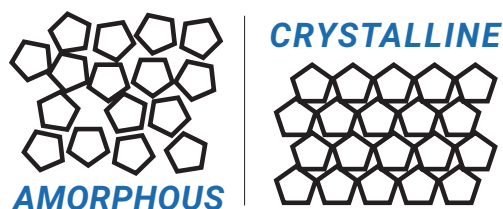


## Quantificação da cristalinidade usando espectroscopia Raman por transmissão



### Autores

Julia Griffen e  
Andrew Owen  
Agilent Technologies, Inc.

### Resumo

A cristalinidade de um ingrediente ativo farmacêutico (API) pode afetar sua biodisponibilidade e eficácia geral para o paciente. A capacidade de quantificar a fase cristalina de um medicamento final é crucial.

A espectroscopia Raman por transmissão (TRS) consegue diferenciar e quantificar as fases cristalina e amorfa de um API. As medições são rápidas, e a geometria de amostragem por transmissão garante que o sinal obtido seja representativo do todo, e não enviesado pela superfície.

## Introdução

Esta nota de aplicação analisa o teor absoluto da fase cristalina de nove misturas de pó, variando entre 0 e 9,4% p/p de fase cristalina do API em uma dispersão sólida seca por atomização contendo API amorfo. O limite de detecção (LOD) foi calculado em 0,9% p/p. Isso estabelece o sistema Raman Agilent TRS100 com uma alternativa viável em comparação aos métodos analíticos existentes, como a difração de raios-X para pós (pXRD) e a ressonância magnética nuclear de estado sólido (ssNMR).

## Parte experimental

A geometria Raman de transmissão, na qual o sinal Raman é coletado do lado oposto da iluminação por laser, resulta em um sinal Raman que é representativo do material de amostra como um todo.<sup>1</sup> As geometrias de retrodispersão coletam um sinal que é enviesado pela superfície, o que gera risco de erros de subamostragem (Figura 1).

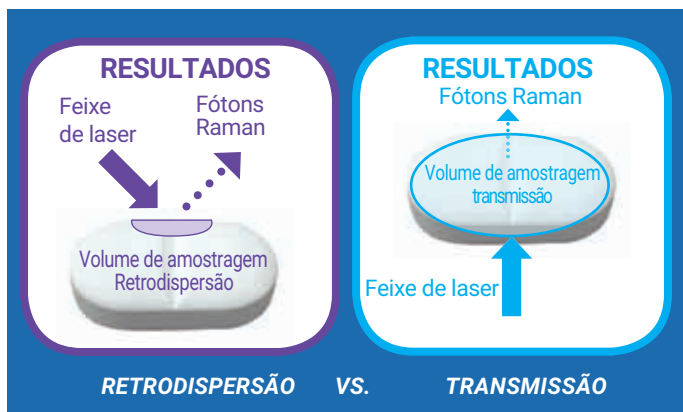


Figura 1. Representação esquemática das geometrias Raman

Tabela 1. Comparação entre TRS, pXRD e ssNMR para quantificação de cristalinidade

	TRS	pXRD	ssNMR
Análise	<ul style="list-style-type: none"> <li>Automatizada</li> <li>Sinal representativo da amostra toda (análise total)</li> <li>Requer amostras de calibração para quantificação</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Qualidade dos dados e LOD dependem da configuração de instrumentos e amostras</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>São necessários conhecimentos especializados para obter dados quantitativos de alta qualidade</li> <li>Preciso/confiável</li> <li>Não são necessárias amostras conhecidas nem calibração</li> </ul>
Preparo de amostras	<ul style="list-style-type: none"> <li>Nenhum; as amostras são analisadas intactas, por exemplo, comprimidos e cápsulas, pós em frascos ou sacos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Os comprimidos são triturados para que os raios X possam penetrar a amostra</li> <li>A trituração pode converter a fase cristalina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Os comprimidos geralmente são triturados na forma de grânulos e inseridos no rotor de ressonância magnética nuclear (NMR)</li> </ul>
Amostra	<ul style="list-style-type: none"> <li>Não destrutiva</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Destrutiva*</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Destrutiva*</li> </ul>
Aquisição de dados	<ul style="list-style-type: none"> <li>Rápida (1 a 5 minutos)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Média (cerca de 1 hora)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Longa (cerca de 6 a 24 horas)</li> </ul>
Sensibilidade (LOD)	<ul style="list-style-type: none"> <li>0,2–1%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>2–5%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>0,3–1%</li> </ul>
Custo por teste	<ul style="list-style-type: none"> <li>Baixo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Médio</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Alto</li> </ul>

\*Os comprimidos precisam ser triturados e os invólucros de cápsula, removidos.

Amostras farmacêuticas (pós e comprimidos) podem ter uma distribuição de fases cristalinas naturalmente não homogênea. Nesse caso, a análise de amostra total das geometrias de transmissão é vantajosa.

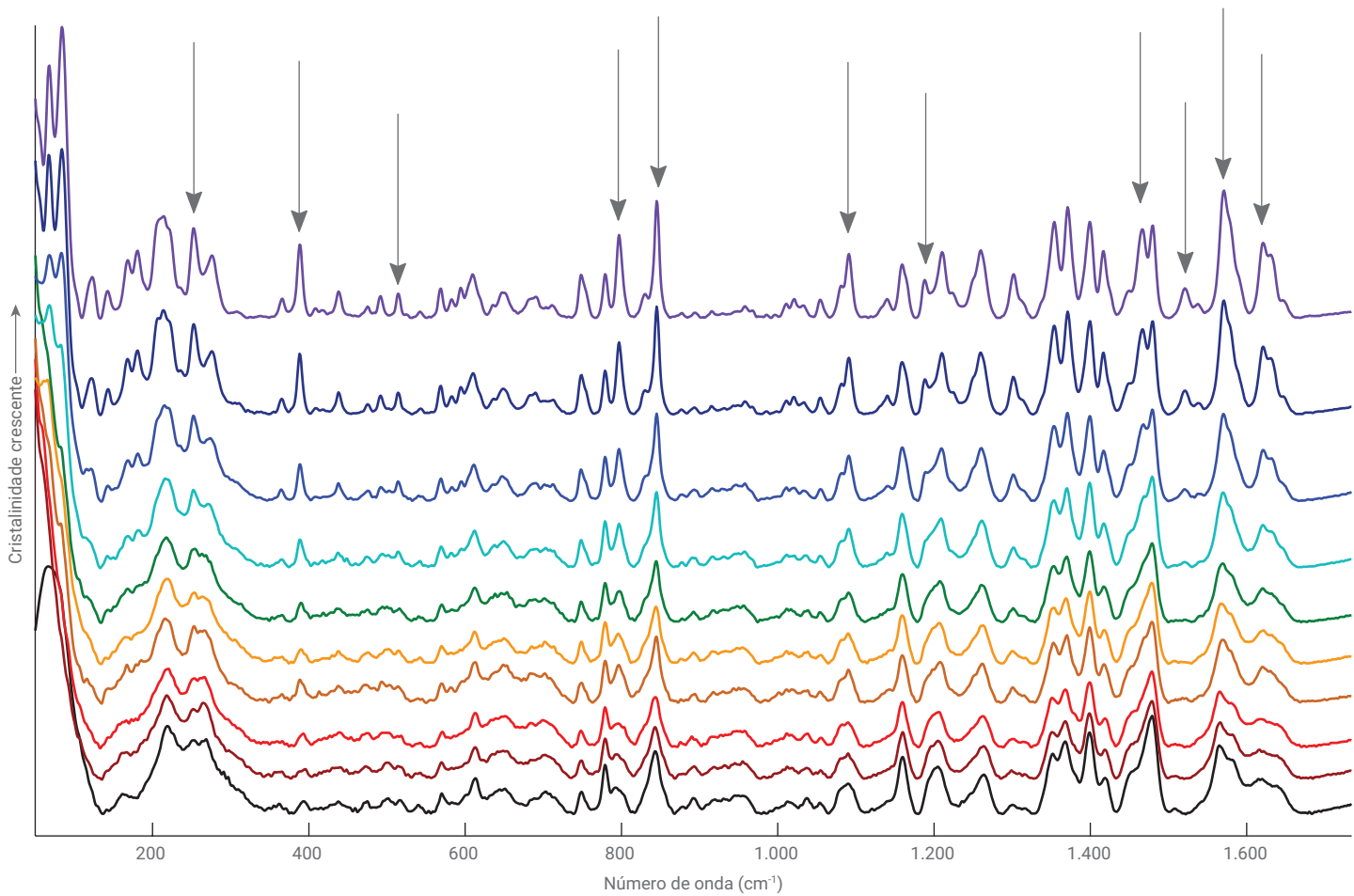
Junto com a geometria de transmissão, a natureza não destrutiva da análise também pode facilitar estudos de estabilidade no longo prazo das mesmas amostras, o que é especialmente útil para materiais amorfos.

Entre as técnicas de análise química total (bulk analysis), a TRS se compara positivamente com outras técnicas de análise de estado sólido, como a difração de raios-X para pós (pXRD) e a ssNMR. Porém, a amostragem da pXRD é limitada pela profundidade de penetração dos raios X, a baixa velocidade de medição e o baixo LOD. A ssNMR requer equipamentos caros, considerável preparo de amostras, tempos de medição muito longos e análise por especialistas. Ambas as técnicas são destrutivas, por exemplo, com trituração da amostra.

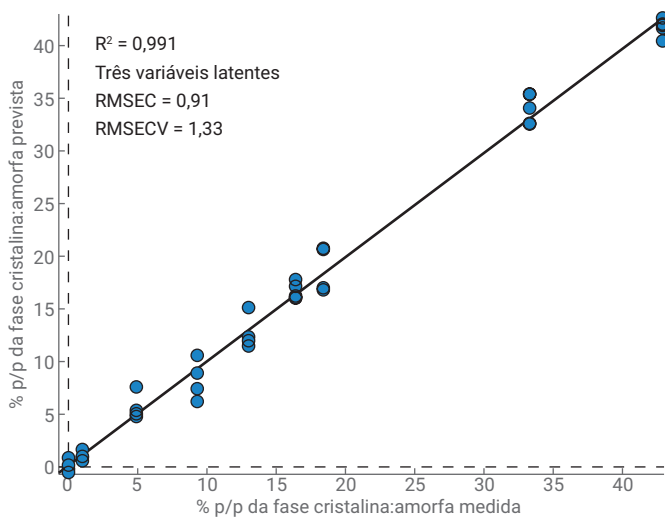
## Resultados e discussão

Esta nota de aplicação analisa quantitativamente os espectros usando um modelo quimiométrico gerado por mínimos quadrados parciais (ver as Figuras 2 e 3). A forte correlação ( $R^2 = 0,99$ ) demonstra que é possível interpolar e modelar o teor de fase cristalina dessas amostras em pó. A partir desse gráfico, o LOD foi estimado em 0,9% p/p.

A Tabela 1 resume as características das técnicas de estado sólido usadas para análise e quantificação da fase cristalina versus amorfa. Comparada a técnicas tradicionais como a pXRD e a ssNMR, a TRS é vantajosa em termos de versatilidade, alta velocidade, baixo LOD, potencial para funcionar próxima à linha de produção e medições não destrutivas.<sup>2</sup>



**Figura 2.** Espectros de TRS coletados por um sistema Raman Agilent TRS100. Nove misturas em pó com cristalinidade variável (entre 0 e 9,4% de cristalinidade absoluta p/p). A visualização dos espectros revela regiões bem-definidas (indicadas), que correspondem a mudanças de cristalinidade.



**Figura 3.** Gráfico da % p/p da razão entre a fase cristalina e a amorfa prevista versus medida

## Conclusões

- A TRS é um método eficaz para a quantificação de amostra total de API com baixa cristalinidade em amostras farmacêuticas.
- A TRS é rápida, precisa e tem baixo custo por teste. Assim, o sistema Raman Agilent TRS100 é uma alternativa viável às técnicas existentes de análise de estado sólido, pXRD e ssNMR.

## Referências

1. P. Matousek; N. Everall; D. Littlejohn; A. Nordon; M Bloomfield. Dependence of signal on depth in transmission Raman spectroscopy. *Applied Spectroscopy* **2011**, 65, 724-733.
2. A. Kumar; L. Joseph; J. Griffen; *et al.* Fast Non-Destructive Detection of Low Level Crystalline Forms in Amorphous Spray Dried Dispersion Using Transmission Raman Spectroscopy and Comparison to Solid-State NMR Spectroscopy. *American Pharmaceutical Review* **2016**.

[www.agilent.com/chem/raman](http://www.agilent.com/chem/raman)

Estas informações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

© Agilent Technologies, Inc. 2018  
Impresso nos EUA em 1 de fevereiro de 2018  
5991-8860PTBR