

Polimorfismo cristalino: aplicaciones en fármacos y técnicas de caracterización

Florencia Di Salvo y Sebastián Suárez

Departamento de Química Inorgánica Analítica y Química Física/ Instituto de Química Física de los Materiales, Medio Ambiente y Energía-CONICET (DQIAQF/INQUIMAE-CONCIET), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. flor@qi.fcen.uba.ar, seba@qi.fcen.uba.ar

Resumen

La cristalografía, el crecimiento cristalino y las técnicas de caracterización de materiales cristalinos son herramientas importantes para los profesionales que se desempeñan tanto en el ámbito académico como así también, en el sector productivo. Solo por citar algunas aplicaciones, las mismas se utiliza en la industria farmacéutica, cosmética, de cementos y cerámicos, petrolera, de pinturas y pigmentos, de polímeros y plásticos, y de alimentos, entre otras. Por otro lado, el polimorfismo es la capacidad que presentan algunos compuestos de cristalizar en formas cristalinas diferentes (también llamados polimorfos), y es probablemente uno de los fenómenos más fascinantes de la química del estado sólido. En el presente trabajo se introducirán las características y propiedades de los sólidos cristalinos, discutiendo la clasificación y particulares de las diferentes formas cristalinas que se conocen. Para ilustrar los conceptos fundamentales se describirá brevemente la historia del ritonavir, como uno de los ejemplos referentes de la relevancia del estudio de las formas cristalinas en el contexto de la producción, manufactura y comercialización de fármacos. Además, se presentarán las diferentes técnicas de caracterización de estado sólido. Se incluirán las aplicaciones más relevantes de las técnicas instrumentales de interés para el desarrollo de ingredientes farmacéuticos activos (IFAs) y comercialización de medicamentos.

Diversidad de los sólidos cristalinos

Cerca del 90% de los IFAs son (pequeñas) moléculas orgánicas con un peso molecular menor a $600 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Además, la mayoría de los IFAs se encuentran en estado sólido en condiciones ambiente, por lo que es importante estudiar las propiedades fisicoquímicas de dicha fase (1). Existen dos tipos principales de categorías de sólidos: cristalinos y amorfos. Los sólidos cristalinos, son aquellos en los que los átomos, iones o moléculas se disponen en forma ordenada describiendo un patrón de repetición periódica en las tres direcciones, lo que se identifica también como la celda unidad (mínima porción del espacio que permite describir al material) (Figura 1). Son materiales generalmente muy estables, y presentan una solubilidad y velocidad de disolución bien establecidas. La mayoría de los medicamentos se comercializan en forma cristalina. Por otro lado, en los materiales amorfos no existe una distribución regular dentro

del sistema; su organización interna es aleatoria y con alto grado de desorden. Los sólidos amorfos generalmente se disuelven a velocidades mayores que los correspondientes cristalinos. La forma amorfa suele ser usualmente menos estable que la cristalina y suele ser higroscópica (o sea, presenta una mayor tendencia a absorber agua de la atmósfera en condiciones de humedad) (2).

Los sólidos cristalinos, junto con otras formas de materia condensada (cerámicas, polímeros, cristales líquidos, etc.), son la base de la tecnología moderna. De esta forma, la investigación básica y la producción de nuevos materiales en estado sólido "diseñados a medida", con las propiedades físicas y químicas deseadas, no sólo requieren de la síntesis, sino también de los procesos de obtención de cristales. Por ello, la capacidad de generar cristales de alta calidad se ha convertido en un área en sí misma de la cristalografía. La cristalización (particularmente la cristalización a partir de una solución) es el proceso por el cual se pueden obtener sólidos cristalinos y se emplea, además, invariablemente como metodología de separación y procedimiento de purificación. Además de la pureza (química y estructural), las propiedades físicas de un material dependerán fuertemente de este proceso. Incluso pequeños cambios en las condiciones de cristalización pueden alterar significativamente las propiedades del material resultante, como, por ejemplo, el tamaño de partícula, la forma cristalina (ver más adelante), las características superficiales, la pureza y consecuentemente, las propiedades termodinámicas y mecánicas (3). Una "regla simple" establece que los procesos de cristalización realizados en condiciones cercanas al equilibrio suelen producir las formas cristalinas relativamente más estables. Por otro lado, suelen formarse fases inestables si se realiza la cristalización en situaciones extremas, como ser el enfriamiento rápido de soluciones. En estos casos, no sería la termodinámica la que determina la forma cristalina del material, sino la cinética. Sin embargo, las explicaciones teóricas más complejas involucran una combinación de factores termodinámicos y cinéticos, así como también estructurales. Como ya se introdujo, las propiedades físicas y químicas de los compuestos en estado sólido están relacionadas al tipo de fase o forma cristalina en la que se encuentre. Entre las formas cristalinas a las que se hace referencia, se destacan los polimorfos, los co-cristales, las sales y los solvatos o hidratos (Figuras 2).

presentamos
nueva
identidad



akrimet

División de Metrología

La importancia de la calibración en los procesos de medición

- › Calibraciones de temperatura desde $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $350\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- › Calibración de humedad entre 11 %HR y 85 %HR.
- › Ensayos de perfiles térmicos y de humedad.
- › Servicios de capacitación en temas metrológicos y de calibraciones.
- › Servicios de revisión de planes maestros de calibración.
- › Venta de equipamiento para calibración.
- › Certificados de calibración en conformidad con la Norma ISO/IEC17025:2005.

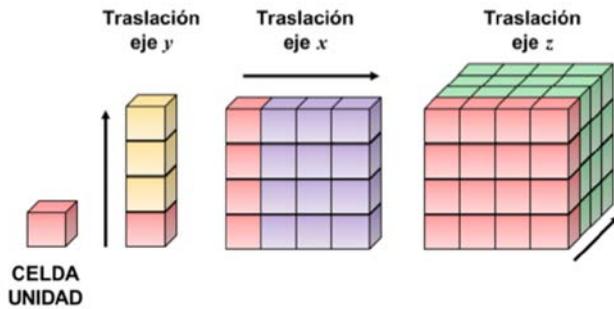


www.akrimet.com

Tel: 54.11. 4633.9550 /Rotativas
info@akrimet.com | www.akrimet.com
Bacacay 2180, Piso 1° Oficina B | C1406GDL
Buenos Aires . Argentina



Figura 1: Sólidos cristalinos: se disponen en forma ordenada describiendo un patrón de repetición periódica en las tres direcciones (celda unidad, en rojo).



Un solvato es un compuesto cristalino en el que moléculas del solvente cristalizan en la misma red cristalina que las moléculas del soluto. Cuando el solvente que cristaliza es agua estamos en presencia de un hidrato, siendo el más frecuente en moléculas pequeñas. Por otro lado, es posible la formación de una sal si el IFA contiene grupos ácidos o básicos capaces de dar lugar a su forma iónica. El sistema resultante (sal) estará compuesto por la forma iónica del IFA y su contraión correspondiente. Se elige una sal en lugar del IFA libre (compuesto neutro, sin ionizar), si este presenta desventajas como incapacidad de cristalizar, alta higroscopicidad o baja estabilidad y/o

solubilidad. La elección de los potenciales contraiones se establece en base a diferencia de constantes de acidez/basicidad, toxicidad, etc. Finalmente, si el IFA cristaliza juntamente con otra/s molécula/s, las cuales se encuentran en la misma red cristalina y en estado eléctricamente neutro, entonces a esa forma cristalina se la conoce como co-cristal. Se utilizan generalmente a los co-cristales cuando se está en presencia de ácidos y bases débiles. En el diseño de co-cristales es fundamental el concepto de *synthon* supramolecular (o *sintón* para su traducción), descrito por Desiraju en la década del 90 (4). El mismo se define como un arreglo espacial de interacciones intermoleculares que ocurren frecuentemente en estructuras cristalinas, siendo el mismo puramente probabilístico. Teniendo en cuenta entonces, que determinados *sintones* supramoleculares presentan alta estabilidad es posible seleccionar pares de moléculas que presenten los grupos funcionales adecuados para desarrollar dichos arreglos en el estado sólido cristalino.

Polimorfismo

El polimorfismo es un fenómeno por el cual un compuesto químico da lugar a más de una forma cristalina, que mantienen la misma fórmula molecular pero que se apilan/empaquetan en la red cristalina en una disposición tridimensional diferente en el espacio dando lugar a **estructuras cristalinas diferentes** (Figura 2, izquierda). A cada una de estas formas cristalinas se las llama **polimorfos**,

Figura 2: Diversidad de los sólidos cristalinos. Los sistemas que se encuentran dentro del recuadro con línea punteada celeste, algunos autores los denominan "pseudo-polimorfos", aunque como se observa en la clasificación, cada uno de ellos presenta una denominación racional en función a su composición.

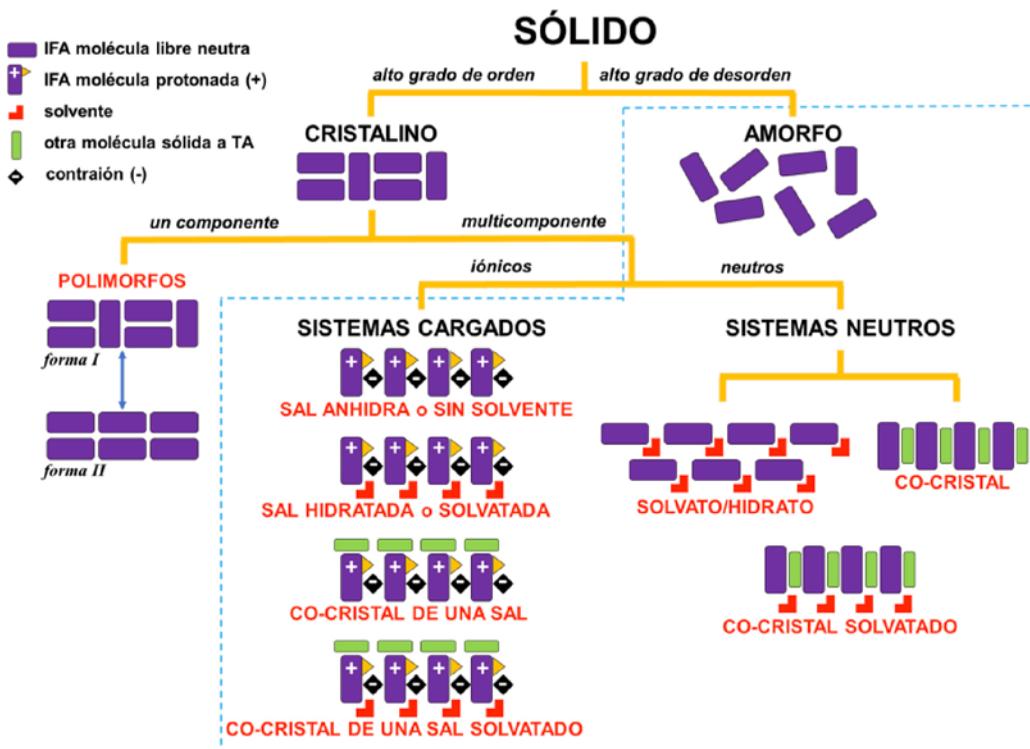


Figura 3: Proceso de manufactura, distribución y caracterización de un fármaco



su identificación y estudio son de vital importancia dado que las propiedades físicas de cada una de ellas pueden ser diferentes. La clasificación polimorfos y "pseudo polimorfos" continúa siendo un tema de gran debate. Nosotros hemos decidido seguir las definiciones y propuestas establecidas por Joel Bernstein (2) quien ha sido un gran referente en el tema (Figura 2).

La industria farmacéutica y las diferentes áreas de investigación vinculadas poseen un importante interés en el polimorfismo y en el desarrollo de otras fases cristalinas como los solvatos, hidratos, sales y co-cristales, debido a la diversidad que estos representan en relación con las propiedades y aplicaciones, y a las ventajas vinculadas a la propiedad intelectual. El 59% de los principios farmacéuticos activos listados en la *European Pharmacopoeia* (EP) presentan más de una forma cristalina; dentro de este porcentaje un 12% son solvatos y un 30% son hidratos (3). Dichas estadísticas dan una idea de la importancia del fenómeno del polimorfismo y el estudio de las formas cristalinas en general, en la industria farmacéutica. Por ejemplo, dos polimorfos de un mismo IFA pueden tener distinta solubilidad, fluidez, compresibilidad e higroscopicidad, y hasta puede llegarse a la situación en la cual uno de ellos presente toxicidad o algún otro efecto indeseado al administrarse (2). Es por ello, que el proceso de manufactura y distribución del fármaco debe desarrollarse en condiciones que permitan garantizar la pureza cristalina del producto y, por ende, la ausencia del/los polimorfo/s indeseado/s y cualquier otra forma cristalina distinta a la de interés. Para poder establecer ese control, es necesario conocer los tipos de formas cristalinas presentes y los posibles procesos de transformación entre ellas, y comprender la relación entre las propiedades observadas y

las características estructurales. Asimismo, en el proceso de desarrollo de fármacos, conocer las propiedades en estado sólido en una etapa temprana del mismo ayuda a evitar problemas de manufactura, permite modificar y comprender el rendimiento de las drogas, brinda información de cómo almacenarlas y otorga la posibilidad de innovación (Figura 3).

Polimorfismo y propiedades fisicoquímicas

En junio de 1998 en la Conferencia Internacional de SIDA de Ginebra, ritonavir, el IFA de las cápsulas de Norvir (Abbott), se identificó como el componente clave de varias terapias combinadas utilizadas en ese momento para el tratamiento exitoso de las infecciones por VIH. Este hallazgo mejoró la efectividad terapéutica de muchos de estos tratamientos, resultando en un importante aumento de la recomendación y comercialización de Norvir en todo el mundo. Para ese momento, Norvir era fabricado con éxito, sin embargo, unos meses después de la conferencia, un cambio repentino en las propiedades fisicoquímicas del ritonavir obligó a la empresa a detener su producción y eventualmente, condujo a una interrupción del suministro de Norvir a los millones de pacientes con VIH que estaban utilizando la droga para sus tratamientos. La forma cristalina de ritonavir había cambiado inesperadamente. Este "cambio" resultó en una marcada alteración de la solubilidad del IFA, que a su vez generó una modificación de su biodisponibilidad en menos de un 5%, afectando marcadamente el efecto terapéutico de la droga. El producto Norvir fue retirado del mercado. Se realizó un intenso esfuerzo de investigación para comprender y resolver el problema y una vez superada esa

etapa, introdujeron al mercado una nueva formulación del Norvir (5). Este cambio al que se hace referencia se debió a la obtención de otro polimorfo de la forma sólida del IFA (*forma II*). A partir de ese caso, la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) resolvió establecer nuevas regulaciones con relación al estudio de las propiedades fisicoquímicas de los IFAs y su vínculo con las formas cristalinas.

Caracterización de Sólidos Cristalinos

Para poder llevar a cabo todas las actividades mencionadas, se tiene que caracterizar físicamente cada una de las formas cristalinas asociadas a un IFA y/o al proceso de obtención de cada una de ellas, con el mayor número posible de técnicas experimentales de estado sólido. A continuación, describiremos brevemente algunas de las técnicas más utilizadas (6) (Figura 4).

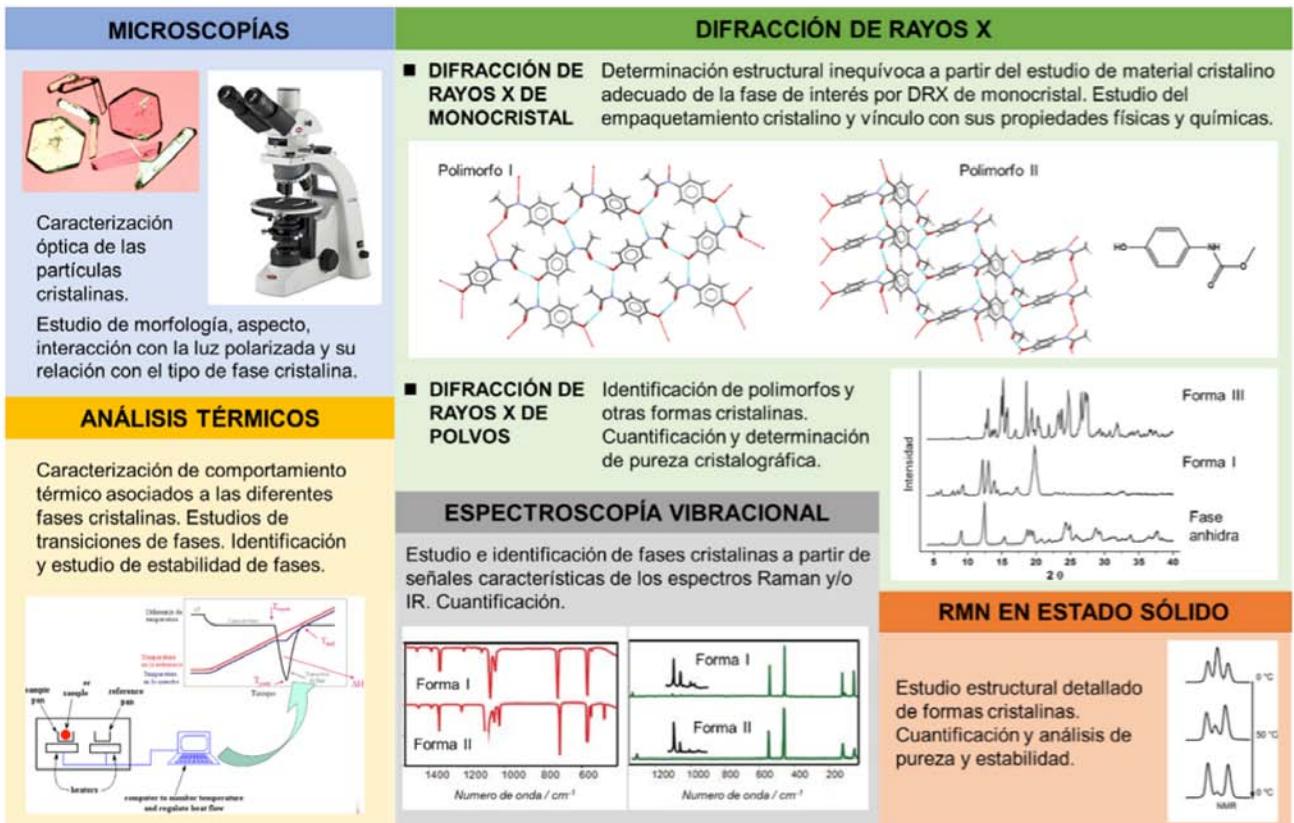
La microscopía óptica con polarización (PLM = *Polarized Light Microscopy*) posibilita la identificación del hábito cristalino y el tamaño del cristal. Típicamente, el hábito cristalino está determinado por la estructura interna y se clasifican de acuerdo con la relación que se observa entre las caras del cristal. En este sentido, la detección de diferentes tipos de cristales para muestras cristalinas de un mismo compuesto puede ser un indicio de polimorfismo. EL uso además de una platina con rampa de temperatura adosa (HSM = *Hot Stage Microscopy*) permite realizar estudios

de las partículas cristalinas en función de la temperatura y el tiempo. Además, un análisis asociado al estudio de morfología y características de los sólidos cristalinos es el ensayo de cristalinidad (7). Existen otras técnicas de microscopía también de utilidad pero que requieren equipamiento más sofisticado, que son la microscopía de fuerza atómica (AFM), microscopía electrónica de transmisión (TEM) y microscopía de barrido de efecto túnel (STM).

Las diferentes formas cristalinas presentan diferentes comportamientos con relación a la absorción/ liberación de calor durante su proceso de calentamiento/enfriamiento. El análisis térmico se utiliza para estudiar la relación entre las propiedades fisicoquímicas y la temperatura. Las curvas de análisis térmico producidas se pueden aplicar para evaluar las similitudes y diferencias entre formas cristalinas de los diferentes IFAs. Es posible por ejemplo estudiar fenómenos como, fusión, transiciones de fase, reacciones químicas, deshidratación o pérdida de solvente, entre los más relevantes para los IFAs. Existen tres métodos principales de análisis térmico: (DSC= *Differential Scanning Calorimetry*), análisis termogravimétrico (TGA = *Thermo-Gravimetric Analysis*), análisis térmico diferencial (DTA= *Differential Thermal Analysis*).

La difracción de rayos X es la técnica más clásica y confiable para estudiar formas cristalinas. Se puede utilizar para distinguir material cristalino de amorfo, para identificar diferentes formas o fases cristalinas (polimor-

Figura 4: Técnicas de caracterización de sistemas sólidos cristalinos y otros sistemas ordenados



fos, solvatos, co-cristales, etc), para analizar mezclas de compuestos, para determinar la estructura cristalina y para determinar los parámetros de la red cristalina. La cristalografía de moléculas pequeñas hace uso de la difracción de rayos X de monocristal (SCXRD = *Single Crystal X-Ray Diffraction*) para determinar de forma inequívoca la estructura tridimensional de las moléculas de bajo peso molecular. Por otro lado, la difracción de rayos X de polvos (PXRD = *Powder X-Ray Diffraction*), es aquella que se aplica usualmente a material policristalino. Ambas técnicas proporcionan mediciones exactas y precisas de los parámetros estructurales de una manera que ningún otro método puede hacerlo.

Para diferentes formas cristalinas, las longitudes de enlace y los ángulos de unión son diferentes y, por lo tanto, los niveles de energía vibracional y rotacional también lo serán. Por lo tanto, diferentes formas cristalinas presentarán diferentes espectros vibracionales. La espectroscopia Raman es una técnica usada para estudiar modos de baja frecuencia como son los rotovibratorios. La luz láser incidente interactúa con fonones u otras excitaciones en el material a estudiar, provocando un cambio en la energía de sus fotones. El desplazamiento en energía da información sobre los modos vibracionales en el sistema. La espectroscopia infrarroja (IR) proporciona una información similar, pero complementaria.

Finalmente, la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de estado sólido (SSNMR = *Solid State Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*) es una técnica poderosa para analizar la estructura y la dinámica de muchos compuestos y materiales inorgánicos, orgánicos y organometálicos sólidos, incluidos los cristales. Existen ligeras diferencias en el entorno químico de los átomos en diferentes estructuras cristalinas, lo que resulta en diferentes desplazamientos químicos, los cuales se pueden registrar mediante espectros de RMN ^{13}C en estado sólido. Los espectros se pueden aplicar para analizar la dinámica y los entornos químicos de los átomos en los cristales. Por lo tanto, la espectroscopia de ^{13}C RMN en estado sólido se puede aplicar para el análisis de la forma cristalina de cristales mixtos y la determinación de formas cristalinas.

Conclusiones

Aunque las propiedades químicas y fisiológicas de un compuesto farmacéutico determinan el potencial del compuesto como un producto farmacéutico comercialmente viable, las propiedades de estado sólido del mismo son extremadamente importantes para determinar si puede fabricarse de forma reproducible. En este contexto, son claves los estudios para determinar la potencialidad de un compuesto para formar múltiples polimorfos, en qué condiciones se obtiene el polimorfismo, así como también las propiedades físicas y la estabilidad de cada uno. Más aún, la gran mayoría de los problemas de manufactura encontrados a escala comercial están relacionados con las propiedades físicas de los IFAs y/o excipientes. Cualquier cambio en el proceso de fabricación de un IFA, o del producto final, debe contemplar la posibilidad de cambios polimórficos. Debe conocerse si existe la posibilidad de que la molécula IFA forme múltiples polimorfos y la facilidad de la interconversión entre dichas formas polimórficas. En resumen, el conocimiento y la comprensión del polimorfismo son importantes durante todo el ciclo de vida del producto, ya que puede afectar su desarrollo, solubilidad, biodisponibilidad, la fabricación, la calidad y la estabilidad del mismo. ■

Referencias

1. Polymorphism in Pharmaceutical Solids, Brittain, H. G., Ed.; M. Dekker: New York, 1999.
2. Bernstein, J. Polymorphism in Molecular Crystals; IUCr Monographs on Crystallography; Oxford University Press: Oxford, U.K., Vol. 14, 2002.
3. Griesser, U.J., The importance of solvates. In: Hilfiker R, editor. Polymorphism in the pharmaceutical industry. Weinheim, Germany: Wiley-VCHVerlag GmbH & Co. KGaA. 211–257, 2006
4. Sarma, J., y Desiraju, G. R. in Crystal Engineering: The Design and Applications of Functional Solids, ed. K. R. Seddon and M. J. Zaworotko, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1999.
5. Bauer, J., Spanton, S., Henry R., Quick, J., Dziki, W., Porter, W. y Morris, J., Ritonavir crystal forms, an extraordinary example of conformational polymorphism, *Pharmaceutical Research*. 18, 859–866, 2001.
6. Qiao, Y., Qiao, R., He, Y., Shi, C., Liu, Y., Hao, H., Su, J. y Zhong, J. Instrumental analytical techniques for the characterization of crystals in pharmaceuticals and foods. *Cryst. Growth Des.*, 17, 6138–6148, 2017.
7. Libro Farmacopea Argentina 7ª Ed, 2014.



Dra. Florencia Di Salvo. Se graduó de licenciada en química en la FCEN-UBA en 2003 y obtuvo su título de doctora en 2007 en la misma casa de estudios. Realizó una estancia postdoctoral en el instituto de Ciencias de Materiales de Barcelona, España entre 2009 y 2012. Actualmente se desempeña como profesora e investigadora en el DQIAQF/INQUIMAE-CONCIET, FCEN-UBA.



Dr. Sebastián Suárez. Se graduó de licenciado en química en la FCEN-UBA en 2011 y obtuvo su título de doctor en 2015 en la misma casa de estudios. Realizó una estancia postdoctoral en la Comisión Nacional de Energía Atómica, en el Departamento de Física de la Materia Condensada. Actualmente se desempeña como docente e investigador en el DQIAQF/INQUIMAE-CONCIET, FCEN-UBA

Ambos son co-responsables de los laboratorios de Difracción de rayos X de monocristal y de Difracción de Rayos X de polvo y desarrolla proyectos de investigación vinculados a la ingeniería cristalina de diferentes sistemas, crecimiento cristalino y cristalografía. Poseen numerosas publicaciones científicas en revistas internacionales y presentaciones a congresos del área. Ambos están a cargo de la coordinación y dictado de cursos de Cristalografía en la FCEN y además, son docentes y coordinadores del Programa de Actualización de la FCEN-UBA: "Caracterización Estructural y Análisis de Propiedades de Sólidos Cristalinos", orientado al sector productivo.

Página Web del Grupo de Investigación "Química Estructural e Ingeniería Cristalina": <http://qcris.ti.fcen.uba.ar>
Página Web Servicios vinculados a la caracterización de sólidos cristalinos: <http://drx.qi.fcen.uba.ar/>