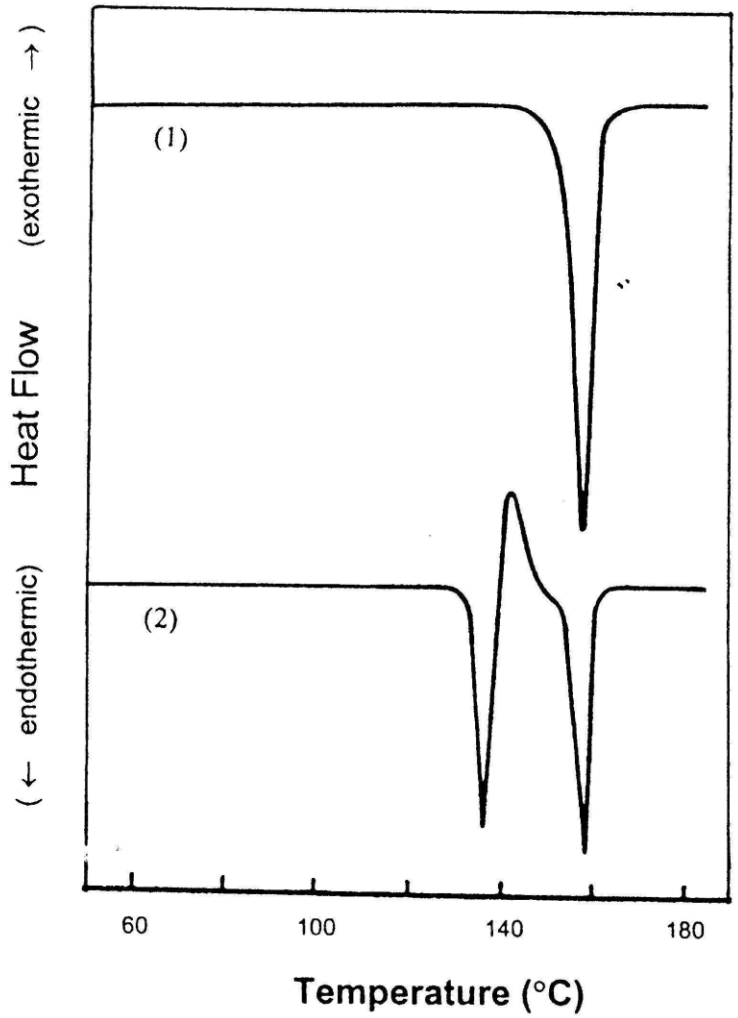
Plato, C.; Glasgow, Jr., A.R. *Anal. Chem.*, **1969**, *41(2)*, 330-336.

gazza


DSC Melting Results on Phenacetin
fenacetina "pura"
fenacetina 99.7%
fenacetina 98%
Endo
Temperature (°C)


Van't Hoff Plot for Phenacetin

Forma del picco: processo di fusione

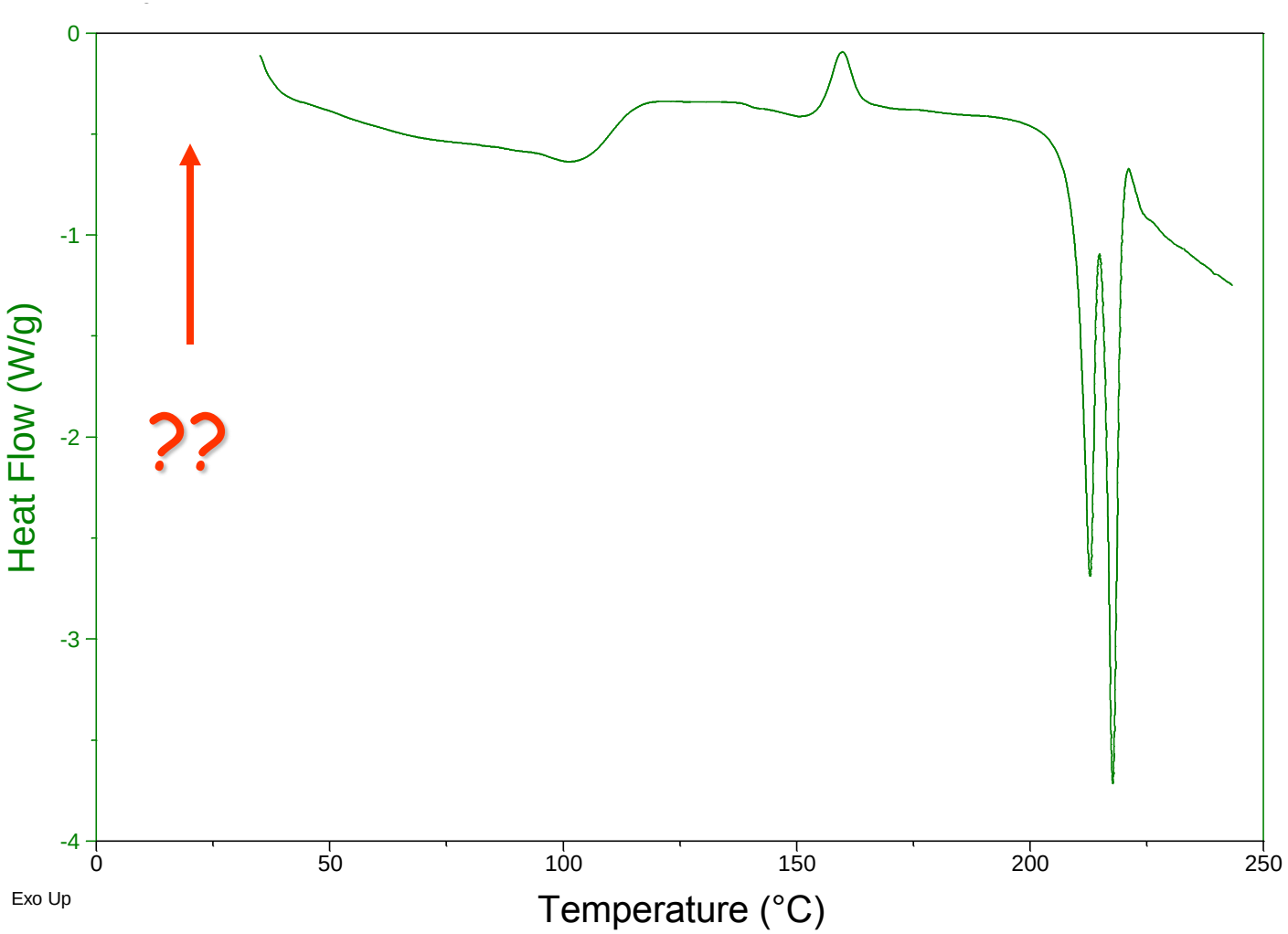


Fusione polimorfo altofondente

Fusione polimorfo bassofondente→ ricristallizzazione dal fuso del polimorfo altofondente → fusione polimorfo altofondente

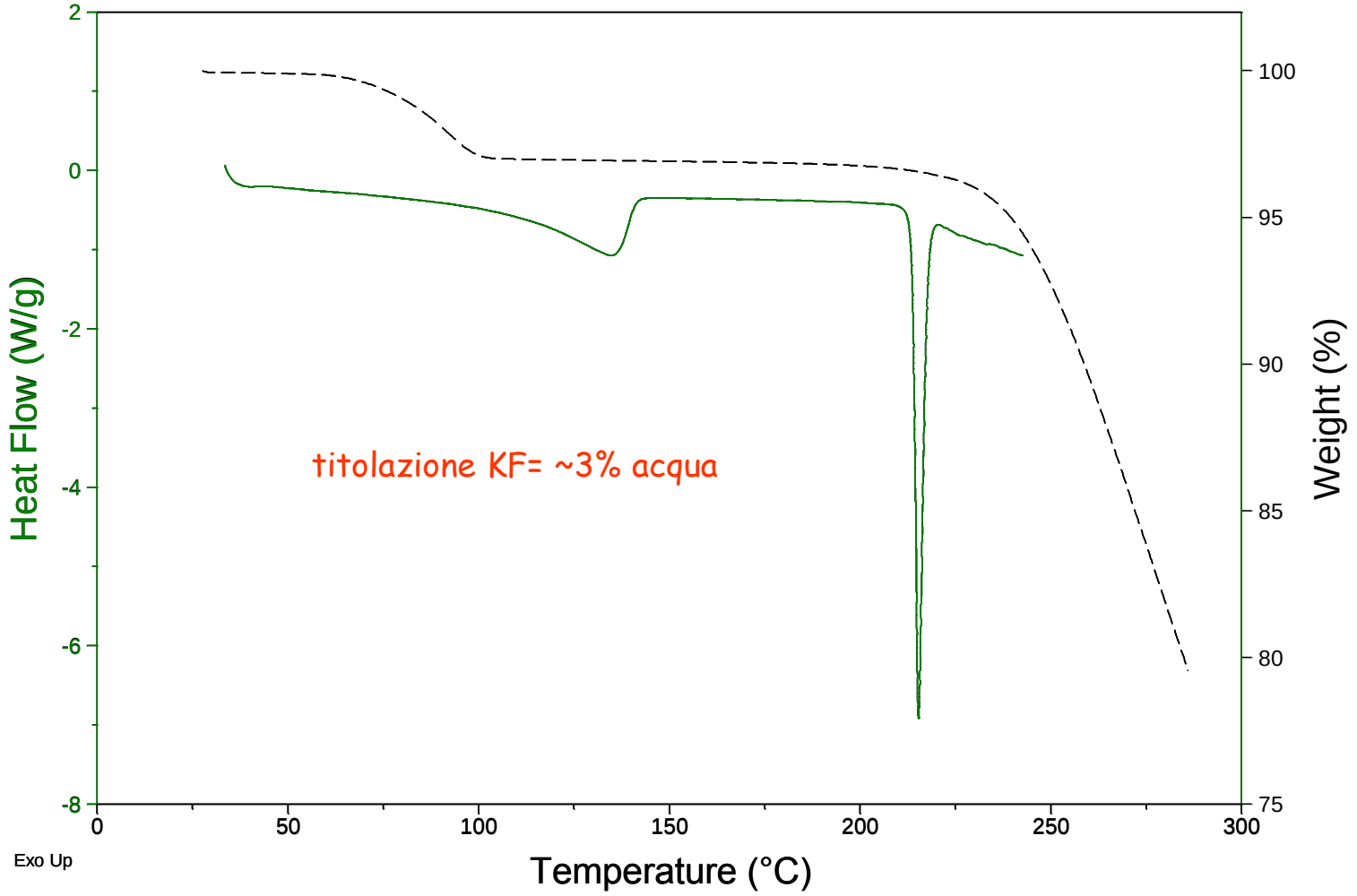
gazza

Interpretazione di un tracciato DSC



gazza

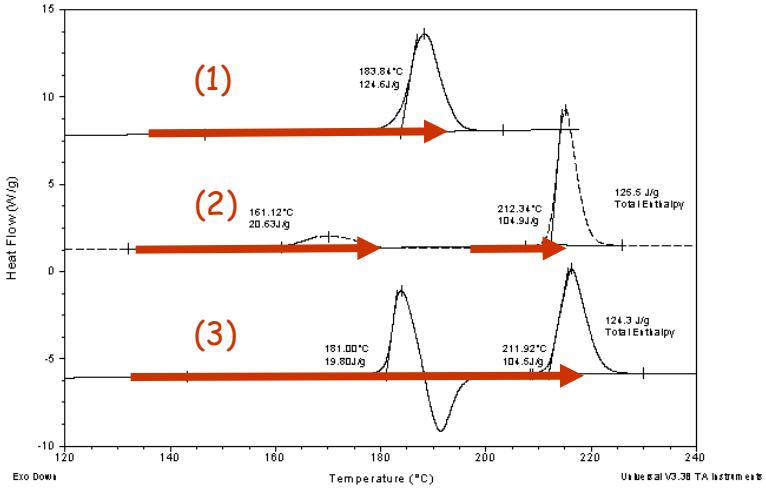
Per l'interpretazione del tracciato DSC possono essere utili informazioni derivanti da altre tecniche di indagine



processo di fusione (sistemi polimorfici) analizzato in DSC

(1) Singola endoterma ben definita

- area del picco=ΔH_f
- non accompagnata da decomposizione/sublimazione
- facilmente misurabile per il polimorfo altofondente
- misurabile per il polimorfo bassofondente operando a opportuna velocità di scansione



(2) Più eventi termici che portano al polimorfo stabile

- transizione solido-solido (da *A* a B) a cui corrisponde una entalpia di transizione (ΔH_{TR})*

$$\Delta H_f^A = \Delta H_f^B - \Delta H_{TR}$$

(3) Cristallizzazione della forma stabile B dal fuso della forma *A*

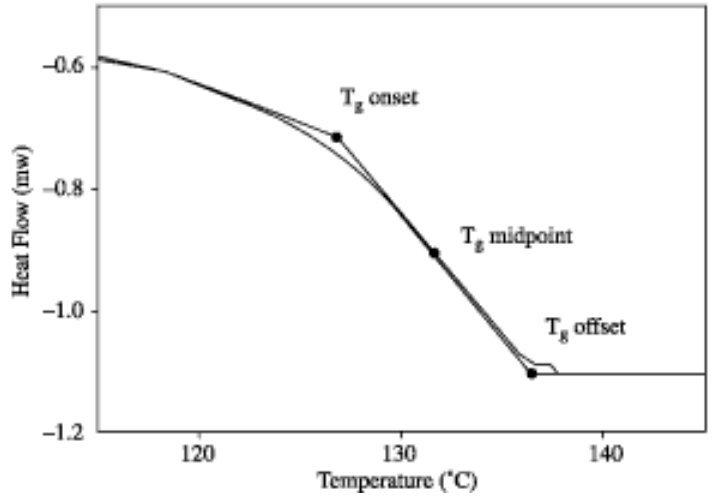
*si considera trascurabile la differenza di capacità termica tra I due polimorfi nell'intervallo di temperatura di interesse

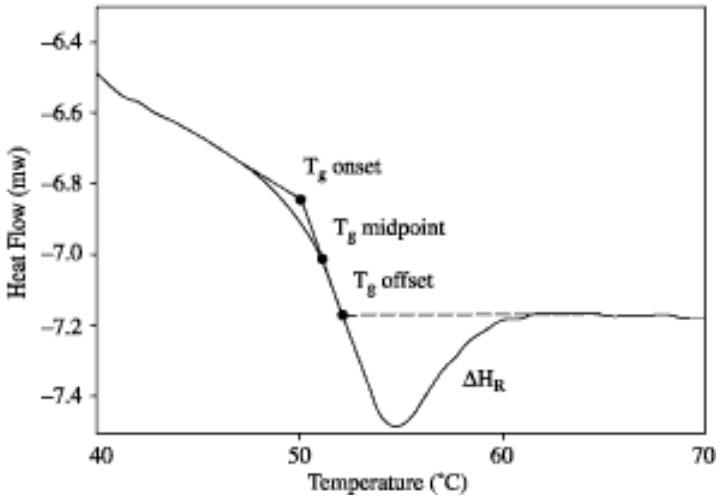
gazza

Transizione vetrosa (Tg)

- Transizione del secondo ordine caratterizzata da un cambiamento della capacità termica del materiale prima e dopo la transizione (non accompagnata da assorbimento o sviluppo di calore)

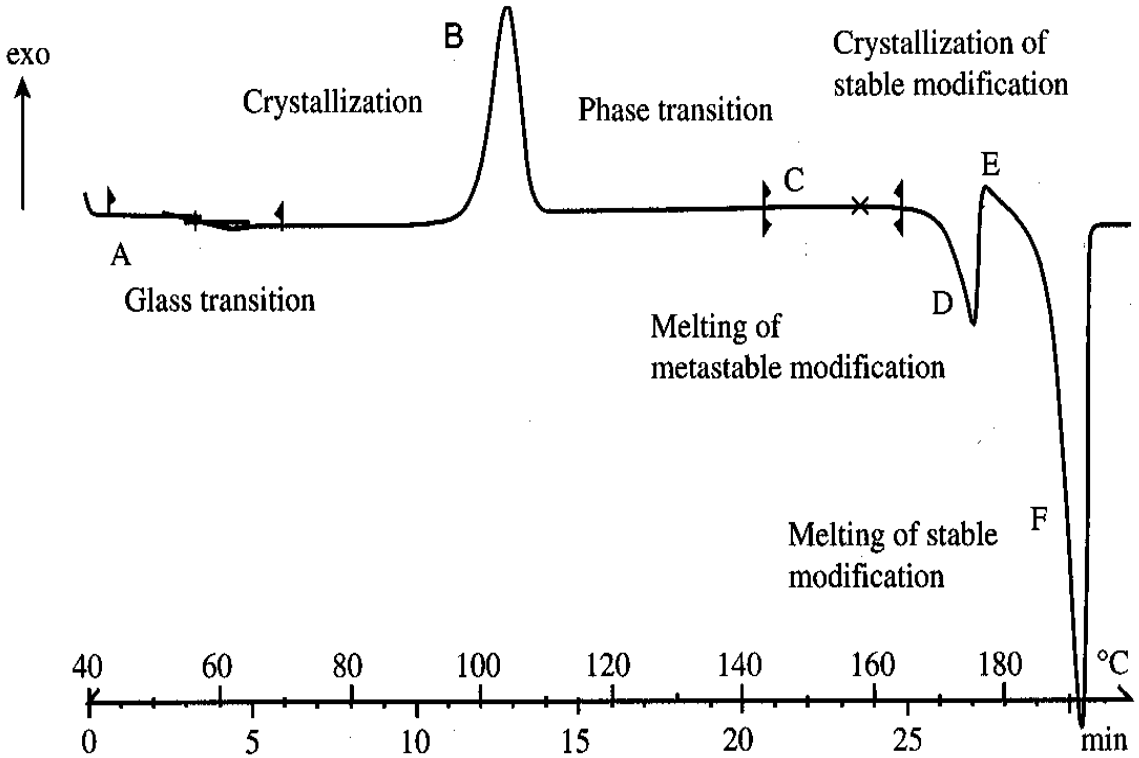
- Si presenta come un flesso di debole intensità (direzione endotermica)





gazza

sulfapiridina (amorfa)



Eventi endotermici

fusione
sublimazione
transizioni solido-solido
desolvatazione
reazioni chimiche

Eventi esotermici

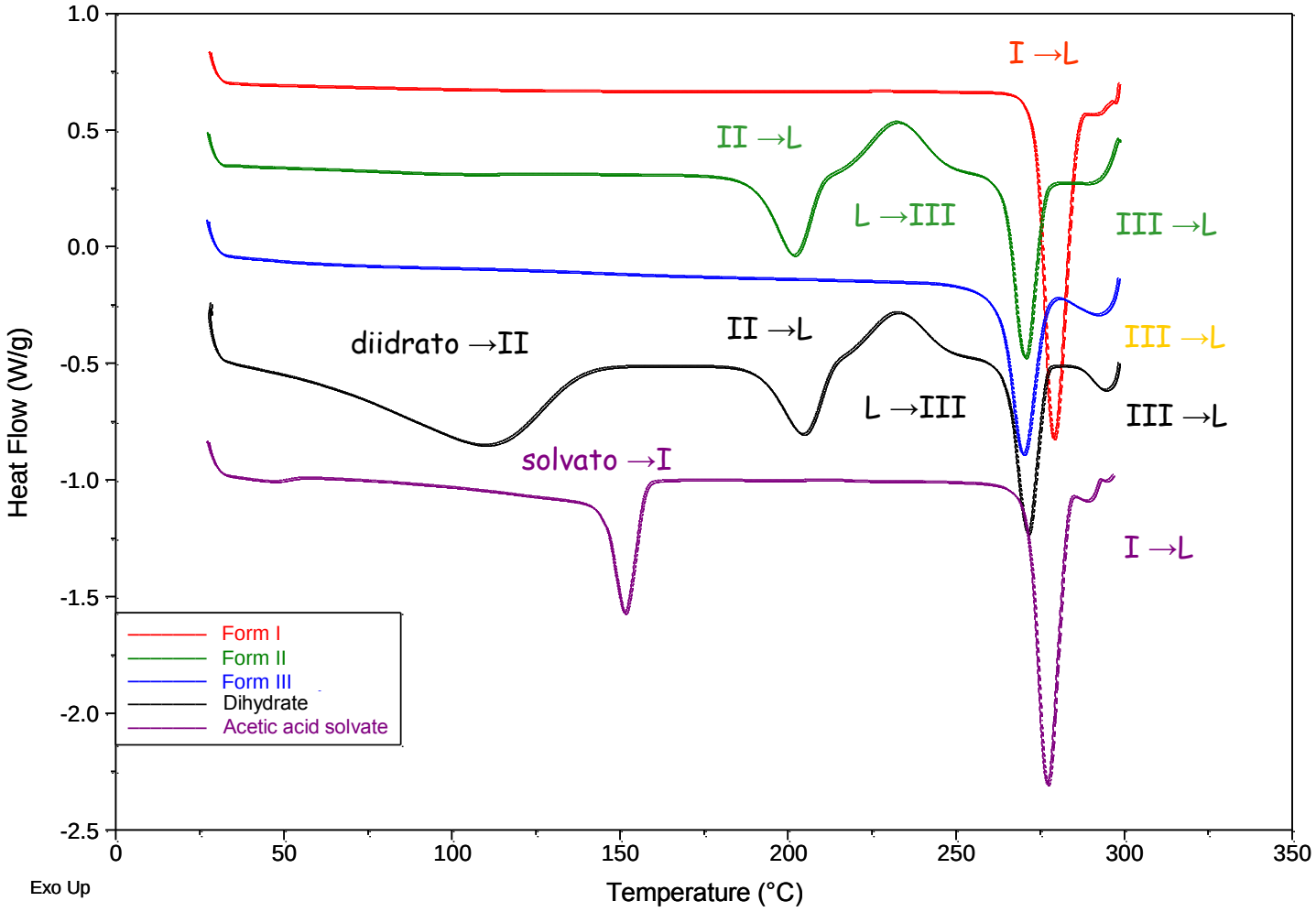
cristallizzazione
transizioni solido-solido
decomposizione
reazioni chimiche

Shift della linea di base

Transizioni vetrose

gazza

screening/identificazione di forme polimorfe e solvate



Effect of Heating Rate

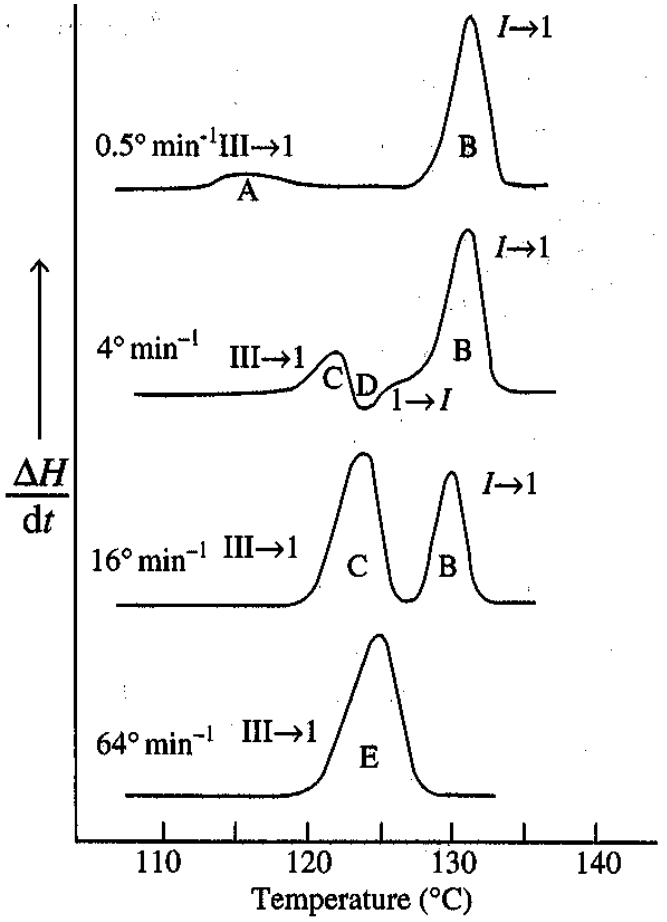
- many transitions (evaporation, crystallization, decomposition, etc.) are kinetic events

  … they will shift to higher temperature when heated at a higher rate

- the total heat flow increases linearly with heating rate due to the heat capacity of the sample

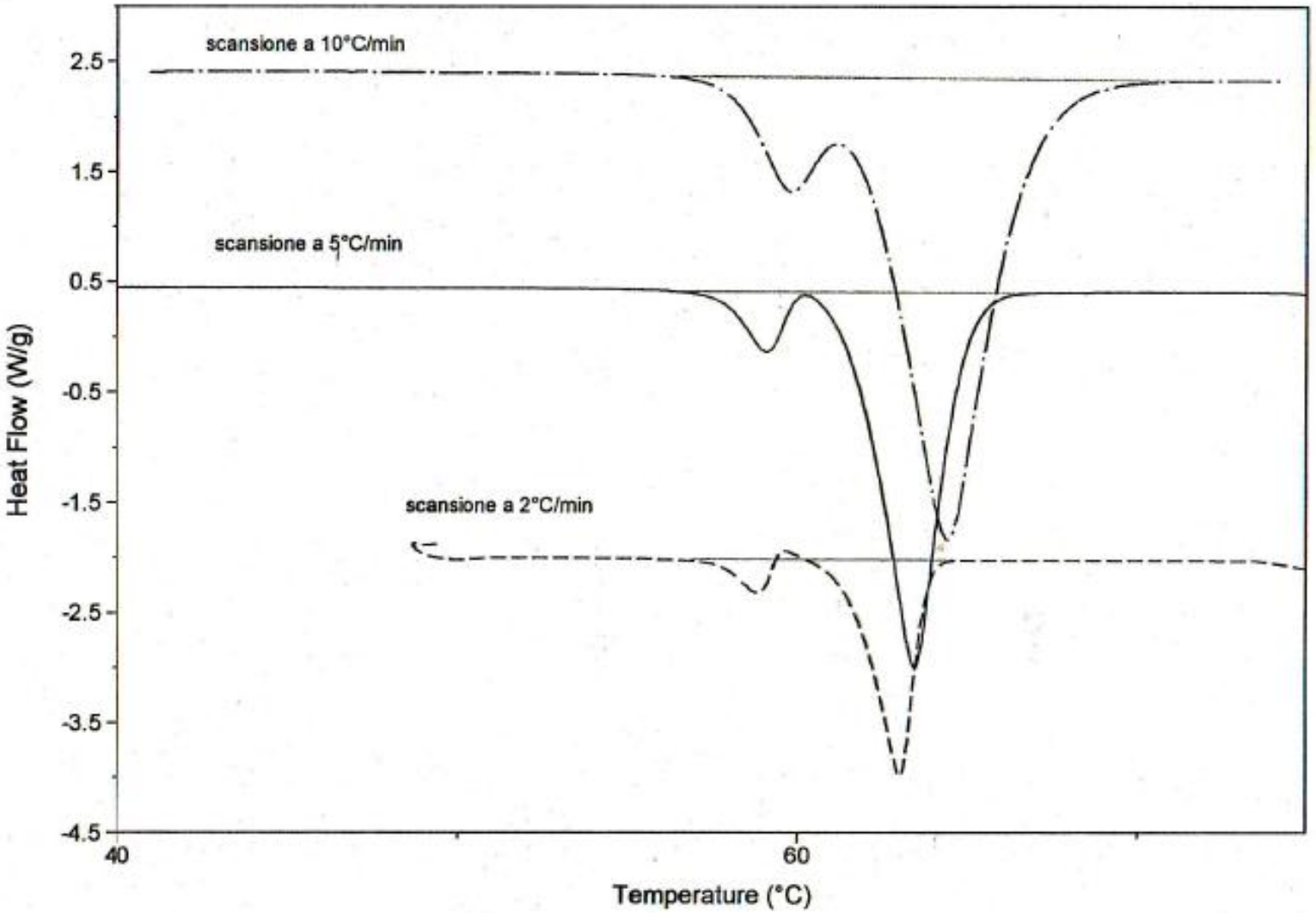
  … increasing the scanning rate increases sensitivity, while decreasing the scanning rate increases resolution

- to obtain thermal event temperatures close to the true thermodynamic value, slow scanning rates (e.g., 1–5 K/min) should be used



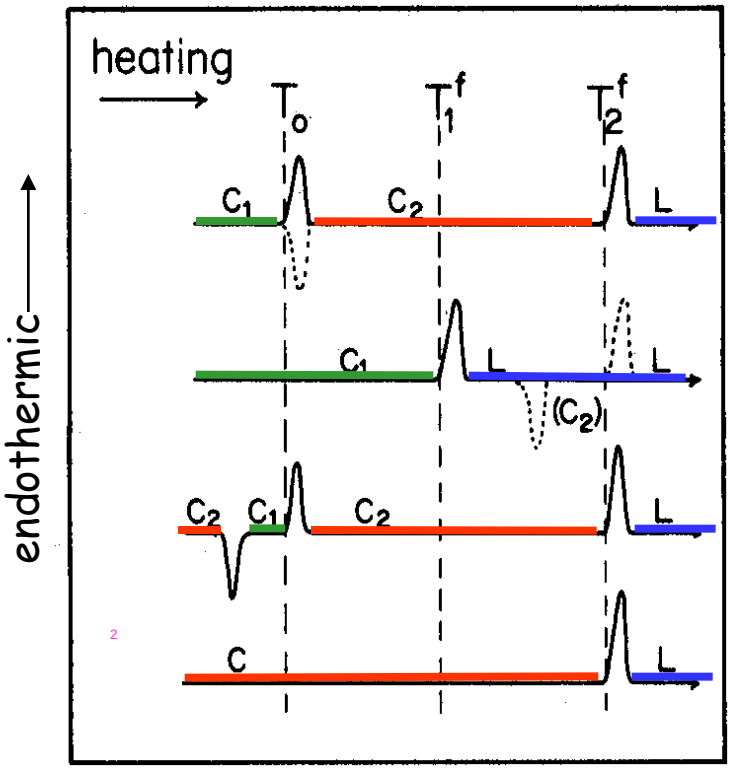
DSC traces of a low melting polymorph collected at four different heating rates. (Burger, 1975)

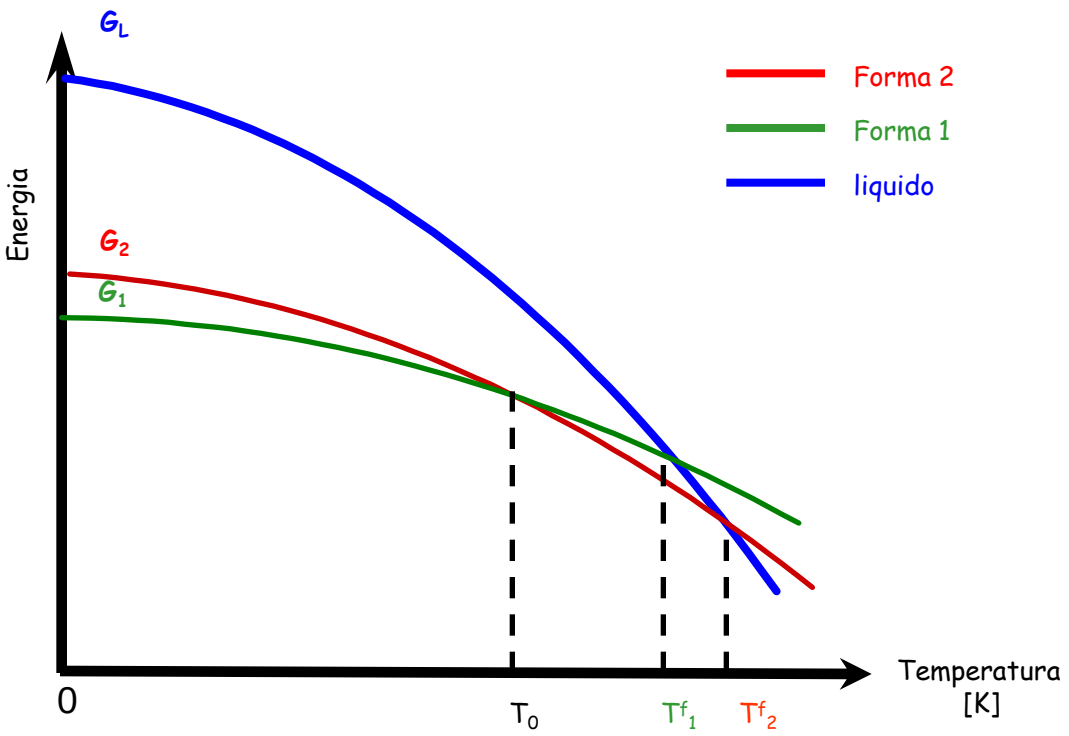
gazza


scansione a 10°C/min
scansione a 5°C/min
scansione a 2°C/min
Heat Flow (W/g)
2.5
1.5
0.5
-0.5
-1.5
-2.5
-3.5
-4.5
40
60
Temperature (°C)

Burger's Rules for Polymorphic Transitions

enantiotropy





Heat of Transition Rule

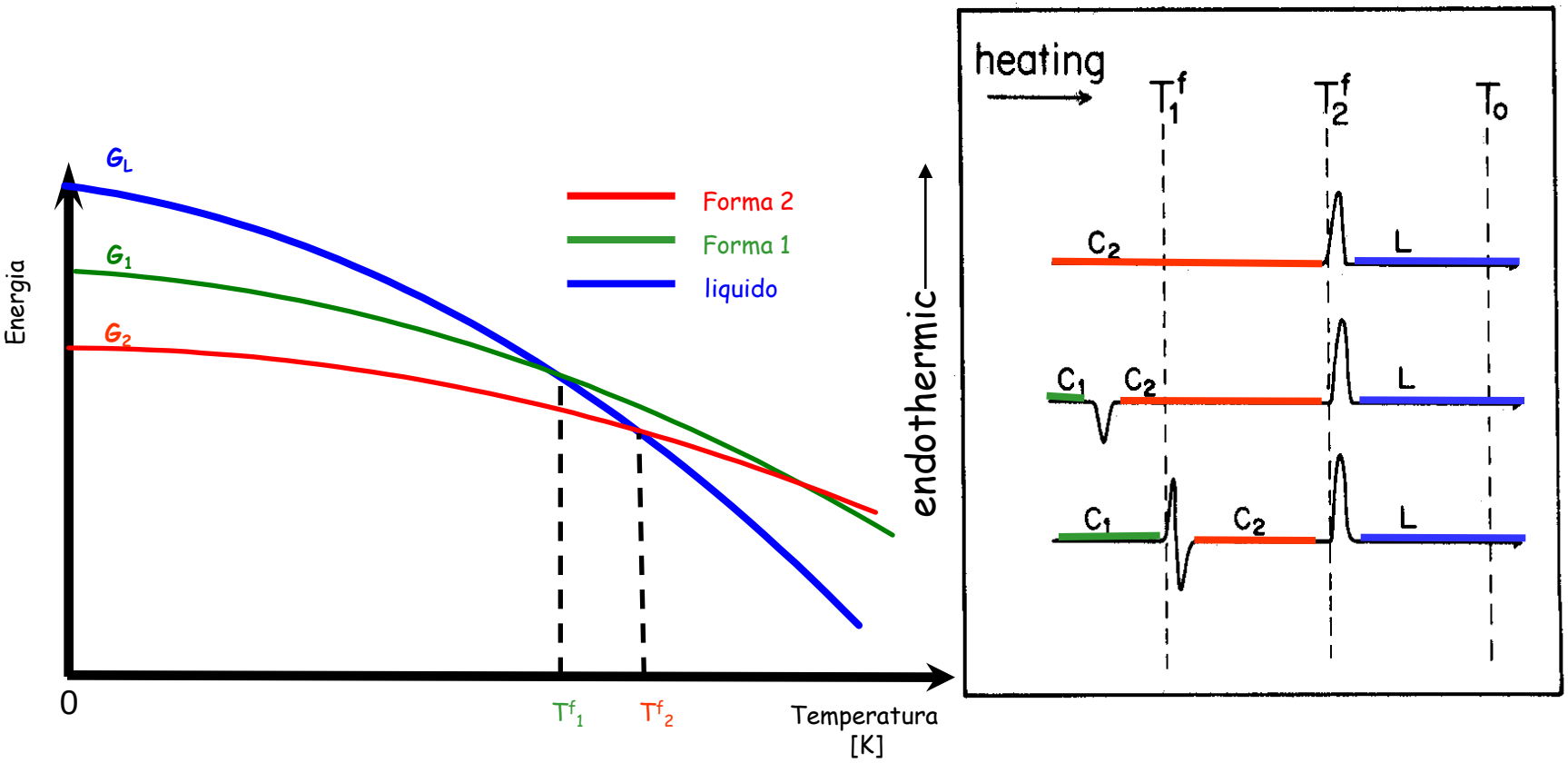
- endo-/exothermic solid-solid transition

Heat of Fusion Rule

- higher melting form; lower ΔH_f

Burger's Rules for Polymorphic Transitions

monotropy

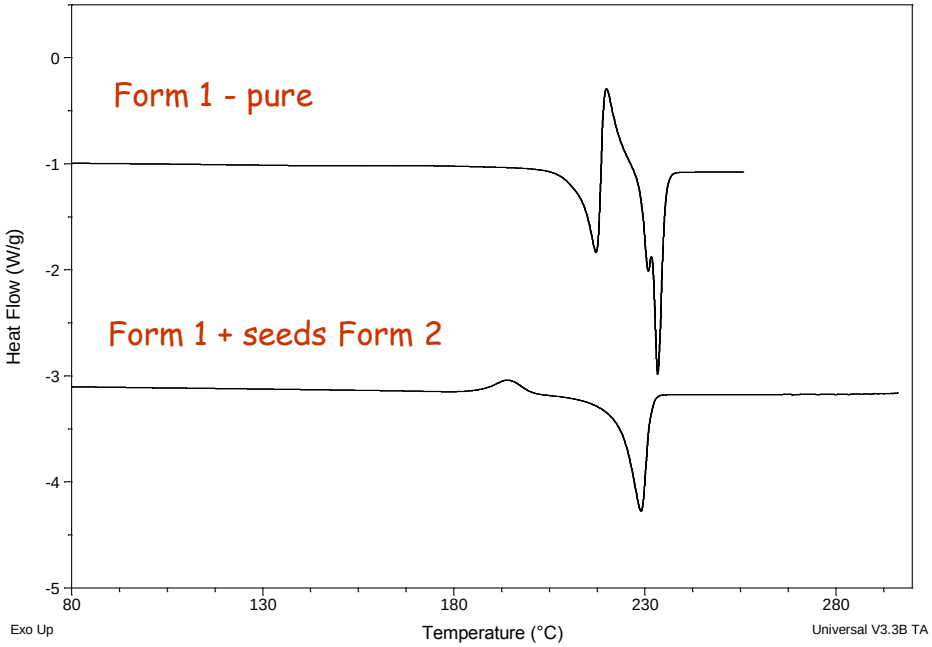


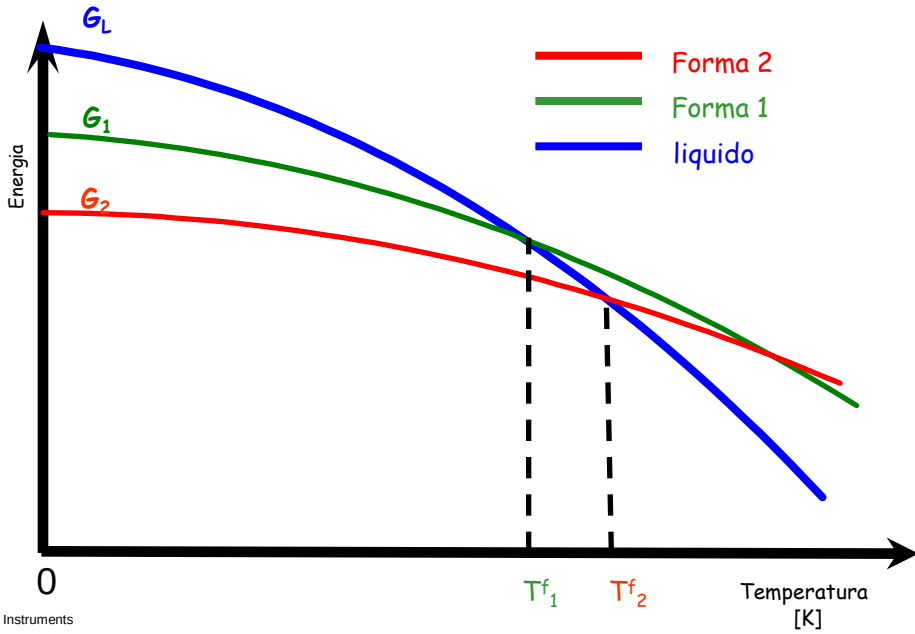
- exothermic solid-solid transition
- higher melting form; higher ΔH_f

gazza

Effect of Phase Impurities

- 2 lots of lower melting polymorph (identical by XRD) are different by DSC



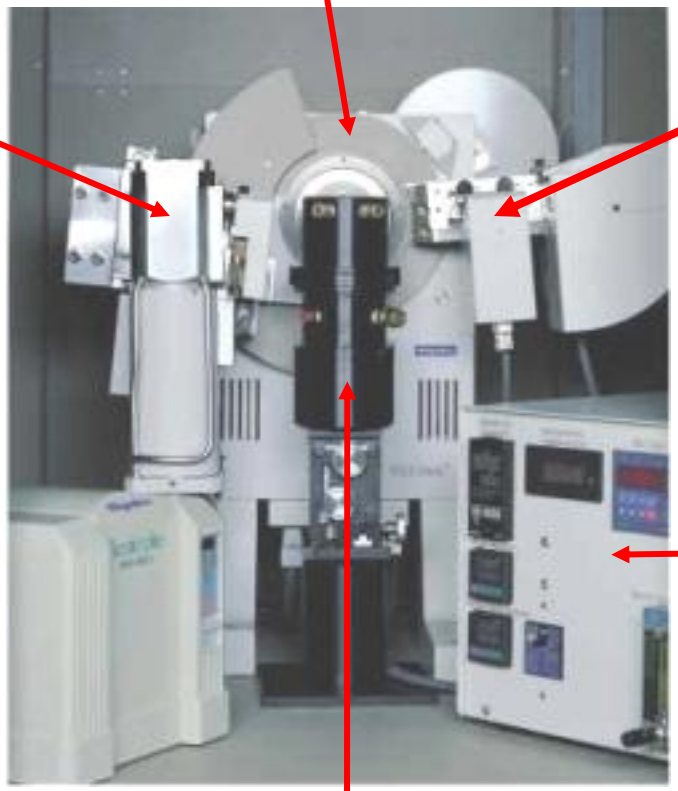


- pure low melting polymorph – melting observed
- Form 1 + seeds: seeds of high melting polymorph induce solid-state transition below the melting temperature of the low melting polymorph

gazza

The Simultaneous Measuring Instrument for X-ray Diffraction (XRD) and Differential Scanning Calorimetry (DSC)

XRD-DSC II



gazza

Tolbutamide

Measuring condition:
- Sample weight: 8.97 mg
- Heating rate: 3°C/min
- XRD scanning rate: 40°/min

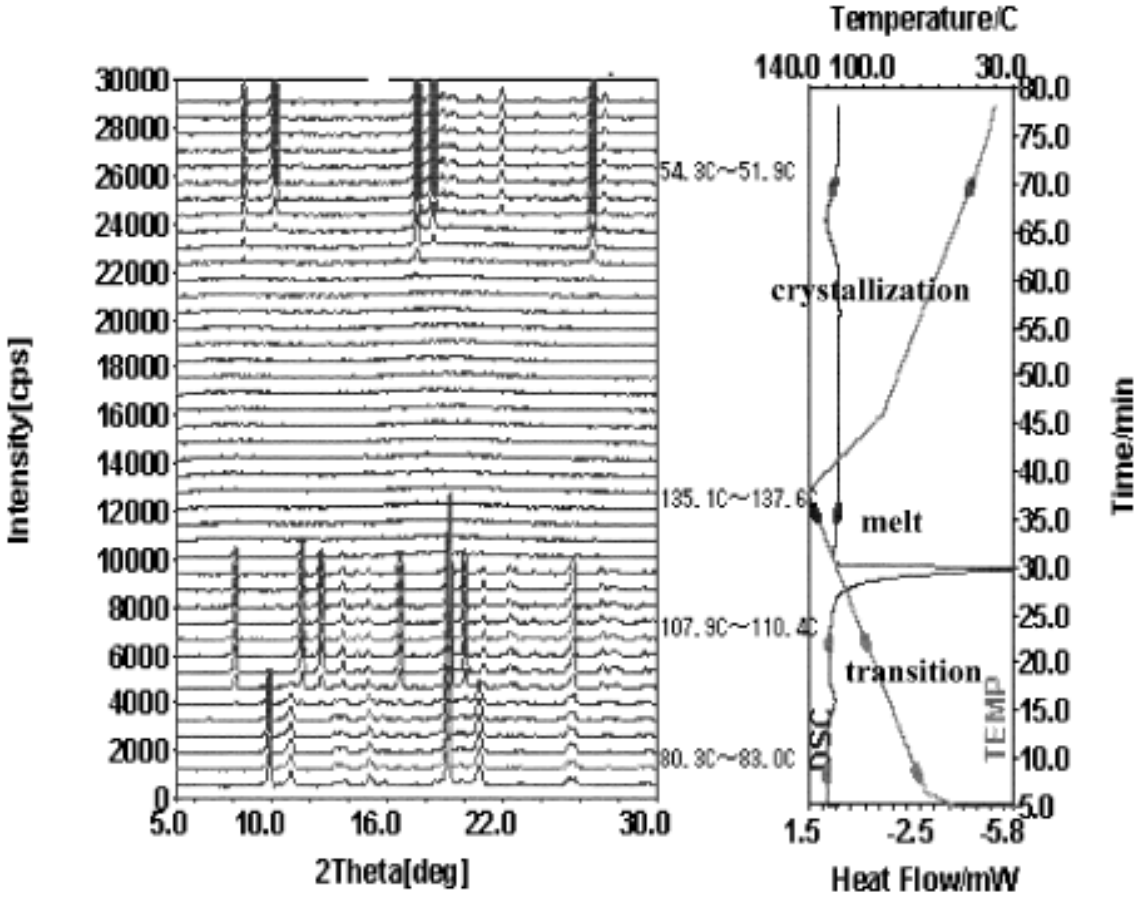
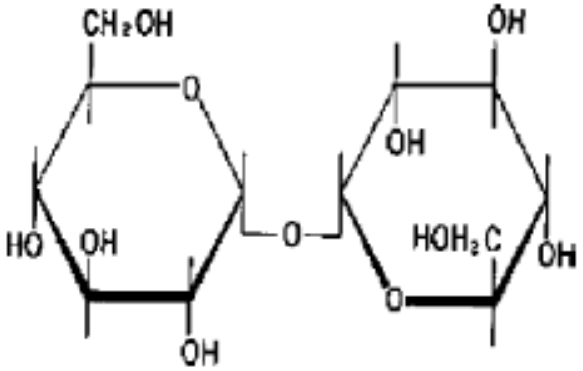
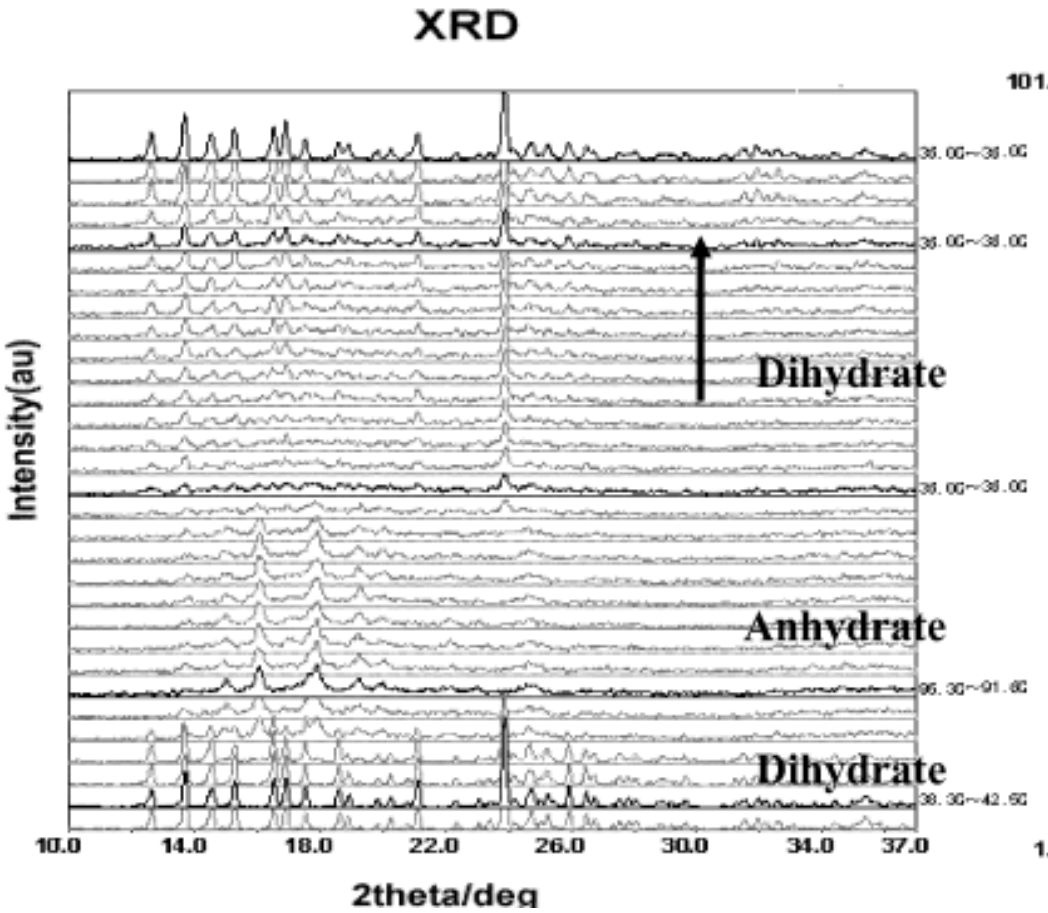


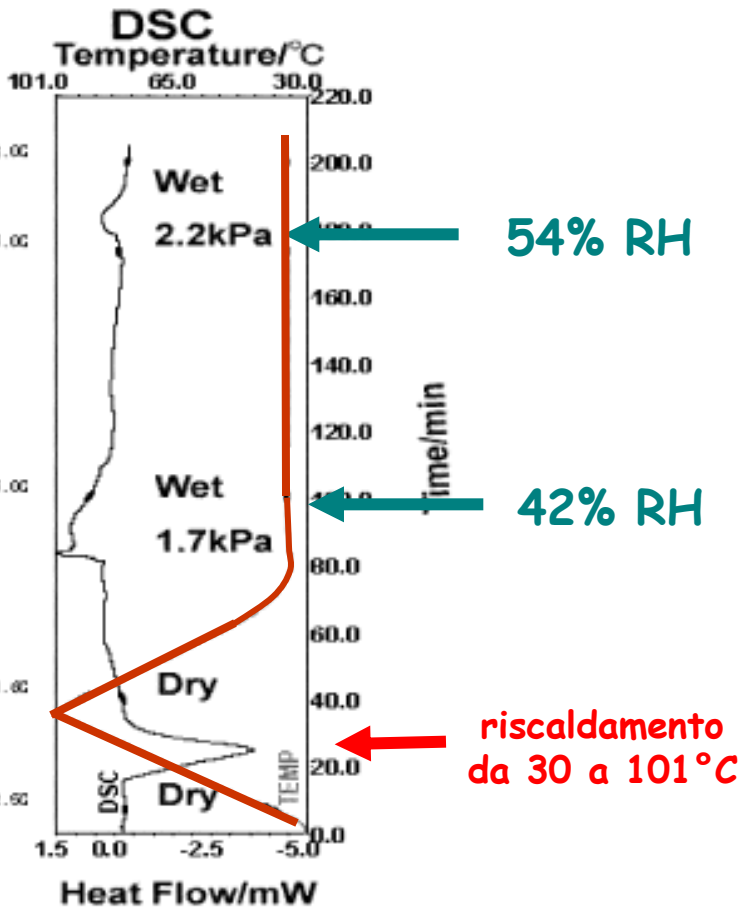
Fig. 2.

gazza



α,α-Trehalose





54% RH

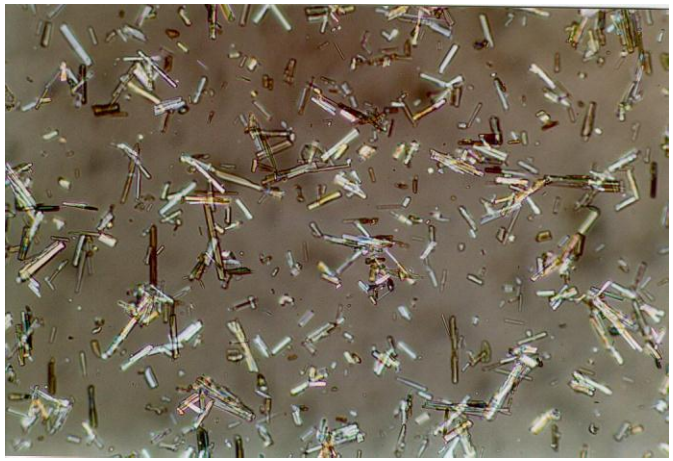
42% RH

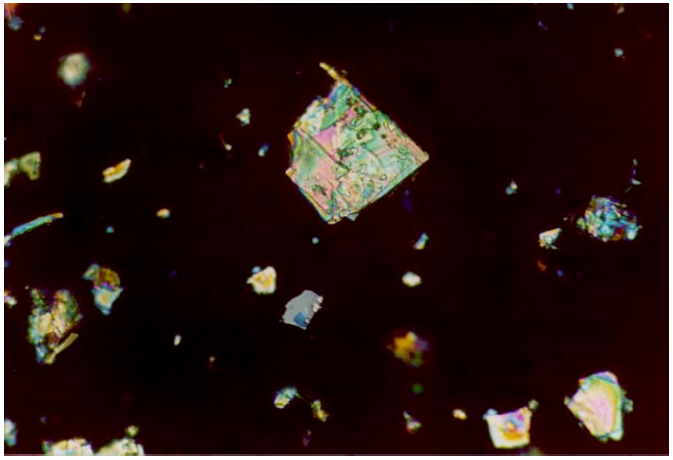
riscaldamento
da 30 a 101°C

gazza

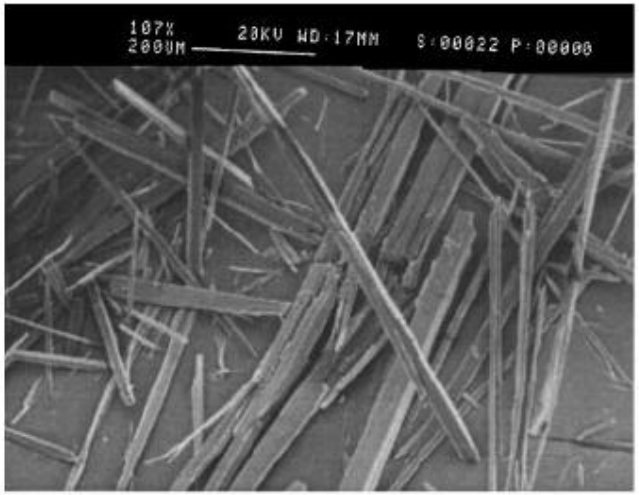
Microscopia

ottica

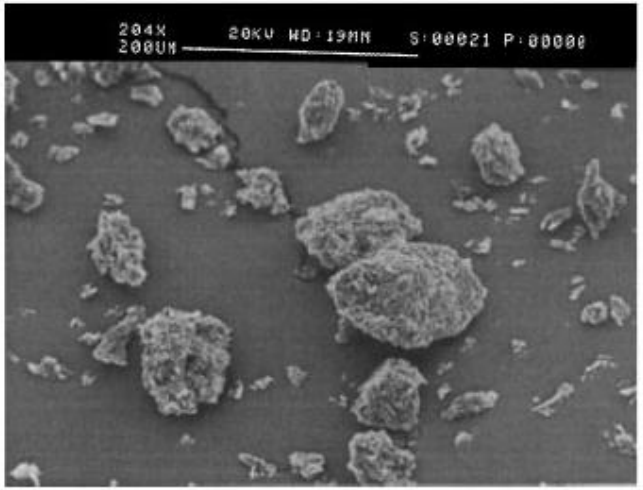




a scansione di elettroni



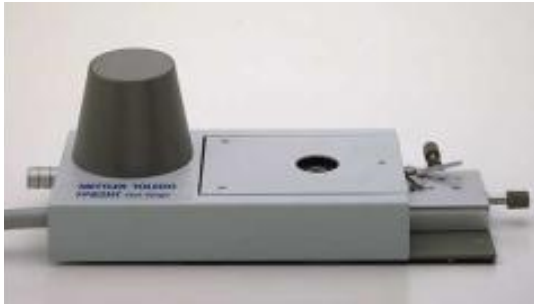
a



b

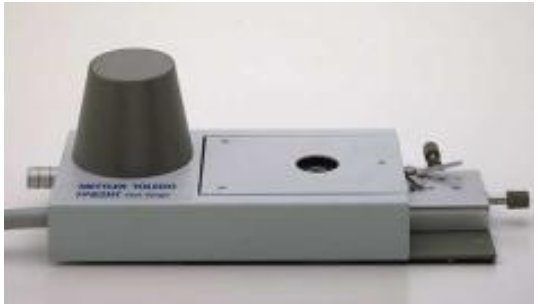
gazza

Termomicroscopia
Hot Stage Microscopy (HSM)

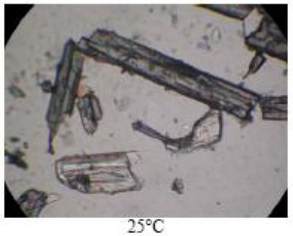


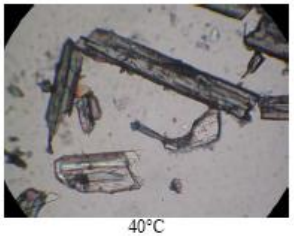
gazza

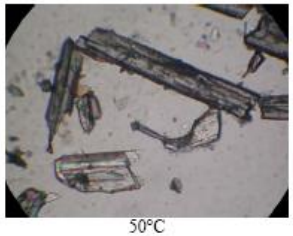
Termomicroscopia
Hot Stage Microscopy (HSM)

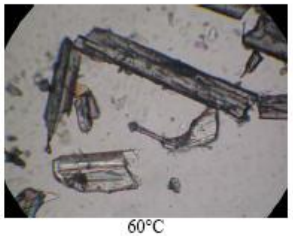


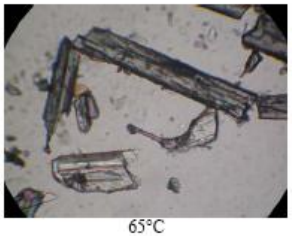
gazza

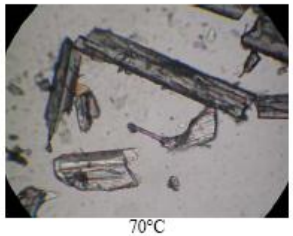

25°C

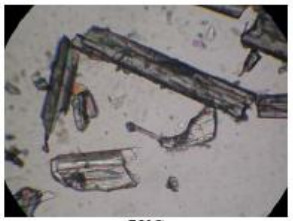

40°C


50°C

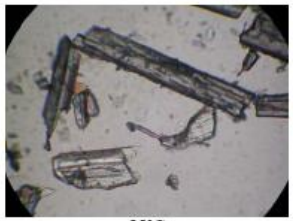

60°C

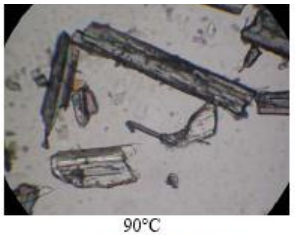

65°C

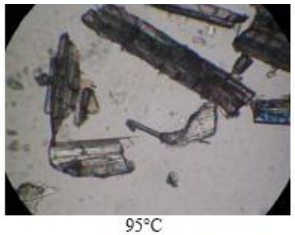

70°C

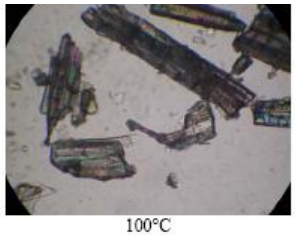

75°C

80°C


85°C


90°C

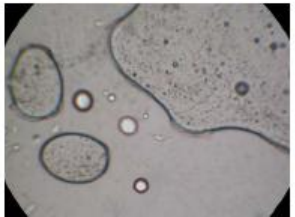

95°C


100°C

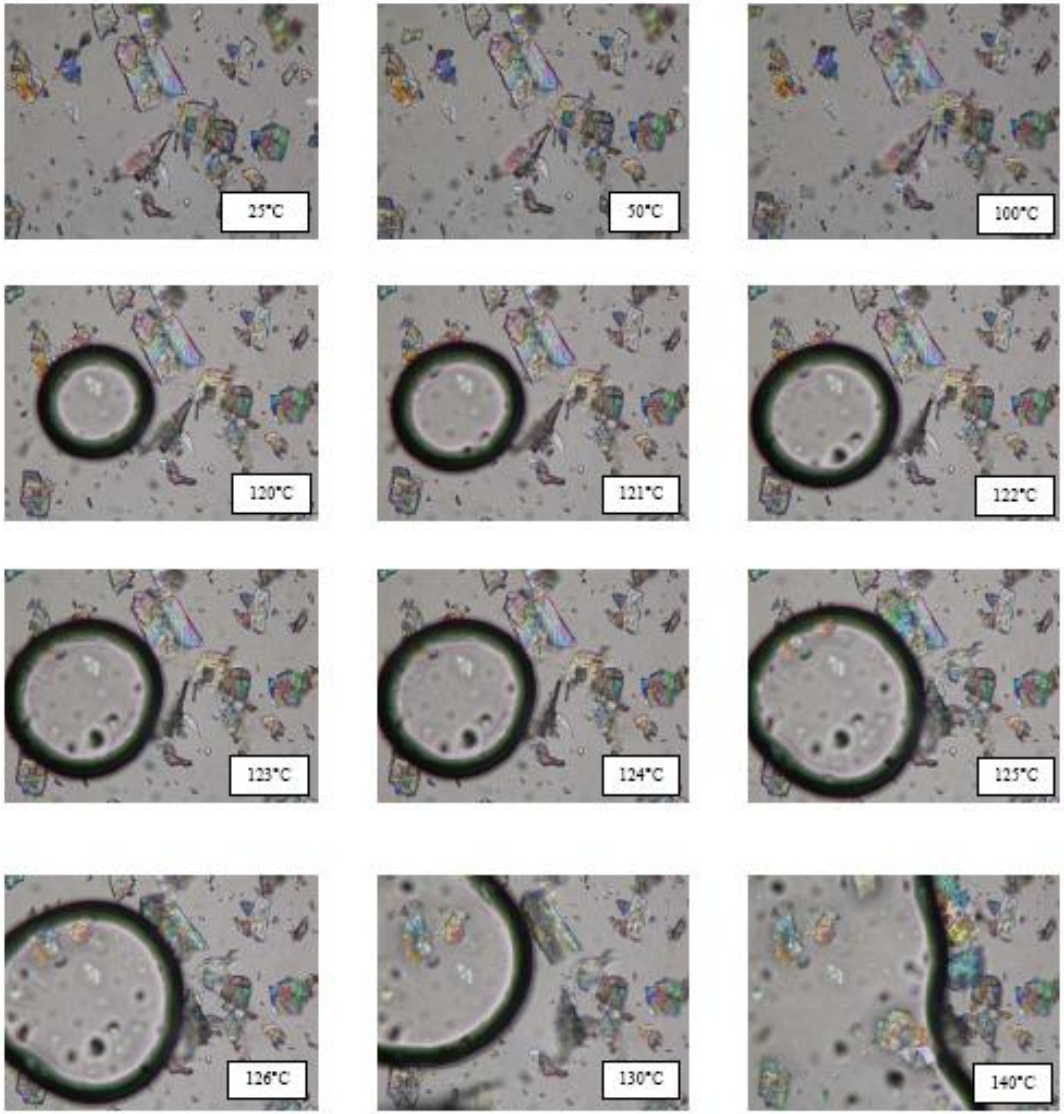
110°C

120°

140°C



gazza



gazza

Spettroscopia IR

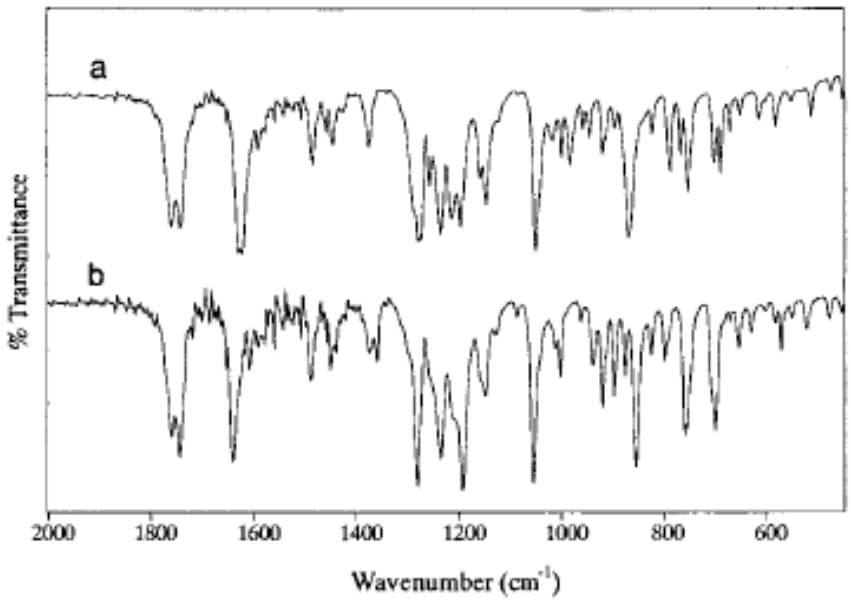


Figure 4. FTIR spectra of Form I (a) and Form II (b).

Table 3. Distinctive IR Bands of NCX4016 Polymorphs

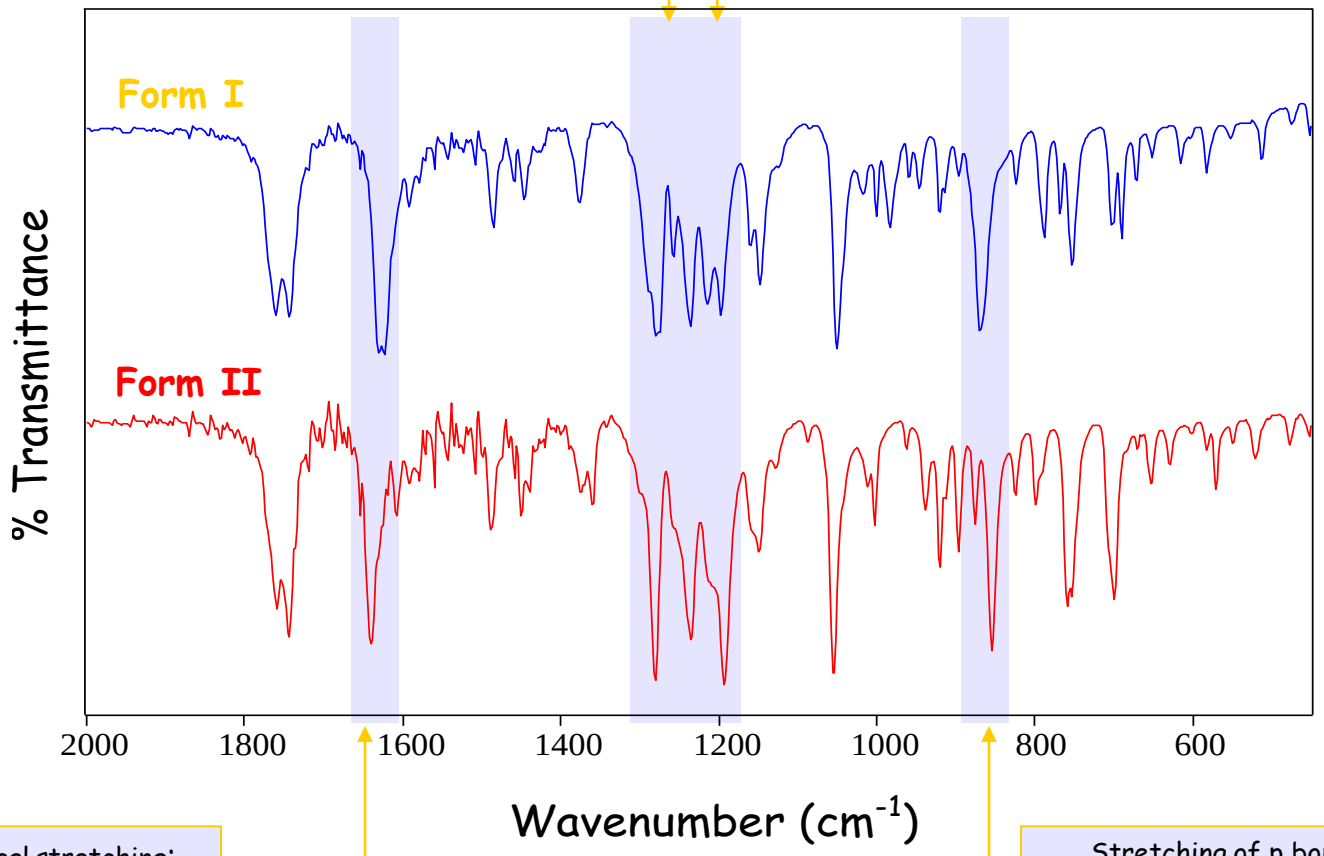
Band Assignment	Form I	Form II
NO_2 asymmetrical stretching	1629, 1623 cm^{-1}	1640 cm^{-1}
NO_2 symmetrical stretching	1377 cm^{-1}	1373, 1359 cm^{-1}
Phenyl benzoate C–O stretching	1213, 1197 cm^{-1}	1193 cm^{-1}
Stretching of π bonds of the N–O linkage	868 cm^{-1}	853 cm^{-1}

gazza

Spettroscopia IR

NO_2 symmetrical stretching : 1377 cm^{-1}(I) 1373, 1359 cm^{-1} (II)

Phenyl benzoate C–O stretching : 1213, 1197 cm^{-1}(I) 1193 cm^{-1} (II)



NO_2 asymmetrical stretching: 1629, 1623 cm^{-1}(I) 1640 cm^{-1} (II)

Stretching of p bonds of the N–O linkage: 868 cm^{-1}(I) 1373, 853 cm^{-1}(II)

KBr pellets (0.75% w/w drug), 16 scans, res=4cm^{-1}

gazza

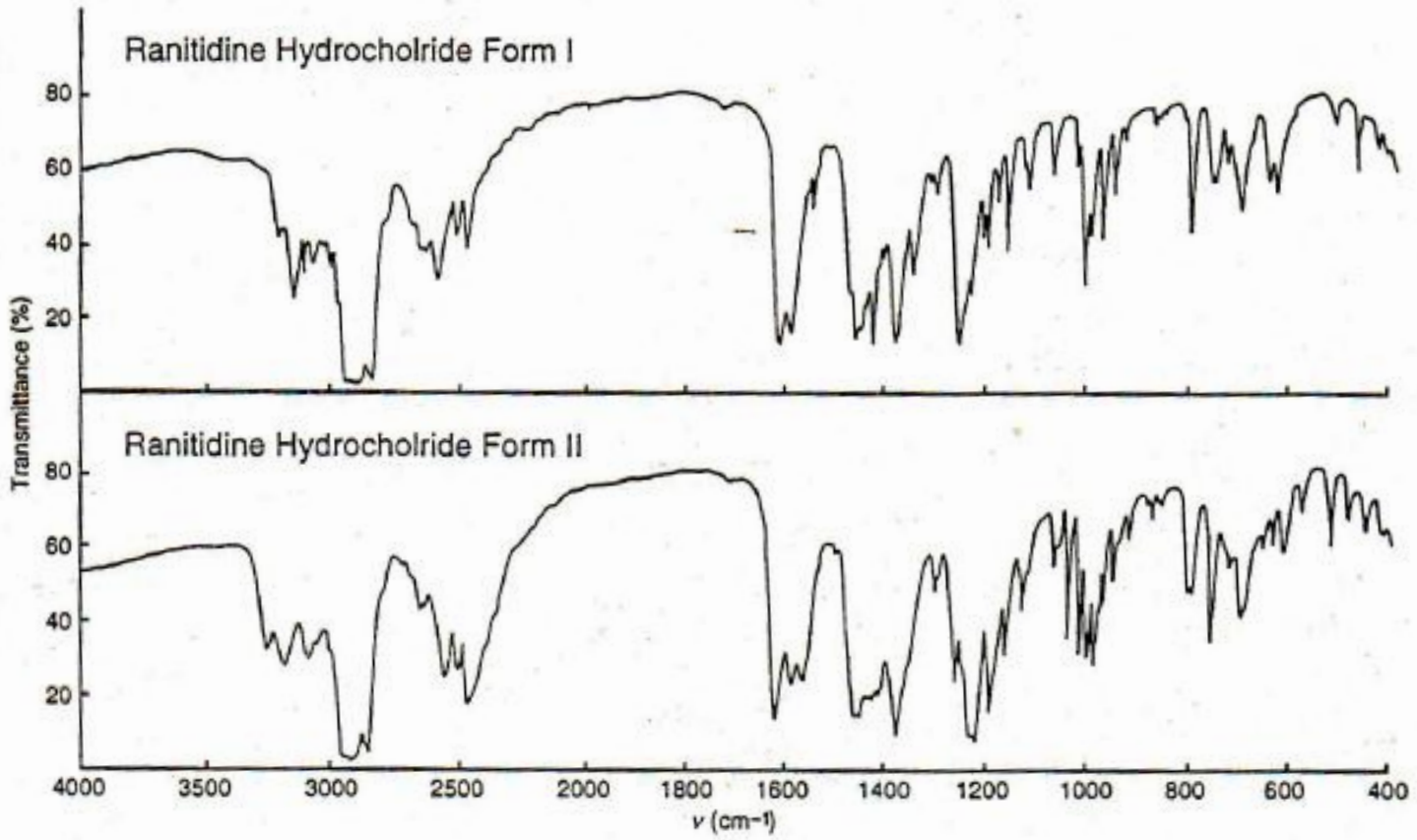
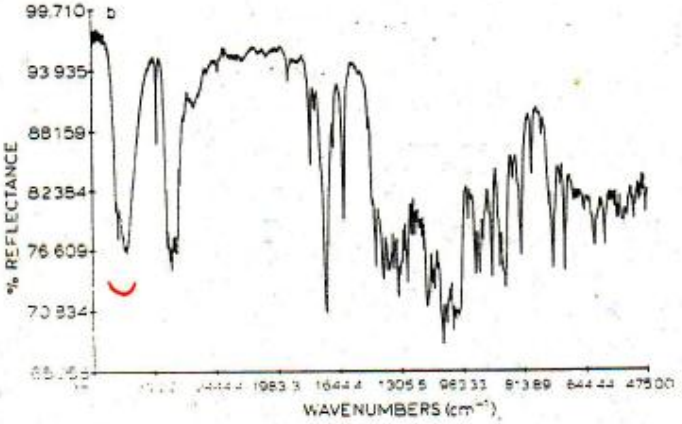


Figure 8.3 Infrared spectra (Nujol® mulls) of ranitidine hydrochloride polymorphs (Cholerton *et al.*, 1984).

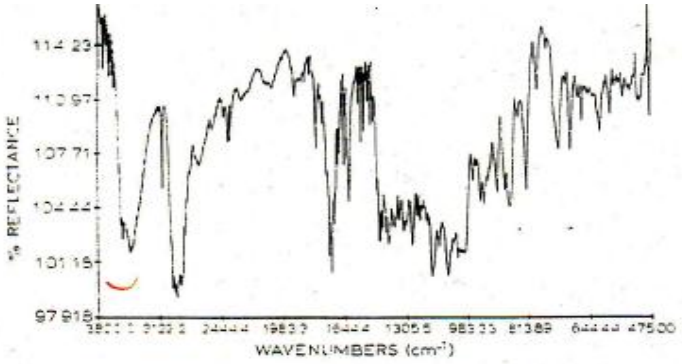
gazza

Spettri FTIR di forme diverse della digossina

Digossina anidra



Digossina.$\frac{1}{4}H_2O$



Digossina.$\frac{1}{2}H_2O$

gazza

Risonanza magnetica nucleare allo stato solido (SSNMR)

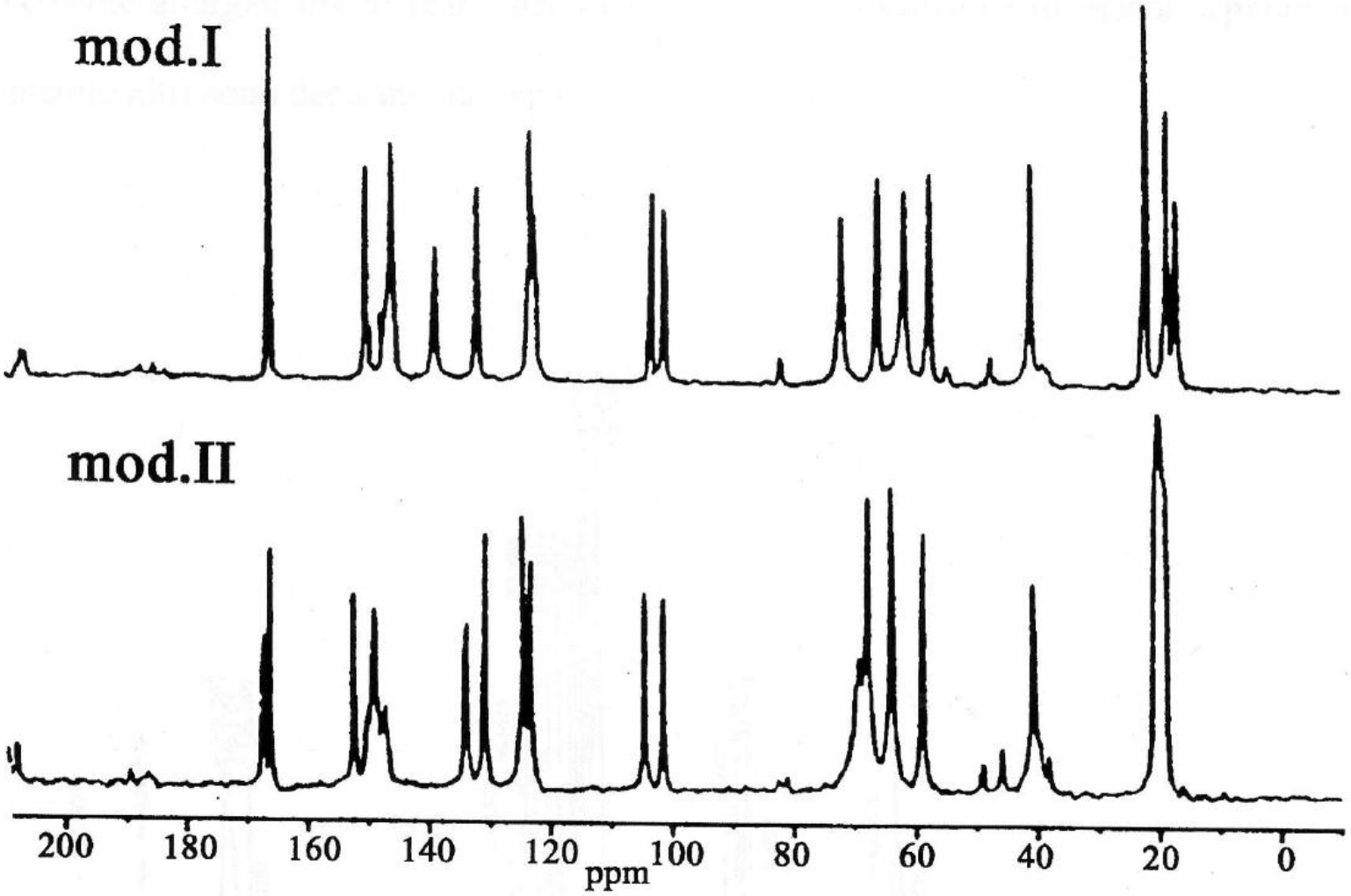


Figura 2.15 Spettro ^{13}C CP/MAS allo stato solido delle due modificazioni della nimodipina

gazza

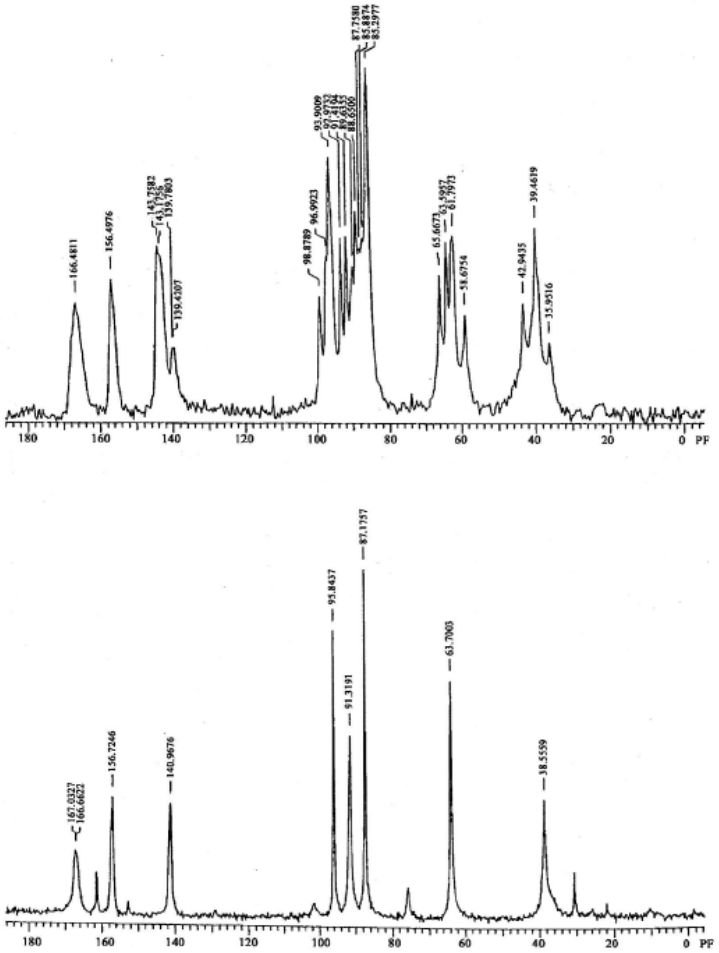


Figura 2.16 Spettro ^{13}C CP/MAS allo stato solido delle due modificazioni della lamuvidina, Sopra: Forma I, sotto: Forma II

gazza

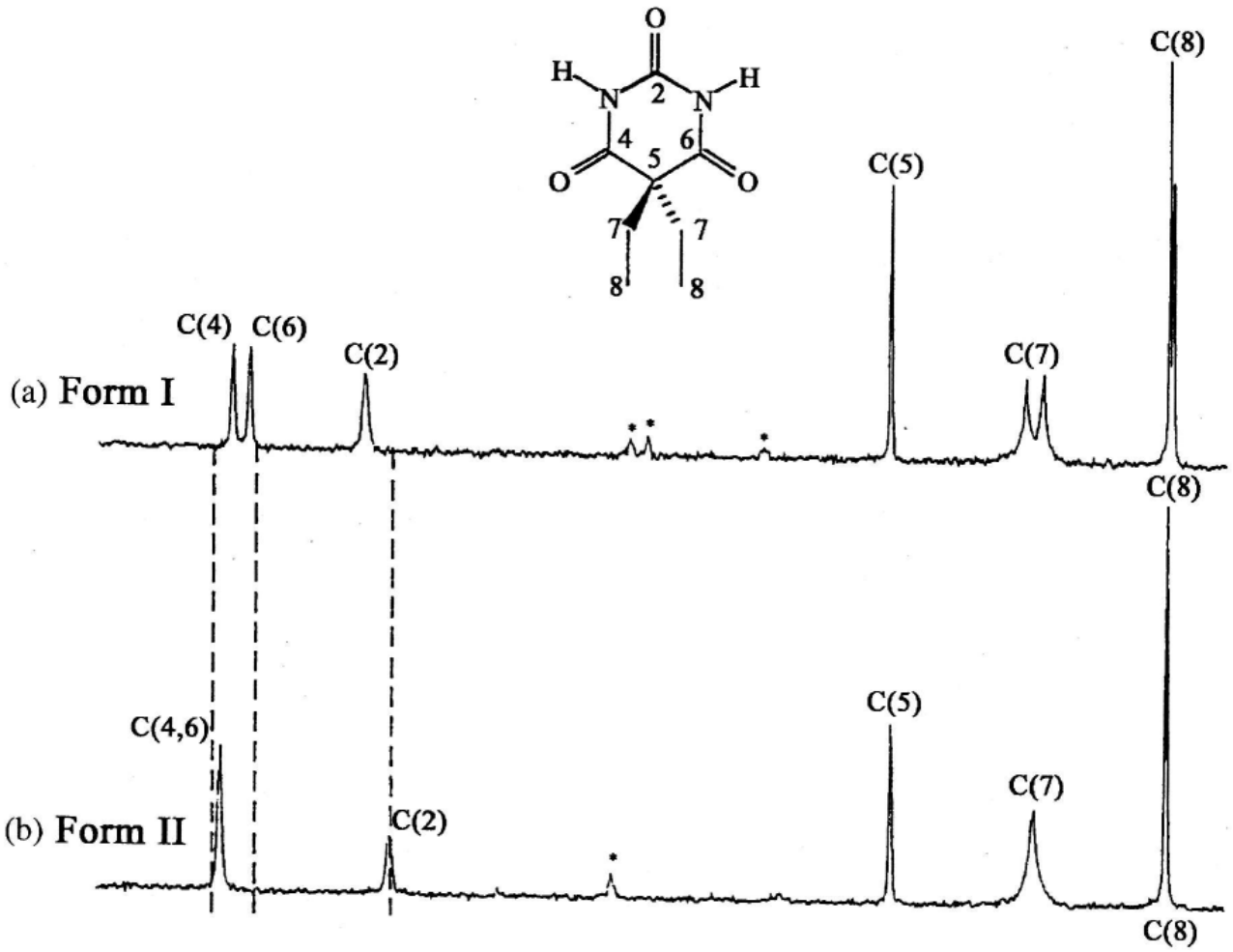


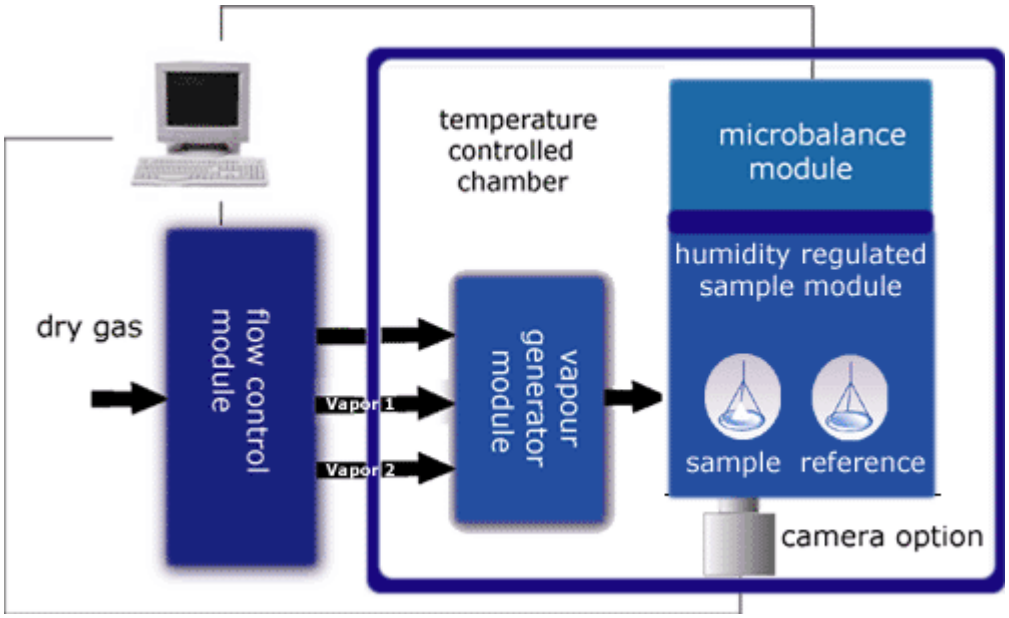
Figura 2.17 Spettro ^{13}C CP/MAS allo stato solido dei due polimorfi dell'acido 5,5'-dietilbarbiturico. La numerazione dei picchi corrisponde a quella degli atomi riportata nella formula di struttura.

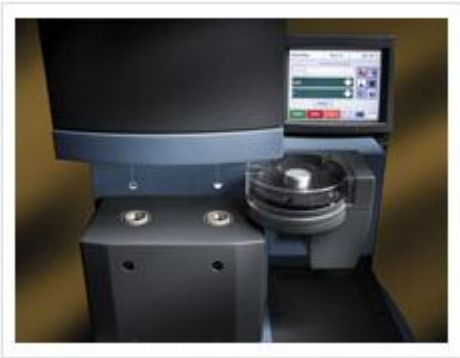
gazza

Dynamic Vapor Sorption (DVS)

Sfrutta la tendenza dei materiali amorfi a cristallizzare per esposizione a RH elevata

Il campione è sottoposto a cicli di adsorbimento-desorbimento a temperatura e umidità controllate





gazza

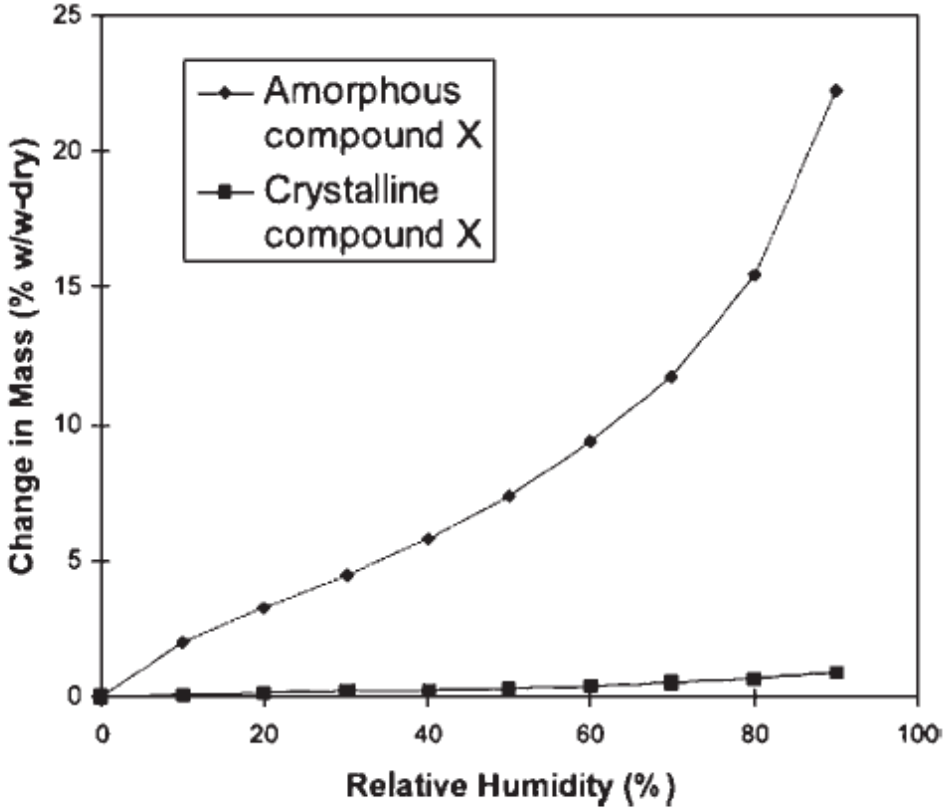


Figure 3. Moisture sorption isotherm of amorphous and crystalline forms of a developmental candidate.

La curva isoterma di adsorbimento di un materiale non può essere utilizzata come tale per la quantificazione del contenuto di fase amorfa nel campione, in quanto la quantità totale di acqua trattenuta dal materiale è data dalla massa assunata dalla porzione amorfa e dall'umidità adsorbita alla superficie delle particelle di solido

gazza

Determinazione quantitativa di lattosio amorfo in una matrice prevalentemente cristallina

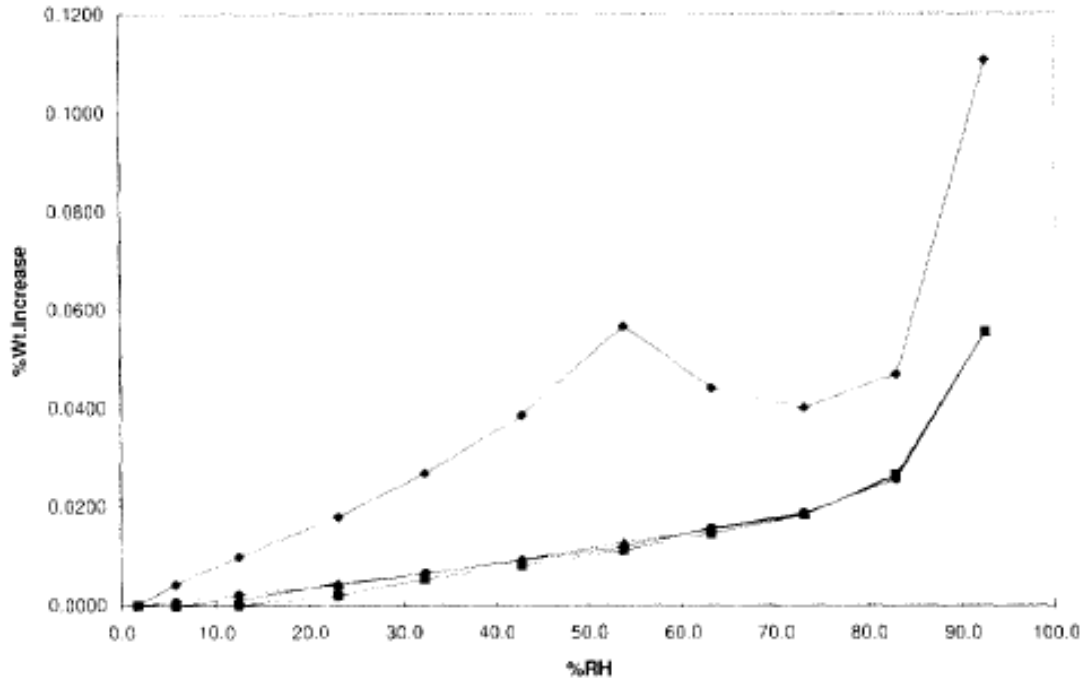


Fig. 1. Sorption isotherms for four repeat cycles on the same sample of a mixture, which initially contained 0.500% spray dried (amorphous) lactose, with the remainder being pre-conditioned crystalline α-lactose monohydrate (◆ = first cycle, then ■, ▲, ●).

gazza

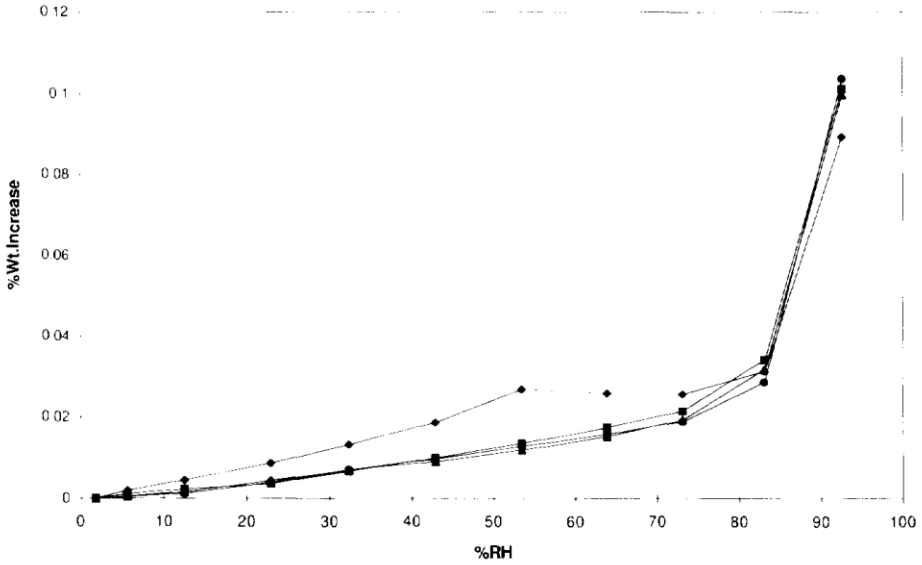


Fig. 3. Sorption isotherms for four repeat cycles on the same sample of a mixture, which initially contained 0.125% spray dried (amorphous) lactose, with the remainder being pre-conditioned crystalline α-lactose monohydrate (key as Fig. 1).

gazza

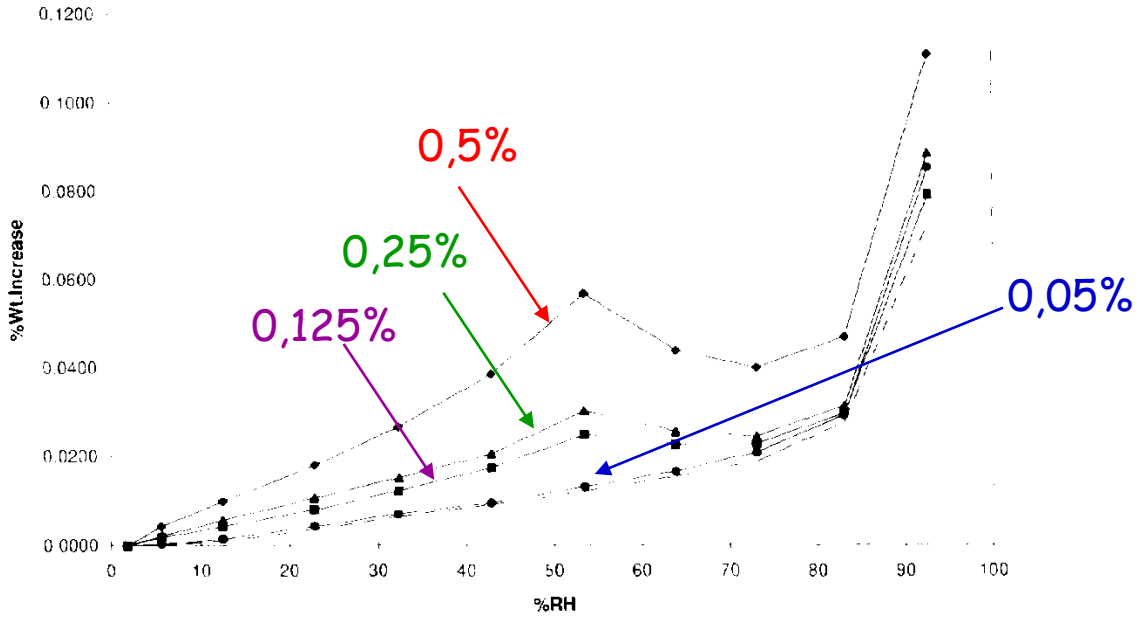


Fig. 5. Mean sorption isotherms for all repeat samples containing 0.050 (●), 0.125 (■), 0.250 (▲) and 0.5 (◆) % amorphous lactose, along with the mean of all adsorption responses (the second, third and fourth cycles for each of the samples) (dashed line without symbols).

gazza

Information obtained from different physical techniques for each type of polymorphs						
Type of polymorphs	X-ray diffr. Single crystal	X-ray diffr. Powder XPD	IR/Raman	Solid-state NMR	Thermal methods	Microscopy
polymorphs	Precise molecular conformation and packing Computed XPD	"finger print" diffraction peaks; phase purità; crystallinity	"finger print" spectra. H-bond	Unique chemical shift. phase purity, molecular mobility.	Unique mp heat capacity heats of fusion/ transition, solubility. Relative stability of forms.	Refraction birefringence dispersion color crystal habit size
Solvates	Same as true polymorphs	Same as true polymorphs	Unique solvent bands. Shifted drug band. H-bond	Unique solvent resonances. Shifted drug resonances. Solvent mobility	Low-T transitions due to desolvation (TGA loss)	Same as true polymorphs. Desolvation observable by HSM.
Isomorphic desolvates	NA	XPD similar to parent solvates	Solvent band disappear. Drug bands shifted.	Solvent resonances disappear. Drug resonances shift.	Solvent loss (TGA) crystallization or lattice relaxation.	Birefringent microcrystalline domains, with crack and fissures.
Amorphous solid	NA	No diffraction peaks	Broadened spectra	Broadened spectra.	Glass transition Crystallization Melting	No birefringence irregular particle shape
Polymorphic mixtures	NA	Overlap of patterns	Overlap of patterns	Nuclei-specific composite spectrum of all components	Thermal behavior indicative of phase diagram	Composite of distinct crystalline and amorphous particles

gazza