

**Uniwersytet Śląski – Instytut Chemii – Zakład Krystalografii**  
**Laboratorium specjalizacyjne**

*Opracowanie: dr hab. Izabela Jendrzewska*

*Specjalność: chemia sądowa*

Zastosowanie dyfrakcji rentgenowskiej do badania  
preparatów medycznych mogących być przedmiotem fałszerstw.

Bazy danych dyfrakcyjnych.

10 godz.

**Cel ćwiczenia:** Zapoznanie się z problematyką związaną z identyfikacją substancji jednofazowej lub będącej mieszaniną faz w celu potwierdzenia jej autentyczności. Przeprowadzenie analizy jakościowej dla wybranych leków zawierających kwas acetylosalicylowy i kwas askorbinowy

**Aparatura:** komputer PC, program Origin, dostęp do bazy danych dyfrakcyjnych ICDD-PDF2, dyfraktogramy wybranych leków.

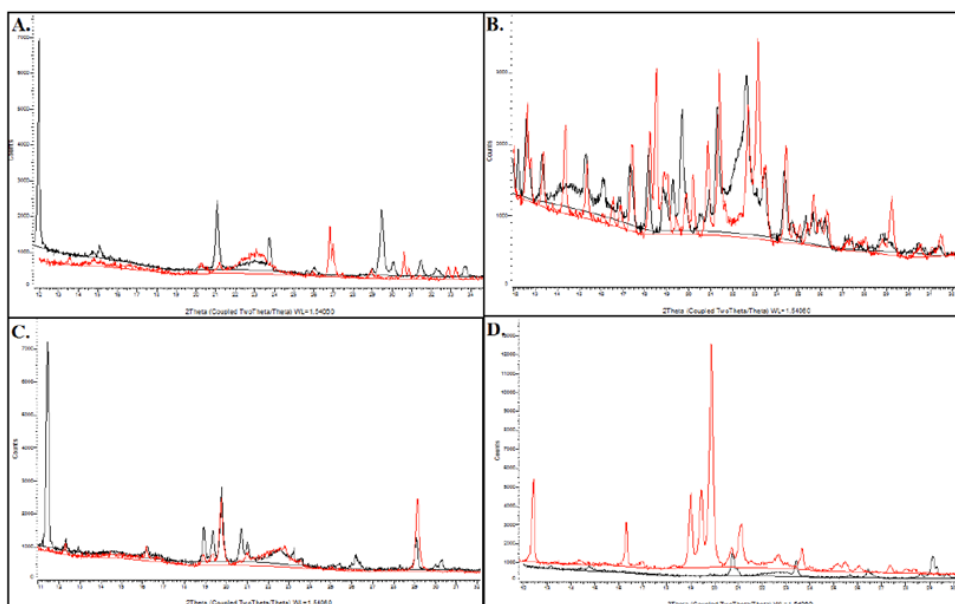
**Wprowadzenie.**

Każdy lek zanim trafi na rynek musi przejść rygorystyczne badania i podlega prawnym regulacjom. Zakup oryginalnego leku gwarantują nam apteki, w których zatrudniani są farmaceuci. Znaczący wzrost dostępności leków, zwłaszcza możliwość zakupu preparatów medycznych w sklepach, na stacjach benzynowych, czy w internecie stwarza możliwość wprowadzenie do obrotów leków podrobionych, nie zawierających właściwych dla danego leku substancji czynnych. Według Światowej Organizacji Zdrowia „lek sfalszowany to lek rozmyślnie i w celu wprowadzenia w błąd, niewłaściwie oznakowany pod względem składu i/lub źródła pochodzenia. Taki lek może zawierać właściwe substancje aktywne, niewłaściwe substancje, nieprawidłową ilość substancji aktywnych, znaczną ilość zanieczyszczeń, ewentualnie sfalszowane opakowanie bezpośrednie lub zewnętrzne”. Szacuje się, że około 50 % preparatów medycznych oferowanych przez internet jest sfalszowanych [1, 2].

Dlatego też istotne jest kontrolowanie i sprawdzanie składu ogólnodostępnych leków za pomocą różnych technik badawczych. Jedną z takich metod jest rentgenowska analiza strukturalna (RAS), która umożliwia określenie składu fazowego badanych próbek, a dzięki temu stwierdzenie czy dana próbka jest autentyczna i odpowiada wymaganym standardom czy nie (rys. 1).

Metoda dyfrakcji rentgenowskiej jest w kryminalistyce wykorzystywana do badania takich substancji jak [3]:

- substancji krystalicznych występujących w glebach (analiza glinokrzemianów)
- materiałów wybuchowych oraz resztek powstałych o wybuchu w celu określenia fazy organicznej i nieorganicznej
- farb i pigmentów przy kompleksowej analizie dzieł sztuki, lakierów samochodowych i innych tego typu lakierów
- materiałów budowlanych takich jak cementy, cegły, zaprawa murarska w celu identyfikacji i określenia składu mineralnego
- metali i stopów, przy identyfikacji oszustw, np. fałszerstw monet
- substancji niezidentyfikowanych, np. proszków nieznanego pochodzenia celem ich identyfikacji i wyeliminowania potencjalnego ryzyka związanego z ich działaniem
- leków i suplementów diety w celu identyfikacji oszustw, np. fałszerstwa i podrabianie leków oraz innych preparatów medycznych
- narkotyków (analiza jakościowa)



Rys. 1. Dyfraktogramy polikrystaliczne produktów farmaceutycznych oryginalnych (czerwony kolor) i sfałszowanych (kolor czarny).

## Identyfikacja substancji na podstawie dyfraktogramów polikrystalicznych

Analiza fazowa polega na wykonaniu dyfraktogramu polikrystalicznego o takiej jakości by refleksy o bardzo słabej intensywności były łatwo rozróżnialne.

Im więcej jest zarejestrowanych refleksów o dobrej rozdzielczości tym identyfikacja badanej substancji jest łatwiejsza i dokładniejsza. Analizę fazową wykonuje się w oparciu o położenie refleksu i jego intensywność i polega na porównaniu dyfraktogramu badanej próbki z dyfraktogramem odpowiednich jednofazowych materiałów wzorcowych, które można otrzymać doświadczalnie lub za pomocą obliczeń teoretycznych. Porównania takie może stosować wykorzystując pełny zapis dyfrakcyjny lub też stosując tzw. zredukowane dane dyfrakcyjne w postaci listy odległości międzypłaszczyznowych  $d_{hkl}$  charakterystycznych dla danego materiału polikrystalicznego i odpowiadających im natężeń linii dyfrakcyjnych  $I_{max}$ . Zestawy tego rodzaju, zwane listami  $(d, I_{max})$  stanowią rodzaj krystalograficznego „odcisku palca” poszczególnych materiałów i są gromadzone w międzynarodowych bazach danych. Bazy te są stale uzupełniane i aktualizowane. Każda substancja krystaliczna posiada charakteryzujący ją obraz dyfrakcyjny zależny od jej struktury [4].

## Bazy danych

Istotnym czynnikiem, który wpływa na zwiększenie wykorzystania technik

dyfraktometrycznych w laboratoriach stworzenie specjalistycznych baz danych dyfrakcyjnych, w których gromadzone są dane dyfrakcji substancji polikrystalicznych, w postaci pliku (PDF – Powder Diffraction File), w którym znajdują się m.in. odległości międzypłaszczyznowe  $d_{hkl}$  w zależności od kąta dyfrakcji i względnych natężeń obserwowalnych pików dyfrakcyjnych. Każdy taki zestaw danych zawiera dane z dyfrakcji rentgenowskiej, dane krystalograficzne i bibliograficzne, jak również warunki doświadczalne dotyczące badanego materiału.

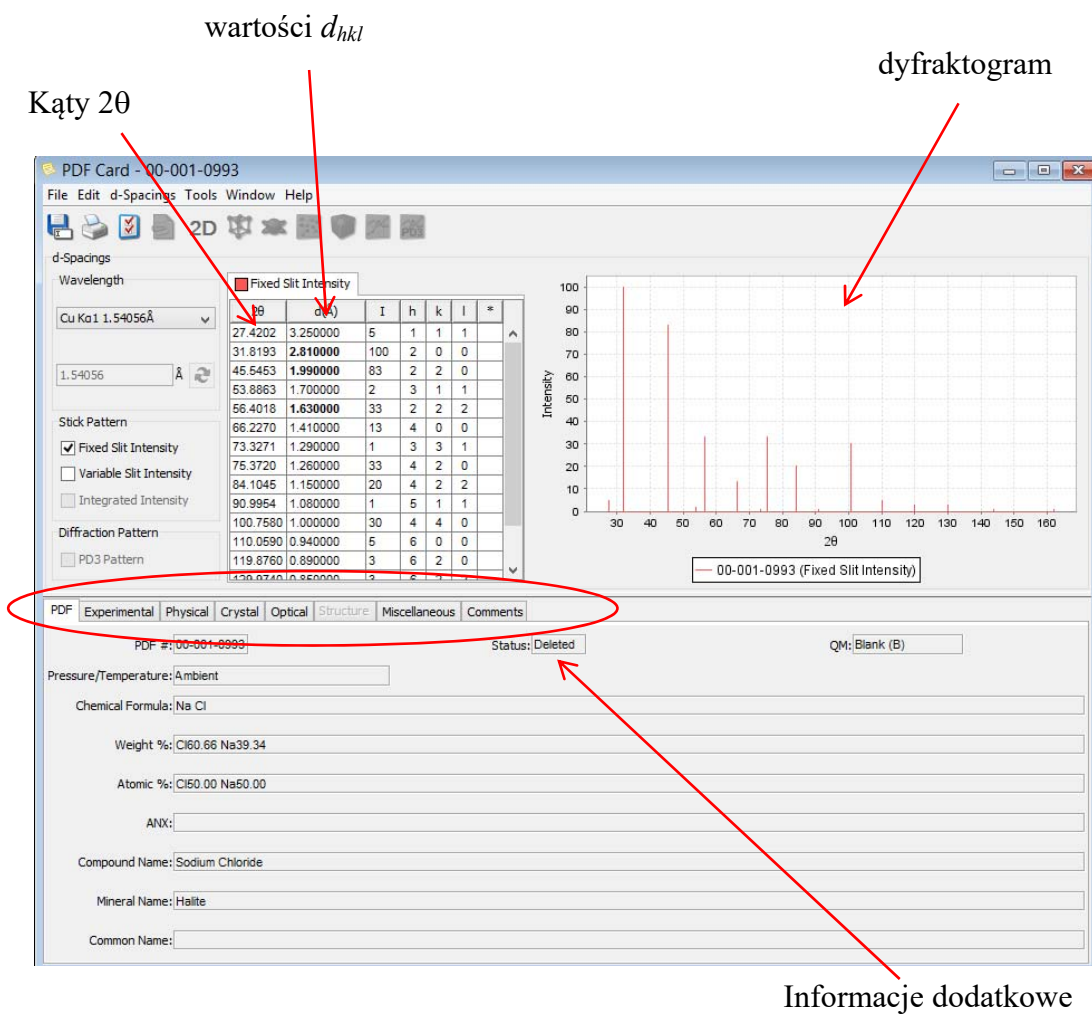
Bazy pozwalają nie tylko zidentyfikować związek, lecz również mieszaninę czy minerał.

Najpopularniejsze bazy danych:

- ICDD – International Centre For Diffraction Data
- ICSD – Inorganic Crystal Structure Database
- CSD – Cambridge Structural Database
- ASTM – American Society for Testing Materials

Przykładową kartę z bazy ICDD PDF 2 przedstawia rysunek 2.

### Karta dla NaCl za bazy ICDD PDF2 (00-001-0993) [5]



### Analiza jakościowa i ilościowa.

**Jakościowa analiza fazowa** pozwala identyfikować substancje krystaliczne w postaci w jakiej występują w preparacie. Przeprowadza się ją porównując dyfraktogram otrzymanej substancji z dyfraktogramami wzorcowymi o znanym składzie chemicznym.

Zgodnie z danymi w publikacji [6], jeżeli przesunięcia pików na dyfraktogramie dla produktu, który jest podejrzewany o sfalszowanie, są większe niż  $0,2^\circ$  dla danego kąta

dyfrakcji 2 $\theta$  w porównaniu z danymi dyfrakcyjnymi dla autentycznego produktu, wówczas produkt spełnia kryteria dla podrobionego produktu.

**Analiza ilościowa** polega na określeniu wzajemnego stosunku wagowego faz w mieszaninie na podstawie krzywej wzorcowej lub dodatku standardu wewnętrznego. Dokładność wyniku zależy od jakości zarejestrowanego dyfraktogramu, dokładności przygotowania wzorców, zastosowanej metody obliczeń (intensywność refleksu lub powierzchnia refleksu).

### Wykonanie ćwiczenia

#### **Część 1. Baza danych dyfrakcyjnych ICDD PDF 2. Analiza jakościowa wybranych leków zawierających kwas acetylosalicylowy.**

1. Baza danych dyfrakcyjnych ICDD PDF2
  - uruchomienie bazy
  - omówienie struktury karty PDF2
2. Wykorzystując dane zawarte w materiałach pomocniczych zapoznać się z danymi rentgenostrukturalnymi substancji wchodzących w skład badanego leku: kwas acetylosalicylowy, kwas askorbinowy, kofeina:
  - odczytać nazwę i wzór chemiczny związku, a następnie
  - podać układ krystalograficzny, grupę punktową i przestrzenną, parametry sieciowe
  - podać masę molową, gęstość i liczbę atomów przypadających na komórkę elementarną
  - odczytać wartości kąta  $2\theta$  i odległość międzypłaszczyznową  $d_{hkl}$  dla trzech najsilniejszych linii dyfrakcyjnych

Dane zapisać w tabeli :

*Tabela. 1. Dane rentgenostrukturalne dla związku .....*

nazwa związku chemicznego	
wzór chemiczny	
układ krystalograficzny	
grupa punktowa i przestrzenna	

parametry sieciowe	
masa molowa	
gęstość	
kąty 2theta	1. 2. 3.
odległość międzyplaszczynowa	1. 2. 3.

3. Za pomocą programu Origin otworzyć dyfraktogram kwasu salicylowego (patrz załączniki), w zakresie kątowym 10 – 120°, a następnie dla każdej linii dyfrakcyjnej odczytać wartości kąta 2theta, intensywność linii oraz obliczyć odległości międzyplaszczynowe  $d_{hkl}$  za pomocą równania Bragga [2]:

$$d_{hkl} = \frac{n\lambda}{2\sin\theta}$$

przyjmując  $n = 1$ ,  $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$

Dane zapisać w tabeli (wzór Tabela 2).

*Tabela 2. Wyznaczone dane strukturalne dla kwasu acetylosalicylowego w porównaniu z danymi z bazy ICDD*

Nr linii dyfrakcyjnej	2 $\theta$ [°] z ICDD	2 $\theta$ [°] wyznaczone	$\Delta\theta$ [°]	$d_{hkl}$ [Å] z ICDD	$d_{hkl}$ [Å] wyznaczone	I [a.u]

4. Porównując dane dyfrakcyjne z bazy ICDD PDF2 oraz dane otrzymane doświadczalnie określić zgodność badanej próbki z wzorcem pobranym z bazy ICDD PDF2 oraz określić jej autentyczność.
5. Za pomocą programu Origin otworzyć dyfraktogram badanej próbki leku zawierającej kwas ASA (patrz załączniki), w zakresie kątowym 10 – 120°, a następnie dla każdej linii dyfrakcyjnej odczytać wartości kąta 2 $\theta$ , intensywność linii oraz obliczyć odległości międzyplaszczynowe  $d_{hkl}$  za pomocą równania Bragga
6. Porównując wartości kątów 2 $\theta$  odczytanych z dyfraktogramu dla każdej linii dyfrakcyjnej oraz wartości 2 $\theta$  zamieszczone w bazie ICDD PDF2 (Materiały Pomocnicze), przypisać każdą linię dyfrakcyjną do odpowiedniej substancji.

7. Dla leków zawierających kwas acetylosalicylowy: Aspirin Bayer, Acard, Aspirin C, Coffepirine wykonać analizę jakościową oraz określić ich autentyczność. Dane zapisać w tabeli (wzór Tabela 3).

*Tabela 3. Wyznaczone dane strukturalne dla leku.....w porównaniu z danymi z bazy ICDD*

Nr linii dyfrakcyjnej	$2\Theta$ [°] z ICDD	$2\Theta$ [°] wyznaczone	$\Delta\Theta$ [°]	$d_{hkl}$ [Å] z ICDD	$d_{hkl}$ [Å] wyznaczone	substancja

## **Część 2. Analiza jakościowa wybranych leków zawierających kwas askorbinowy.**

1. Za pomocą programu Origin otworzyć dyfraktogram badanej próbki leku zawierającej kwas AA (patrz załączniki), w zakresie kątowym 10 – 120°, a następnie dla każdej linii dyfrakcyjnej odczytać wartości kąta  $2\theta$ , intensywność linii oraz obliczyć odległości międzypłaszczyznowe  $d_{hkl}$  za pomocą równania Bragga.
2. Porównując wartości kątów  $2\theta$  odczytanych z dyfraktogramu dla każdej linii dyfrakcyjnej oraz wartości  $2\theta$  zamieszczone w bazie ICDD PDF2 (Materiały Pomocnicze), przypisać każdą linię dyfrakcyjną do odpowiedniej substancji.
3. Dla leków zawierających kwas acetylosalicylowy: rutinascorbin, Witamina C Alofarm, Polopiryna MaxHot wykonać analizę jakościową oraz określić ich autentyczność. Dane zapisać w tabeli (wzór Tabela 4).

*Tabela 4. Wyznaczone dane strukturalne dla leku.....w porównaniu z danymi z bazy ICDD*

Nr linii dyfrakcyjnej	$2\Theta$ [°] z ICDD	$2\Theta$ [°] wyznaczone	$\Delta\Theta$ [°]	$d_{hkl}$ [Å] z ICDD	$d_{hkl}$ [Å] wyznaczone	substancja

## Opracowanie wyników i sprawozdanie

Sprawozdanie powinno zawierać:

- zestawienie otrzymanych wyników w postaci tabel
- tok obliczeń wykonanych do obliczenia wartości  $d_{hkl}$
- wnioski

## Literatura

1. <https://www.gif.gov.pl/pl/nadzor/sfalszowane-produkty-le/informacje-ogolne/sfalszowane-produkty-le/479,Fakty.html>; data dostępu: 11.02.2017 r.
2. <http://www.nazdrowie.pl/artukul/pulapki-falszywych-lekow>; data dostępu: 14.03.2017 r.
3. R. Bachliński, „Zastosowanie metody dyfrakcji rentgenowskiej XRD do badań narkotyków syntetycznych”, Problemy kryminalistyki, 268 (2009) 51 – 57.
4. Z. Bojarski, E. Łągiewka „Rentgenowska analiza strukturalna”. PWN Warszawa 1988 r.
5. International Centre for Diffraction Data. PDF-2; ICDD: Newtown Square, PA, USA, 2008.
6. 10. <http://www.marshall.edu/forensics/files/DeWitt-Kelsey-Research-Paper-08072015-Final.pdf>, access 12.05.2017

## Materiały pomocniczne

00-001-0182 Apr 23, 2018 11:45 AM (Iza Jendrzewska)

Status Deleted QM: Indexed (I) Pressure/Temperature: Ambient Chemical Formula: C6 H4 C O2 H C O2 C H3  
Weight %: C60.00 H4.48 O35.52 Atomic %: C42.86 H38.10 O19.05 Compound Name: Acetylsalicylic acid

Radiation: MoK $\alpha$ 1  $\lambda$ : 0.7093Å Reference: Hanawalt et al. Anal. Chem. 10, 475 (1938).

SYS: Monoclinic SPGR: P21/m (11) AuthCellVol: 3355.70 Z: 16.00  
Author's Cell [ AuthCell-a: 22.3Å AuthCell-b: 13.2Å AuthCell-c: 11.4Å AuthCell. $\beta$ : 90.0°  
AuthCellVol: 3355.70Å<sup>3</sup> ] Dcalc: 1.426g/cm<sup>3</sup> Dmeas: 0.859g/cm<sup>3</sup> SS/FOM: F(15) = 1.6(0.025, 393)  
Reference: Donnay and Nowacki, Crystal Data. Private Communication

Space Group: P21/m (11) Z: 16.00 Molecular Weight: 180.16  
Crystal Data [ XtlCell-a: 22.300Å XtlCell-b: 13.200Å XtlCell-c: 11.400Å XtlCell. $\alpha$ : 90.00° XtlCell. $\beta$ : 90.00°  
XtlCell. $\gamma$ : 90.00° XtlCellVol: 3355.70Å<sup>3</sup> ] Crystal Data Axial Ratio [ a/b: 1.6894 c/b: 0.8636 ]  
Reduced Cell [ RedCell-a: 11.400Å RedCell-b: 13.200Å RedCell-c: 22.300Å RedCell. $\alpha$ : 90.00°  
RedCell. $\beta$ : 90.00° RedCell. $\gamma$ : 90.00° RedCellVol: 3355.70Å<sup>3</sup> ]

Crystal (Symmetry Allowed): Centrosymmetric

Pearson: mP336.00 Pearson w/o H: mP208 Subfile(s): Deleted Pattern, Organic  
Last Modification Date: 01/29/2008 Cross-Ref PDF #'s: 00-012-0850 (Deleted)

Database Comments: Deleted Or Rejected By: Deleted: Post parcel March 13, 1961 (for 00-012-0850).

### 00-001-0182 (Fixed Slit Intensity) - Cu K $\alpha$ 1 1.54056Å

2 $\theta$	d(Å)	I	h	k	l	*	2 $\theta$	d(Å)	I	h	k	l	*	2 $\theta$	d(Å)	I	h	k	l	*
7.5497	11.700000	20	0	0	1		31.4744	2.840000	4	4	4	0		38.7825	2.320000	4	9	2	0	
15.5331	5.700000	100	0	0	2		32.7776	2.730000	8	8	1	0		41.9880	2.150000	12	-1	6	1	
20.6874	4.290000	20	-3	1	2		34.4664	2.600000	8	-1	2	4		43.9154	2.060000	4	0	6	2	
22.6647	3.920000	32	-5	1	1		36.3420	2.470000	8	-3	2	4		48.6503	1.870000	4	-9	0	4	
26.9968	3.300000	40	0	4	0		37.6033	2.390000	4	0	3	4		50.6730	1.800000	4	-9	2	4	











00-022-1559

Apr 23, 2018 11:53 AM (Iza Jendrzewska)

Status Deleted QM: Blank (B) Pressure/Temperature: Ambient Chemical Formula: C6 H8 O6  
 Weight %: C40.92 H4.58 O54.50 Atomic %: C30.00 H40.00 O30.00 Compound Name: Ascorbic acid

Radiation: CuK $\alpha$   $\lambda$ : 1.5418Å Cutoff: 9.3 Intensity: Visual Camera Diameter: 19.0  
 Reference: Institute of Physics, University College, Cardiff, Wales. ICDD Grant-in-Aid

SYS: Monoclinic SPGR: P21 (4) AuthCellVol: 688.71 Z: 4.00  
 Author's Cell [ AuthCell-a: 17.299Å AuthCell-b: 6.353Å AuthCell-c: 6.411Å AuthCell. $\beta$ : 102.18°  
 AuthCellVol: 688.71Å<sup>3</sup> ] Dcalc: 1.699g/cm<sup>3</sup> Dmeas: 1.65g/cm<sup>3</sup> SS/FOM: F(13) = 2.4(0.077, 69)  
 Reference: Hvoslef. Acta Crystallogr., Sec. B: Struct. Crystallogr. Cryst. Chem. 24, 23 1968).

Space Group: P21 (4) Z: 4.00 Molecular Weight: 176.13  
 Crystal Data [ XtlCell-a: 17.134Å XtlCell-b: 6.353Å XtlCell-c: 6.411Å XtlCell. $\alpha$ : 90.00° XtlCell. $\beta$ : 99.27°  
 XtlCell. $\gamma$ : 90.00° XtlCellVol: 688.71Å<sup>3</sup> ] Crystal Data Axial Ratio [ a/b: 2.6969 c/b: 1.0091 ]  
 Reduced Cell [ RedCell-a: 6.353Å RedCell-b: 6.411Å RedCell-c: 17.134Å RedCell. $\alpha$ : 99.27°  
 RedCell. $\beta$ : 90.00° RedCell. $\gamma$ : 90.00° RedCellVol: 688.71Å<sup>3</sup> ]

Reference: 2, 927

Crystal (Symmetry Allowed): Non-centrosymmetric, Enantiomorphic, Optical Activity, Pyro / Piezo (p), Piezo (2nd Harm.)

CAS: 50-81-7 Pearson: mP80.00 Pearson w/o H: mP48  
 Subfile(s): Common Phase, Deleted Pattern, Forensic, Organic, Pharmaceutical (Excipient)  
 Last Modification Date: 01/29/2008 Cross-Ref PDF #'s: 00-004-0308 (Deleted)

Database Comments: Additional Patterns: To replace 00-004-0308. Deleted Or Rejected By: Deleted by minerals 1980. General  
 Comments: Mol. wt.: 176.13. Pattern indexed at Physics Department, University College, Cardiff, Wales.  
 Temperature of Data Collection: Pattern taken at 296 K. Unit Cell Data Source: Powder Diffraction.

00-022-1559 (Fixed Slit Intensity) - Cu K $\alpha$  1.54056Å

2 $\theta$	d(Å)	I	h	k	l	*	2 $\theta$	d(Å)	I	h	k	l	*	2 $\theta$	d(Å)	I	h	k	l	*
10.3015	8.580000	40	2	0	0		23.3281	3.810000	20	3	0	1		34.6037	2.590000	30	-5	0	2	
14.0459	6.300000	30	-1	0	1		25.1354	3.540000	60	4	1	0		35.4512	2.530000	40	2	1	2	
17.3739	5.100000	60	2	1	0		26.9137	3.310000	20	-4	1	1		37.6033	2.390000	20	6	0	1	
19.7121	4.500000	100	-1	1	1		27.9463	3.190000	100	0	2	0								
20.9341	4.240000	20	4	0	0		29.9601	2.980000	90	5	1	0								

00-005-0149

Apr 23, 2018 11:55 AM (Iza Jendrzewska)

Status Deleted QM: Low-Precision (O) Pressure/Temperature: Ambient Chemical Formula: C8 H10 N4 O2  
 Weight %: C49.48 H5.19 N28.85 O16.48 Atomic %: C33.33 H41.67 N16.67 O8.33  
 Compound Name: Caffeine (anhydrous)

Reference: Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA. Eli Lilly and Company

Reference: Ibid.

Molecular Weight: 194.19 Crystal Data [ XtlCellVol: 0.00Å<sup>3</sup> ]

Crystal (Symmetry Allowed): Centrosymmetric

CAS: 58-08-2 Subfile(s): Common Phase, Deleted Pattern, Forensic, Organic Last Modification Date: 01/29/2008  
 Cross-Ref PDF #'s: 00-029-1594 (Deleted)

Database Comments: Deleted Or Rejected By: Deleted by 00-029-1594. Unit Cell Data Source: Powder Diffraction.

00-005-0149 (Fixed Slit Intensity) - Cu K $\alpha$  1.54056Å

2 $\theta$	d(Å)	I	h	k	l	*	2 $\theta$	d(Å)	I	h	k	l	*	2 $\theta$	d(Å)	I	h	k	l	*
8.3345	10.600000	1					20.5903	4.310000	5					38.0996	2.360000	1				
10.8067	8.180000	1					26.3461	3.380000	67					41.3834	2.180000	1				
11.9174	7.420000	100					26.9968	3.300000	40					44.3688	2.040000	5				
14.4138	6.140000	1					28.4005	3.140000	21					48.2657	1.884000	1				
15.6157	5.670000	1					29.5543	3.020000	5					49.1260	1.853000	1				
19.6240	4.520000	1					36.4949	2.460000	5					53.1101	1.723000	5				