

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE



Kristīne Krūkle-Bērziņa

APSTRĀDES, IZTURĒŠANAS APSTĀKĻU UN BLAKUS VIELU IETEKME
UZ FARMACEITISKI AKTĪVO CIETVIELU FĀŽU PĀREJĀM

Doktora disertācija

Darba vadītājs: Dr. ķīm., prof. Andris Actiņš

2015

Promocijas darbs izstrādāts Latvijas Universitātē Ķīmijas fakultātes Fizikālās ķīmijas katedrā no 2011. gada līdz 2015. gadam ar iepriekš veiktām iestrādnēm, kā arī no 2014. gada 1. marta līdz 30. jūnijam Adama Mickeviča Universitātē Ķīmijas fakultātē (Polija, Poznaņa).

Darbs veikts ar Eiropas Sociālā fonda granta Nr. 2009/0138/IDP/1.1.2.1.2./09/IPIA/VIAA/004 “Atbalsts doktora studijām Latvijas Universitātē” finansiālu atbalstu no 2011. gada līdz 2013. gadam.



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ

Darba raksturs: promocijas darbs ķīmijas nozarē, fizikālās ķīmijas apakšnozarē.

Darba zinātniskais vadītājs: Dr. ķīm., prof. Andris Actiņš

Darba recenzenti:

- 1) Dr. habil. ķīm., prof. Andris Zicmanis, Latvijas Universitāte;
- 2) Dr. fiz. Sergejs Beļakovs, Latvijas Organiskās sintēzes institūts;
- 3) Dr. habil. ķīm., prof. Valdis Kampars, Rīgas Tehniskā universitāte.

Promocijas darba aizstāvēšanas laiks notiks 2015. gada 26. jūnijā Latvijas Universitātes Ķīmijas nozares promocijas padomes atklātā sēdē 2015. gada 26. jūnijā 14:00 Kr. Valdemāra ielā 48 21. auditorijā.

Ar promocijas darbu var iepazīties Latvijas Universitātes bibliotēkā Rīgā, Raiņa bulvārī 19.

SATURS

DARBĀ LIETOTIE APZĪMĒJUMI UN SAĪSINĀJUMI	6
IEVADS	7
1. LITERATŪRAS APSKATS	11
1.1. Cietvielu uzbūve un īpašības	11
1.2. Polimorfo formu termodinamiskā stabilitāte	12
1.3. Cietfāžu pārejas un to mehānismi	13
1.3.1. Aizmetņu veidošanās un augšanas modeļi	14
1.3.2. Fāžu robežvirsmas modeļi	19
1.3.3. Difūzijas modeļi	20
1.3.4. Pakāpes modeļi	22
1.4. Cietfāžu pārejas ietekmējošie faktori	22
1.5. Polimorfo formu pētīšanas metodes	24
1.5.1. Rentgendifrakcijas metodes	24
1.5.2. Termiskā analīze	25
1.5.3. Infrasarkanā spektroskopija	26
1.5.4. Augstspiediena rentgendifraktometrija	27
1.6. Izvēlēto farmaceitiski aktīvo vielu raksturojums	29
1.6.1. Ksilazīna hidrogēnhlorīds	30
1.6.1. Zopiklons	30
2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA	32
2.1. Izmantotās iekārtas un vielas	32
2.1.1. Pulvera rentgendifraktometrs	32
2.1.2. Monokristāla rentgendifraktometrs	32
2.1.3. Termiskās analīzes metodes	33
2.1.4. Citas iekārtas	33
2.1.5. Vielas	34
2.2. Paraugu sagatavošana	34
2.2.1. Ksilazīna hidrogēnhlorīda formu iegūšana un <i>in-situ</i> kinētikas pētījumi	34
2.2.3. Zopiklona formu iegūšana	35
2.3. Ksilazīna hidrogēnhlorīda paraugu sagatavošana cietfāžu pārejas $H \rightarrow X \rightarrow A$ pētījumiem un eksperimenta gaita	35
2.4. Ksilazīna hidrogēnhlorīda paraugu sagatavošana cietfāžu pāreju $Z \rightarrow A$ un $M \rightarrow A$ pētījumiem un eksperimenta gaita	36
2.5. Ksilazīna hidrogēnhlorīda paraugu sagatavošana cietfāžu pāreju $X+Z \rightarrow A$ un $X+M \rightarrow A$ pētījumiem un eksperimenta gaita	37

2.6. Zopiklona paraugu sagatavošana cietfāžu pārejas $C \rightarrow A$ pētījumiem un eksperimenta gaita.....	37
2.7. Zopiklona paraugu sagatavošana cietfāžu pārejas $B \rightarrow C \rightarrow A$ pētījumiem un eksperimenta gaita	38
2.8. Ksilazīna hidrogēnhlorīda un zopiklona paraugu sagatavošana, lai noskaidrotu pildvielas ietekmi uz fāžu pārejas ātrumu.....	38
2.9. Augstspiediena pētījumi	39
2.10. Datu apstrāde	40
2.10.1. Kvantitatīvā sastāva noteikšanas metodes.....	40
2.10.2. Cietfāžu pārejas eksperimentāliem datiem atbilstošo literatūrā aprakstīto kinētisko modeļu atrašana.....	40
2.10.3. Aktivācijas enerģijas aprēķināšana	41
2.10.4. Kristālrežģa enerģijas aprēķināšana	41
3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS	42
3.1. Metodikas pilnveidošana cietfāžu pārejas aprakstīšanai, kas paredz atsevišķu aizmetņu veidošanos un to augšanas ātruma konstanšu aprēķināšanu	42
3.1.1. Metodikas matemātiskais pamatojums.....	42
3.1.2. Aprēķinu metode vienādojuma atrisināšanai	44
3.1.3. Metodikas izmantošana cietfāžu pārejai un tā salīdzināšana ar Avrami-Jerofējeva un Kardeva vienādojumu	46
3.2. Salikta fāžu pāreja sistēmā hidrāts-polimorfs-polimorfs un to ietekmējošie faktori	48
3.2.1. Ksilazīna hidrogēnhlorīda cietfāžu pāreja $H \rightarrow X \rightarrow A$ un to ietekmējošie faktori	49
3.2.2. Zopiklona cietfāžu pāreja $B \rightarrow C \rightarrow A$	59
3.3. Ksilazīna hidrogēnhlorīda cietfāžu pārejas sistēmās $X+Z \rightarrow A$ un $X+M \rightarrow A$	68
3.3.1. Fāžu pārejas $Z \rightarrow A$ un $M \rightarrow A$, un tās ietekmējošie faktori.....	68
3.3.2. Fāžu pāreja maisījumos $X+Z \rightarrow A$ un $X+M \rightarrow A$	71
3.4. Farmaceitiski aktīvo vielu pildvielu ietekme uz aktīvās vielas stabilitāti un fāžu pārejas ātrumu	72
3.4.1. Pildvielu stabilitāte 80 °C temperatūrā	73
3.4.2. Farmaceitiski aktīvo vielu termiskās īpašības atkarībā no pildvielu veida un daudzuma sākuma paraugā.....	74
3.4.3. Farmaceitiski aktīvo vielu fāžu pārejas kinētika atkarībā no pildvielu veida un daudzuma	78
3.5. Ksilazīna hidrogēnhlorīda solvātu īpašības paaugstinātā spiedienā	80
3.5.1. Ksilazīna hidrogēnhlorīda hidrāta stabilitāte, paaugstinoties spiedienam	81
3.5.2. Ksilazīna hidrogēnhlorīda jaunu kristālisko formu kristalizācija, izmantojot paaugstinātu spiedienu	87

SECINĀJUMI	92
IZMANTOTĀ LITERATŪRA	93
1. pielikums	97
Fāžu pāreju kinētiskie dati	97
2. pielikums	100
Ksilazīna hidrogēnhlorīda struktūras dati	100
3. pielikums	102
Ksilazīna hidrogēnhlorīda formas H dehidratācijas entalpijas	102
4. pielikums	103
Izvēlēto pildvielu molekulu struktūras	103
5. pielikums	104
Pildvielu un aktīvās vielas maisījumu derivatogrammas	104
Publikācijas par darbā iegūtajiem rezultātiem	106

DARBĀ LIETOTIE APZĪMĒJUMI UN SAĪSINĀJUMI

N_0 – aizmetņu veidošanās vietu daudzums	ρ – produkta fāzes blīvums
N – izveidojušos aizmetņu daudzums laikā	l – pārveidotās fāzes biezums
t – laiks	n – reakcijas pakāpe
k_N – aizmetņu veidošanās ātruma konstante	E_a – aktivācijas enerģija
C – konstante	w – masas daļa
η – stadiju skaits, kuras ir iesaistītas aizmetņu veidošanā	S_β – virsmas laukums
N_i – sākotnējo aizmetņu skaits	$\Delta\tau$ – laika intervāls
$G(x)$ – aizmetņu augšanas ātrums	τ – laiks, kad veidojas stabils aizmetnis
r – rādiuss	K_1 – aizmetņu veidošanās ātruma konstante
t_0 – augošā aizmetņa veidošanās laiks	K_2 – aizmetņu augšanas ātruma konstante
σ – aizmetņu formas faktors	ΔM – kopējā aizmetņu masa
λ – augšanas dimensija	
v – aizmetņu tilpums	DTA – diferenciālā termiskā analīze
V – kopējais aizmetņu tilpums	DSK – diferenciālā skenējošā kalorimetrija
$\frac{dN}{dt}$ – aizmetņu veidošanās ātrums	TGA – termogravimetrija
α – pārvēršanās pakāpe	CNNG vienādojums – aizmetņu veidošanās un augšanas procesu kombinācija
k_B – dalīšanās ātruma konstante	RM – relatīvais gaisa mitrums
k_T – beigu ātruma konstante	SD – standartnovirze
k – reakcijas ātruma konstante	
D – difūzijas koeficients	

IEVADS

Heterogēnā cietfāžu pāreju kinētika, salīdzinājumā ar homogēno kinētiku, ir sarežģītāka. Cietās fāzes reakcijas/pārejas ietekmējošie faktori ir daudzi un dažādi, un parasti tie mēdz būt pārāk komplicēti, lai visu to iespējamo ietekmi varētu pilnībā atspoguļot cietās fāzes pārejas/reakcijas matemātiskajā aprakstā. Tāpēc cietfāžu pārejā/reakcijā ir svarīgi apzināt un izskaidrot dažādu faktoru ietekmi uz pārejas ātrumu. Cietfāžu reakciju/pāreju var ietekmēt ne tikai apkārtējās vides apstākļi, bet arī vielas pirmsapstrāde, kā arī parauga vēsture. Reakcijas/pārejas vides apstākļu un vielas pirmsapstrādes ietekmi var noskaidrot, ja attiecīgos faktorus pārejas laikā maina, tādējādi identificējot ietekmi un tās apjomu. Savukārt, lai izprastu, kādēļ katrs konkrētais faktors dod tieši novēroto efektu, nepieciešams analizēt pārejas mehānismu: ar vielu veidojošajām sastāvdaļām laikā un telpā notiekošās izmaiņas, ko parasti vienkāršoti apraksta ar kinētisko modeli. Kinētiskais modelis ir pieņemta matemātisku darbību kopa, kas apraksta pārejas laikā notiekošās izmaiņas.

Pēdējā desmitgadē pastiprināta uzmanība tiek veltīta tādām cietfāžu pārejām/reakcijām, kurās pētāmais objekts ir farmaceitiski aktīva viela. Tāda uzmanība šai vielu grupai tiek veltīta, jo farmaceitiskajā industrijā viena no svarīgākajām prasībām ir ražot vielas ar stingri noteiktu kvalitāti, kuru definē attiecīgās vielas specifikācija. Kā viena no šādām kvalitātes prasībām ir nosacījums, ka ar aktīvo vielu nenotiks fāžu sastāvu izmaiņas/pārmaiņas ne ražošanas procesā, t.sk. tabletēšanas procesā, ne glabāšanas laikā, ne arī transportēšanas laikā. Lai būtu iespējams optimizēt šos apstākļus, tiek ieguldīti lieli līdzekļi farmaceitiski aktīvo vielu stabilitātes izpētē, kas ietver polimorfo formu meklējumus, fāžu pāreju pētījumus starp polimorfu-polimorfu vai solvātu-polimorfu, un šo pāreju ietekmējošo faktoru apzināšanā. Pie fāžu pārejas ietekmējošiem faktoriem, kas jau ir sen zināmi, kā svarīgākos jāmin temperatūru, relatīvo gaisa mitrumu, parauga sagatavošanu, kas ietver beršanu, u.c. Pie ne pārāk labi apzinātiem faktoriem var minēt blakus vielu ietekmi, kur blakus viela var būt pašas vielas polimorfī un pseidopolimorfī, kā arī izmantotās pildvielas, kuras arī ietekmē vielas stabilitāti un pāreju kinētiku. Būtiski ir pievērst lielāku uzmanību stabilitātes pētījumiem gadījumos, kad gala produkts ir termodinamiski metastabils un tā fāžu pārejas var ietekmēt mainīgi vides apstākļi.

Šis promocijas darbs ir veltīts tieši tam, lai cietfāžu pārejas/reakcijas laikā risinātu un modelētu tādas komplicētas problēmas, kādas var notikt ar termodinamiski metastabilu aktīvās vielas polimorfo formu zāļu izgatavošanas, glabāšanas un transportēšanas laikā.

Darba **mērķis** ir noskaidrot apstrādes, izturēšanas apstākļu un blakus vielu ietekmi uz farmaceutiski aktīvo cietvielu fāžu pārejām un to kinētiku, kā arī pilnveidot cietfāžu pārejas kinētisko modeli.

Darba mērķim ir pakārtoti šādi **uzdevumi**:

1. Pilnveidot cietfāžu pārejas kinētisko modeli, kas ietver aizmetņu veidošanos un to augšanu, kas ļauj atsevišķi noteikt šos divus procesu raksturojošos parametrus.
2. Noskaidrot cietfāžu kinētiku un to ietekmējošos faktorus sistēmā hidrāts → polimorfs → polimorfs, kā modeļvielas izmantojot ksilazīna hidrogēnhlorīdu un zopiklonu.
3. Noskaidrot cietfāžu kinētiku un to ietekmējošos faktorus sistēmā polimorfs → polimorfs → polimorfs, kā modeļvielu izvēloties ksilazīna hidrogēnhlorīdu.
4. Apzināt farmācijā izmantoto pildvielu ietekmi uz aktīvās vielas stabilitāti un fāžu pārejas kinētiku, kā modeļvielas izmantojot ksilazīna hidrogēnhlorīdu un zopiklonu.
5. Izpētīt paaugstināta spiediena ietekmi uz ksilazīna hidrogēnhlorīda kristālisko formu struktūru un stabilitāti.

Balstoties uz promocijas darbā iegūtajiem rezultātiem, var izvirzīt šādus zinātniskās **novitātes** sasniegumus:

Ieviesta jauna metodika, kas fāžu pārejām atsevišķi ļauj aprēķināt aizmetņu veidošanās un to augšanas ātrumu konstantes, un kas ņem vērā faktu, ka augšanas laikā augošās fāzes daļiņas saskaras. Jaunās metodikas ieviešana ļauj atsevišķi apskatīt un modelēt aizmetņu veidošanās un to augšanas procesus, kā arī spriest par ietekmējošo faktoru ietekmi uz katru no procesiem atsevišķi.

Ietekmējošo faktoru noskaidrošana saliktām cietfāžu pārejām hidrāts → polimorfs → polimorfs un pārejas mehānisma izskaidrošana, balstoties uz iesaistīto fāžu kristāliskajām struktūrām.

Saliktas cietfāžu kinētikas izvērtēšana un analīze sistēmā polimorfs → polimorfs → polimorfs.

Pildvielu un to daudzuma ietekmes izvērtēšana attiecībā uz farmaceutiski aktīvās vielas termodinamiski metastabīlo formu stabilitāti un to fāžu pārejas ātrumu.

Jaunu ksilazīna hidrogēnhlorīda kristālisko solvātu iegūšana *in-situ* kristalizācijā dimanta šūnā un to struktūras pētījumi paaugstināta spiediena ietekmē.

Darba **praktiskā** nozīme:

Saliktu cietfāžu pāreju pētījumi ļauj spriest par hidrāta stabilitāti glabāšanas un transportēšanas laikā, mainoties ārējiem vides apstākļiem.

Pētot pildvielu ietekmi uz farmaceutiski aktīvo vielu stabilitāti un fāžu pārejas ātrumu, ir parādīts, ka svarīgi pievērst uzmanību pildvielu izvēlei un to daudzumam galaproduktā.

Augstspiediena pētījumi ļauj iegūt kristālisko struktūru datus tādiem jauniem solvātiem, kuri normālos apstākļos neveidojas, kamēr to veidošanās ir iespējama tabletēšanas procesā.

Darba zinātniskās publikācijas:

1. K. Krūkle-Bērziņa, A. Actiņš, A. Bērziņš. *A new methodology for the simulation of solid state phase transition kinetics by combination of nucleation and nuclei growth processes*. Journal of Mathematical Chemistry 50 (8), **2012**, 2120-2129.
2. K. Krūkle-Bērziņa, A. Actiņš. *Powder X-Ray Diffraction Investigation of Xylazine Hydrochloride Solid Phase Transformation Kinetics*. International Journal of Chemical Kinetics 46 (3), **2014**, 161-168.
3. K. Krūkle-Bērziņa, A. Actiņš. *Investigation of the phase transitions occurring during and after the dehydration of xylazine hydrochloride monohydrate*. International Journal of Pharmaceutics 469 (1), **2014**, 40-49.
4. K. Krūkle-Bērziņa, A. Actiņš. *The Effect of Excipients on the Stability and Phase Transition Rate of Xylazine Hydrochloride and Zopiclone*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 107, **2015**, 168-174.
5. K. Krūkle-Bērziņa, A. Olejniczak, A. Katrusiak. *A compressibility study of xylazine hydrochloride at high pressure*, sagatavots melnraksts.
6. A. Bērziņš, K. Krūkle, A. Actiņš, J. P. Kreišmanis. *The relative stability of xylazine hydrochloride polymorphous forms*. Pharmaceutical Development and Technology, 15 (2), **2010**, 217-222.

Cita veida publikācijas:

1. K. Krūkle-Bērziņa, A. Actiņš, A. Bērziņš. *Hydration of Xylazine Hydrochloride Polymorphic Forms A, Z, and M*. Latvijas ķīmijas žurnāls, 50 (1-2), **2011**, 73-84.
2. A. Kons, A. Bērziņš, K. Krūkle-Bērziņa, A. Actiņš. *Characterization and Physicochemical Evaluation of Molecular Complexes Formed Between Umifenovir and Dicarboxylic Acids*. Latvijas Ķīmijas žurnāls. 52 (1-2), **2014**, 28-40.
3. A. Dravniece, A. Actiņš, K. Krūkle-Bērziņa, I. Sarceviča. *The Preparation and Characterization of New Antazoline Salts with Dicarboxylic Acids*. Molecular Crystals and Liquid Crystals, 606 (1), **2015**, 154-164.

Starptautiskās konferences:

1. Krūkle-Bērziņa, Kristīne. *Understanding complex phase-transition mechanism by Crystal structure analysis/* Kristīne Krūkle-Bērziņa, Andris Actiņš // Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography, 5-12.08.2014, Montreāla, Kanāda.
2. Krūkle-Bērziņa, Kristīne. *Investigation of Xylazine hydrochloride phase transition from polymorphs Z and M to polymorph A* / Kristīne Krūkle-Bērziņa, Kirils Oļehnovičs,

Andris Actiņš // Third World Conference on Physico-Chemical Methods in Drug Discovery and Development, 22-26.09.2013, Dubrovnik, Horvātija.

3. Krūkle-Bērziņa, Kristīne. *Investigation of Xylazine hydrochloride phase transition kinetics from hydrate to X and further to A form* / Kristīne Krūkle-Bērziņa, Andris Actiņš // 7th Crystal Forms@Bologna 9-11.09.2013, Boloņa, Itālija.

4. Krūkle-Bērziņa, Kristīne. *In situ powder X-ray diffraction investigation of xylazine hydrochloride phase transition from X to A form* / Kristīne Krūkle-Bērziņa, Andris Actiņš Bibliogr. // 15th International Conference Heterocycles in Bio-organic Chemistry. 27-30.05.2013, Rīga, Latvija.

5. Krūkle-Bērziņa, Kristīne. *A third phase effect on the phase transition of xylazine hydrochloride* / Kristīne Krūkle-Bērziņa, Andris Actiņš // The 11th Pharmaceutical Powder X-ray Diffraction Symposium, 15-18.05.2012, Florida, ASV.

Cita veida konferences:

1. LU 68. zinātniskā konference, Latvija, Rīga, 2010. gada 12. februārī, Jauns cietfāžu kinētiskais modelis: kombinācija no aizmetņu veidošanās un to augšanas mehānisma, Kristīne Krūkle-Bērziņa, Andris Actiņš, mutisks ziņojums.

2. LU 69. zinātniskā konference, Latvija, Rīga, 2011. gada 18. februārī, Mehāniskā spiediena ietekme uz farmaceitiski aktīvo vielu režģa parametriem un fāžu pārejas kinētiku, Kristīne Krūkle-Bērziņa, Andris Actiņš, mutisks ziņojums.

3. LU 70. zinātniskā konference, Latvija, Rīga, 2012. gada 17. februārī, Ksilazīna hidrogēnhlorīda fāžu pārejas ātrums no X uz A formu atkarībā no hidrāta daudzuma sākuma paraugā, Kristīne Krūkle-Bērziņa, Andris Actiņš, mutisks ziņojums.

4. LU 71. zinātniskā konference, Latvija, Rīga, 2013. gada 22. februārī, Zopiklona polimorfo formu fāžu pārejas kinētikas pētījumi, Kristīne Krūkle-Bērziņa, Agnese Dravniece, Andris Actiņš, mutisks ziņojums.

5. 11th International Conference on Pharmacy and Applied Physical Chemistry, Austrija, Insbruka, 2010. gada 7.-10. februārī, Xylazine hydrochloride phases stability and transition kinetics, Kristīne Krūkle-Bērziņa, Andris Actiņš, Agris Bērziņš, stenda referāts.

6. 10th Annual Pharmaceutical Powder X-ray Diffraction Symposium, Francija, Liona, 2011. gada 16.-19. maijā, Powder X-ray diffractometry investigation of Xylazine hydrochloride of state phase transition kinetics, Kristīne Krūkle-Bērziņa, Andris Actiņš, stenda referāts.

Pateicība:

Autore izsaka pateicību zinātniskā darba vadītājam Dr. Ķīm., prof. Andrim Actiņam par atbalstu un sniegtajām zināšanām. Paldies vīram Agrim Bērziņam par neskaitāmām konsultācijām un problēmu risināšanu promocijas darba tapšanas laikā.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Cietvielu uzbūve un īpašības

Cietvielas nereti spēj kristalizēties vairākās kristāliskajās formās. Vienas vielas atšķirīgas kristāliskās formas sauc par polimorfēm. Jāuzsver, ka polimorfu uzbūve atšķiras tieši cietā agregātstāvoklī (tiem ir dažāds molekulu izkārtojums [1]), kamēr tiem ir kopīga šķidrā un gāzes fāze [2,3]. Šī iemesla dēļ polimorfajām formām parasti ir atšķirīgas fizikālās un ķīmiskās īpašības [4,5], kā kušanas temperatūra [6,7], šķīdība, šķīšanas ātrums, stabilitāte [7], morfoloģija un biopieejamība [6].

Vielu polimorfu atšķirīgās fizikālās un ķīmiskās īpašības ir viens no būtiskiem faktoriem, kas jāņem vērā farmaceutiskajā industrijā zāļu vielas ražošanā [8], jo atšķirīgās īpašības var ietekmēt farmaceutisko vielu iedarbību. Tas rada paaugstinātu risku situācijās, kad ražošanas vai/un glabāšanas laikā rodas cita polimorfā forma [3].

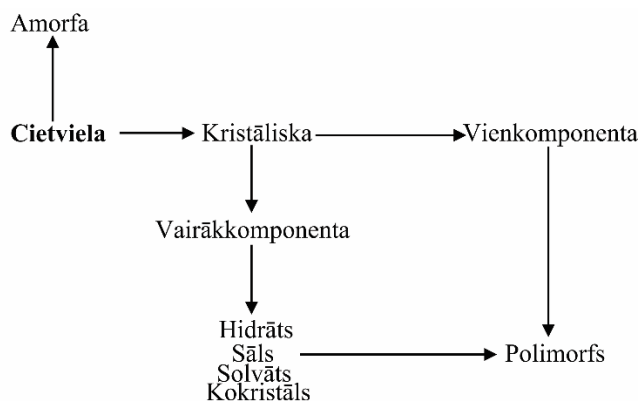
Atšķir divus polimorfisma veidus – sakārtojuma un konformācijas polimorfus. Sakārtojuma polimorfēm molekulas ir neelastīgas, nespēj pastāvēt dažādās konformācijās, to kristālrežģos atšķiras tikai molekulu pakojums, kamēr konformācijas polimorfēm būtiskākā atšķirība ir molekulas pastāvēšana dažādās konformācijās [3,5].

Cietvielām var eksistēt arī amorfās formas, kurām nav raksturīga kristāliskā režģa, molekulas cietajā fāzē ir novietojušās haotiski un tām nepastāv noteikta sakārtotība. Amorfajām formām, salīdzinot ar vielas kristāliskajām formām, ir lielāka šķīdība un šķīšanas ātrums, bet parasti tās ir fizikāli un ķīmiski mazāk stabilas [9]. Jāuzsver, ka vielas amorfā fāze nav vielas polimorfs [3].

Pie vielas kristāliskajām modifikācijām jāpiemin arī vielas pseidopolimorfus – hidrātus un solvātus [10], kuru kristāliskie režģi satur ne tikai pašas vielas molekulas, bet arī šķīdinātāja molekulas stehiometriskā vai nestehiometriskā attiecībā, līdz ar to izmainot farmaceutiski aktīvās vielas īpašības [11]. Šādi definētu pseidopolimorfismu pēdējā laikā literatūrā gan iesaka saukt par solvatomorfismu [12].

Nereti pie pseidopolimorfēm min arī vielu sāļus un kokristālus, kuriem savā starpā ir ievērojami atšķirīgākas īpašības nekā vielas solvātiem un polimorfēm [13]. Sāļi ir fāzes, kuras cietā stāvoklī sastāv no anjoniem un katjoniem, savukārt kokristāli sastāv no divām neitrālām molekulām, kuras savā starpā saista dažādi starpmolekulārās mijiedarbības spēki [5].

Iepriekš minēto cieto fāžu klasifikāciju shematiski var apkopot 1.1. attēlā.

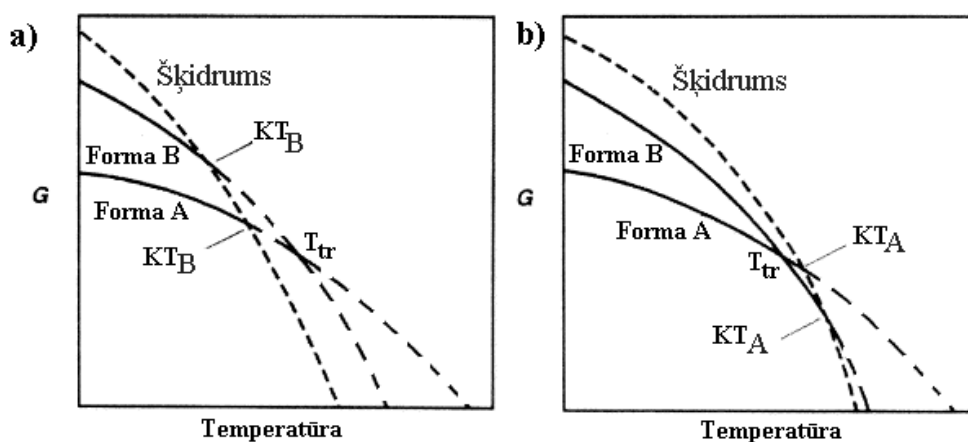


1.1. att. Cietvielu klasifikācija

1.2. Polimorfo formu termodinamiskā stabilitāte

Vienas vielas vairākiem polimorfiem noteiktā temperatūrā un spiedienā vienlaikus nevar būt vienāda brīvā enerģija, izņemot gadījumu, kad polimorfiem šī temperatūra un spiediens ir līdzsvara apstākļi. Stabilākajam vielas polimorfam vienmēr ir zemāka brīvā enerģija. Starp farmācijā izmantotajām aktīvo vielu polimorfajām formām nereti ir sastopamas metastabīlas formas [4,5], kuras dotajos apstākļos ir termodinamiski nestabīlas, taču fāžu pāreja uz stabilāko formu netiek novērota [3,14]. Šādi polimorfi var spontāni pāriet stabilākajā formā jebkurā laikā [2].

Pastāv divas polimorfo formu pāru sistēmas: enantiotropiska un monotropiska - šī klasifikācija balstās uz polimorfo formu termodinamiskajām īpašībām. Monotropiskā sistēmā viena forma ir nestabilāka attiecībā pret otru visā temperatūras apgabalā līdz pat kušanas temperatūrai. Enantiotropiskā sistēmā eksistē pārejas temperatūra T_{tr} , zem kuras viena polimorfā forma ir stabilāka par otru, un virs kuras stabilāka ir otra forma. Abus gadījumus uzskatāmi var attēlot ar brīvās enerģijas-temperatūras (G-T) diagrammu 1.2. attēlā (a) un (b) [15].



1.2. att. Enerģijas (G) - temperatūras diagramma monotropiskiem (a) un enantiotropiskiem (b) polimorfiem (KT – attiecīgās formas kušanas temperatūra, T_{tr} – līdzsvara temperatūra)

Kvalitatīvai polimorfo formu savstarpējās termodinamiskās stabilitātes raksturošanai izmanto Burgera - Rambergera likumus [1], bet kvantitatīvi termodinamiskās stabilitātes attiecības var attēlot, lietojot Gibsa enerģijas vienādojumu [5].

Ja vielas polimorfi veido enantiotropisku sistēmu, tad jānoskaidro savstarpējā līdzsvara temperatūra, kurā abu stabilitāte ir vienāda [5]. Jāņem gan vērā, ka enantiotropiskas sistēmas gadījumā fāžu pāreja no polimorfa A uz polimorfu B pēc temperatūras T_{tr} sasniegšanas var arī nenotikt (ja A forma ir metastabila), kas līdz ar to ļauj noteikt abu polimorfo formu kušanas temperatūras [10].

1.3. Cietfāžu pārejas un to mehānismi

Ja tirgū izlaistai farmaceitiski aktīvajai vielai novēro pēkšņu citas formas parādīšanos un līdz tam iegūtās formas izzušanu no ražotās zāļu vielas, tas var radīt lielus zaudējumus attiecīgo zāļu ražotājam, kā arī atstāt negatīvu ietekmi uz patērētāja veselības stāvokli. Par spilgtāko piemēru šajā sakarā var minēt gadījumu ar farmaceitiskās kompānijas *Abbott* ražoto HIV medikamentu *Ritonavir*. Sākotnēji *Abbott* ražoja polimorfo formu, kuras stabilitāte netika pārbaudīta. Vēlāk ražošanas procesa laikā sāka veidoties jauna polimorfā forma, kura bija termodinamiski stabilāka par līdz tam ražoto formu. Rezultātā vairs nebija iespējams iegūt pirms tam ražoto polimorfo formu, kas lika uz gadu pārtraukt *Ritonavir* ražošanu. Ja pirms aktīvās vielas ražošanas uzsākšanas būtu pievērsta lielāka uzmanība stabilitātes un kinētikas pētījumiem, tas būtu ļāvis atklāt termodinamiski stabilāko formu [16,17]. Šis piemērs skaidri parāda, ka fāžu pārejas kinētikas un mehānisma noskaidrošanai un izprašanai ir ne tikai zinātniska, bet arī liela praktiska nozīme [4,18].

Sākumā būtu nepieciešams definēt atšķirības starp terminiem „cietfāžu pāreja” un „pārejas mehānisms”. Ar cietfāžu pāreju saprot polimorfo formu pāreju, kurā ir iesaistīta molekulu pārkārtošanās kristāliskajā režģī, bet pārejas mehānisms apskata šo procesu: kā tas notiek molekulārajā līmenī un kas notiek ar molekulām laikā un telpā [19].

Daudzi cietfāžu kinētiskie modeļi ir attīstīti/izveidoti pagājušā gadsimtā. Lielākais vairums lietoto kinētisko modeļu ir balstīti uz eksperimentāliem novērojumiem, bet ir arī tādi, kas ir izveidoti no teorētiskiem pieņēmumiem. Pašreiz lietotie cietfāžu modeļi ir klasificēti atbilstoši to mehānisma darbības principiem [20].

Balstoties uz dominējošiem cietfāžu pārejas mehānisma darbības principiem, modeļus var klasificēt šādi [20]:

- 1) Aizmetņu veidošanās un augšanas modeļi;
- 2) Fāžu robežvirsmas modeļi (ģeometrijas modeļi);
- 3) Difūzijas modeļi;
- 4) Reakcijas pakāpes modeļi.

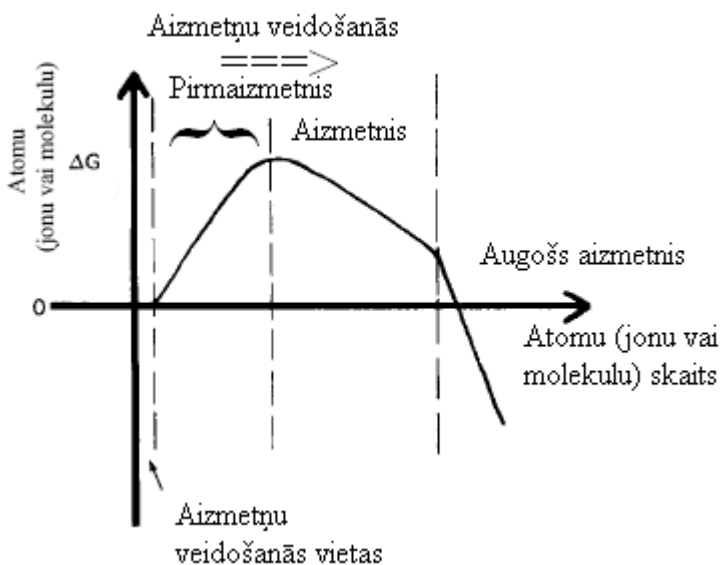
1.3.1. Aizmetņu veidošanās un augšanas modeļi

Ar šiem modeļiem var aprakstīt daudzas cietfāžu pārejas, tai skaitā kristalizāciju, ķīmisku sadalīšanos, hidratāciju vai desolvatāciju [20]. Fāžu pāreju aprakstošajam grafikam koordinātēs α (pārvēršanās pakāpe) – t parasti ir sigmoidāla forma [18].

Aizmetņa veidošanās procesu var iedomāties kā produkta fāzes iedīgļa izveidošanos, kurai ir fāžu robežvirsmas ar izejas fāzi [21]. Produkta fāzes iedīgi nav iespējams atdalīt kā individuālu un stabilu fāzi, jo tam saglabājas izejas fāzes struktūra un molekulu novietojums. Nepārtraukti notiekot aizmetņu veidošanās procesam, kā arī samazinoties kopējai deformācijas sprieguma enerģijai, notiek stabilākās (produkta) fāzes veidošanās [22].

Aizmetņi veidojas vietās, kur ir samazināta pārvēršanās aktivācijas enerģija. Šādu stāvokli kristālā rada fluktuācijas lokālā enerģija, kura rodas no kristāla nepilnībām un no siltumkustības. Nepilnības rodas no piemaisījumiem, dislokācijām, kristāla plaisām un defektiem, tāpat tās novērojamas arī uz kristāla skaldnēm un šķautnēm [23].

1.3. attēlā ir dots shematiskais attēlojums, parādot, kurā brīdī notiek aizmetņa veidošanās, un kurā brīdī notiek tā augšana [24].



1.3. att. Gibbs enerģijas izmaiņas aizmetņu veidošanās un augšanas procesu laikā

Pirmaizmetnis ir tik mazs, ka to nevar noteikt ne ar vienu no cietfāžu pāreju/reakciju pētīšanas metodēm. Gan pirmaizmetnis, gan aizmetnis var pāriet atpakaļ iepriekšējā stadijā, kamēr augošais aizmetnis to vairs nespēj izdarīt un spēj pāriet tikai produkta fāzē [24].

Aizmetņu veidošanās ātruma vienādojumi ir balstīti uz diviem atšķirīgiem pieņēmumiem: 1) aizmetņu veidošanās notiek pēc vienstadijas mehānisma; 2) aizmetņu veidošanās notiek pēc vairākstadiju mehānisma [25].

Vienstadiju aizmetņu veidošanās procesa modelēšanā pieņem, ka potenciālo aizmetņa veidošanās vietu daudzums (N_o) ir tieši saistīts ar varbūtību, ka tur izveidosies aizmetnis, un tas notiks pēc pirmās pakāpes procesa vienādojuma:

$$dN/dt = k_N(N_o - N), \quad (1.1)$$

kur N ir izveidojušos aizmetņu daudzums laikā t un k_N ir aizmetņu veidošanās ātruma konstante.

Diferencējot (1.1) vienādojumu, iegūst eksponenciālo aizmetņu veidošanās likuma vienādojumu:

$$\frac{dN}{dt} = k_N N_o e^{-k_N t} \quad (1.2)$$

Vienādojums (1.2) apraksta eksponenciālo aizmetņu veidošanās likumu. Ja k_N vērtība ir ļoti maza, tad eksponenciālais loceklis ir praktiski ekvivalents ar 1, un aizmetņu veidošanās ātrums ir gandrīz konstants. Rezultātā iegūst lineāro aizmetņu veidošanās kinētisko vienādojumu:

$$N = k_N N_o t \quad (1.3)$$

Savukārt, kad k_N vērtība ir ļoti liela, aizmetņi izveidojas praktiski momentāni [20,25]:

$$dN/dt = \infty \quad (1.4)$$

Vairākstadiju aizmetņu veidošanās procesa modelēšanā pieņem, ka veiksmīgai aizmetņu augšanai ir nepieciešami vairāki aizmetņu soļi [20]. Lai aizmetņu augšana varētu turpināties, ir nepieciešams sasniegt noteiktu produkta fāzes aizmetņu skaitu ar kritisko izmēru (pirmaizmetņus). Produkta fāzes daļiņas, kuras ir lielākas par kritisko izmēru, ir stabilas un to augšana reakcijas saskarzonā ir izdevīgāka. Šādas daļiņas uzskata par augošiem aizmetņiem [22].

Šādus procesus var raksturot ar kinētisko vienādojumu (1.5), kurš ir zināms kā pakāpes aizmetņu veidošanās likuma vienādojums:

$$dN/dt = C \eta t^{\eta-1}, \quad (1.5)$$

kur C ir konstante un η ir stadiju skaits, kuras ir iesaistītas aizmetņu veidošanās procesā [26].

Allnatt un *Jacobs* pilnveidoja vienādojumu (1.5) un pieņēma, ka sākotnējie N_i aizmetņi rada i molekulas:

$$dN_i/dt = k_{i-1}N_{i-1}(t) - k_i N_i(t) \quad (1.6)$$

No (1.6) vienādojuma izriet, ka vispārīgā stadiju skaitam var uzrakstīt attiecīgu vienādojumu:

$$N_\eta(t) = N_o [0] k_o \dots k_\eta t^\eta = K_\eta t^\eta \text{ un } dN_\eta/dt = \eta K_\eta t^{\eta-1} \quad (1.7)$$

Iepriekšminētā informācija par dažādiem aizmetņu veidošanās ātruma vienādojumiem ir apkopota 1.2. tabulā.

Aizmetņu veidošanās likumu modeļi cietfāžu reakcijām

Ātruma likums	Aizmetņu veidošanās ātrums dN/dt	Aizmetņu skaits, kas izveidojas laikā t , N	η vērtība, ko izmanto vienādojumos
Eksponeciālais	$k_N(N_0-N)$ $k_N N_0 e^{(-k_N t)}$	$N_0 [1 - e^{(-k_N t)}]$	1
Lineārais	$k_N N_0$	$k_N N_0 t$	1
Konstantais	∞	N_0	0
Pakāpes	$C \eta t^{n-1}$	$C t^n$	>1 (parasti 2 vai 3)
Ķēdes sazarošanās	$k_N N_0 e^{k_2 t}$	$\frac{k_N N_0}{k_2} \{e^{k_2 t} - 1\}$	-

Aizmetņu augšanas ātrumu ($G(x)$) var definēt kā rādiusa pieauguma ātrumu daļiņai no aizmetņa stadijas līdz pilnīgai produkta fāzes daļiņai. Aizmetņa augšanas ātrums parasti ir atkarīgs no tā izmēra [21,25]. Tas ir saistīts ar to, ka mazi aizmetņi (pirmaizmetņi) var pāriet atpakaļ uz sākotnējo fāzi. Stabila aizmetņa (augoša aizmetņa) rādiusu ($r(t, t_0)$) laikā t raksturo:

$$r(t, t_0) = \int_{t_0}^t G(x) dx, \quad (1.8)$$

kur $G(x)$ ir aizmetņa augšanas ātrums un t_0 – augošā aizmetņa izveidošanās laiks.

Tāpat kā aizmetņu veidošanās procesam ir divi pieņēmumi, arī to augšanai ir divi pieņēmumi, kuri ir balstīti uz: 1) aizmetņa formu (σ) un 2) augšanas dimensiju (λ). Abi pieņēmumi apraksta aizmetņu augšanas ātrumu, balstoties uz individuāla aizmetņa tilpuma pieaugumu ($v(t)$). Stabila aizmetņa veidošanās laiku (t_0) un tā tilpumu $v(t)$ laikā t saista sakarība:

$$v(t, t_0) = \sigma [r(t, t_0)]^\lambda, \quad (1.9)$$

kur λ ir dimensiju skaits, kurā aug aizmetnis (1, 2 vai 3), σ ir formas faktors ($4\pi/3$ sfēriskam aizmetnim, 8 kubiskam aizmetnim) un r – aizmetņa rādiuss laikā t . Izmantojot vienādojumu (1.9), var noteikt tilpumu vienam augošam aizmetnim; kopējo tilpumu visiem aizmetņiem ($V(t)$) var aprēķināt, kombinējot aizmetņu veidošanās ātruma (dN/dt) un to augšanas ātruma ($v(t, t_0)$) vienādojumus. Lai aprēķinātu dažādos laikos veidojušos aizmetņu augšanu (t_0), izmanto tālāk doto vienādojumu:

$$V(t) = \int_0^t v(t) \left(\frac{dN}{dt} \right)_{t=t_0} dt_0, \quad (1.10)$$

kur $V(t)$ ir visu augošo daļiņu tilpums un dN/dt – aizmetņu veidošanās ātrums. Aizvietojot vienādojumā (1.8) locekli $r(t, t_0)$ ar vienādojumu (1.9), un vienādojumā (1.9) locekli $v(t)$ ar vienādojumu (1.10), iegūst:

$$V(t) = \int_0^t \sigma \left(\int_{t_0}^t G(x) dx \right)^\lambda \left(\frac{dN}{dt} \right)_{t=t_0} dt_0 \quad (1.11)$$

Vienādojumu (1.11) var integrēt jebkurā kombinācijā, apvienojot aizmetņu veidošanās likuma vienādojumu un to augšanas vienādojumu, kā rezultātā var iegūt vispārēju ātruma vienādojumu, kuru var uzrakstīt formā $g(\alpha)=kt$ [20].

Pakāpes likuma modelis. Vienkāršākajā gadījumā aizmetņu veidošanās notiek pēc vienādojuma (1.4), un to augšanas ātrumu pieņem par konstantu ($G(x)=k_G$), kā rezultātā vienādojums (1.11) pārveidojas par:

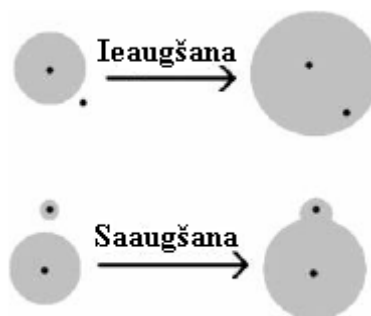
$$V(t) = \int_0^t \sigma \left(\int_{t_0}^t (k_G(t-t_0))^\lambda C \eta t^{\eta-1} dt_0 \right) dt \quad (1.12)$$

Veicot vienādojuma (1.12) pārveidošanu, integrēšanu un dažu locekļu aizstāšanu, iegūst vienkāršotu vienādojumu:

$$(\alpha)^{1/n} = kt, \quad (1.13)$$

kur $n=\eta+\lambda$ (ietverot aizmetņu veidošanās likumu un dimensiju, kādā notiek augšana). Tā kā attīstot šo modeli, ir izmantots pieņēmums, ka aizmetņu augšana ir konstanta, ar šo modeli faktiski var aprakstīt tikai kinētikas līknes sākuma daļu [20].

Avrami-Jerofējeva modelis. Cietfāžu pārejās aizmetņu augšanai ir iespējami dažādi ierobežojumi, kuru rezultātā var samazinās to augšanas ātrums. Divi galvenie augšanas ierobežojumi ir aprakstīti literatūrā [27] uz uzskatāmi attēloti 1.4. attēlā.



1.4. att. Aizmetņu augšanas ierobežojumu shematisks attēlojums. Melnie punkti – potenciālo aizmetņu veidošanās vietas, pelēkie apli – augoši aizmetņi

Ieaugšana ir process, kurā jau izveidojies aizmetnis augot zaudē potenciālu aizmetņa veidošanās vietu; ieaugušās vietas nekad neveidos augošus aizmetņus, jo tie jau ir iekļāvušies citā augošā aizmetnī. Ieaugušos aizmetņus dēvē par „fantoma” aizmetņiem. Saaugšana ir process, kurā saskaroties diviem vai vairākiem augošiem aizmetņiem, tiek zaudēta sākotnējās fāzes/produkta fāzes saskarzona [20].

No iepriekšminētā izriet, ka potenciālo aizmetņu vietu faktiskais skaits ir [28]:

$$N_1(t) = N_0 - N(t) - N_2(t), \quad (1.14)$$

kur N_0 ir iespējamās aizmetņu veidošanās vietas, $N_1(t)$ – izveidojušies aizmetņi laikā t , $N_2(t)$ – ieaugušie aizmetņi laikā t , $N(t)$ – aizmetņu skaits, kuri sākuši augt. No vienādojuma (1.14) var attīstīt pārveidotu pakāpes likuma modeli, bet to ievietojot vienādojumā (1.11), iegūtajam

vienādojumam nav analītiska atrisinājuma [25]. Šo problēmu *Avrami* novērsa, ieviešot lielumu α (paplašināto pārvēršanās pakāpi, kas ir pārvēršanās pakāpes definīcija, izmantojot vienādojumu $\alpha=(kt)^2$, līdz ar ko $\alpha \geq \alpha$). Šo lielumu ar α (pārvēršanās pakāpi) var sasaistīt, izmantojot vienādojumu:

$$d\alpha = d\alpha / (1 - \alpha), \quad (1.15)$$

kuru integrējot iegūst:

$$\alpha = -\ln(1 - \alpha) \quad (1.16)$$

Aizstājot vienādojumu (1.16) ar (1.13), iegūst [29]:

$$kt = [-\ln(1 - \alpha)]^{1/n} \quad (1.17)$$

Vienādojumu (1.17) sauc par *JMAEK*, kas ir izveidots no šo vienādojumu attīstījušo zinātnieku uzvārdu pirmajiem burtiem (*Johnson, Mehl, Avrami, Erofeev, Kholmogorov*) [20].

Autokatalītisks modelis. Homogēnajā kinētikā par autokatalītiskām reakcijām uzskata tādas, kuras katalizē pašu reakciju produkti, savukārt cietfāžu kinētikā tādas ir reakcijas, kurās sākuma fāze reakcijas laikā „dalās”, radot jaunus kristalizācijas aizmetņus. Augošie aizmetņi sekmē pārejas tādās kristāla nepilnīgajās vietās kā reakcijas saskarzonā esošās dislokācijās vai plaisās [30].

Aizmetņu veidošanos autokatalītiskās reakcijās var definēt kā:

$$dN/dt = k_N N_o + N(k_B - k_T), \quad (1.18)$$

kur k_B ir dalīšanās ātruma konstante, k_T – apraušanās ātruma konstante. Gadījumā, ja $k_N N_o$ netiek ņemts vērā, iegūst vienādojumu (1.19):

$$dN/dt = N(k_B - k_T) \quad (1.19)$$

To var neņemt vērā divos gadījumos: 1) ja k_N ir ļoti liels, un sākuma aizmetņu vietas tiek aizpildītas momentāni, 2) ja k_N ir ļoti mazs, līdz ar to locekli $k_N N_o$ var ignorēt.

Reakcijas ātrums ar aizmetņu skaitu ir saistīts ar šādu vienādojumu:

$$d\alpha/dt = k' N, \quad (1.20)$$

kur k' reakcijas ātruma konstante. Tā kā kinētiskajai līknei ir sigmoidāls raksturs, tad pārlietuma punktā (α_i , t_i) dN/dt maina zīmi un $k_B = k_T$ var definēt kā:

$$k_T = k_B(\alpha/\alpha_i) \quad (1.21)$$

Vienādojumu (1.21) ievietojot (1.19), iegūst:

$$dN/dt = N k_B (1 - \alpha/\alpha_i) \quad (1.22)$$

Tā kā spēkā ir sakarība $dN/d\alpha = dN/dt \cdot dt/d\alpha$, tad var iegūt:

$$dN/d\alpha = k'' (1 - \alpha/\alpha_i), \quad (1.23)$$

kur $k'' = k_B/k'$. Vienādojumā (1.23) atdalot mainīgos un vienādojumu integrējot, iegūst:

$$N = k'' (\alpha - \alpha^2 / 2\alpha_i), \quad (1.24)$$

Aizstājot vienādojumu (1.24) ar (1.20):

$$d\alpha/dt=k_B(\alpha-\alpha^2/2\alpha_i) \quad (1.25)$$

Kopš *Prout* un *Tompkins* pieņēma, ka $\alpha_i=0,5$, vienādojumu (1.25) var reducēt uz:

$$d\alpha/dt=k_B\alpha(1-\alpha) \quad (1.26)$$

Atdalot mainīgos un integrējot:

$$\ln[\alpha/(1-\alpha)]=k_B \ln t+c, \quad (1.27)$$

kur c ir integrēšanas konstante, kas nepieciešama, lai vērtības būtu pozitīvas [20].

Literatūrā [31] ir atrodams apkopojums par aizmetņu veidošanās un augšanas procesu:

- 1) Aizmetņu veidošanās sākas, kad ir sasniegta noteikta temperatūra T_{tr} . Temperatūra vienas vielas dažādiem kristāliem (un arī dažādiem paraugiem) var atšķirties.
- 2) Aizmetņu veidošanās vieglāk notiek tajās kristālu vietās, kur ir defekti.
- 3) Līdzsvara temperatūra T_{tr} ir „iekodēta” noteikta veida defektos, un tā būs viena un tā pati, ja defekts būs viens un tas pats.

1.3.2. Fāžu robežvirsmas modeļi

Šie modeļi paredz, ka fāžu pārejas sākumā notiek faktiski momentāna aizmetņu veidošanās uz kristāla virsmas. Atkarībā no kristāla formas var attīstīt dažādus matemātiskos modeļus. Pārejas ātrums tiek izteikts kā reakcijas saskarzonas virzīšanās uz kristāla centru. Līdz ar to jebkuram kristālam var uzrakstīt šādu vispārīgu sakarību:

$$r=r_0-kt, \quad (1.28)$$

kur r ir rādiuss laikā t , r_0 ir rādiuss laikā t_0 un k ir reakcijas ātruma konstante [20,32].

Divdimensionāls fāžu robežvirsmas modelis (cilindrisk). Cilindriskām daļiņām tilpums ir $h\pi r^2$, kur h ir cilindra augstums un r – rādiuss. Bezgalīgi lielam daļiņu skaitam ” n ” tilpums ir $nh\pi r^2$, bet masa ir $n\rho h\pi r^2$. Tā kā α tiek definēta kā:

$$\alpha = \frac{m_0-m_t}{m_0-m_\infty}, \quad (1.29)$$

kur m_0 ir izejas fāzes sākuma masa, m_t – izejas fāzes masa laikā t , m_∞ - izejas fāzes beigu masa. Šajā gadījumā pieņem, ka $m_\infty \approx 0$, iegūstot:

$$\alpha = \frac{m_0-m_t}{m_0} \quad (1.30)$$

Tad ” n ” daļiņām, kuras piedalās reakcijā:

$$\alpha = \frac{n\rho h\pi r_0^2 - n\rho h\pi r_t^2}{n\rho h\pi r_0^2} \quad (1.31)$$

Vienādojums (1.31) reducējas uz:

$$\alpha = \left(1 - \frac{r^2}{r_0^2}\right) \quad (1.32)$$

Aizstājot vienādojumā (1.32) r vērtību ar vienādojumu (1.28), iegūst:

$$\alpha = 1 - \left(\frac{r_0-kt}{r_0}\right)^2 \quad (1.33)$$

Vienādojumu (1.33) var pārveidot:

$$1 - \alpha = \left(1 - \frac{k}{r_0} t\right)^2 \quad (1.34)$$

Ja $k_0 = k/r_0$, tad vienādojumu (1.34) var uzrakstīt šāda formātā:

$$1 - (1 - \alpha)^{1/2} = k_0 t \quad (1.35)$$

Trīsdimensionāls fāžu robežvirsmas modelis (sfēra/kubs). Sfēriskām daļiņām tilpums ir $4\pi r^3/3$, līdz ar to "n" daļiņām tas ir $4n\pi r^3/3$, un to masa ir $4/3\rho n\pi r^3$. Šajā gadījumā vienādojums (1.30) "n" reakcijā iesaistītām daļiņām ir:

$$\alpha = \frac{\frac{4}{3}n\rho\pi r_0^3 - \frac{4}{3}n\rho\pi r^3}{\frac{4}{3}n\rho\pi r_0^3}, \quad (1.36)$$

kas reducējas uz:

$$\alpha = \left(1 - \frac{r^3}{r_0^3}\right) \quad (1.37)$$

Aizvietojot r vērtību ar vienādojumu (1.28), iegūst:

$$\alpha = 1 - \left(\frac{r_0 - kt}{r_0}\right)^3, \quad (1.38)$$

ko var pārveidot:

$$1 - \alpha = \left(1 - \frac{k}{r_0} t\right)^3 \quad (1.39)$$

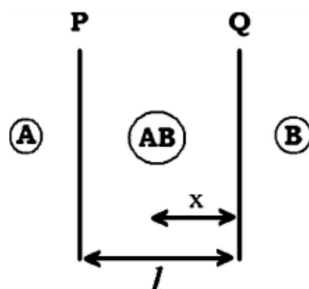
Ja $k_0 = k/r_0$, tad vienādojums (1.39) pārveidojas uz:

$$1 - (1 - \alpha)^{1/3} = k_0 t \quad (1.40)$$

Līdzīgā veidā analoģu izteiksmi var iegūt arī kubiskiem kristāliem [20].

1.3.3. Difūzijas modeļi

Parasti cietfāžu reakcija notiek starp kristālrežģiem vai molekulām, kurām ir ierobežota kustība, kas nereti ir atkarīga no režģa defektiem. Difūzijas reakcijas gadījumā starp cietfāžu virsmām (kristālrežģiem) pastāv reakcijas laikā pārveidotā fāze, kurā notiek difundanta fāzes pārvietošanās, kas ir reakcijas ātrumu kontrolējošā stadija [20]. Difūzija caur plakni ir shematiski parādīta 1.5. attēlā.



1.5. att. Difūzijas caur plakni shematisks attēlojums (A – pārveidojamā fāze, P – reakcijas saskarvirsmā, AB – pārveidotā fāze, Q – sākotnējā reakcijas saskarvirsmā, B – difundanta fāze, l – pārveidotās fāzes biezums, x- koordināte, kura parasti ir perpendikulāra sākotnējai reakcijas virsmai)

Difūzijas kontrolētajām reakcijām produkta fāzes veidošanās ātrums samazinās proporcionāli ar pārveidotās fāzes biezuma palielināšanos [22].

No 1.5. attēla var secināt, ka difundanta masa (B), kas šķērso pārveidoto fāzi (AB) laikā dt un nodrošina produkta fāzes veidošanos, ir:

$$\frac{dl}{dt} = -D \frac{M_{AB}}{M_B \rho} \frac{dC}{dx} = D \frac{M_{AB}}{M_B \rho} \frac{(C_2 - C_1)}{l}, \quad (1.41)$$

kur M_{AB} un M_B ir AB un B molekulmolmasa, D ir difūzijas koeficients, ρ - produkta fāzes blīvums, l - pārveidotās fāzes biezums, C - fāzes B koncentrācija produkta fāzē, x ir koordināte, C_2 un C_1 ir fāzes B koncentrācija attiecīgi uz reakcijas saskarvirsmām P un Q. Atdalot mainīgos un integrējot vienādojumu (1.41), iegūst:

$$l^2 = 2D \frac{M_{AB}(C_2 - C_1)}{M_B \rho} t \quad (1.42)$$

Gadījumā, ja $k=2D[M_{AB}(C_2-C_1)]/M_B\rho$, vienādojums (1.42) kļūst par:

$$l^2=kt \quad (1.43)$$

Vienādojums (1.43) ir zināms kā paraboliskais likums, kas attiecas uz plaknēm, kuras neietver nekādus formas faktorus, līdz ar to pārvēršanās pakāpe ir tieši proporcionāla pārveidotās fāzes biezumam "l", un vienādojums (1.43) kļūst par:

$$\alpha^2=k^t, \quad (1.44)$$

kas atbilst viendimensionālam difūzijas modelim.

Tālāk apskatīts trīsdimensionāla difūzijas modeļa vienādojuma izvedums, kurš attiecas uz sfērisku daļiņas formu. Pārvēršanās pakāpi nenoteiktam skaitam reakcijā iesaistītu sfērisku daļiņu iegūst, apvienojot vienādojumu (1.30) un sfēras tilpuma izteiksmi $4/3\pi R^3$:

$$\alpha = \frac{\frac{4}{3}n\rho\pi R^3 - \frac{4}{3}n\rho\pi(R-l)^3}{\frac{4}{3}n\rho\pi R^3} = 1 - \left(\frac{R-l}{R}\right)^3 \quad (1.45)$$

Pārveidojot vienādojumu (1.45), iegūst:

$$l=R(1-(1-\alpha)^{1/3}) \quad (1.46)$$

Izmantojot parabolisko likumu, *Jander* definēja l . Vienādojumā (1.46) l aizstājot ar vienādojumu (1.43), iegūst:

$$R^2(1-(1-\alpha)^{1/3})^2=kt \quad (1.47)$$

Pieņemot, ka $k^t=k/R^2$, vienādojums (1.47) kļūst par:

$$(1-(1-\alpha)^{1/3})^2=k^t, \quad (1.48)$$

ko sauc par D3 jeb *Jander* modeli.

Ginstling-Brounshtein kopdarbs parādīja, ka *Jander* vienādojums ir ļoti vienkāršots un spēj aprakstīt tikai mazas pārvēršanās pakāpes vērtības. *Ginstling-Brounshtein* šo vienādojumu attīstīja tālāk, iegūstot:

$$1 - \frac{2}{3}\alpha - (1 - \alpha)^{\frac{2}{3}} = kt = \frac{1}{3} \frac{t}{t_{\alpha=1}}, \quad (1.49)$$

kas ir zināms kā *Ginstling-Brounshtein* modelis jeb trīsdimensionāls difūzijas modelis.

Pieņemot, ka daļiņa ir cilindriskā un ka difūzija notiek caur cilindra apvalku ar pieaugošu pārveidoto fāzi, var atvasināt divdimensionālu difūzijas modeli (D2), izmantojot tos pašus pieņēmumus, ko lietoja D3 modeļa gadījumā. Cilindriskai daļiņai:

$$l=R(1-(1-\alpha)^{1/2}) \quad (1.50)$$

Saskaņā ar *Jander* pieņēmumu, vienādojumu (1.50) var pārveidot:

$$(1-(1-\alpha)^{1/2})^2=k^2t, \quad (1.51)$$

kur $k^2=k/R^2$. Veicot vienādojuma pārveidojumus, iegūst:

$$(1-\alpha)\ln(1-\alpha)+\alpha=kt=t/t_{\alpha=1} \quad (1.52)$$

Visi apskatītie vienādojumi ir piemērojami gadījumiem, kad reakcijā iesaistās stehiometriski savienojumi. Gadījumos, kad savienojums nav stehiometrisks, standarta vienādojumi spēj aprakstīt vai nu tikai mazas pārvēršanās pakāpes vērtības, vai arī tikai lielas pārvēršanās pakāpes vērtības [20].

1.3.4. Pakāpes modeļi

Pakāpes modeļi pēc būtības ir vienkāršāki no modeļiem, jo tie ir līdzīgi kinētikas vienādojumiem, kurus izmanto homogēnajā kinētikā. Pakāpes modelis ir atvasināts no sekojošā vienādojuma:

$$\frac{d\alpha}{dt} = k(1 - \alpha)^n, \quad (1.53)$$

kur $d\alpha/dt$ ir reakcijas ātrums, k – ātruma konstante, n reakcijas pakāpe. Ja vienādojumā $n=0$ (1.53), iegūst nulltās pakāpes modeli (F0/R1):

$$\frac{d\alpha}{dt} = k \quad (1.54)$$

Atdalot mainīgos un integrējot vienādojumu (1.54), iegūst:

$$\alpha=kt \quad (1.55)$$

Ja vienādojumā (1.53) $n=1$, iegūst pirmās pakāpes modeli (F1):

$$\frac{d\alpha}{dt} = k(1 - \alpha) \quad (1.56)$$

Atdalot mainīgos un integrējot vienādojumu (1.56), iegūst:

$$-\ln(1-\alpha)=kt \quad (1.57)$$

Pirmās pakāpēs modelis ir zināms arī kā *Mampel* modelis [20].

1.4. Cietfāžu pārejas ietekmējošie faktori

Cietfāžu pārejas ietekmējošo faktoru noskaidrošana ļauj detalizētāk izprast pašu pāreju mehānismu. Ir zināmi vairāki faktori, kuri var ietekmēt cietfāžu pāreju kinētiku, bet par nozīmīgākajiem uzskata temperatūru, relatīvo gaisa mitrumu, mehānisko slodzi [6], kristālu defektus un daļiņu lielumu [33].

No kinētikas pamatpostulāta ir zināms, ka paaugstinot temperatūru par 10 °C, fāžu pārejas ātrums parasti pieaug 2-3 reizes [34], bet cietfāžu pārejās šāds novērojums bieži vien nav spēkā. Jāņem vērā, ka cietfāžu pārejas vienlaikus var ietekmēt vairāki faktori, kuri var mainīt pāreju ātrumu, to palielinot vai samazinot. Temperatūras ietekmi uz pārejas ātrumu var aprakstīt ar Arēniusa vienādojumu [20]:

$$\frac{d\gamma}{dt} = f(\gamma)Ae^{-E_{\gamma}/RT}, \quad (1.58)$$

kur γ – reakciju raksturojošais parametrs (piem., ātruma konstante, laiks pie noteikta produkta veidošanās daudzuma, u.c.), t – laiks, $f(\gamma)$ – funkcija, kura raksturo reakcijas parametru, E_a – aktivācijas enerģija, R – universālā gāzu konstante, T – temperatūra.

Aktivācijas enerģija (E_a) ir vērtība, kura rāda, cik lielā mērā fāžu pāreju ietekmē temperatūras paaugstināšana. Jo šī vērtība ir lielāka, jo pāreja ir jutīgāka uz temperatūras paaugstināšanos. Aktivācijas enerģiju ir iespējams aprēķināt tieši pēc vienādojuma (1.58), vai arī izmantojot tā modifikācijas (piem., izmantojot izokonversijas metodes, kuru gadījumā ātruma konstantes nenosaka tieši, bet gan pēc citiem ar tām saistītiem parametriem) [20].

Apskatot pārējo faktoru ietekmi uz fāžu pārejām, var secināt, ka tie var gan izmainīt aktivācijas enerģijas vērtības – palielināt vai samazināt tās, gan arī mainīt fāžu pārejas ātrumu pie kādas konstantas temperatūras [35].

Pieaugot relatīvajam gaisa mitrumam, fāžu pārejas ātrums (pie konstantas temperatūras) parasti pieaug. Tas skaidrojams ar to, ka šādi var izmainīties sākotnējās fāzes termodinamiskā stabilitāte, kas var palielināt pārejas ātrumu uz stabilāko formu, lai gan ir iespējama arī starpfāzes rašanās, kas var samazināt fāžu pārejas ātrumu. Paaugstināts relatīvais gaisa mitrums var arī veicināt biežākas molekulu svārstības, kas var stimulēt stabilākās formas veidošanos [35,36].

Mehāniskās slodzes, kristāla defektu un daļiņu lieluma ietekmi uz fāžu pārejas ātrumu var apskatīt kā vienu faktoru, jo parasti tie rodas parauga mehāniskas apstrādes (piem., beršanas) procesā. Daļiņu lieluma ietekmi var saistīt ar vielas virsmas palielināšanos. Mainoties daļiņu lielumam, var mainīties fāžu pārejas mehānisms. Daļiņām kļūstot mazākām, tās var zaudēt kristāliskuma pakāpi un daļēji iegūt amorfās fāzes īpašības, kas var veicināt spontānu stabilākās formas veidošanos, jo vielas iekšējā enerģija šādā gadījumā ir lielāka [37]. Solvātu un hidratu paraugiem, palielinoties virsmai, iespējama vieglāka šķīdinātāja molekulu atbrīvošanās no struktūras, salīdzinot ar paraugiem ar lielāku daļiņu izmēru. Lielākām daļiņām ir mazāka īpatnējā virsma, kuru dēļ tās var būt mazāk reaģētspējīgas nekā mazākas daļiņas [35].

Beršanas vai sijāšanas procesa rezultātā daļiņu sadalījums pēc izmēriem kļūst homogēnāks. Paraugos ar dažāda izmēra daļiņām vienlaikus var notikt vairāki procesi. Dažāda izmēra daļiņas katra var veicināt savu pārejas mehānismu, kas var izpausties kā salikts kinētiskas process, ko neidentificējot iegūst nepareizu priekšstatu par fāžu pārejas mehānismu [35].

Beršanas process uz daļiņu virsmas var radīt tādas papildus defektus kā lūzumus un dislokācijas. Defektu skaitam sasniedzot noteiktu robežu, var samazināties vielas kristāliskuma pakāpe vai var tikt veicināta stabilākās fāzes veidošanās defektu vietās [38].

Cietfāžu pāreju var ietekmēt ne tikai apkārtējās vides apstākļi vai parauga sagatavošana, bet arī piemaisījumi. Piemaisījumi ir strukturālā ziņā atšķirīgas cietas fāzes: tās var būt pašas vielas sadalīšanās produkti vai, farmaceitiski aktīvo vielu gadījumā, arī pildvielas. Literatūrā ir atrodami vairāki pētījumi, kuros ir apskatīta pildvielu ietekme uz aktīvās vielas stabilitāti, turklāt pildvielas stabilitāti var gan palielināt, gan arī samazināt [39–42].

1.5. Polimorfo formu pētīšanas metodes

Ir pieejams plašs klāsts ar metodēm, kuras var izmantot farmaceitiski aktīvo vielu pētīšanā un kvalitātes kontrolē - rentgendifraktometrija, infrasarkanā spektroskopija, kodolmagnētiskās rezonanses spektroskopija, termiskā analīze u.c. metodes [5]. Cietfāžu pāreju pētījumos viena no plašāk lietotajām un bieži arī piemērotākajām metodēm ir pulvera rentgendifraktometrija, kurai ir pietiekami augsta izšķirtspēja, lai spētu viegli kvalitatīvi atšķirt un kvantitatīvi precīzi noteikt polimorfās formas un citas fāzes cietos paraugos [18].

1.5.1. Rentgendifrakcijas metodes

Monokristāla rentgendifraktometrija. Šī metode ir viena no populārākajām un piemērotākajām cietvielu struktūru noteikšanas metodēm. Tā sniedz detalizētu informāciju par vielas kristālo režģi, par tā dimensijām, leņķiem, saišu garumiem, saišu leņķiem un atomu novietojumu kristāliskajā režģī (izņemot precīzas ūdeņraža atomu pozīcijas). Paraugi ir vielas kristāls, kuru mērīšanas laikā apstaro ar rentgenstarojumu. Rentgenstarojums tiek ģenerēts ar rentgenlampu, kuras izdalītā starojuma viļņa garums ir atkarīgs no izmantotā anoda materiāla (populārākie ir molibdēns un varš). Starojums tiek laists cauri monohromatoram, tādējādi iegūstot monohromatisku starojumu. Stars tiek koncertēts ar kolimatora palīdzību, kas to novirza precīzi uz paraugu. Mijiedarbībā starp šo primāro rentgenstarojumu un paraugu rodas sekundārais starojums. Primārais un sekundārais starojums pakļaujas matemātiskai sakarībai, kuru dēvē par Brega vienādojumu. Detektējot sekundārā rentgenstarojuma telpisko sadalījumu un tā intensitāti, iegūst informāciju par

attālumu starp kristāliskajā režģī esošajiem atomiem vai joniem, tāpēc var uzskatīt, ka paraugs funkcionē kā difrakcijas režģis.

Datu (sekundārā starojuma telpiskā sadalījuma un tā intensitātes) reģistrēšanu veic ar detektoru, iegūstot vismaz 1000 unikālus refleksus. Iegūtajiem refleksiem piešķir *hkl* indeksus. Veicot Furjē pārveidojumus, iegūst savstarpējo saistību starp difrakcijas ainu un režģa parametriem, kā arī atomu novietojumu kristāliskajā struktūrā [43–45].

Pulvera rentgendifraktometrija. Atšķirībā no monokristāla difraktometrijas metodes, šajā gadījumā paraugs ir pulverveida viela, nevis monokristāls. Tāpat kā iepriekšējā metodē, arī šajā paraugs tiek apstarots ar rentgenstarojumu, un rentgenstarojums izkliedējas telpā noteiktos virzienos, kuri ir atkarīgi no atomu izkārtojuma kristāliskajā režģī. Dati tiek attēloti viendimensionālas pulvera difraktogrammas (starojuma intensitātes atkarības no 2Θ leņķa) veidā.

Difraktogramma satur informāciju par fāzes elementāršūnu: difrakcijas refleksu pozīciju nosaka elementāršūnas parametri, bet intensitāti – atomu un jonu saturs un novietojums. Metode ir ļoti jutīga pret atšķirīgām elementāršūnas vērtībām, kuras vielas dažādiem polimorfēm ir atšķirīgas. Intensitāte difraktogrammā var būt atkarīga arī no parauga daļiņu izmēriem un morfoloģijas, kas difraktogrammā var radīt nepareizu signālu augstumu attiecību, ja pulverveida viela nav pareizi sagatavota analīzēm (orientācijas efekts). Orientācijas efekts var novest pie nepareizas datu interpretācijas. Amorfas vielas difraktogrammā dod vienu platu signālu [46].

Polimorfās formas to atšķirīgās kristāliskās struktūras dēļ dod rentgendifraktogrammas ar dažādām refleksu pozīcijām [1], kas vairāku fāžu maisījumā ļauj identificēt individuālas polimorfās formas.

Pulvera rentgendifraktometrijas metode farmaceutiskām cietvielām visplašāk tiek izmantota šādiem mērķiem [3,47]:

- 1) Polimorfo formu kvantitatīvajā un kvalitatīvajā analīzē;
- 2) Kristāliskuma pakāpes un amorfās fāzes satura noteikšanā;
- 3) Kristālisko fāžu raksturošanai tabletēs;
- 4) Kristāliskās struktūras noteikšanā, ja nevar izmantot monokristāla metodi.

1.5.2. Termiskā analīze

Iepriekš tika minēts, ka polimorfajām formām atšķiras fizikālķīmiskās īpašības. Šo īpašību atšķirību var viegli identificēt un raksturot, izmantojot termiskās analīzes metodes. Farmaceutisko vielu polimorfēm pie plašāk veiktajām analīzēm var uzskaitīt polimorfo formu kušanas temperatūras, relatīvās stabilitātes, fāžu pāreju enerģijas noteikšanu, kā arī polimorfo formu enantiotropisko vai monotropisko sistēmu identificēšanu.

Pie termiskās analīzes metodēm var pieskaitīt metodes, kurās tiek mērīta kāda parauga īpašība kā funkcija atkarībā no parauga temperatūras. Karsēšanas laikā mainoties materiāla fizikālajām īpašībām, siltuma enerģija vai nu izdalās (kristalizācijā un oksidatīvā sadalīšanās procesā) vai absorbējas (kušanā, viršanā, sublimācijā, iztvaikošanā, desolvatācijā, cietfāžu pārejā, ķīmiskā sadalīšanās procesā) [3].

Diferenciālā termiskā analīze (DTA) ir metode, kur parauga un salīdzināšanas kausiņus karsē uz viena sildelementa. Ar termopāru palīdzību fiksē divas temperatūras - pie parauga un pie salīdzināšanas kausiņa. Dati tiek ierakstīti kā parauga un salīdzināšanas kausiņa temperatūras starpības funkcija no temperatūras vai laika [48].

Diferenciālā skenējošā kalorimetrija (DSK) ir ļoti līdzīga metode kā DTA, bet ar spēju precīzāk kvantificēt siltumefektus. Ir attīstītas divas DSC metodes: jaudas kompensācijas un siltuma plūsmas metode. Jaudas kompensācijas metodē ir divi sildelementi, no kuriem katrs ir kontaktā ar parauga un salīdzināšanas kausiņu. Šo elementu karsēšanas ātruma atšķirības tiek kontrolētas un mērītas. Siltuma plūsmas metodē parauga un salīdzināšanas kausiņš tiek karsēts ar vienu karsēšanas elementu un tiek mērītas atšķirības starp parauga un salīdzināšanas kausiņiem. Siltuma plūsmu aprēķina, ņemot vērā kalibrēšanas datus. Tāpēc pirms šī režīma izmantošanas jāveic aparatūras korekta kalibrācija. Siltuma plūsmas metode ir mazāk jutīga pret mazām siltuma efekta izmaiņām, kā arī dod mazāk precīzu C_p un entalpijas vērtību.

Mērīšanas procesā tiek iegūts signāls, kas ir rezultāts siltuma plūsmas funkcijai atkarībā no laika (vai temperatūras). Rezultātā, integrējot laukumu zem iegūtā signāla, iegūst attiecīgā procesa vai pārejas entalpiju [49].

Termogravimetriskajā analīzē (TGA) fiksē parauga masas izmaiņas temperatūras palielināšanas (vai samazināšanas) laikā. Iegūtais rezultāts sniedz informāciju par gaistošu komponentu klātbūtni, vielas sadalīšanos vai sublimāciju [50].

1.5.3. Infrasarkanā spektroskopija

Infrasarkanā spektroskopija sniedz informāciju par vielā esošajām funkcionālajām grupām, kā arī par starpmolekulārajām mijiedarbībām. Metode balstās uz to, ka paraugu apstaro ar infrasarkanā starojumu, daļu no kura paraugs absorbē. Spektru var iedalīt četrās daļās: 1) $4000-2500\text{ cm}^{-1}$ (X-H stiepšanās vibrācijas); 2) $2500-2000\text{ cm}^{-1}$ (trīskāršo saišu vibrācijas); 3) $2000-1500\text{ cm}^{-1}$ (dubultsaišu vibrācijas) un 4) $1500-600\text{ cm}^{-1}$ vielas spektrālo „pirkstu nospiedumu” reģions. Reģionā $4000-1500\text{ cm}^{-1}$ svārstības un stiepšanās ir unikālas noteiktām funkcionālajām grupām, piemēram, C=O, -OH, -NH. Šo reģionu viegli var izmantot, lai identificētu vai atšķirtu dažādas vielas. „Pirkstu nospiedumu” reģions satur

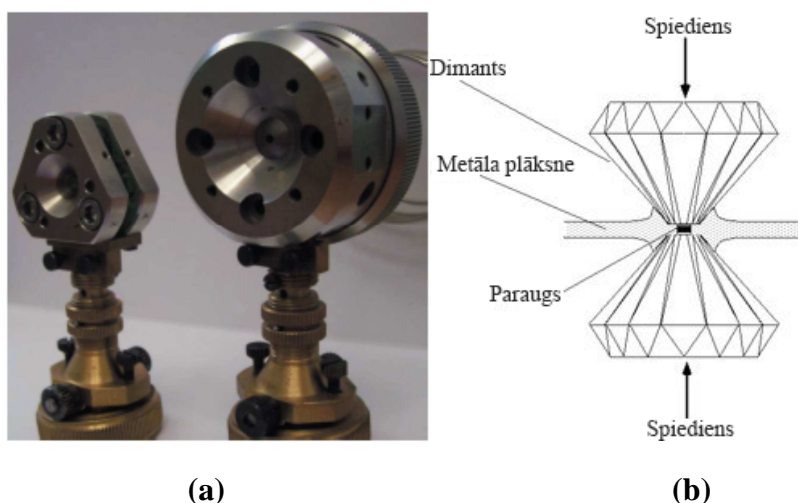
informāciju par molekulas skeleta kopējām vibrācijām, līdz ar to šī apgabala sniegtā informācija ir daudz grūtāk interpretējama.

Infrasarkanā spektroskopija tiek izmantota gan rutīnas analīzēm, gan arī zinātniskiem pētījumiem farmaceitiski aktīvo vielu analīzē. Ar šīs samērā letās metodes palīdzību pēta un skaidro cietvielu struktūru, identificē cieto fāžu maisījumu komponentus, raksturo farmaceitiski aktīvo vielas un pildvielu mijiedarbīb, nosaka vielas kristāliskuma pakāpi un veic citus līdzīgus uzdevumus.

Infrasarkano spektroskopiju apvienojumā ar termogravimetriju var izmantot, pētot farmaceitiski aktīvo vielu solvātu desolvatāciju vai degradāciju. Izmantojot infrasarkano spektroskopiju, var viegli identificēt temperatūras ietekmē izdalītos šķīdinātājus vai citas gaistošas vielas [50].

1.5.4. Augstspiediena rentgendifraktometrija

Augstspiediena rentgendifraktometrijas metode ir iepriekš aprakstītās parastās rentgendifraktometrijas metodes modifikācija, kurā tiek lietots specializēts parauga turētājs (sk. 1.6. att. (a)) un uzņemšana notiek augsta spiediena apstākļos.

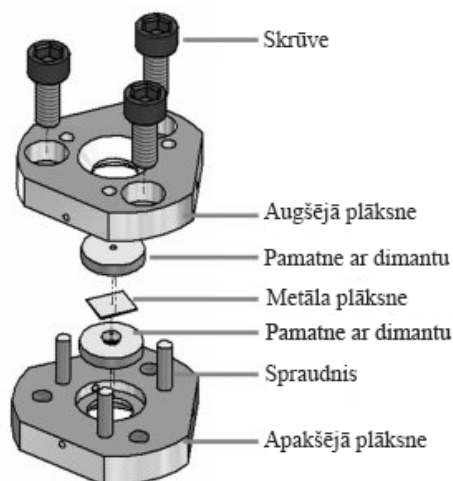


1.6. att. (a) - dažādi augstspiediena rentgendifraktometrijā lietotie paraugu turētāji (dimanta šūnas ar goniometra “galvu”) [51]; (b) – augstspiediena kristalogrāfijā izmantoto dimantu uzbūve [52]

Mērīšana un datu reģistrēšana notiek pēc tieši tāda paša principa, kā parastajā monokristāla rentgendifraktometrijā, bet ar specializētiem paraugu turētājiem mērījumus ir iespējams veikt dažādā spiedienā, tādējādi iegūstot dažādiem spiedieniem raksturīgus fāžu kristāliskās struktūras datus. Tādā veidā iespējams iegūt struktūras datus vielas polimorfem vai solvātiem, kuri atmosfēras spiedienā nav stabili, vai arī kuru kristalizācija atmosfēras spiedienā nenotiek, vai kristalizācijā iegūst monokristālu difraktometrijas mērījumiem nepiemērotu kristālu [53].

1.6. attēlā (a) ir redzami dažādi paraugu turētāji, kādus visbiežāk izmanto augstspiediena difraktometrijā. Paraugu turētājs ir uzmontēts uz goniometra “galvas”. Pats paraugu turētājs sastāv no 2 dimantiem (sk. 1.6. att. (b)), kuriem ir 8 vai 16 šķautnes [51].

Dimanti ir simetriski un savstarpēji identiski. Dimants ir šādas šūnas konstruēšanai piemērots materiāls, jo tam pie īsa rentgenstarojuma viļņa garuma ir zems absorbcijas koeficients ($\mu_{\text{dimants}}(\text{Mo } K_{\alpha})=0.202 \text{ mm}^{-1}$). Katrs no dimantiem ir ievietots tērauda cilindrā ar konusveidīgu caurumu. Tērauda cilindrs ir ievietots berilija diskā. Berilija diski var būt dažādas formas, kā tas ir redzams 1.6. attēlā (a). Berilija diskā ir 3 vai 4 skrūves, kuras pievelkot, starp dimantiem tiek radīts paaugstināts spiediens. Starp dimantiem ir novietota plāksnīte, kurai vidū ir simetrisks apļveida caurums, kurā tiek ievietots paraugs ar izvēlēto šķīdinātāju. Plāksnītes var būt izgatavotas no dažāda materiāla, piemēram, no volframa, tērauda vai kāda cita sakausējuma. Parauga turētāja uzbūve ir parādīta 1.7. attēlā [51].



1.7. att. Augstspiediena parauga turētāja shematisks attēlojums

Jāpiezīmē, ka visi reģistrētie refleksi nenāk no paša parauga, jo gan dimants, gan arī parauga turētājs dod difrakcijas ainu. Līdz ar to pirms struktūras risināšanas, veicot režģa parametru noteikšanu, šie liekie refleksi ar datorprogrammā iebūvētu algoritmu tiek izslēgti. Tas iespējams, jo šo refleksu pozīcija un raksturīgā forma jau iepriekš ir zināmas. Piemēram, dimanta refleksi būs visintensīvākie no visiem detektētajiem refleksiem, savukārt parauga turētāja refleksi nebūs simetriski. Klasiskajā monokristāla difraktometrijā dati tiek iegūti no jebkura kristāla rakursa, bet augstspiediena difraktometrijā tas ir iespējams tikai 60° platā atvērumā no katras puses (kas ir trīs reizes mazāk nekā klasiskajā metodē). Šī iemesla dēļ nereti tiek iegūts nepietiekams skaits refleksu, kas neļauj atrisināt kristālisko struktūru [51].

Lai būtu iespējams noteikt spiedienu, kāds tiek radīts ar skrūvju un izvēlēta hidrostatiskā šķīdinātāja palīdzību, tiek izmantots rubīns, kas pirms parauga iepildīšanas tiek ievietots plāksnītes caurumā [54], un kura spiedienu nosaka pēc rubīna gaismas absorbcijas viļņa garuma, ko pirms un pēc rentgendifraktometrijas mērījuma nosaka ar spektrometru.

Rubīnam atkarībā no spiediena ir lineāra viļņa garuma nobīde, līdz ar to, ja ir zināms rubīna viļņa garums normālos apstākļos, tad var atrast citam viļņa garumam atbilstošo spiedienu. Šī lineārā sakarība saglabājas līdz 20 GPa, bet no 20 GPa līdz pat 180 GPa tiek novērota kvazi-lineāra sakarība [51,54].

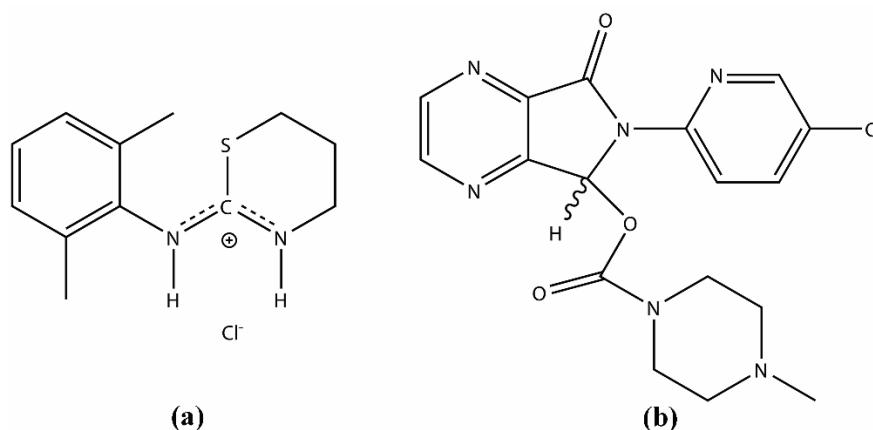
Pirms veikt augstspiediena eksperimentu, jāatrod šķīdinātājs, kur attiecīgais savienojums šķīst (pārāk augsta vai zema šķīdība nav vēlama). Palielinoties spiedienam, vielas šķīdība samazinās, jo savienojums labāk kristalizējas par cietām fāzēm. Tāpat jānoskaidro paša izmantotā šķīdinātāja kristalizācijas spiediens, lai augstā spiedienā netiktu iegūti šķīdinātāja kristāli. Populārākie šķīdinātāji ir ūdens, metanols un etanols, kā arī to maisījumi. Jāņem gan vērā, ka ūdens kristalizējas jau pie ~1 GPa, kas samazina tā lietošanas iespējas.

Augstspiediena rentgendifraktometriju izmanto [55,56]:

- 1) vielas jaunu polimorfo formu un solvātu iegūšanā;
- 2) spiediena ietekmē notiekošu fāžu pāreju novērošanā;
- 3) lai izvērtētu spiediena ietekmi uz vielas struktūru un kristāliskā režģa parametriem.

1.6. Izvēlēto farmaceitiski aktīvo vielu raksturojums

Darbā pētītas divu farmaceitiski aktīvo vielu – ksilazīna hidrogēnhlorīda un zopiklona (sk. attiecīgi 1.8. att. (a) un (b)) fāžu pārejas un tās ietekmējošie faktori. No 1.8. attēla ir redzams, ka to molekulu uzbūve ir atšķirīga, bet no termodinamiskā viedokļa abu vielu hidrāti dehidratējas par metastabilu polimorfo formu, kura vēlāk pāriet termodinamiski stabilākā polimorfajā formā.



1.8. att. Izvēlēto farmaceitiski aktīvo vielu struktūrformulas: (a) – ksilazīna hidrogēnhlorīds, (b) - zopiklons

Abām aktīvajām vielām gaisā stabilākā forma ir hidrāts (zopiklonam – dihidrāts [33,57], ksilazīna hidrogēnhlorīdam – monohidrāts [58]), bet paaugstinātā temperatūrā bezūdens forma (zopiklonam – A [33,57], ksilazīna hidrogēnhlorīdam – A [58]). Abu vielu

dehidratācijā no hidrāta veidojas termodinamiski metastabila polimorfā forma (ksilazīna hidrogēnhlorīdam – X, zopiklonam – C), kura paaugstinātā temperatūrā pāriet termodinamiski stabilākajā polimorfajā formā [33,57,58]. Detalizētāks abu vielu apraksts ir dots zemāk.

1.6.1. Ksilazīna hidrogēnhlorīds

Ksilazīna hidrogēnhlorīds ir veterinārajā praksē noderīgs preparāts, kuru injekciju veidā izmanto lielo nepārtikas dzīvnieku (galvenokārt zirgu) anestēzijai. Tas ir labs muskuļu relaksants. Tā sāpes remdējošā un nomierinošā iedarbība saistīta ar centrālās nervu sistēmas pasivēšanu. Muskuļu atslābināšana šajā gadījumā balstās uz nervu impulsu nomākšanu centrālajā nervu sistēmā [59]. Veterinārajā anestēzijā ksilazīnu izmanto kombinācijā ar ketamīnu. Informācija par to, kā ksilazīna hidrogēnhlorīds iedarbojas uz cilvēku, nav pieejama [60].

Ksilazīna hidrogēnhlorīds ir balts vai gandrīz balts kristālisks pulveris, tā kušanas temperatūra ir 165-168 °C. Tas ļoti labi šķīst ūdenī, metanolā un hloroformā, bet praktiski nešķīst heksānā un ēterī [60].

Pēc *IUPAC* nomenklatūras ksilazīna hidrogēnhlorīda nosaukums ir *N*-(2,6-dimetilfenil)-5,6-dihidro-4*H*-1,3-tiazīn-2-amīna hidrogēnhlorīds [60].

Ksilazīna hidrogēnhlorīdam ir zināmas četras polimorfās formas, kā arī četras pseidopolimorfās formas (hidrāts, pushidrāts un divi solvāti – ar metilēnhlorīdu vai izopropanolu). Stabilākā forma gaisā ir hidrāts. Četras nesolvatētās ksilazīna hidrogēnhlorīda formas ir apzīmētas ar burtiem A, M, X un Z [61].

No visām nesolvatētajām ksilazīna hidrogēnhlorīda formām nestabilākā ir forma X. Augstās temperatūrās stabilākā ir forma A, bet zemās – forma Z. Formas X un A veido enantiotropisku polimorfo formu sistēmu [61].

1.6.1. Zopiklons

Zopiklons ir farmaceitiski aktīva viela, kuru tās sedatīvo īpašību dēļ izmanto bezmiega ārstēšanā. Zopiklons ir balta, kristāliska viela, kura labi šķīst organiskos šķīdinātājos (piem., spirtos, un hlorētajos šķīdinātājos), bet nešķīst ūdenī. Tā kušanas temperatūra ir 178 °C. Pēc *IUPAC* nomenklatūras zopiklona nosaukums ir 6-(5-hlorpiridin-2-il)-5-[4-metilpiperazinokarboniloksi]-7-okso-5,6-dihidropirollo-[3,4b]pirazīns.

Literatūrā [33,62] ir aprakstītas trīs zopiklona kristāliskās formas, kuras savstarpēji atšķiras ar režģa parametru vērtībām un fizikālķīmiskajām īpašībām. Paaugstinātā temperatūrā stabilākā ir zopiklona forma A ar ortorombisko kristālrežģi, bet mitruma ietekmē rodas dihidrāts (forma B), kam atbilst monoklīnais kristālrežģis. Formas B dehidratācijā rodas bezūdens forma C ar monoklīno kristālrežģi.

Zopiklona kristālisko formu kristālrežģa parametri, kuri iegūti no Kembridžas struktūru datu bāzes, apkopoti 1.3. tabulā.

Polimorfo formu līdzsvara apstākļu pētījumā noskaidrots, ka forma C jebkurā temperatūrā un relatīvajā mitrumā (RM) pāriet formā A, līdz ar to tā ir termodinamiski metastabila forma. Savukārt, lai forma A nepārietu formā B, RM ir jābūt mazākam par 40% [62].

1.3. tabula

Zopiklona formu kristālrežģu parametri

Režģa parametri	Zopiklona formas		
	A	B	C
Simetrija, simetrijas grupa	Ortorombiskā, P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	Monoklīnā, P2 ₁ c	Monoklīnā, P2 ₁ c
a, Å	5,567(3)	16,374(4)	15,2023(4)
b, Å	8,852(2)	7,030(3)	7,1510(2)
c, Å	35,677(2)	17,185(2)	17,6577(3)
β, °	-	108,62(1)	111,213(1)

2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

2.1. Izmantotās iekārtas un vielas

2.1.1. Pulvera rentgendifraktometrs

Izmantoti rentgendifraktometri *Bruker D8 Advance* un *Bruker D8 Discover* (augsttemperatūras pētījumiem) ar pozīcijas jutīgo detektoru *LynxEye*. Izmantotie difraktometru darba režīmi apkopoti 2.1. tabulā.

2.1. tabula

Bruker D8 Advance / Bruker D8 Discover difraktometru darba režīma parametri

Parametri	1*	2*
Starojums		CuK _α
Anoda spriegums		40 kV
Anoda strāva		40 mA
K _β filtrs		0,02 mm bieza niķeļa folija
Spraugas		
Diverģences, mm		0,6
Pretizklīdes, mm		8,0
Mērījuma solis		0,02
Skaitīšanas laiks uz soli, s		0,2/0,5
Uzņemšanas intervāls	9 – 25 / 10 – 16,6	3 – 19 / 3 – 19
2Θ skalā, °		

1* - ksilazīna hidrogēnhlorīda cietfāžu pārejas pētījumiem;

2* - zopiklona cietfāžu pārejas pētījumiem.

2.1.2. Monokristāla rentgendifraktometrs

• Augstspiediena mērījumi veikti, izmantojot *KUMA KM4-CCD* monokristāla difraktometru (Adama Mickeviča Universitātē, Poznaņā, Polijā) ar MoK_α (0.71073 Å) starojumu 296 K temperatūrā. Lai iegūtu *hkl* indeksus, izmantoja *CrysAlisPro 171.37.31* [63] programmu.

• Ksilazīna hidrogēnhlorīda formas A struktūras datu noteikšanai izmantots *Nonius Kappa CCD (Bruker AXS GmbH)* monokristāla difraktometrs ar Mo-K_α (0.71073 Å) starojumu 173 K temperatūrā. Lai iegūtu *hkl* indeksus, izmantoja *DENZO/SCALEPACK* [64] programmu.

2.1.3. Termiskās analīzes metodes

• DTA/TG analīzes veica ~7 mg paraugiem ar *SII Exstar 6000* derivatogrāfu. Darba režīmi apkopti 2.2. tabulā.

2.2. tabula

Derivatogrāfa darba režīma parametri	1	2*
Sākuma temperatūra, °C	30	
Beigu temperatūra, °C	200	220
Ātrums, °/min	10	5
Parauga turētājs	alumīnija trauciņš	

*- paraugiem pēc mehāniskas saspiešanas.

• DSK - kalorimētrs 823e (*Mettler Toledo*) (A/S Grindeks). Izmantots alumīnija trauciņš ar 0.5 mm diametra caurumu augšējā kausiņa vāciņā. Paraugi ar masu ~7 mg tika uzkarsti no 30 līdz 220 °C ar ātrumu 10°·min⁻¹.

• Termomikroskops - *Laborlux 12 PolS (Leitz)* (Rīgas Tehniskā Universitāte) polarizācijas gaismas mikroskops ar regulējamu karsēšanas ātruma sildvirsmu. Karsēšanas ātrums 5°·min⁻¹. Procesa kontrolei izmantoja *DFC450 (Leica)* digitālo kameru ar *Leica Application Suite* programmu.

2.1.4. Citas iekārtas

• Hidrauliskā spiedprese – maksimālais spiediens 25 tonnas. Presforma – diametrs 13 mm.

• Vibro-lodīšu dzirnavas – ražotājs *Retsch GmbH, Germany*; modelis - *Retsch MM301*, maksimālā frekvence 30 Hz, parauga turētāja tilpums – 5 ml, izmantotas divas nerūsējošā tērauda bumbiņas ar 0,9 cm diametru.

• *Mastersizer 2000 MAL 102023* lāzera difrakcijas analizators (A/S Grindeks), izmantots daļiņu lieluma sadalījuma mērījumiem. Lāzera stara garums: 10,00 mm, skaitīšanas laiks 3000 ms, mērījuma diapazons: 0,020 – 2000 μm.

• Infrasarkanais spektromētrs – ražotājs *PerkinElmer* ar universālo ATR (*attenuated total reflection*) parauga turētāju. Pirms katra mērījuma uzņem fona spektru. Izmanto pulvera paraugu, kuru novieto uz dimanta ATR kristāla. Spektrs uzņemts 4000-650 cm⁻¹ robežās ar 2 cm⁻¹ izšķirtspēju, katrs spektrs ierakstīts 16 reizes.

• Gaisa termostats *Memmert Universal Oven* Nr. 32881, ±0,5 °C temperatūra.

• Organiskā stikla bokss – relatīvais gaisa mitrums (RM) < 5%, ko uztur ar koncentrētu sērskābes šķīdumu.

2.1.5. Vielas

• Dejonizēts ūdens – dejonizēts laboratorijā ar *Adrona Crystal 5 iekārtu*, elektrovadītspēja $<0,3 \mu\text{S}$.

- Izopropanols - ražots Eiropas Savienībā, analītiski tīrs, izplatītājs SIA „Enola”.
- Hloroforms - ražots Eiropas Savienībā, analītiski tīrs, izplatītājs SIA „Enola”.
- Dihlormetāns - ražots Eiropas Savienībā, analītiski tīrs, izplatītājs SIA „Enola”.
- Metanols - ražots Eiropas Savienībā, analītiski tīrs, izplatītājs SIA „Enola”.
- Litija bromīds – Sigma-Aldrich, tīrība $\geq 99\%$.
- Litija hlorīds – Sigma-Aldrich, tīrība $\geq 99\%$.
- Magnija hlorīds – Sigma-Aldrich, tīrība $\geq 99\%$.
- Fosfora pentoksīds - ražots Eiropas Savienībā, analītiski tīrs, izplatītājs SIA „Enola”.
- Saharoze – izcelsme no komerciāli pieejamiem avotiem, izmantots bez attīrīšanas, rentgendifraktometriski tīrs.

• Kalcija karbonāts - izcelsme no komerciāli pieejamiem avotiem, izmantots bez attīrīšanas, rentgendifraktometriski tīrs.

- Magnija stearāts – piegādātājs A/S “Grindeks”, farmaceitiski tīrs.
- Kalcija stearāts - piegādātājs A/S “Grindeks”, farmaceitiski tīrs.
- Laktozes monohidrāts - piegādātājs A/S “Grindeks”, farmaceitiski tīrs.
- Celuloze - piegādātājs A/S “Grindeks”, farmaceitiski tīrs.
- Polietilēna plēve – biezums $10 \mu\text{m}$.
- Ksilazīna hidrogēnhlorīda forma H - ražota A/S „Grindeks” ar tīrību $99,9\%$.
- Zopiklona forma A – ražota A/S „Grindeks” ar tīrību $99,9\%$.

2.2. Paraugu sagatavošana

2.2.1. Ksilazīna hidrogēnhlorīda formu iegūšana un *in-situ* kinētikas pētījumi

No A/S „Grindeks” saņemtajam ksilazīna hidrogēnhlorīda paraugam uzņēma rentgendifraktogrammu, lai pārbaudītu parauga sastāvu. Saņemtais paraugs bija rentgendifraktometriski tīra forma H (komerciālais paraugs). Saņemto paraugu izmantoja, lai iegūtu tīras ksilazīna hidrogēnhlorīda kristāliskās formas.

formu H - komerciālo paraugu piestā apstrādājot ar dejonizētu ūdeni līdz pastas konsistencei un tad beržot, līdz ieguva sausu pulveri.

formu H (pārkristalizētais paraugs) – saņemto komerciālo paraugu pārkristalizēja no etanola un etilacetāta maisījuma tilpuma attiecībā 1:1. Pēc visa ksilazīna hidrogēnhlorīda izšķīšanas paaugstinātā temperatūrā iegūto maisījumu atdesēja līdz laboratorijas temperatūrai. Pēc nogulšņu parādīšanās šķīdumu nofiltrēja un iegūtās nogulsnes izžāvēja.

formu X ieguva, formu H pēc apstrādes piestā ar dejonizētu ūdeni izturot aptuveni 24 h 40 °C temperatūrā.

formu A – jebkuru ksilazīna hidrogēnhlorīda kristālisko formu iztur ~ 2 dienas 100 °C temperatūrā. Formas A monokristālus ieguva, piesātinātu ksilazīna hidrogēnhlorīda etilacetāta šķīdumu lēni iztvaicējot 50 °C temperatūrā.

formu Z – Apstrādājot formas A vai X piestā ar solvātus neveidojošu šķīdinātāju līdz pastas konsistencei. Pēc tam iegūto pastu berza, līdz izveidojās sauss pulveris.

formu M – Apstrādājot formas A vai X piestā ar metilēnhlorīdu līdz pastas konsistencei. Pēc tam iegūto pastu berza, līdz izveidojās sauss pulveris. Iegūto pulveri 24 h izturēja sausajā organiskā stikla boksā.

Par parauga tīrību pārlicinājās pēc uzņemtās difraktogrammas, kuru salīdzināja ar literatūrā pieejamām ksilazīna hidrogēnhlorīda kristālisko formu rentgendifraktogrammām [61].

Ksilazīna hidrogēnhlorīda formas X pārejas par formu A pētījumi *in-situ* režīmā. Formu X iepresēja nerūsējošā tērauda parauga turētājā, kuru ievietoja siltumkamerā, kura bija uzmontēta uz pulvera difraktometra *Discover*. Eksperimentu veica no 80 līdz 105 °C temperatūrai ar soli 5 °C / mērījums, katrā mērījumā sagatavojot jaunu paraugu. Uzņēma rentgendifraktogrammu, pie fiksēta laika nepārtraucot parauga karsēšanu. Katrā temperatūras punktā eksperimentu turpināja tik ilgi, kamēr ieguva tīru formu A.

2.2.3. Zopiklona formu iegūšana

No A/S „Grindeks” saņemtajiem zopiklona paraugiem uzņēma rentgendifraktogrammas, lai pārbaudītu paraugu sastāvu. Saņemtie paraugi parasti saturēja rentgendifraktometriski tīru formu A, bet dažreiz arī formu A un B maisījumu. Saņemtos paraugus izmantoja, lai pagatavotu tīras zopiklona kristāliskās formas.

Formu B - komerciālo paraugu apstrādājot piestā ar dejonizētu ūdeni līdz pastas konsistencei. Iegūto pastu atstāja laboratorijas gaisā nožūt.

Formu C – izturot formu B 1-2 dienas 40 °C temperatūrā.

Formu A - izturot formu C vai B paaugstinātā temperatūrā (parasti virs 100 °C).

Par parauga tīrību pārlicinās, uzņemot difraktogrammu, kuru salīdzina ar literatūrā pieejamām zopiklona kristālisko formu rentgendifraktogrammām [33].

2.3. Ksilazīna hidrogēnhlorīda paraugu sagatavošana cietfāžu pārejas H→X→A pētījumiem un eksperimenta gaita

Visiem paraugiem pēc to sagatavošanas eksperimentam uzņēma rentgendifraktogrammas, režīmu skatīt 2.1. tabulā.

Temperatūras ietekme. Eksperimentam kopā sagatavoja 8 paraugus - tīru formu H (iegūta, piestā apstrādājot komerciālo paraugu ar dejonizētu ūdeni), tīru formu X, kā arī sešus formu X un H maisījumus - katrai temperatūrai (70, 80 un 90 °C). Maisījumu sastāvus noteica pēc uzņemtajām rentgendifraktogrammām, izmantojot pilna profila metodi (apraksts 2.11. nodaļā). Pirmo difraktogrammu uzņēma pēc paraugu izturēšanas 30 minūtes eksperimenta apstākļos. Pēc tam, atkarībā no pārvēršanās pakāpes, uzņēma difraktogrammu pie fiksēta laika. Paraugus izturēja tik ilgi, kamēr ieguva tīru formu A.

Pārējos eksperimentus (lai noskaidrotu relatīvā gaisa mitruma, parauga sabēršanas un mehāniskā spiediena ietekmi) veica 80 °C temperatūrā. Pirmo difraktogrammu uzņēma pēc paraugu izturēšanas 30 minūtes eksperimenta apstākļos. Pēc tam, atkarībā no pārvēršanās pakāpes, uzņēma difraktogrammas pie fiksēta laika. Paraugus izturēja tik ilgi, kamēr ieguva tīru formu A.

Relatīvā gaisa mitruma ietekme. Sagatavoja tīru formas H paraugu katram relatīvā gaisa mitruma eksperimentam. Paraugus ievietoja 80 °C temperatūrā pie ~0, 5, 10 un 15% relatīvā gaisa mitruma. Lai nodrošinātu 0% relatīvo gaisa mitrumu, izmantoja P₂O₅, 5% relatīvajam gaisa mitrumam – piesātinātu LiBr šķīdumu, 10% relatīvajam gaisa mitrumam – piesātinātu LiCl šķīdumu, bet 15% relatīvo gaisa mitruma nodrošināja ar 64% sērskābes šķīdumu.

Parauga malšanas efekts. Tīru formu H - gan komerciālo paraugu, gan arī pārkristalizēto paraugu - ievietoja vibro-lodīšu dzirnavu parauga turētājā. Parauga malšanas frekvence bija 15 Hz. Paraugi tika malti 2, 10, 60 minūtes, katru reizi pēc katra malšanas cikla paņemot eksperimentam nepieciešamo parauga daudzumu. Paraugi tika malti laboratorijas temperatūrā (22±2 °C). Parauga turētāja temperatūra malšanas laikā netika kontrolēta. Komerciālo nemalto formu H un 60 minūtes malto paraugu pārbaudīja uz parauga daļiņu lieluma sadalījumu.

Mehāniskā spiediena ietekme. Tīru H formu – gan komerciālo, gan arī pārkristalizēto paraugu saspieda mehāniskā, manuālā spiedpresē ar 74.8, 114 un 225 MPa lielu spiedienu. Iegūto tableti izjauca piestā un ieguva atpakaļ pulvera vielu.

2.4. Ksilazīna hidrogēnhlorīda paraugu sagatavošana cietfāžu pāreju Z → A un M → A pētījumiem un eksperimenta gaita

Temperatūras ietekme. 1) Paraugus ievietoja gaisa termostatā 80, 100, 110 un 120 °C temperatūrā un atkarībā no pārvēršanās pakāpes (biežāk pie augstākas temperatūras) uzņēma

difraktogrammas pie fiksēta laika, lai noskaidrotu parauga sastāvu pārejas laikā. Paraugus izturēja tik ilgi, kamēr ieguva tīru formu A.

2) *In-situ* mērījumi – sagatavotos paraugus iepresēja nerūsējošā tērauda parauga turētājā. Sagatavoto paraugu ievietoja sildīšanas kamerā noteiktā temperatūrā (100, 105, 110, 115, 120 un 125 °C) un atkarībā no pārvēršanās pakāpes uzņēma difraktogrammu pie fiksēta laika, nepārtraucot parauga karsēšanu paaugstinātā temperatūrā. Paraugu izturēja tik ilgi, kamēr ieguva tīru formu A.

Parauga saberšanas ietekme. Paraugu piestā saberza 2, 6 un 10 minūtes, kā arī eksperimentam sagatavoja neberztu katras formas paraugu. Fāžu pāreju no formas M uz formu A veica pie 90 °C, bet fāžu pāreju no formas Z uz A veica 100 °C temperatūrā. Atkarībā no pārvēršanās pakāpes uzņēma difraktogrammu pie fiksēta laika, lai noskaidrotu parauga sastāvu pārejas laikā. Paraugus izturēja tik ilgi, kamēr ieguva tīru formu A.

2.5. Ksilazīna hidrogēnhlorīda paraugu sagatavošana cietfāžu pāreju $X \xrightarrow{+Z} A$ un $X \xrightarrow{+M} A$ pētījumiem un eksperimenta gaita

Temperatūras ietekme. Eksperimentam sagatavoja formu Z un X, kā arī M un X maisījumus dažādās attiecībās. Paraugus pagatavoja, kopā sajaucot formas Z un X vai M un X, tā lai formas Z vai M būtu apmēram 5%, 10%, 20% un 40% no parauga kopējās masas. Masu attiecību kontrolēja ar laboratorijas svariem. Precīzu maisījuma sastāvu noteica pēc uzņemtās rentgendifraktogrammas, izmantojot pilna profila metodi. Eksperimentam sagatavoja arī tīru X formu. Eksperimentu veica 70, 80 un 90 °C temperatūrā. Atkarībā no pārvēršanās pakāpes difraktogrammu uzņēma fiksētā laika momentā. Paraugus izturēja tik ilgi, kamēr visa forma X forma pārgāja par formu A

2.6. Zopiklona paraugu sagatavošana cietfāžu pārejas $C \rightarrow A$ pētījumiem un eksperimenta gaita

Temperatūras ietekme. Eksperimentu veica *in-situ* režīmā – sagatavoto formas C paraugu iepresēja nerūsējošā tērauda parauga turētājā un ievietoja sildīšanas kamerā tam paredzētāja vietā pie noteiktas temperatūras. Eksperimentus veica 95, 100, 105, 110, 115 un 110 °C temperatūrā.

Relatīvā gaisa mitruma ietekme. Eksperimentu veica 80 °C temperatūrā 0%, 5%, 10% un 26% relatīvajā gaisa mitrumā. Lai nodrošinātu 0% relatīvo gaisa mitrumu, izmantoja P₂O₅, 5% relatīvajam gaisa mitrumam – piesātinātu LiBr šķīdumu, 10% relatīvajam gaisa mitrumam – piesātinātu LiCl šķīdumu, bet 26% relatīvo gaisa mitruma nodrošināja ar piesātinātu MgCl₂ šķīdumu.

Parauga saberšanas ietekme. Formu C saberza 2, 4, 6, 10 un 15 minūtes ahāta piestā un iepresēja stikla parauga turētājā. Eksperimentu veica 80 °C temperatūrā.

Paraugi karsēti tik ilgi, kamēr radās tīra forma A. Atkarībā no pārvēršanās pakāpes uzņēma difraktogrammu fiksētā laika momentā, lai noskaidrotu parauga sastāvu pārejas laikā. Parauga sastāvu noskaidrošanai izmantoja Ritvelda metodi.

2.7. Zopiklona paraugu sagatavošana cietfāžu pārejas B→C→A pētījumiem un eksperimenta gaita

Temperatūras ietekme. Sagatavoja kopumā 6 paraugus katram temperatūras eksperimentam - tīru formu B, tīru formu C, kā arī četrus formu B un C maisījumus. Formu B un C maisījumus ieguva, piestā dažādās attiecībās sajaucot formas B un C. Masas attiecību kontrolēja ar laboratorijas svāriem. Maisījumu sastāvus noteica pēc uzņemtajām rentgendifraktogrammām, izmantojot Ritvelda metodi. Eksperimentu veica 80, 90 un 100 °C temperatūrā.

Relatīvā gaisa mitruma ietekme. Sagatavo tīru formas B paraugu katram relatīvā gaisa mitruma eksperimentam. Eksperimenti veikti 80 un 90 °C temperatūrā; 0%, 5%, 10% un 26% relatīvajā gaisa mitrumā.

Parauga samalšanas ietekme. Veikts eksperiments, izturot tīru formu B 80 °C temperatūrā. Pirms eksperimenta forma B tika malta 2, 10, vai 60 minūtes ar malšanas frekvenci 15 Hz. Paraugi malti 2, 10, vai 60 minūtes, katru reizi pēc malšanas cikla paņemot nepieciešamo parauga daudzumu eksperimentam. Malšanas process veikts laboratorijas temperatūrā (22±2 °C). Parauga turētājos temperatūra beršanas laikā netika kontrolēta. Eksperimentam sagatavoja arī nemaltu B paraugu. Visiem paraugiem uzņēma difraktogrammas un derivatogrammas.

Pirmā difraktogramma uzņemta pēc 30 minūšu izturēšanas eksperimenta apstākļos. Pēc tam, atkarībā no pārvēršanās pakāpes, uzņem difraktogrammu pēc fiksēta laika. Paraugus izturēja tik ilgi, kamēr ieguva tīru A formu. Paraugu sastāvu noteica, izmantojot Ritvelda metodi.

2.8. Ksilazīna hidrogēnhlorīda un zopiklona paraugu sagatavošana, lai noskaidrotu pildvielas ietekmi uz fāžu pārejas ātrumu

Eksperimentam izmantoja sešas pildvielas, kuras ir plaši lietotas zāļu ražošanā – magnija un kalcija stearātu, laktozes hidrātu, celulozi, kalcija karbonātu un saharozi.

Farmaceutiski aktīvās vielas termisko īpašību stabilitātes atkarība no pildvielu veida un daudzuma. Lai noskaidrotu farmaceutiski aktīvo vielu stabilitāti atkarībā no pildvielu veida un daudzuma, izmantoja DTA metodi. Eksperimentam sagatavoja maisījumus

no 30, 50 vai 70% aktīvās vielas un pildvielām. Masas daļas kontrolēja, izmantojot analītiskos svarus. Paraugus pēc vielu samaisīšanas sverglāzēs homogenizēja apmēram 1 minūti. Maisījumiem uzņēma derivatogrammu un IS spektrus atbilstoši 2.2. tabulā norādītajiem parametriem.

Pildvielu daudzuma ietekme uz fāžu pārejas ātrumu. Eksperimenti veikti 80 °C temperatūrā. Sākuma paraugam (formai X vai C) zināmos daudzumos piejauca klāt pildvielas – kalcija karbonātu, cukuru, laktozes monohidrātu, kalcija stearātu, magnija stearātu vai celulozi. Eksperimentam sagatavoja četrus paraugus ar pildvielu piejaukumu (30%, 50% vai 70%) un tīru formu X. Masas daļu kontrolēja, izmantojot analītiskos svarus. Paraugus pēc abu vielu samaisīšanas sverglāzēs homogenizēja apmēram 1 minūti. Atkarībā no pārvēršanās pakāpes, pēc fiksēta laika uzņēma difraktogrammas. Paraugus izturēja tik ilgi, kamēr forma X pilnībā pārvērtās par formu A.

2.9. Augstspiediena pētījumi

Monokristālu iegūšanai izmantoja metanolu, hloroformu vai izopropanolu, pagatavojot piesātinātus ksilazīna hidrogēnhlorīda šķīdumus, kuru iepildīja sagatavotā dimanta šūnā (shēma ir parādīta 1.7. attēlā). Plāksnītes cauruma diametrs – no 0,3 līdz 0,5 mm, materiāls – volframs vai dzelzs sakausējums. Šūnā ievietots arī rubīna monokristāls, kuru izmanto spiediena kontrolei. Pēc šķīduma iepildīšanas šūnā to ar skrūvju palīdzību noslēdza. Palielinot spiedienu, šķīduma tilpums samazinājās un viela sāka kristalizēties.

Šūnā paaugstināja temperatūru, lai izveidojušies kristāli izšķīda un tika iegūts viens monokristāls. Līdz ko palika viena kristāla aizmetnis, temperatūra tika lēnām samazināta. Temperatūras samazināšanas laikā kristāls lēni un vienmērīgi auga. Iegūstot pietiekami lielu un labas kvalitātes kristālu, dimanta šūnā tika nomērīts spiediens un iegūti kristāla struktūras dati (uzņemšanas režīms norādīts 2.1.2 nodaļā). Pēc struktūras datu iegūšanas spiedienu palielināja. Pie katra spiediena kristālam ieguva jaunus struktūras datus. Spiedienu palielināja tik ilgi, kamēr izveidojās polikristāliska masa, kas traucēja struktūras datu iegūšanai (hidrātam līdz 0.60 GPa, Z formai līdz 0.2 GPa, solvātiem līdz 1 GPa).

Pēc struktūras datu iegūšanas ar *CrystAlisPro* programmu veica režģa parametru un atbilstošo *hkl* indeksu meklēšanu, izslēdzot dimanta un parauga turētāja dotos refleksus. Pēc atbilstošo režģa parametru atrašanas un *hkl* indeksu iegūšanas ar *Olex* programmas [65] palīdzību pēc tiešās metodes atrisināja kristāla struktūru. Struktūras optimizēšanai izmantoja mazāko kvadrātu metodi.

2.10. Datu apstrāde

2.10.1. Kvantitatīvā sastāva noteikšanas metodes

Pilna profila metode. Ar šo metodi analizēja nevis parauga kāda atsevišķa refleksa intensitāti, bet gan visu difraktogrammu kopumā, nepieciešamības gadījumā veicot nobīdi pa 2Θ skalu. Tīro formu un eksperimentālo paraugu rentgendifraktogrammas pārveidoja no *.raw datnes par *.uxd datni ar programmu *Raw File Exchange*. Teorētiski iespējamās intensitāšu skaitliskās vērtības aprēķināja pēc (2.1) vienādojuma:

$$I_{teor} = Q \cdot (I_{II} \cdot W_{II} + I_I \cdot (1 - W_I)), \quad (2.1)$$

kur I_{teor} – teorētiski aprēķinātā intensitāte, imp/s; Q – normalizācijas koeficients (ideālā gadījumā jābūt 1); I_I , I_{II} – eksperimentāli noteiktās intensitātes, imp/s; W_I , W_{II} – masas daļa paraugā, %.

Aprēķināja eksperimentāli noteikto un teorētisko refleksu intensitāšu starpības kvadrātu pēc (2.2) vienādojuma:

$$\Delta I = (I_{ekp} - I_{teor})^2, \quad (2.2)$$

summēja refleksu intensitāšu starpības kvadrātus un ar *Excel* palīgprogrammu *Solver* iegūto summu minimizēja, kā optimizējamus parametrus izvēloties Q un W .

Ritvelda metode. Kvantitatīvās analīzes metode, iekļauta programmas pakā Topas 4.2 [66]. Šī metode izmanto mazāko kvadrātu metodi, minimizējot funkcijas summu:

$$WSS = \sum_i w_i (I_i^{eksp} - I_i^{kal}), w_i = \frac{1}{I_i^{eksp}}, \quad (2.3)$$

kur I_i^{eksp} - eksperimentāli noteiktā intensitāte difratogrammā, I_i^{kal} - aprēķinātā intensitāte, kur tiek izmantoti vielas struktūras dati.

Šī metode ņem vērā ne tikai struktūras datus, bet gan arī fona pacēlumu, tekstūru, režģa parametrus, rentgenstara intensitāti, difraktometra ģeometriju un citus raksturojošos parametrus [47].

2.10.2. Cietfāžu pārejas eksperimentāliem datiem atbilstošo literatūrā aprakstīto kinētisko modeļu atrašana

Linearizācijas metode - lai atrastu mehānismu, pēc kura notiek apskatītās cietfāžu pārejas, eksperimentālos punktus sākumā modelēja ar literatūrā aprakstītajiem kinētikas vienādojumiem [20,35]. Eksperimentālos datus attēloja koordinātēs $f(\alpha) - t$, kā rezultātā modelī, kurš vislabāk aprakstīja eksperimentālos datus, ieguva taisni. Izvērtējot gan korelācijas koeficientu, gan eksperimentālo punktu izkliedi no linearizētās līknes, izvērtēja labāko sakritību. Parasti atlasīja 2 – 3 labākos kinētiskos modeļus.

Eksperimentālo datu aprakstīšana ar teorētisko kinētisko līkni – šajā stadijā eksperimentālie dati bija koordinātēs $\alpha-t$, kur teorētisko pārvēršanās pakāpi atkarībā no laika aprēķināja pēc teorētiskā matemātiskā modeļa, kurš tika izvēlēts linearizācijas metodē. Lai iegūtu nepieciešamo pārvēršanās pakāpi, optimizēja matemātiskajā modelī iekļauto ātruma konstanti; tika minimizēta summa, kuru iegūst saskaitot vērtības starp teorētisko un eksperimentālo pārvēršanās pakāpju starpības kvadrātiem.

2.10.3. Aktivācijas enerģijas aprēķināšana

Modelu metode. Sākumā atrod cietfāžu pārejas raksturojošo kinētisko modeli, kas ļauj aprēķināt ātruma konstanti. Iegūstot vairākas ātrumu konstantes pie dažādām temperatūrām un izmantojot (1.58) vienādojumu, aprēķina aktivācijas enerģiju, vai arī atliekot koordinātēs $\ln k-1/T$ var iegūt aktivācijas enerģiju, dalot taisnes virziena koeficientu ar universālo gāzes konstanti.

Bezmodelu metode. Šī metode pamatojas uz to, ka nav nepieciešamas atrast cietfāžu pārejas raksturojošo kinētisko modeli, jo nav nepieciešams izmantot ātruma konstanti. Izmantojot kādu citu parametru un izotermālajā vai ne-izotermālajā režīmā attiecīgi atliekot koordinātēs $-\ln t-1/T$ (t – laiks, T – temperatūra) un $\log \beta-1/T$, no taisnes virziena koeficienta var aprēķināt aktivācijas enerģiju [20]. Pēdējo režīmu var realizēt, izmantojot DTA vai DSK metodi hidratācijas vai dehidratācijas procesam. Šī metode ļauj iegūt aktivācijas enerģiju fāžu pārejai, kurai ir grūti atrast atbilstošu cietfāžu pārejas raksturojošo kinētisko modeli.

2.10.4. Kristālrežģa enerģijas aprēķināšana

Vielas kristālrežģa enerģijas vērtību iegūšanai tika izmantota pusempīriskā *PIXEL* metodoloģija programmā *CLP*. Izmantotie empīriskie parametri ir norādīti literatūrā [67]. Aprēķiniem nepieciešamās atomu pozīcijas tika iegūtas, izmantojot standarta *RETCIF* un *RETCOR* moduli. Molekulu elektronu blīvums tika aprēķināts programmā *Gaussian 09* [68] ar MP2/6-31G(d,p) bāzes funkciju komplektu un standarta režģa parametriem, kondensācijas līmenī 4 un ar aprēķinu *cutoff* vērtību 35Å.

3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

3.1. Metodikas pilnveidošana cietfāžu pārejas aprakstīšanai, kas paredz atsevišķu aizmetņu veidošanos un to augšanas ātruma konstanšu aprēķināšanu

Tādas metodikas izstrāde, kas dotu iespēju cietfāžu pārejas procesam noteikt gan aizmetņu veidošanās, gan arī augšanas stadijas ātruma konstantes, aizsāka jau izstrādājot bakalaura [69] un maģistra [70] darbus. Šajā darbā šī metodika tika pilnveidota un aprobēta, aprakstot vairāku fāžu pāreju kinētiku.

3.1.1. Metodikas matemātiskais pamatojums

Bija nepieciešams izveidot tādus vienādojumus un izstrādāt to atrisināšanas paņēmienus, kas ļautu aprēķināt divas atsevišķas ātrumu konstantes aizmetņu veidošanās un to augšanas procesiem. Tādā veidā divu fāžu savstarpējā pāreja:

$$\alpha_{(s)} \rightarrow \beta_{(s)}$$

tiek apskatīta kā divstadiju process, lai gan faktiskais stadiju skaits var būt arī lielāks, piemēram, kā atsevišķas stadijas var būt molekulu desorbcija no pārveidojamās fāzes, pārnese uz jaunās fāzes augšanas vietām, iekļaušanās jaunās fāzes kristāliskajā stuktūrā, u.c. Farmaceutiski aktīvās cietvielas parasti ir sīkdispersas un ir kompaktā stāvoklī. Pieņemot, ka jaunās fāzes kristāls var augt uz visu apkārtesošās izejas fāzes kristālu rēķina, pētāmajam paraugam var piemērot nepārtrauktas vides nosacījumus. Tas ļauj izslēgt no apskatīšanas gadījumus, kad aizmetņu veidošanās notiek uz izejas fāzes submikrokristālu virsmas vai tilpumā, kā arī norobežoties no augšanas frontes virzības vienā atsevišķā submikrokristālā.

Savukārt augšanas (pārvēršanās) ātruma samazināšanās uz augošas fāzes kristālu savstarpējās saskaršanās rēķina tiek ņemta vērā, augšanas ātrumu izsakot atkarībā no atlikušās fāzes masas daļas.

Piedāvātais mehānisms paredz jaunu aizmetņu veidošanos visā pārvēršanās gaitā atlikušajā izejas formas masas daļā laikā t . Tāpēc vienādojumu (1.1) var aizstāt ar šādu vienādojumu:

$$\frac{dN}{dt} = k_1 W_\alpha(t), \quad (3.1)$$

kur N – aizmetņu skaits; t – laiks; k_1 – aizmetņu veidošanās ātruma konstante; $W_\alpha(t)$ – sākuma fāzes atlikusī masas daļa laikā t .

Pieņemot, ka aizmetņu augšanas ātrums ir izotropisks un proporcionāls fāžu robežvirsmas laukumam, pie mazām pārvēršanās pakāpes vērtībām fāžu pārejas ātrumam jābūt proporcionālam visu augošo aizmetņu kopējam virsmas laukumam, lai gan arī pie mazas

pārvēršanās pakāpes augošie jaunās fāzes kristāli var saskarties. Iespējamība, ka divi augoši aizmetņi saskarsies un saskares zonā bloķēs viens otra augšanu, pieaug līdz ar pārvēršanās pakāpes palielināšanos. Tāda saskares zona pieaug, palielinoties pārvēršanās pakāpei β , un to var raksturot ar atlikušās masas daļu α . Procesa kopējo efektu aprakstīšanai izveidots (3.2) vienādojums:

$$\frac{dM}{dt} = k'_2 S_\beta W_\alpha^p(t), \quad (3.2)$$

kur M – augošās fāzes masa, S_β - augošās daļiņas virsmas laukums, W_α - izejas fāzes masas daļa, p – empīriskā konstante, kura apraksta kinētiskos apstākļus, kad β fāzes augošie aizmetņi sāk saskarties, līdz ar to pārejas saskarzonas laukums palielinās un ātrums samazinās.

Lai novērtētu visu dažāda izmēra daļiņu ieguldījumu kopējā augošās fāzes virsmas laukumā, apskatīsim augšanas dinamiku vienai daļiņai, kura ir izveidojusies laikā τ :

$$\frac{dm}{dt} = k_2 s_\beta W_\alpha^p(t), \quad (3.3)$$

s_β -vienas daļiņas virsmas laukums.

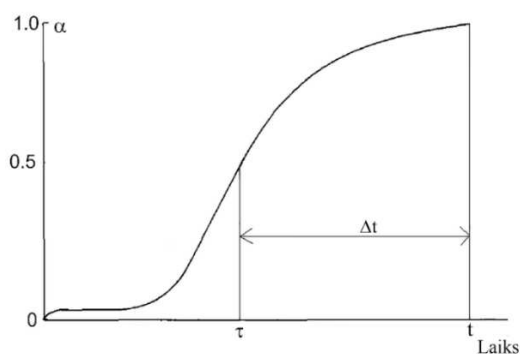
Izsakot sfēriskas augošas daļiņas virsmu laukumu atkarībā no tās blīvuma un masas, iegūst:

$$\frac{dm}{dt} = k_2 (m_i(t))^{2/3} W_\alpha^p(t) \quad (3.4)$$

Veicot (3.4) vienādojuma integrēšanu, var iegūt sekojošo vienādojumu:

$$m^{1/3} = \frac{k_2}{3} \int_{\tau}^t W_\alpha^p(t) dt + const \quad (3.5)$$

Vienādojums (3.5) raksturo viena aizmetņa, kurš ir izveidojusies laikā τ , masu laikā t . Aizmetņa augšana sākas tad, kad aizmetnis ir sasniedzis masu m_0 . Tas ļauj noteikt vienādojuma (3.5) integrēšanas konstanti kā $m=m_0$ pie $t=\tau$; tādejādi iegūstot vienādojumu (3.6), kuru tālāk pārveido par (3.7).



3.1. att. Cietfāžu pārejas dinamika lēnas aizmetņu veidošanās $\alpha_{(e)} \rightarrow \beta_{(e)}$ gadījumā [70]

Attēlā 3.1. ar τ ir apzīmēts laiks, kad veidojas stabilākās formas (β) aizmetnis. Laika intervālā Δt no τ līdz t aizmetnis aug, un augšanas dinamiku apraksta (3.7) vienādojums.

$$m^{1/3} = \frac{k_2}{3} \int_{\tau}^t W_{\alpha}^p(t) dt + m_o^{1/3} \quad (3.6)$$

$$m_{(t-\tau)} = m_o \left(1 + \frac{k_2}{3m_o^{1/3}} \int_{\tau}^t W_{\alpha}^p(t) dt \right)^3 \quad (3.7)$$

Vienādojumā (3.7) lielumus $k_2/m_o^{1/3}$ apvieno un apzīmē kā konstanti K_2 , iegūstot vienādojumu, kurš raksturo aizmetņa augšanas dinamiku sfēriskai daļiņai laika intervālā Δt . Lai iegūtu visu laika intervālā Δt izveidojušos aizmetņu ieguldījumu β fāzes masas pieaugumā laikā t , nepieciešams (3.7) vienādojumu reizināt ar (3.1) vienādojumu:

$$dM(t, \tau) = k_1 m_o \left(1 + \frac{K_2}{3} \int_{\tau}^t W_{\alpha}^p(t) dt \right)^3 W_{\alpha}(\tau) d\tau \quad (3.8)$$

Lai aprēķinātu visu kopīgo masas daļu β fāzei, kura radusies laika intervālā no 0 līdz t , (3.7) vienādojumu integrē, iegūstot (3.8) vienādojumu, kurā konstanšu reizinājumu $k_1 m_o$ apvieno vienā konstantē K_1 :

$$1 - W_{\alpha} = \alpha = \int_0^t dM(t) = K_1 \int_0^t \left(1 + \frac{K_2}{3} \int_{\tau}^t W_{\alpha}^p(t) dt \right)^3 W_{\alpha}(\tau) d\tau \quad (3.9)$$

Iegūtā vienādojuma analītiskais atrisinājums nav zināms, tāpēc tā risināšanā izmanto Runge-Kutes skaitliskās risināšanas metodes.

3.1.2. Aprēķinu metode vienādojuma atrisināšanai

Lai skaitliski atrisinātu (3.9) vienādojumu, tika ieviesti (3.10) un (3.12) vienādojumi, kuri apraksta aizmetņu veidošanos un augšanu. Sākuma nosacījumi - $W_{\alpha(t=0)}=1$ un katram aizmetnim sākotnējā masa ir m_o . Šajos vienādojumos ΔN aizstāj ar $\Delta M/m_o$, jo $\Delta M = \Delta N \cdot m_o$, iegūstot:

$$\Delta M = K_1 W_{\alpha}(\tau) \Delta t \quad (3.10)$$

kur ΔM ir kopējā aizmetņu masa, kas izveidojās laika sprīdī Δt un laikā τ . Vienādojumā (3.4) tiek ieviests bezdimensionāls lielums Z ņemot vērā sakarību, ka $Z = m/m_o$, kas ļauj iegūt vienādojumu (3.11):

$$\Delta Z = K_2 Z_{\tau-\Delta t}^{2/3} W_{\alpha}^p(\tau) \Delta t \quad (3.11)$$

Bezdimensionālo lielumu Z laikā t var aprēķināt:

$$Z_{t-\tau} = Z_{\tau-\Delta t} + \Delta Z \quad (3.12)$$

Abu lielumu (M un Z) aprēķinus var veikt, izmantojot divas nosacītas matricas A un B (sk. 3.1. tabulu), no kurām pirmā parāda aizmetņu veidošanās daudzumu, kas aprēķināts pēc (3.10) vienādojuma, un otrā attēlo augoša aizmetņa bezdimensionālo lielumu Z , kas aprēķināts pēc (3.11) vienādojuma. Katra nosacītā matrica satur i rindas (sanumurētas no 1 līdz z) un j kolonnas (sanumurētas no 1 līdz z), un abas attēlo laika pieaugumu.

3.1. tabula

Schematic attēlojums aprēķinu tabulai, lai iegūtu aizmetņu veidošanās un augšanas ātrumu konstantes

Matrica 1A						Matrica 2B					
j i	1	2	3	...	z	j i	1	2	3	...	z
1	ΔM_1	0	0	0	0	1	Z_{11}	0	0	0	0
2	ΔM_1	ΔM_2	0	0	0	2	Z_{12}	Z_{22}	0	0	0
3	ΔM_1	ΔM_2	ΔM_3	0	0	3	Z_{13}	Z_{23}	Z_{33}	0	0
...	ΔM_1	ΔM_2	ΔM_3	...	0	...	$Z_{1...}$	$Z_{2...}$	$Z_{3...}$...	0
z	ΔM_1	ΔM_2	ΔM_3	...	ΔM_n	z	Z_{1z}	Z_{2z}	Z_{3z}	...	Z_{zz}

Nosacītās matricu vērtības aprēķinos mainās tad, ja maina j un i vērtības. Mainot j mainās τ , bet mainot i mainās t . Katra 1A. tabulas šūna tiek aizpildīta ar nosacījumiem:

- 1) $\Delta M_{(i,j)}=0$, ja $j>i$
- 2) $\Delta M_{(i,j)}= (3.10)$ vienādojums, ja $j=i$
- 3) $\Delta M_{(i,j)}=\Delta M_{(i-1,j)}$, ja $j<i$

Katra 1B. tabulas šūna tiek aizpildīta ar nosacījumiem:

- 1) $Z_{(i,j)}=0$, ja $j>i$
- 2) $Z_{(i,j)}=1$, ja $j=i$
- 3) $Z_{(i,j)}= (3.11)$ vienādojums, ja $j<i$

Pārvēršanās pakāpe tiek iegūta no vienādojuma (3.13):

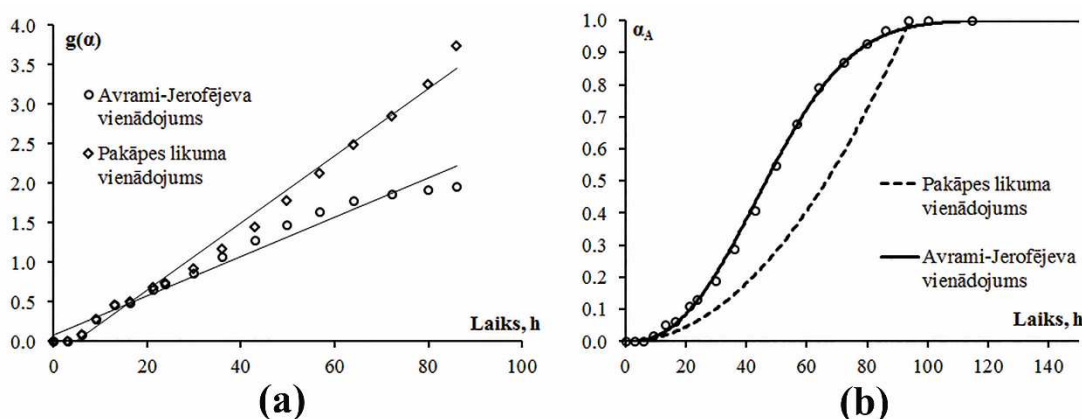
$$1 - W_{\alpha,t} = M_{\alpha,t} = \sum_{j=1}^z (\Delta M_{(i,j)} \cdot Z_{(i,j)}) \quad (3.13)$$

Lai atrastu K_1 , K_2 un p konstantes, izmantoja mazāko kvadrātu metodi *Excel Solver* programmā. Optimizēja konstantes K_1 , K_2 un p , minimizējot kvadrātu summu starpībām, kuras iegūtas starp eksperimentālajiem un teorētiskajiem datiem. Metodika ļauj iegūt divas ātrumu konstantes, no kurām atsevišķi var spriest par aizmetņu veidošanās un augšanas procesiem.

3.1.3. Metodikas izmantošana cietfāžu pārejai un tā salīdzināšana ar Avrami-Jerofejeva un Kardeva vienādojumu

Izstrādāto metodiku (arī pazīstamu kā CNNG mehānisms, saīsinājumā no *the combination of nucleation and nuclei growth processes*) izmanto eksperimentālo datu raksturošanā, kā arī salīdzinājumam ar datiem, kas iegūti ar citiem cietfāžu kinētiskajiem modeļiem, balstītiem uz līdzīgiem pieņēmumiem. Šim pētījumam tika izvēlēta ksilazīna hidrogēnhlorīda formas X pāreja par formu A, kurai maģistra darba [70] ietvaros tika noskaidrots, ka tā notiek pēc aizmetņu veidošanās un augšanas mehānisma. Pāreju ietekmē relatīvais gaisa mitrums, parauga saberšana un mehāniskais spiediens. Dažādu cietfāžu kinētisko modeļu salīdzināšanai izmanto kinētiskos datus, kuri iegūti 70 °C temperatūrā 15% relatīvajā gaisa mitrumā.

Izmantojot linearizācijas metodi, noskaidroja ka eksperimentālie punkti $g(\alpha)$ -t koordinātēs fāžu pārejai no formas X par formu A deva vislabāko sakrītību ar Avrami-Jerofejeva (A) un pakāpes likuma (P1/2) vienādojumu teorētiskajām līknēm (sk. 3.2. attēlu).



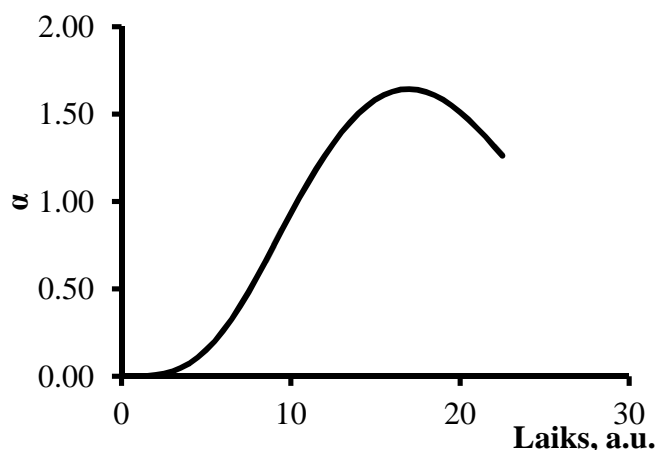
3.2. att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda formas X pārejas par formu A (70 °C, 15% RM) eksperimentālo punktu sakrītība ar Avrami-Jerofejeva (A2) un pakāpes likuma (P1/2) vienādojumu teorētiskajām līknēm: (a) $g(\alpha)$ -t koordinātēs un (b) α -t koordinātēs

No abiem vienādojumiem labāku sakrītību ar eksperimentālajiem punktiem deva Avrami-Jerofejeva vienādojums, kuru līdz ar to arī izmantoja tālāko datu analizē. Avrami-Jerofejeva vienādojums ļāva aprēķināt vienu ātruma konstanti aizmetņu veidošanās un augšanas procesam. Datu salīdzināšanai izmantoja arī Kardeva vienādojumu (k_N - aizmetņu veidošanās ātrums (s^{-1}), k_G - aizmetņu augšanas ātrums (s^{-1}), $u=k_G t$, $\phi=u^3(2-u)^3$):

$$\alpha = \frac{k_N}{k_G} e^{-k_N t} \int_0^{k_G t} e^{\frac{k_N u}{k_G}} \phi(u) du, \quad (3.14)$$

Vienādojums dod iespēju aprēķināt atsevišķas ātrumu konstantes aizmetņu veidošanās un augšanas procesiem. Kardeva vienādojuma gadījumā pēc dotās metodikas teorētiskajā līknē novērojama maksimuma vērtība, kas redzama arī citu autoru darbā [18], kā arī

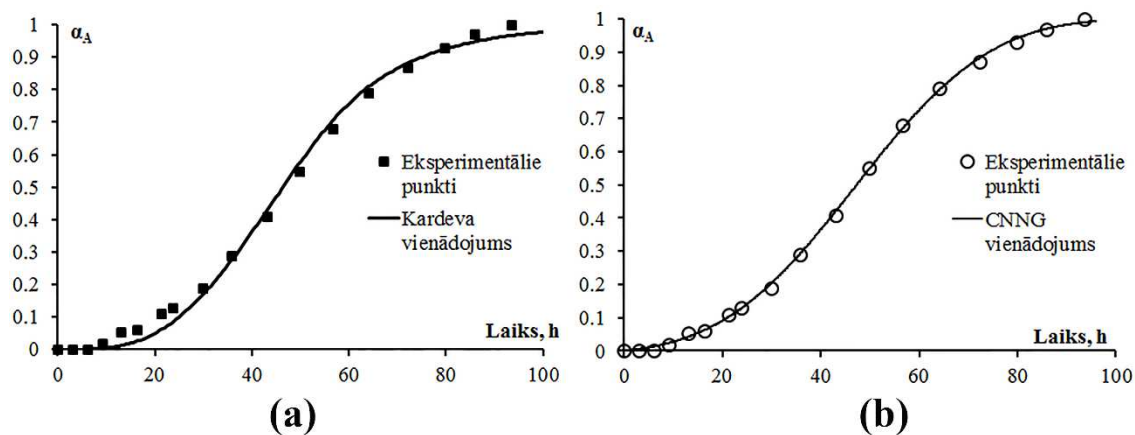
pārvēršanās pakāpe ir lielāka par 1. Teorētiski aprēķinātā kinētiskā līkne pēc Kardeva vienādojuma metodes ir parādīta 3.3. attēlā.



3.3. att. Teorētiskā kinētiskā līkne, aprēķināta pēc Kardeva metodes

Aprēķinos ieviešot papildus nosacījumus, kā arī izmantojot *Runges-Kutes* skaitliskās risināšanas principu, maksimuma punktu vairs nenovēro (iegūto jauno grafiku skat. 3.4. att. (a)) un teorētiskā līkne precīzāk apraksta eksperimentālos punktus.

Kardeva un CNNG vienādojumu teorētisko līkņu sakritība ar eksperimentālajiem punktiem dota 3.4. attēlā.

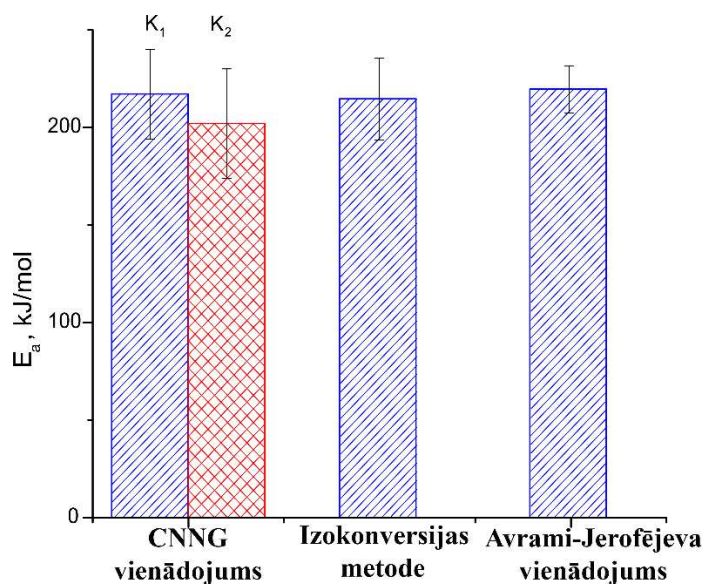


3.4. att. Eksperimentālo punktu sakritība ar teorētiski aprēķināto kinētisko līkni ksilazīna hidrogēnhlorīda fāžu pārejai no formas X uz formu A 70 °C temperatūrā (15% RM): (a) – Kardeva vienādojums un (b) – CNNG vienādojums

No 3.2. (b) un 3.4. attēla ir redzams, ka ar visiem izvēlētajiem vienādojumiem aprēķinātās teorētiskās līknes labi apraksta eksperimentālos punktus. Aprēķinātā standarta novirze starp teorētiskajiem un eksperimentāliem datiem Kardeva vienādojumam ir $SD=0.027$, Avrami-Jerofējeva vienādojumam ir $SD=0.013$ un CNNG vienādojumam ir $SD=0.008$. Mazāko vērtību dod CNNG vienādojums, kas norāda, ka šis vienādojums vislabāk apraksta eksperimentālos datus. Kardeva vienādojuma gadījumā teorētiskā līkne pietiekami labi neapraksta sākumā un beigu daļā esošos eksperimentālos punktus, kas norāda, ka

teorētiskais vienādojums paredz ilgāku aizmetņu veidošanās un augšanas procesu. Šis vienādojums ir derīgs gadījumiem, kad daļiņas augšanas laikā nesaskaras savā starpā. Izveidojušies aizmetņi tādā gadījumā neveicina citu jaunu aizmetņu veidošanos un augšanu, kas no praktiskā viedokļa nav iespējams [71]. Tāpat šāda procesa norise būtu grūti pierādāma. Šī faktora dēļ minēto vienādojumu eksperimentālo datu aprakstīšanā tālāk neizmanto.

Ar CNNG, Avrami-Jerofējeva vienādojumu un izokonversijas metodi iegūtās aktivācijas enerģijas vērtības ir apkopotas 3.5. attēlā. Kinētiskie dati, kuri izmantoti aktivācijas enerģijas aprēķināšanai, ir apskatāmi 1. pielikuma 1. attēlā.



3.5. att. Ar trim dažādām metodēm iegūto aktivācijas enerģiju salīdzinājums ksilazīna hidrogēnchlorīda fāžu pārejai no formas X uz formu A

No 3.5. attēla ir redzams, ka ar visām 3 metodēm iegūtās aktivācijas enerģijas vērtības ir tuvas viena otrai. Līdz ar to iegūts papildus apliecinājums, ka CNNG vienādojums ir izmantojams eksperimentālo datu aprakstīšanā. No aktivācijas enerģijas vērtības var secināt, ka ksilazīna hidrogēnchlorīda fāžu pāreja no formas X uz formu A ir jutīga pret temperatūras izmaiņām, par ko liecina augstā aktivācijas enerģija. Aktivācijas enerģijas atšķirība starp aizmetņu veidošanos un to augšanas procesiem ir neliela, kļūdu robežās tās ir praktiski vienādas.

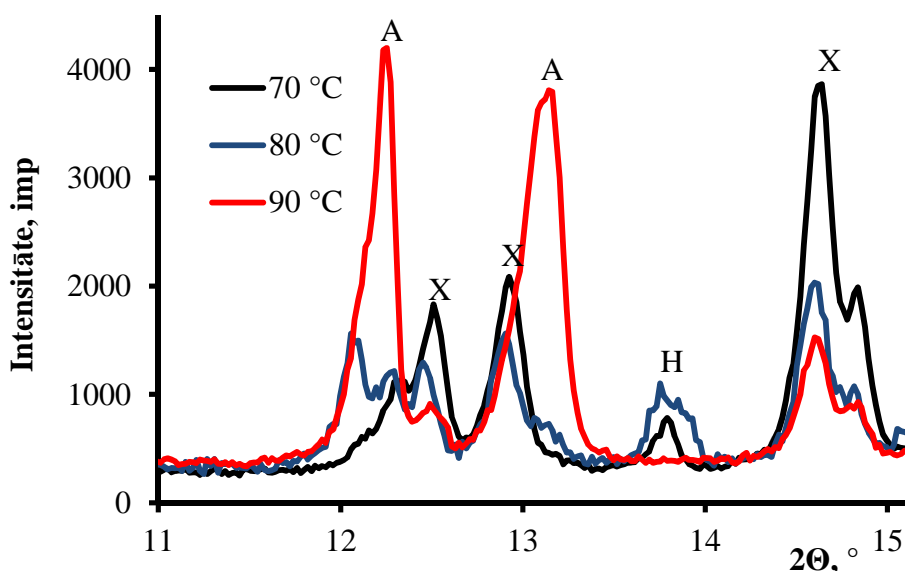
3.2. Salikta fāžu pāreja sistēmā hidrāts-polimorfs-polimorfs un to ietekmējošie faktori

Fāžu pāreja hidrāts → polimorfs → polimorfs ir raksturīga abiem pētītajiem savienojumiem - ksilazīna hidrogēnchlorīdam (H → X → A) un zopiklonam (B → C → A). Literatūrā minēts [72], ka fāžu pāreja H → X notiek pēc fāžu robežvirsmas mehānisma, un, kā jau augstāk minēts, fāžu pāreja X → A notiek pēc aizmetņu veidošanās un to augšanas mehānisma. Zopiklona gadījumā literatūrā [33,57,62] ir pētīta fāžu pāreja gan starp formām B

un C, gan arī starp formām B un A, bet viennozīmīgas interpretācijas par procesu mehānismiem nav dotas.

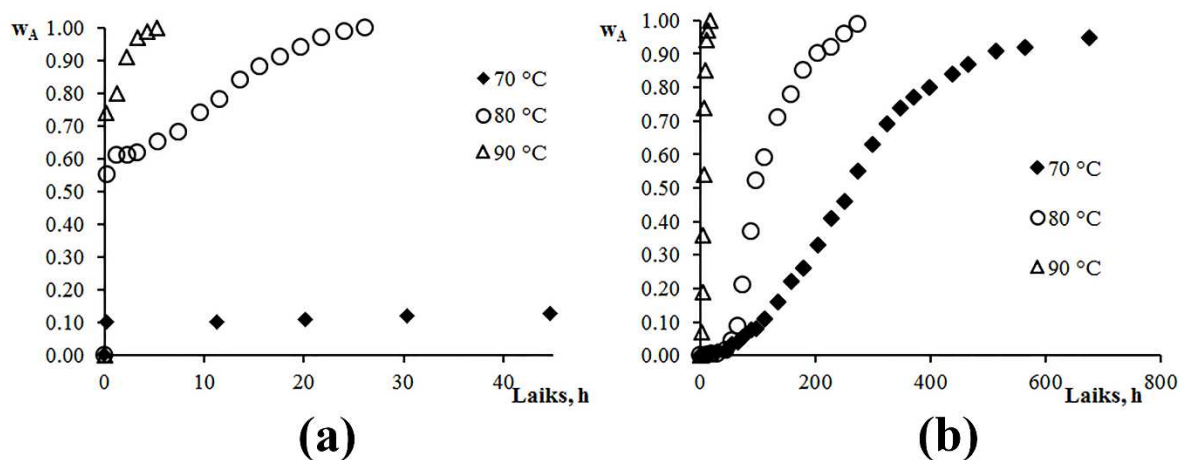
3.2.1. Ksilazīna hidrogēnhlorīda cietfāžu pāreja $H \rightarrow X \rightarrow A$ un to ietekmējošie faktori

Temperatūras efekts. Ksilazīna hidrogēnhlorīda hidrāta rentgendifraktogrammas pēc 30 minūšu ilgas izturēšanas 70, 80 un 90 °C temperatūrā ir apkopotas 3.6. attēlā.



3.6. att. Pulvera rentgendifraktogrammas pēc ksilazīna hidrogēnhlorīda formas H parauga 30 minūšu karsēšanas trīs dažādās temperatūrās (70, 80 un 90 °C)

No 3.6. attēla ir redzamas formu attiecības izmaiņas pēc H paraugu 30 min ilgas karsēšanas izvēlētajās temperatūrās. Zemākajā temperatūrā pārsvarā radās X forma, bet augstākajā - A forma. Pēc karsēšanas 70 un 80 °C temperatūrā paraugos bija novērojama hidrāta klātbūtne.

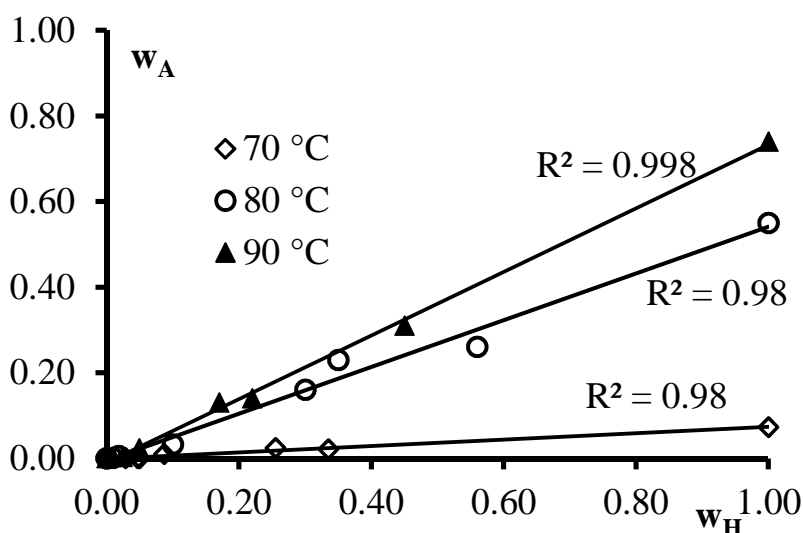


3.7. att. Formas A masas daļa trīs dažādās temperatūrās (70, 80 un 90 °C) atkarībā no laika, izmantojot dažādus sākuma paraugus: (a) – tīru hidrāta H paraugu; (b) – tīru formas X paraugu

Salīdzinot formas A masas daļu formu H un X paraugos pie izvēlētajām temperatūrām atkarībā no laika (3.7. attēlā), redzams, ka formas A formas veidošanās ir ātrāka formas H parauga gadījumā pārejas sākumā (3.7. att.(a)). No literatūras [72] ir zināms, ka forma H dehidratēšanas procesā veido formu X, nevis A, tāpēc mūsu iegūtajam rezultātam var būt divējāds skaidrojums:

- 1) Forma H dehidratējās par formu X, kura momentāni pārgāja par formas A formu, jo no formas H kristālrežģa izdalītais ūdens var paātrināt formas A veidošanos (ūdens ietekme uz ātrumu tiks izskaidrota tālākos pētījumos);
- 2) Ir arī iespējams, ka šajā temperatūru intervālā formu A un X veidošanās no formas H notiek kā divi paralēli procesi ar krasi atšķirīgām ātrumu atkarībām no temperatūras.

No 3.7. attēla redzams, ka lielākās atšķirības bija iegūtajiem rezultātiem 70 un 80 °C temperatūrā. Formas H paraugu 30 minūtes karsējot 70 °C temperatūrā, veidojās formu A un X maisījums, bet pēc visas formas H dehidratācijas fāžu pāreja no formas X uz A kļuva lēnāka nekā būtu sagaidāms no pārejas sākuma kinētikas. Izveidojusies forma A nekalpoja par aizmetņiem jaunu aizmetņu veidošanā un augšanā. Virsmas laukums ir pārāk mazs, nespējot nodrošināt procesa paātrināšanos. Formas X paraugu karsējot 30 minūtes 70 °C temperatūrā, sākumā novēroja aizkaves laiku, līdzīgi kā tas ir konstatēts iepriekšējos pētījumos, bet līdz ko pāreja sākās, tā notika bez defektiem, jo izveidojusies forma A ierosināja jaunu aizmetņu veidošanos un augšanu. Aizmetņu veidošanās process hidrāta paraugiem 80 °C temperatūrā noritēja ātrāk, bet augšana abos gadījumos notika līdzīgā ātrumā.



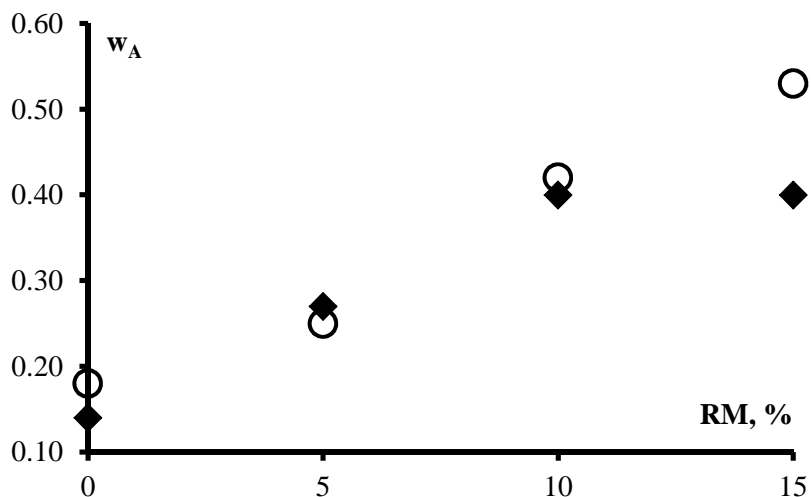
3.8. att. Formas A masas daļa, kas veidojās pēc formu H un X dažādu maisījumu 30 minūšu karsēšanas attiecīgajās temperatūrās (70, 80 un 90 °C)

No 3.8. attēla ir redzams, ka polimorfās formas A daudzums pēc 30 minūšu parauga karsēšanas ir atkarīgs no formu X un H maisījuma sastāva. Izveidojusies formas A daudzums

pieaug lineārā atkarībā no formas H daudzuma maisījumā. No tā var secināt, ka forma H vienādā pakāpē dehidratējās par formu A, neatkarīgi no pievienotā formas X daudzuma.

Lai pārlicinātos, vai paaugstināts relatīvais gaisa mitrums var veicināt ātrāku formas A veidošanos, tīrus formas H paraugus izturēja 80 °C temperatūrā pie 0–15% RM. Iegūtie rezultāti ir apkopoti zemāk.

Mitruma efekts

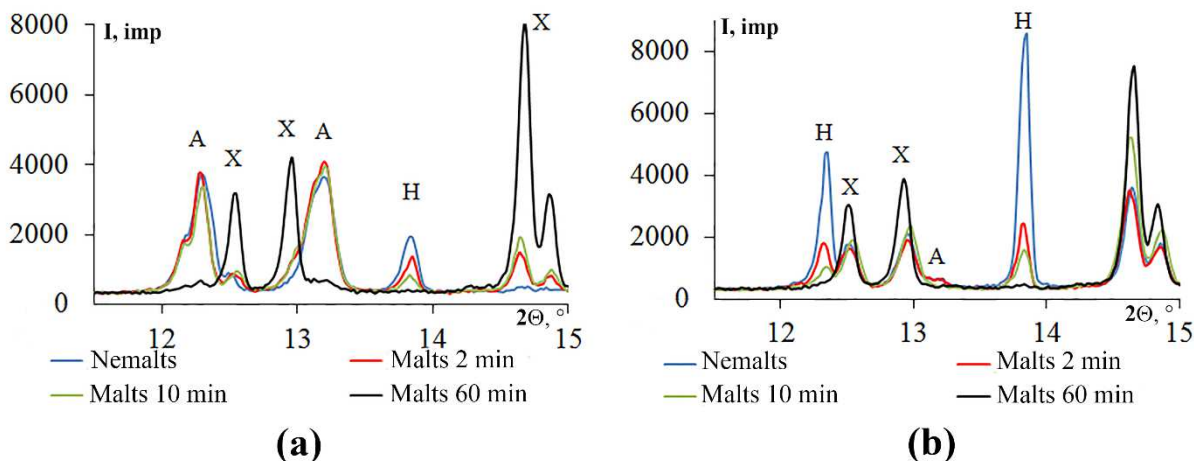


3.9. att. Iegūtā formas A masas daļa paraugā pēc hidrāta parauga 30 minūšu karsēšanas 80 °C temperatūrā pie dažāda relatīvā gaisa mitruma (rezultāti no divām eksperimentu sērijām)

No 3.9. attēla ir redzams, ka formas A masas daļa, kas ir izveidojusies no tīra hidrāta pēc tā 30 minūšu karsēšanas 80 °C temperatūrā, ir atkarīga no relatīvā gaisa mitruma. Eksperiments tika veikts divas reizes, lai pārlicinātos par rezultātu atkārtojamību. Ir redzams, ka atkārtojamība visos eksperimentos ir augsta. No 3.9. attēla ir redzams, ka līdz 10% relatīvajam gaisa mitrumam (RM) 30 minūšu laikā izveidotās formas A daudzums atbilst lineārai funkcijai no relatīvā gaisa mitruma. No tā var secināt, ka pēc formas H dehidratācijas, relatīvajam gaisa mitrumam palielinoties no 0% līdz 15%, pieaug formas A veidošanās ātrums. Ūdens molekulas var veicināt molekulu svārstības kristāla struktūrā, kas atvieglo molekulu pārnese uz pārveidoto fāzi.

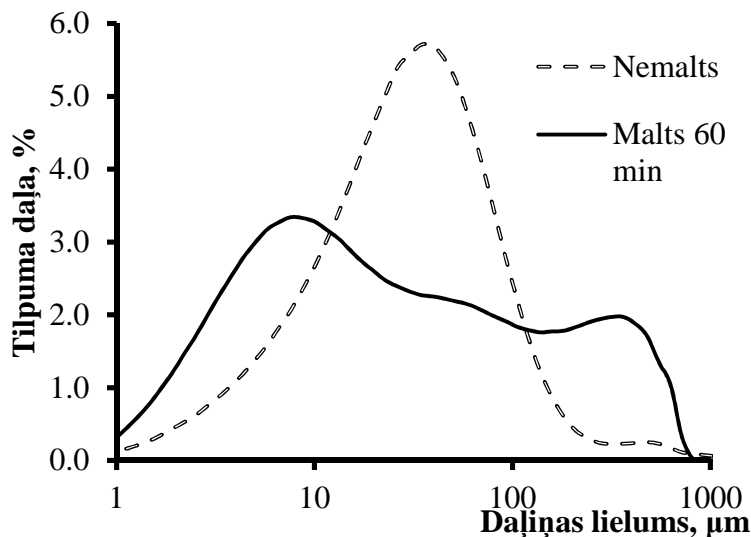
Diemžēl nav iespējams apskatīt formas H pāreju par A un X pie relatīvā gaisa mitruma >15%, jo papildus veidojas pushidrāts, kas ir arī konstatēts iepriekšējos pētījumos [61].

Hidrāta dalīnu lielums paraugā. Eksperiments veikts ar diviem dažādiem paraugiem, no kuriem viens tika kristalizēts pirms eksperimenta un otrs netika kristalizēts. Kristalizācija veikta, jo nebija informācijas par parauga apstrādi un glabāšanas apstākļiem pirms tā saņemšanas pētniecībai (kristalizācijas process aprakstīts 2.1.1 nodaļā). Abi paraugi tika malti vibro-lodīšu dzirnavās 2, 10 un 60 minūtes.



3.10. att. Pulvera rentgendifraktogrammas dažādi maltajiem H paraugiem, kuri tika 30 minūtes karsēti 80 °C temperatūrā, par izejvielu izmantojot: (a) – komerciālo paraugu, (b) – pārkristalizēto paraugu

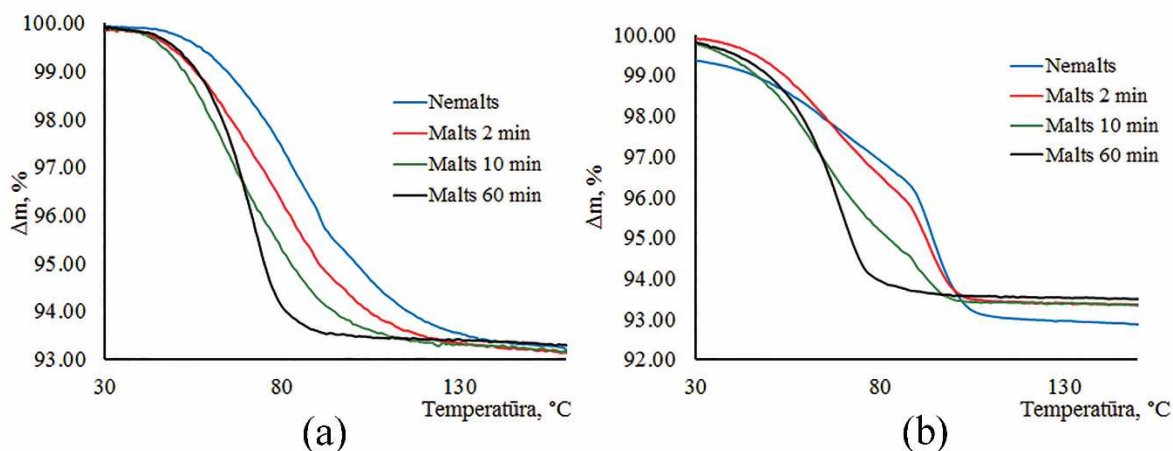
No 3.10. attēla ir redzams, ka no abiem paraugiem iegūtā dehidratācijas produkta attiecība ir atšķirīga. Komerciālajā paraugā pēc dehidratācijas radās vairāk formas A nekā X, izņemot 60 minūtes maltajā paraugā, kurā izveidojās gandrīz tīra forma X. No pārkristalizētā parauga pēc dehidratācijas radās formu X un H maisījums, izņemot 60 minūtes maltajā paraugā, kur radās tīra forma X. No abu paraugu rezultātiem var secināt, ka hidratā malšana stimulēja formas X veidošanos pēc dehidratācijas. Malšanas procesā hidratā daļiņas kļuva mazākas, kas tika apstiprināts, veicot daļiņu sadalījumu analīzi. Iegūtie rezultāti ir parādīti 3.11. attēlā.



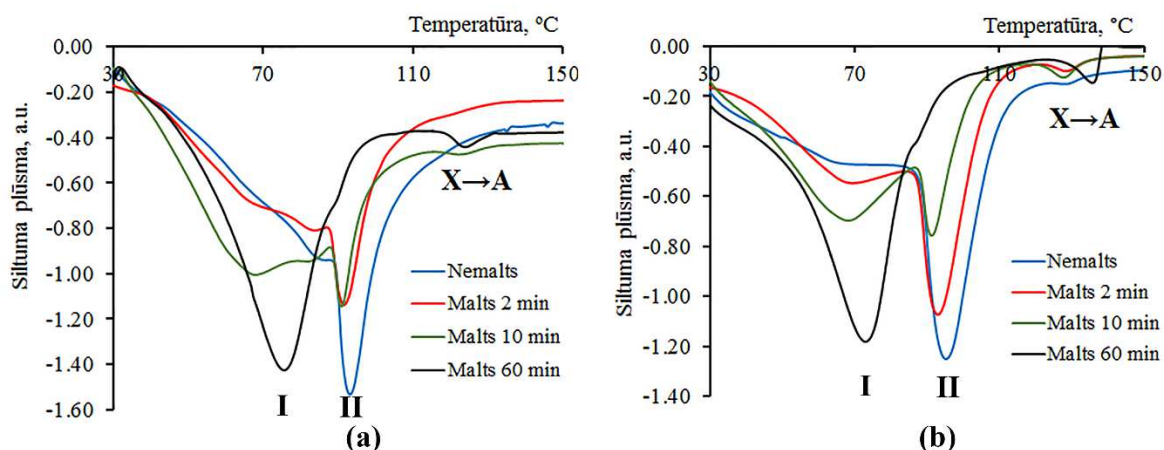
3.11. att. Daļiņu sadalījums nemaltajā un 60 minūtes maltajā hidratā paraugā

No attēla ir redzams, ka 60 minūtes maltajā paraugā ir arī lielākas daļiņas nekā nemaltajā. To var skaidrot tā, ka maltais paraugs veido mazu daļiņu aglomerātus, kurus bieži novēro maltiem / berztiem paraugiem [73]. No iegūtajiem rezultātiem var secināt, ka lielāka hidratā virsma veicina formas X veidošanos.

Visiem paraugiem tika veiktas DTA/TG un DSK analīzes, lai pārliecinātos, ka malšanas process neveicina hidrāta dehidratāciju un entalpijas maiņu, kas varētu paātrināt formas X veidošanos. Iegūtie rezultāti ir parādīti 3.12. un 3.13. attēlā.



3.12. att. TG līknes dažādi maltajiem hidrāta paraugiem: (a) – komerciālais paraugs; (b) – pārkristalizētais formas H paraugs



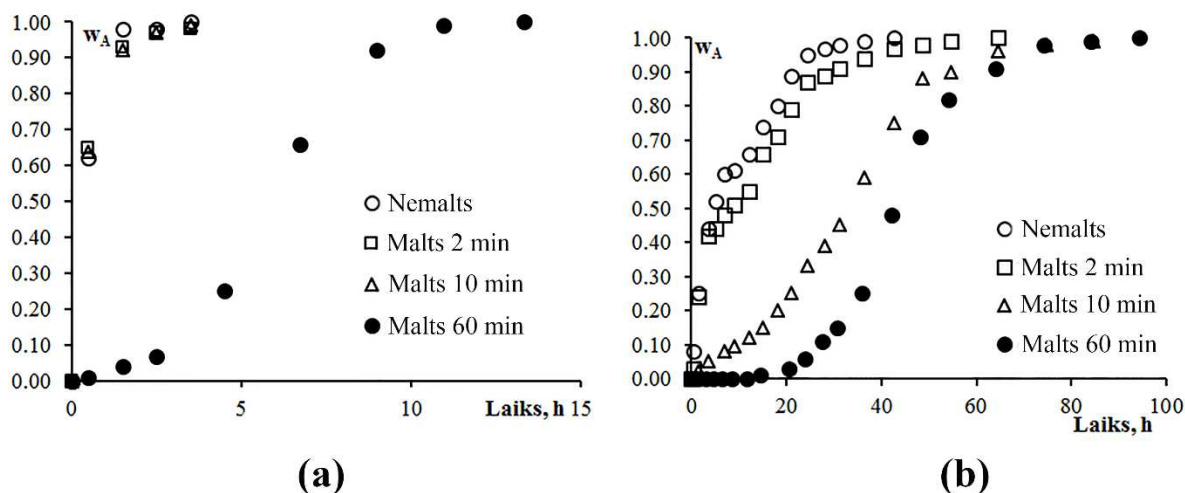
3.13. att. DTA līknes dažādi maltiem hidrāta paraugiem: (a) – komerciālais paraugs; (b) – pārkristalizētais formas H paraugs

No 3.13. attēla ir redzams, ka dažādi maltajiem paraugiem atšķiras DTA analīzē iegūtie rezultāti. Pirms karsēšanas veiktā malšanas procesā notiek hidrāta dehidratācija, ko var secināt no masas izmaiņām TG līknēs. Masas izmaiņas visiem paraugiem ir vienādas. DTA rezultātos ir novērojami divi endotermiski signāli. Pirmais signāls (I) norāda uz hidrāta dehidratācijas procesu, bet otrais (II) uz hidrāta kušanu (ko apstiprina termomikroskopijas rezultāti, skatīt tālāk). Uz hidrāta kušanas procesu norāda tas, ka ūdens zaudēšana notiek līdz 95 °C temperatūrai un, maļot hidrāta paraugu pietiekami ilgi, otrais signāls pie 98 °C temperatūras netiek novērots. Divu signālu parādīšanos novēro arī DSK rezultātos (iegūtās entalpijas vērtības skat. 3. pielikuma 1. tabulā). Dehidratācijas sākuma un beigu temperatūra samazinās, palielinoties parauga malšanas laikam. Tas ir izskaidrojams ar faktu, ka malšanas

procesā iegūtās mazākās hidratā daļiņas ātrāk un vieglāk dehidratējas, jo mazākām daļiņām vienmēr ir augstāks Gibbsa potenciāls, kas rada termodinamisku nestabilitāti.

No iegūtajiem rezultātiem novēroja, ka formas A ātrāka veidošanās ir saistīta ar otrā signāla parādīšanos derivatogrammā. No lielākām daļiņām ūdens izdalīšanās notiek grūtāk, līdz ar to dehidratācijas process var nebūt vienmērīgs.

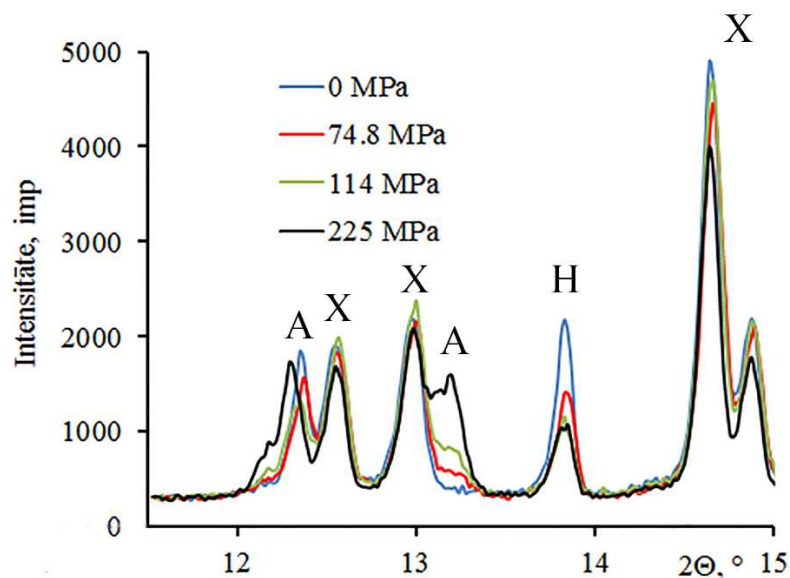
Polimorfās formas A masas daļa pēc hidratā dehidratācijas atkarībā no hidratā paraugu dažādās samalšanas ir parādīta 3.14. attēlā.



3.14. att. Formas A masas daļa dažādi maltiem hidratā paraugiem: (a) komerciālais paraugs; (b) – pārkristalizētais formas H paraugs 80 °C temperatūrā

No 3.14. attēla ir redzamas atšķirības kinētikas līknēs starp mazāk un vairāk maltajiem paraugiem gan komerciālajam, gan pārkristalizētajam paraugam. Pēc 30 minūšu ilgas karsēšanas vairāk formas A radās komerciālajā paraugā, kurš pirms eksperimenta nebija pārkristalizēts. Atšķirības var skaidrot ar diviem pieņēmumiem: 1) paraugs saturēja formas A aizmetņus, kuri paātrināja citu aizmetņu veidošanos un augšanu. 2) Tam paraugam, kurā pēc dehidratācijas rodas formu A un X maisījums, bija citāds mehānisms fāžu pārejai no formas X uz A. Iespējams, ka formas A aizmetņi attīstījās momentāni un šajā gadījumā notika vienīgi aizmetņu augšana, un aizmetņu veidošanās process kinētikas līknēs nebija novērojams.

Mehāniskā spiediena ietekme. Mehāniskā spiediena efektam ir jāpievērš uzmanība, jo tas tablešu iegūšanai farmācijas rūpniecībā izmanto presēšanu. Paraugi tika mehāniski saspiesti pirms to karsēšanas 80 °C temperatūrā. Pēc paraugu karsēšanas iegūtās pulvera rentgendifraktogrammas ir apkopotas 3.15. attēlā.

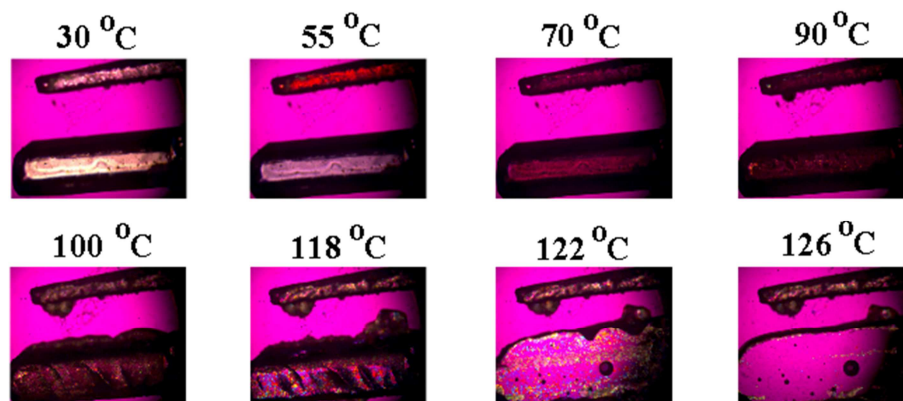


3.15. att. Pulvera rentgendifraktogrammas dažādā mērā mehāniski saspiešiem formas H paraugiem pēc 30 minūšu karsēšanas 80 °C temperatūrā

No 3.15. attēla ir redzams, ka pēc hidrāta 30 minūšu karsēšanas 80 °C temperatūrā mainījās fāžu attiecība, ja sākuma paraugs pirms karsēšanas bija saspiegts pie dažāda mehāniskā spiediena. Mehāniskā spiediena palielināšanās, saspiežot formas H paraugu, veicināja formas A veidošanos paraugā. Iegūtie rezultāti sakrīta ar rezultātiem, kuri iegūti, pirms eksperimenta saspiežot tīru formu X, arī šajā gadījumā veicināja ātrāku A formas veidošanos. Spiediens kristālā rada defektus un plaisas, kur karsēšanas procesā var ātrāk izveidoties formas A aizmetņi.

Pēc mehāniskā spiediena izmantošanas hidrāta daļiņas ir ciešāk sapakojušās kopā un brīvā telpa starp daļiņām samazinās, tāpēc ūdens atbrīvošanās dehidratācijas procesā var kavēties, kas var veicināt formas A veidošanos.

Pētījumi, izmantojot termomikroskopu



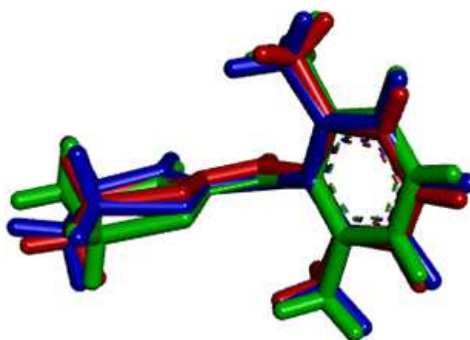
3.16. att. Termomikroskopā iegūtās fotogrāfijas rāda formas H kristāla dehidratācijas procesu pie dažādām temperatūrām

No termomikroskopā novērotās fāžu pārejas, paaugstinātā temperatūrā dehidratējoties hidrātam (3.16. attēls) var secināt, ka dehidratācijas process sākas 70 °C temperatūrā. Aptuveni 100 °C temperatūrā sākas kristāla plaisāšana un citas fāzes veidošanās (krāsas maiņa norāda uz jaunu fāžu parādīšanos). Paaugstinoties temperatūrai, no lielākā kristāla iekšienes sāk izdalīties šķidrums, kas liecina par hidrāta kušanu. Pie 122 °C lielākais kristāls izšķīst kristalizācijas ūdenī, kas atbrīvojās karsēšanas laikā. Redzamais process nav formas A kušana, jo tās kušanas temperatūra saskaņā ar literatūru ir 168 °C [61]. Termomikroskopijas dati rāda, kādi procesi karsēšanas laikā var notikt ar lielākām vai mazākām hidrāta daļiņām, jo divi dažāda izmēra kristāli uzvedas dažādi.

Lai labāk saprastu formas H karsēšanas laikā notikušās strukturālās izmaiņas, zemāk veikta visu kristālisko formu struktūras analīze.

Formu H, X un A kristālu struktūru analīze

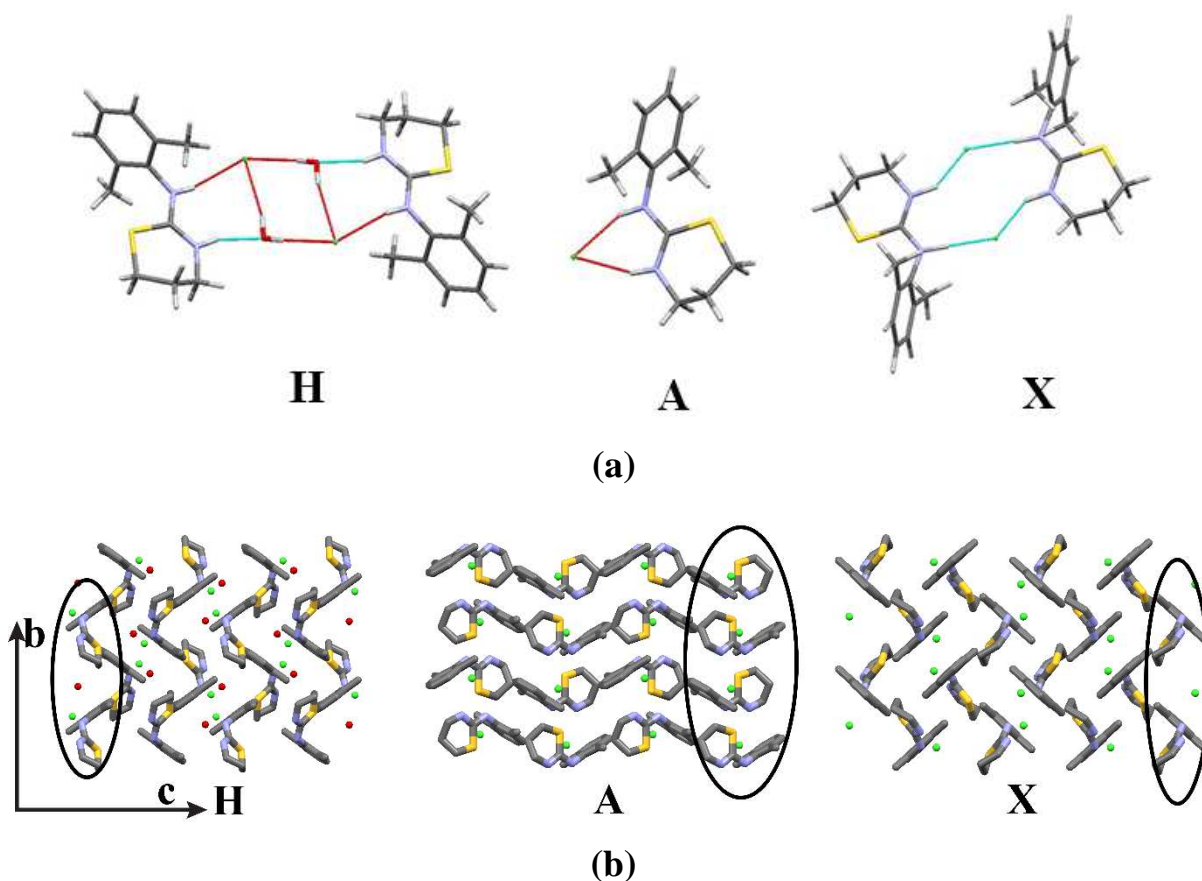
Visu pētīto formu molekulu konformācija ir aptuveni vienāda, ko var secināt no 3.17. attēla.



3.17. att. Ksilazīna katjona konformācijas salīdzinājums formās H (sarkana), A (zaļa) un X (zila)

No 3.17. attēla ir redzams, ka lielākās konformācijas atšķirības ksilazīna katjonā ir dihidrotiazīna gredzena novietojumā. Notiekot fāžu pārejai, molekulu konformācijas būtiski nemainās.

Visu formu molekulu pakojums tika vizualizēts ar programmu *Mercury* [74] pēc literatūrā atrodamās informācijas formai H [75], polimorfam X [76] un formai A (struktūra noteikta šī darba ietvaros no monokristāla datiem, skat. 2. pielikuma 1. attēlu un 1. tabulu). Iegūtie rezultāti ir parādīti 3.18. attēlā.



3.18. att. Formas H, A un X: (a) – ūdeņražu saišu attēlojums, (b) – molekulu pakojums

No 3.18. attēla (aX un bX) ir redzams, ka forma X satur bezgalīgus slāņus b -ass virzienā, kur molekulas ir sapakotas paralēli viena otrai un molekulas vienā slānī ir orientētas vienā virzienā, bet blakus slāņos molekulas ir novietojušās antiparalēlos virzienos. Ir redzams, ka viens hlorīda anjons ir saistīts ar diviem ksilazīna katjoniem. Divi hlorīda anjoni un divi ksilazīna fragmenti veido tetramēru ar grafu kopu $R_2^4(12)$ (sk. aX). Attālumi starp hlorīda anjoniem un H7 ūdeņradi ksilazīna katjonā ir 2.01 Å, bet attālums starp hlorīda anjonu un H1 atomu ksilazīna katjonā ir 2.10 Å (atomu numerācija ir attēlota 2. pielikuma 1. attēlā). Literatūrā [77] ir minēts, ka vidējais ūdeņražu saišu garums starp ūdeņradi un hlorīda anjonu ir 2.126(6) Å ((CC)N⁺-N akceptoram) vai 2.221(7) Å (>Nsp²-N akceptoram). No tā izriet, ka formā X abas ūdeņraža saites ir nedaudz īsākas nekā vidēji līdzīgos savienojumos.

No 3.18. attēla (aH un bH) ir redzams, ka formai H molekulārais pakojums ir līdzīgs kā formas X pakojums. Molekulu slāņu novietojums b ass virzienā un molekulu orientācija slāņos ir tieši tāda pati kā formā X. Lielākās atšķirības ir hlorīda anjona un ksilazīna katjona ūdeņraža saišu veidā, jo hidrāta struktūrā starp diviem ksilazīna joniem ir divi hlorīda anjoni, kā arī divas ūdens molekulas. Starp divām ūdens molekulām un hlorīda anjoniem veidojas ūdeņraža saišu tetramērs ar grafu kopu $R_2^4(8)$ (sk. aH), bet ksilazīna joni ar šo tetramēru veido ūdeņraža saites kā heksamērs ar grafu kopu $R_4^6(16)$. Attālums starp H1 atomu ksilazīna

katjonā un hlorīda anjonu ir 2.35 Å, attālums starp hlorīda anjonu un ūdens molekulas H atomu ir 3.36 Å, un ūdeņraža saite starp ūdens molekulas O atomu un H7 atomu ksilazīna katjonā ir 1.96 Å gara. Formā H ūdeņraža saite starp H1 atomu ksilazīna katjonā un hlorīda anjonu ir garāka nekā formā X.

No 3.18. attēla (aA un bA) ir redzams, ka formas A molekulu pakojums ir nedaudz līdzīgs ar formu H un X molekulu pakojumu. Molekulu pakojums satur līdzīgus slāņus, bet tie nav viens pret otru novietoti antiparalēli. Slāņos divas blakus esošas molekulas ir orientētas katra uz savu pusi, un otra molekula attiecībā pret pirmo ir pagriezta par 180°. Lielākās atšķirības salīdzinot ar formu X un H struktūrām ir hlorīda anjona pozīcijā attiecībā pret ksilazīna katjonu, jo formas A gadījumā tas nav novietojies starp diviem ksilazīna katjoniem veidojot kanālu, bet ir cieši saistīts ar vienu ksilazīna katjonu, veidojot ūdeņražu saišu dimēru, kuru var raksturot ar grafu kopu $R_1^2(6)$ (aA). Attālums starp hlorīda anjonu un ksilazīna katjona H7 atomu ir 2.23 Å, bet H1 atoms atrodas 2.28 Å attālumā.

No kristālisko struktūru analīzes var secināt, ka visu formu molekulārais pakojums ir līdzīgs, kaut gan formas H un X savā ziņā ir līdzīgākas, jo vienīgās atšķirības ir saistītas ar ūdens molekulas novietojumu pie hlorīda anjona, bet formā A molekulu orientācija un hlorīda anjona novietojums ir atšķirīgāks nekā formās X un H. Iespējams, ka formas X struktūra ir starpstadija starp formu H un A kristāliskajām struktūrām.

Kopsavilkuma daļa

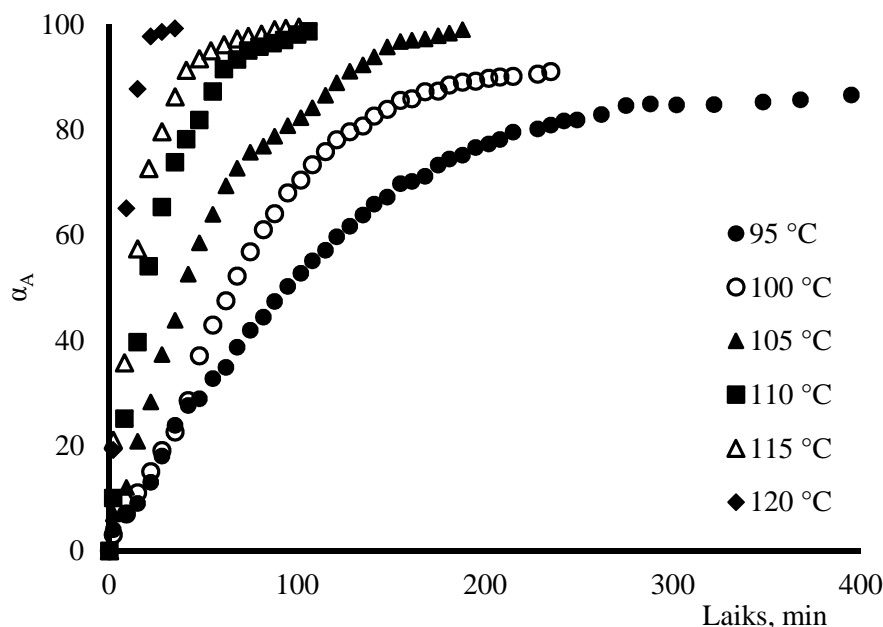
No iegūtajiem rezultātiem var secināt, ka no struktūras viedokļa formai H vajadzētu vieglāk dehidratēties par formu X nekā par formu A, jo šajā pārejā molekulām nav nepieciešams mainīt orientāciju un novietojumu kristāla struktūrā. Notiekot dehidratācijas procesam, no struktūras atbrīvojas ūdens molekulas, un lielākās izmaiņas notiek ar ūdeņraža saišu garuma samazināšanos starp ksilazīna katjoniem un hlorīda anjoniem. Var secināt, ka fāžu pāreja no formas X uz A tāpēc ir daudz sarežģītāka nekā dehidratācijas process uz formu X, jo notiek molekulu pārorientācija un novietojumu maiņa kristāliskajā režģī.

Fāžu pāreju pētījumi sistēmā $H \rightarrow X \rightarrow A$ parādīja, ka mainot eksperimenta apstākļus ir iespējams kontrolēt to, kāda forma rodas pēc hidrāta dehidratācijas – vai nu tīra forma X, vai arī formu A un X maisījums. No struktūras analīzes un fāžu pārejas pētījumiem var secināt, ka fāžu pārejai sistēmā $H \rightarrow X \rightarrow A$ jānotiek pēc divpakāpju mehānisma. Sākumā forma H dehidratējas par formu X, kura gadījumā, ja tiek stimulēta formas A veidošanās, momentāni pāriet par formu A. Spriežot no kristālrežģa struktūras uzbūves, pāreja $H \rightarrow A$ ir pārāk sarežģīta, lai tā no enerģijas viedokļa būtu izdevīga un spētu notikt tieši. Šajā sistēmā dehidratācija un $X \rightarrow A$ pārejas aizmetņu veidošanās process notiek paralēli, visticamāk tūlītēju aizmetņu augšanu stimulē dehidratācijas procesā no struktūras atbrīvojies ūdens.

3.2.2. Zopiklona cietfāžu pāreja $B \rightarrow C \rightarrow A$

Fāžu pārejas $C \rightarrow A$ mehānisms un to ietekmējošie faktori

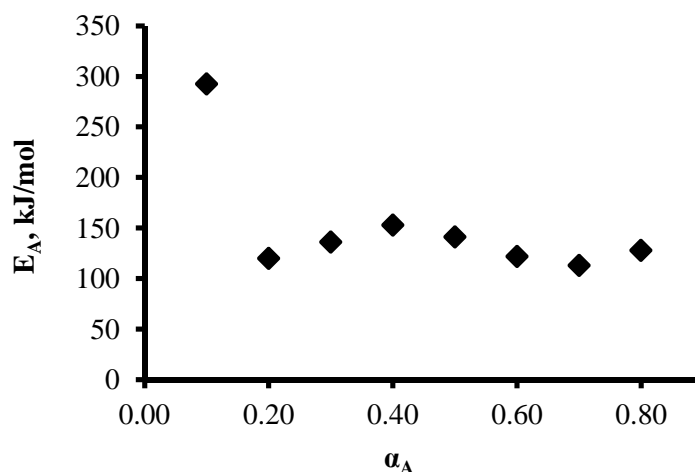
Lai noskaidrotu mehānismu zopiklona fāžu pārejai no formas C uz formu A, veikti mērījumi *in-situ* režīmā temperatūru intervālā no 95 līdz 120 °C. Iegūtie dati apkopoti 3.19. attēlā.



3.19. att. Pārvēršanās pakāpe zopiklona fāžu pārejai no formas C uz formu A dažādās temperatūrās *in-situ* režīmā

Attēlā 3.19. iegūtie dati izmantoti kinētiskā modeļa noteikšanai un E_a aprēķināšanai. Procesa mehānisma noskaidrošanai izmantoja linearizācijas metodi. Vislabāko sakritību deva pirmās un otrās pakāpes modeļi (attiecīgi F1 un F2), kuriem literatūrā nav dots teorētisks pamatojums, jo tie ir aizgūti no homogēnās kinētikas. Tā kā literatūrā [20] ir atrodami vairāki šo vienādojumu izmantošanas gadījumi, tad arī šeit fāžu pārejas raksturošanai izmantosim šos vienādojumus. Modeļa F1 lietošanu cietfāžu pārejā varētu pamatot ar to, ka sīkdispersas vielas pārvēršanās pakāpe ir proporcionāla pārvēršanās ātrumam. Aprakstot eksperimentālos punktus koordinātēs α -laiks, vislabākā sakritība iegūta, izmantojot modeli F1.

Aktivācijas enerģijas aprēķināšanai izmanto ātrumu konstantes, kuras aprēķinātas, izmantojot pirmās kārtas vienādojumu, kā arī izokonversijas metodi. Iegūtās aktivācijas enerģijas vērtības ir 173 ± 8 kJ/mol (klasiskā metode) un 130 ± 13 kJ/mol (izokonversijas metode). Iegūtās vērtības viena no otras atšķiras un neiekļaujas aprēķinātajās drošību intervālu robežās. Izokonversijas metodes aprēķinos kļūdu var ienest, ja eksperimentālie dati ir ar nepietiekami labu kvalitāti, kas neļauj pietiekami precīzi nolasīt laiku pie atbilstošajām pārvēršanās pakāpes vērtībām.



3.20. att. Aktivācijas enerģija zopiklona fāžu pārejai no formas C uz formu A pie dažādām pārvēršanās pakāpēm

No 3.20. attēla ir redzams, ka izokonversijas gadījumā iegūtās aktivācijas vērtības ir mainīgas, kas norāda, ka izmantotie dati nav pietiekami kvalitatīvi. Aktivācijas enerģijai vajadzētu būt nemainīgai pie visām pārvēršanās pakāpes vērtībām, ja pieņem, ka process nav salikts un nenotiek vairākās stadijās. Augstā aktivācijas enerģijas vērtība norāda, ka ksilazīna hidrogēnhlorīda fāžu pāreja $X \rightarrow A$, tāpat kā zopiklona fāžu pāreja $C \rightarrow A$ ir jutīga pret temperatūras paaugstināšanos.

Zemāk ir apskatīts, kā fāžu pāreju ietekmē relatīvā gaisa mitruma izmaiņas un formas C saberšana eksperimenta sākumā. No iegūtajiem datiem tika aprēķinātas ātruma konstantes, izmantojot F1 vienādojumu. Ātruma konstantes apkopotas 3.2. tabulā (kinētiskie dati attēloti 1. pielikumā).

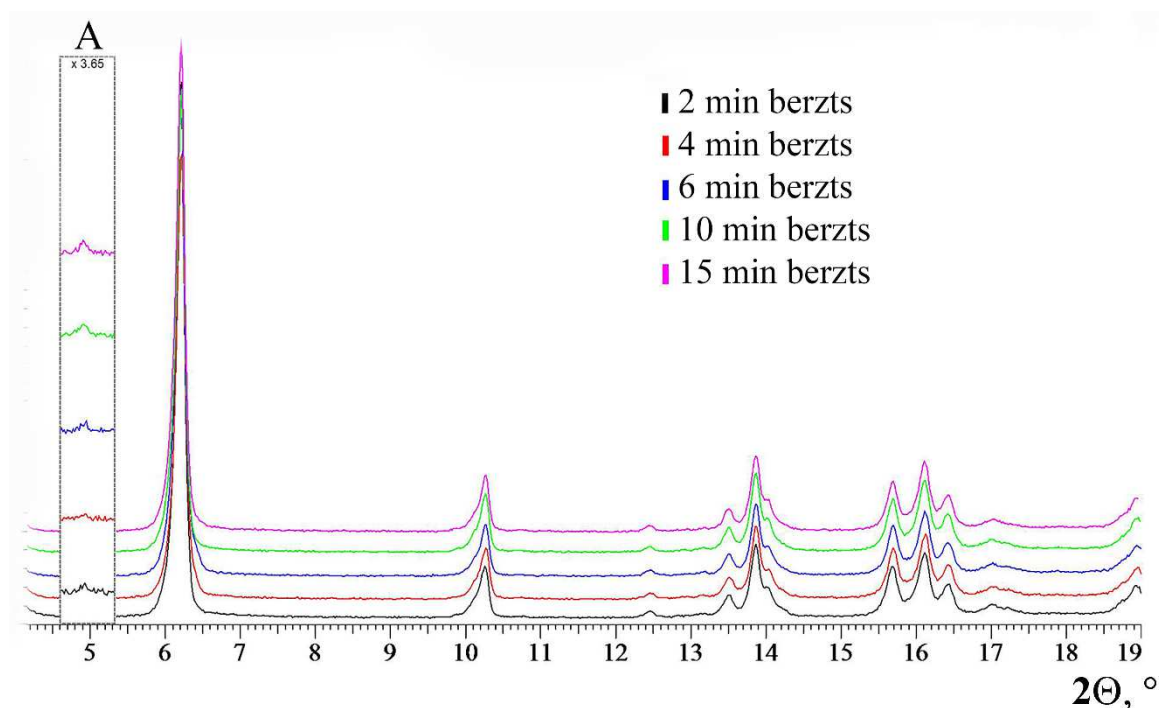
3.2. tabula

Ātruma konstantes 80 °C temperatūrā zopiklona fāžu pārejai no formas C uz formu A, atkarībā no parauga saberšanas eksperimenta sākumā un relatīvā gaisa mitruma

Apstākļi	Ātruma konstante, h^{-1}
Formas C saberšana, min	
2	0.07 ± 0.03
4	0.08 ± 0.03
6	0.10 ± 0.03
10	0.17 ± 0.03
15	0.290 ± 0.006
Relatīvais gaisa mitrums, %	
0	0.07 ± 0.05
5	0.09 ± 0.03
26	0.14 ± 0.03

No 3.2. tabulas datiem ir redzams, ka relatīvā gaisa mitruma ietekmē fāžu pārejas ātrums izmainās maz, un kļūdas robežās var uzskatīt, ka tas ir vienādas. No tā var secināt, ka relatīvā gaisa mitruma palielināšanās vai samazināšanās būtiski neietekmē zopiklona fāžu pārejas ātrumu. Formas A ātrāku veidošanos būtiski neietekmē relatīvā gaisa mitruma izmaiņas līdz pat 26%.

No 3.2. tabulas datiem ir redzams, ka ātruma konstante pieaug, palielinoties formas C beršanas ilgumam pirms eksperimenta. Ātruma konstantes kļūdas robežās ir praktiski vienādas, ja paraugs berzts līdz 10 minūtēm. Lielākas izmaiņas rodas, ja parauga saberšana notiek ilgāk par 10 minūtēm.



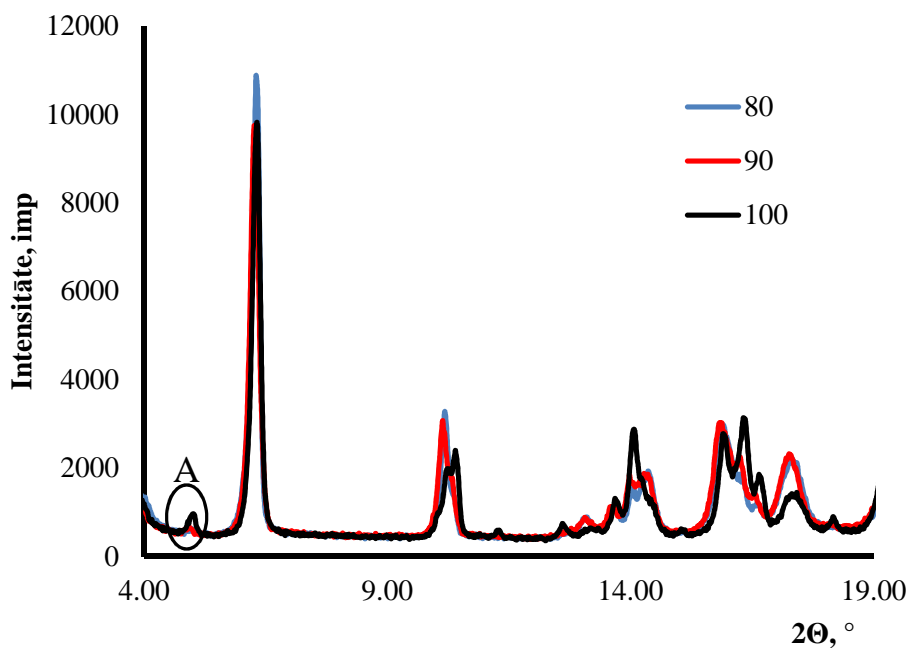
3.21. att. Zopiklona pulvera rentgendifraktogrammas formai C, atkarībā no beršanas laika

No 3.21. attēla ir redzams, ka difraktogrammās pie 5° 2θ skalā ir redzams pacēlums virs fona līnijas. Pacēlumu var identificēt kā formas A intensīvāko refleksu. Visizteiktākais reflekss ir ilgāk berzto paraugu rentgendifraktogrammās. Beršanas process veicina formas A veidošanos, kas liek secināt, ka fāžu pāreju var ierosināt arī mehāniskās enerģijas pievadīšana paraugam.

Par to, kādā veidā katrs ietekmējošais faktors ietekmē pāreju no formas C uz formu A, ir grūti spriest, jo literatūrā ir maz informācijas par molekulas izmaiņām procesos, kuri notiek pēc pirmās kārtas mehānisma. No iegūtajiem rezultātiem var secināt, ka fāžu pāreju būtiski ietekmē temperatūras paaugstināšana, bet relatīvā gaisa mitruma izmaiņas un parauga saberšana dod mazāku efektu.

Temperatūras ietekme uz cietfāžu pāreju B→C→A

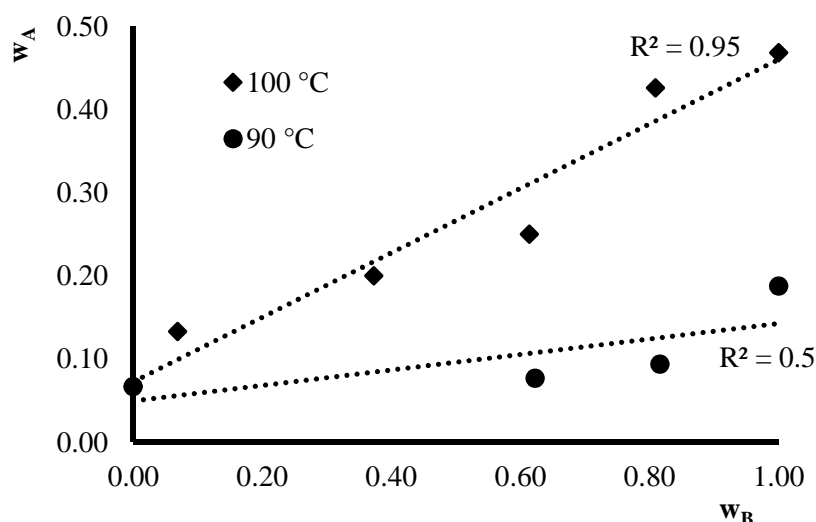
Zopiklona formas B paraugi izturēti 30 minūtes 80, 90 un 100 °C temperatūrā. Paraugu pulvera rentgendifraktogrammas ir apskatāmas 3.22. attēlā.



3.22.att. Zopiklona parauga pulvera rentgendifraktogrammas pēc formas B karsēšanas 30 minūtes 80, 90 un 100 °C temperatūrā

No 3.22. attēla ir redzams, ka forma B 30 minūšu laikā 80 °C temperatūrā ir pilnībā dehidratējusies par formu C. Šajā gadījumā process sistēmā hidrāts-polimorfs-polimorfs notiek ar pilnīgu hidrāta dehidratēšanos. Pēc formas C izveidošanos tālāk notiek formas A veidošanās. Paraugiem, kuri izturēti 90 un 100 °C temperatūrā, difraktogrammā ir redzami formas A refleksi, kas liecina, ka jau šajā laikā sāk veidoties forma A.

Veicot formu B un C maisījumu izturēšanu 80, 90 un 100 °C temperatūrā, var iegūt līdzīgu sakarību kā ksilazīna hidrogēnhlorīda gadījumā, bet ņemot formas A masas daļu, kas iegūta pēc parauga karsēšanas 1.5 h, nevis 30 minūtes. Šādu sakarību var iegūt tikai 90 un 100 °C temperatūrā izturētajiem maisījumiem, jo forma A vēl nav izveidojusies maisījumos pēc to karsēšanas 30 minūtes 80 °C temperatūrā. Vienīgi izurot tīru formu B, pēc tās karsēšanas 30 min 80 °C temperatūrā konstatē ~2% A formas. Iegūtie dati no maisījumiem, kuri izturēti 90 un 100 °C temperatūrās, apkopoti 3.23. attēlā.

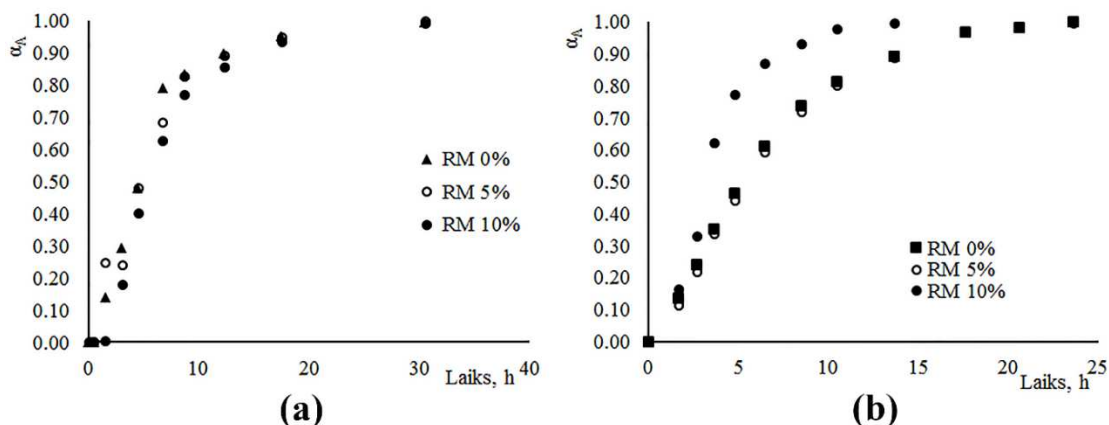


3.23. att. A formas masas daļa, kas veidojās pēc formu B un C dažādu maisījumu karsēšanas 90 un 100 °C temperatūrā

No 3.23. attēla ir redzams, ka formas A masas daļa pieaug, palielinoties formas B daudzumam paraugā. Vislielākās atšķirības ir novērojamas starp maisījumiem pēc izturēšanas 100 °C temperatūrā, kur izveidojušās formas A masas daļa palielinājās 7 reizes, salīdzinot ar maisījumiem, kuros formas B saturs bija attiecīgi 0% un 100%. Arī šajā gadījumā, tāpat kā ksilazīna hidrogēnhlorīda hidratu-polimorfu-polimorfu pāreju gadījumā, var secināt ka hidrāta pievienošana paraugam veicina ātrāku stabilākās formas A veidošanos. Lai pārbaudītu, vai šo hidrāta-polimorfa-polimorfa sistēmu ietekmē relatīvā gaisa mitruma pieaugums, kuru var radīt formas B pievienošana paraugam, forma B tika izturēta pie dažādiem relatīvajiem gaisa mitrumiem.

Relatīvā gaisa mitruma ietekme uz cietfāžu pāreju B→C→A

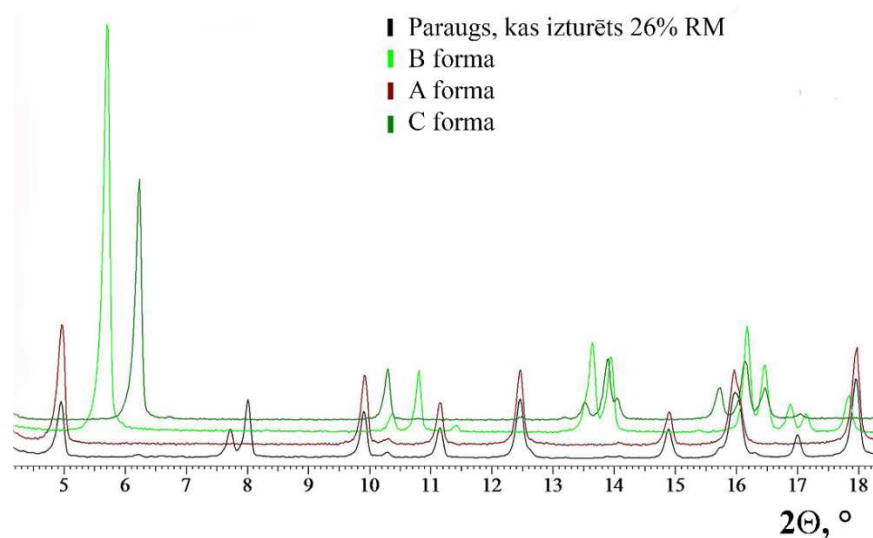
Eksperimentam izmantots relatīvā gaisa mitruma intervāls no 0 līdz 26% pie 80 un 90 °C temperatūras. Par sākuma paraugu izmantoja tīru formu B. Iegūtie rezultāti apkopoti 3.24. attēlā.



3.24. att. Pārvēršanās pakāpe zopiklona fāžu pārejai B→C→A atkarībā no relatīvā gaisa mitruma: (a) 80 °C temperatūrā un (b) 90 °C temperatūrā

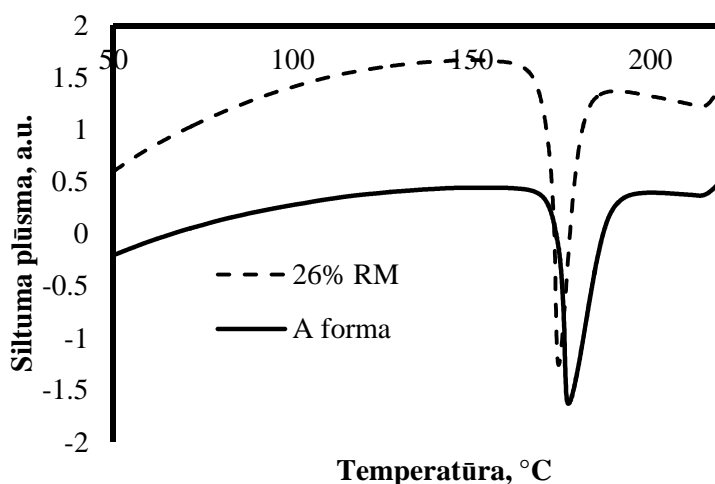
No 3.24. attēla ir redzams, ka relatīvā gaisa mitruma palielināšana nedod lielu ietekmi uz formas A veidošanās ātrumu, tāpat kā fāžu pārejā no formas C uz formu A. Nedaudz ātrāka formas A veidošanās novērojama pie 10% RM un 90 °C temperatūras. No tā var secināt, ka formas A veidošanās nav atkarīga no relatīvā gaisa mitruma palielināšanās eksperimenta laikā.

Pie 26% relatīvā gaisa mitruma iegūtie dati nav salīdzināmi, jo gan 80 °C, gan 90 °C temperatūrā izturētais paraugs difraktogrammā deva jaunus refleksus (sk. 3.25. att.). Radušos jaunus refleksus nevar identificēt ar nevienu no zināmajām zopiklona kristāliskajām formām.



3.25. att. Pulvera rentgendifraktogramma zopiklona paraugam, kurš izturēts 26% relatīvajā gaisa mitrumā 80 °C temperatūrā

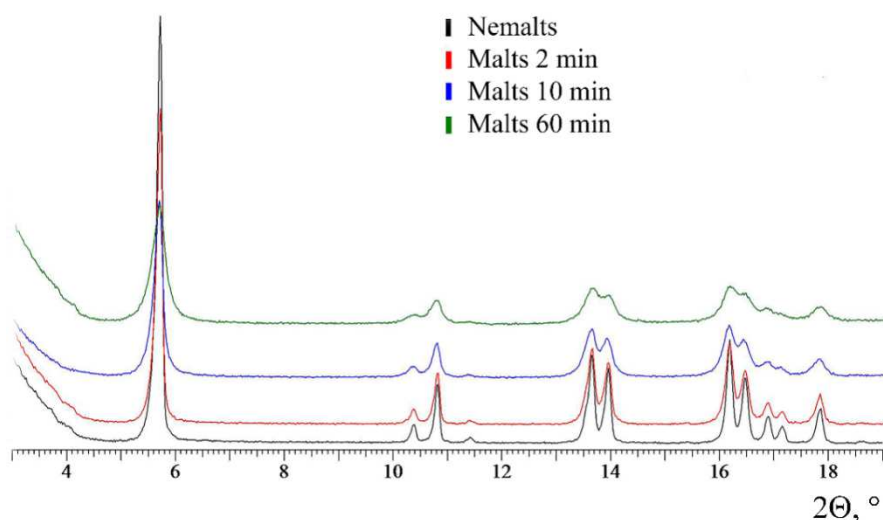
Paraugam pēc izturēšanas 26% relatīvajā mitrumā 80 °C temperatūrā veica DTA/TG analīzi (3.26. att.). Derivatogrammā neparādījās jauni signāli, taču bija novērojama neliela formas A kušanas signāla nobīde.



3.26. att. Zopiklona formas A derivatogrammas salīdzinājums ar parauga derivatogrammu pēc izturēšanas 26% relatīvajā mitrumā

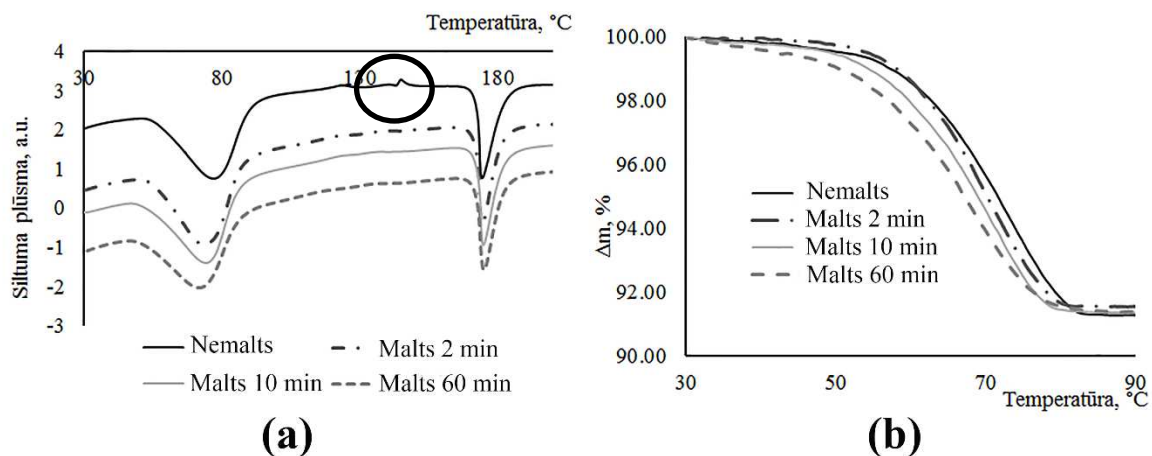
Parauga samalšanas efekts uz cietfāzu pāreju B→C→A

Forma B lodīšu dzirnavās tika malta 2, 10 un 60 minūtes. Iegūtās formas B rentgendifraktogrammas ir apkopotas 3.27. attēlā.



3.27. att. Pulvera difraktogrammas zopiklona formas B paraugiem pēc dažāda ilguma malšanas vibro-lodīšu dzirnavās

No 3.27. attēla ir redzams, ka forma B malšanas procesā kļūst sīkkristāliskāka, jo palielinās refleksu platumi un daži refleksi sāk saplūst kopā. Lai pārbaudītu, vai malšana neveicina parauga dehidratāciju, veikta DTA/TG analīze. Rezultāti ir apkopoti 3.28. attēlā.

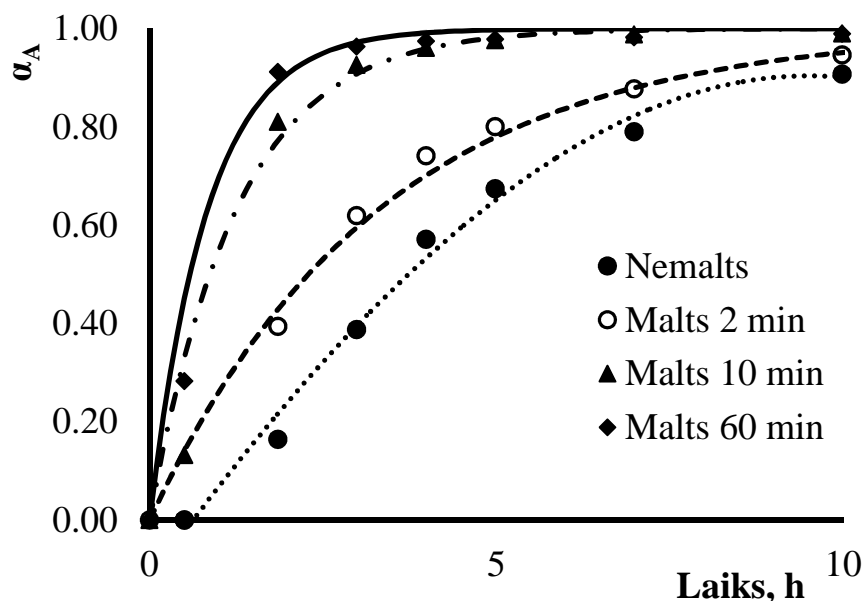


3.28. att. Dažādi maltu zopiklona formas B paraugu DTA/TG līknes

No 3.28. att. (b) ir redzams, ka malšana neveicina hidrāta dehidratāciju, jo visu paraugu masas zudums ir vienāds (8,5%), kā arī 3.27. att. neparādās jauni refleksi, kas liecinātu par citas formas rašanos. No DTA līknēm ir redzams, ka dehidratācijas process vairāk maltajiem paraugiem sākās nedaudz ātrāk. Nemaltā parauga derivatogrammā ir novērojams vēl kāds cits process pirms formas A kušanas, jo parādās endo- un eksotermisku signālu kopa (apvilktā ar apli 3.28. att. (a)), kuri netiek novēroti pārējiem paraugiem. No literatūras [78] ir zināms, ka šāda signālu kopa ir raksturīga hidrāta kušanai un formas A rekrystalizācijai. Malto paraugu

gadījumā šie signāli pie izvēlētā karsēšanas ātruma nav novērojami. Šajā gadījumā analīzes ātrumu būtu nepieciešams palielināt.

Iegūtās kinētiskās līknes apkopotas 3.29. attēlā.

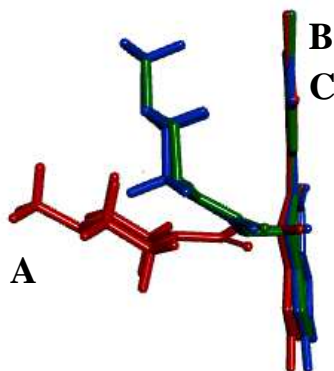


3.29. att. Pārvēršanās pakāpe zopiklona fāžu pārejai B→C→A 80 °C temperatūrā atkarībā no formas B parauga malšanas ilguma pirms eksperimenta (teorētiskā līnija ir pievienota punktu izsekojamības dēļ)

No 3.29. attēla ir redzams, ka formas A veidošanās ātrums pieaug, palielinot formas B parauga malšanas ilgumu. Lielāka formas B virsma veicina ātrāku formas A veidošanos. Iespējams, ka pievadītā mehāniskā enerģija veicina formas A veidošanos, jo iepriekš tika parādīts, ka pietiekami ilgi berztiem formas C paraugiem veidojas formas A piemaisījums.

Formu B, C un A kristālu struktūru analīze

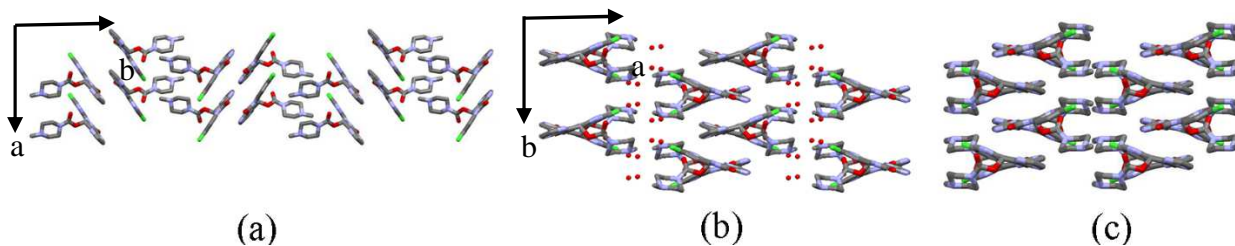
Literatūrā [62,78] ir atrodama informācija par visu triju kristālisko formu struktūras analīzi, tāpēc šajā daļā kristālisko formu analīzei ir veltīts mazāk uzmanības. Pētīto zopiklona kristālisko formu molekulu konformācijas ir atšķirīgas, ko var redzēt 3.30. attēlā.



3.30. att. Zopiklona formu A (sarkanā krāsā), B (zilā krāsā) un C (zaļā krāsā) molekulu ģeometrijas salīdzinājums

No 3.30. attēla ir redzams, ka formas A molekulu konformācija ir atšķirīga no formām C un B, kurām tā ir vienāda. Atšķirības ir piperazīna gredzena novietojumā. Formas A gadījumā piperazīna gredzens atrodas perpendikulāri attiecībā pret citiem gredzeniem, bet formās C un B – paralēli. Fāžu pārejas gadījumā no formas C uz A notiek molekulu konformācijas maiņa.

Visu formu molekulu pakojums iegūts ar programmu *Mercury* pēc literatūrā atrodamās informācijas [62,78]. Iegūtie rezultāti ir parādīti 3.31. attēlā.



3.31. att. Zopiklona molekulu pakojums: (a) forma A, (b) forma B un (c) forma C

No molekulu pakojuma ir redzams, ka formas B un C savā starpā ir ļoti līdzīgas, bet formai A pakojums ir atšķirīgāks.

No 3.31. attēla ir redzams, ka formā A zopiklona molekulas *a* ass virzienā veido bezgalīgus slāņus, kur vienā slānī esošās molekulas ir orientētas vienā virzienā, bet divu blakus esošo slāņu molekulas novietojas antiparalēli. Stipras starpmolekulārās ūdeņraža saites neveidojas, bet pastāv vidējas un/vai vājas ūdeņraža saites. Struktūrā dominē dispersās mijiedarbības, kuras nosaka pēc aprēķiniem ar programmu *PIXEL*.

Salīdzinot 3.31. attēlā redzamo formu C un B molekulāro pakojumu, ir redzams ka abas formas ir ļoti līdzīgas un molekulas kristāliskajā režģī ir pakājušās praktiski vienādi. Abās formās molekulas veido divslāņus, kur molekulas uz slāņa vidū ir pakājušās benzola gredzena virzienā, bet uz slāņu malām piperazīna gredzena virzienā. Formā B starp diviem dubultslāņiem ir novietojušās ūdens molekulas. Formā C attālums starp šiem diviem dubultslāņiem samazinās, jo ūdens molekulas vairs nav struktūrā.

Kopsavilkuma daļa

Fāžu pāreju no formas C uz formu A raksturo pirmās pakāpes mehānisms. Relatīvā gaisa mitruma izmaiņas būtiski neietekmē fāžu pārejas ātrumu, tāpat parauga beršana nedod lielu ieguldījumu. Ātrāku fāžu pāreju novēro, ja paraugs berzts ilgāk par 10 minūtēm, kad jau var parādīties mehāniskās enerģijas pievadīšanas ietekme.

Cietfāžu pārejā, kur sākuma paraugs ir tīra forma B, vispirms notiek pilnīga formas B dehidratācija par formu C. Pēc tam no formas C rodas forma A. Šajā gadījumā eksperimenti jau uzreiz parādīja, ka minētais process sistēmā hidrāts-polimorfs-polimorfs ir divpakāpju. Tātad forma B nevar uzreiz pāriet par formu A, un ir nepieciešama starpstadijas izveidošanās.

Zopiklonam eksistē vēl kāda kristāliskā fāze, jo 26% relatīvajā gaisa mitrumā izturēto paraugu difraktogrammās konstatēja jaunus refleksus, kurus nebija iespējams identificēt ar nevienu no zināmajām kristāliskajām fāzēm.

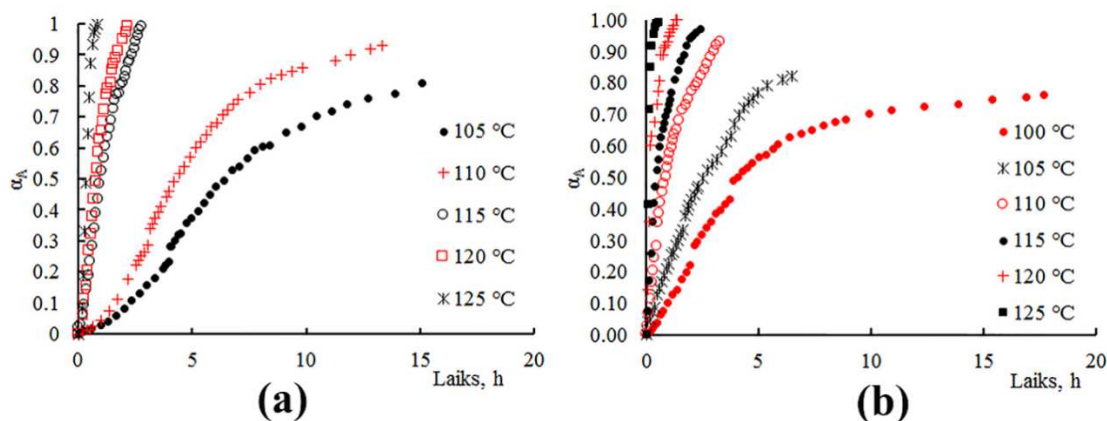
3.3. Ksilazīna hidrogēnhlorīda cietfāžu pārejas sistēmās $X+Z \rightarrow A$ un $X+M \rightarrow A$

Gan ražošanas, gan glabāšanas procesā var rasties polimorfu maisījumi. Maisījumos esošās polimorfās formas var būt nestabilas un temperatūras ietekmē pāriet termodinamiski stabilākās formās. Šāda situācija var būt ksilazīna hidrogēnhlorīdam, jo tas eksistē četrus polimorfu veidā. Formas Z un M var veidoties kristalizācijas procesā no dažādiem šķīdinātājiem. Parasti ražošanā kā piemaisījumu formām A un H konstatē formu Z. Formu M kā piemaisījumu nenovēro, jo tā rodas, kristalizējot no hloru saturošiem šķīdinātājiem, kurus farmācijā parasti neizmanto. Formu Z var iegūt no etanola, metanola, acetona u.c. šķīdinātājiem. Abas polimorfās formas paaugstinātā temperatūrā pāriet stabilākajā formā A.

Fāžu pāreju kinētikas pētījumi veikti formām Z un M, formu Z un X maisījumiem, kā arī formu M un X maisījumiem.

3.3.1. Fāžu pārejas $Z \rightarrow A$ un $M \rightarrow A$, un tās ietekmējošie faktori

Abas formas tika izturētas dažādās temperatūrās *in-situ* režīmā. Iegūtie dati ir parādīti 3.32. attēlā.

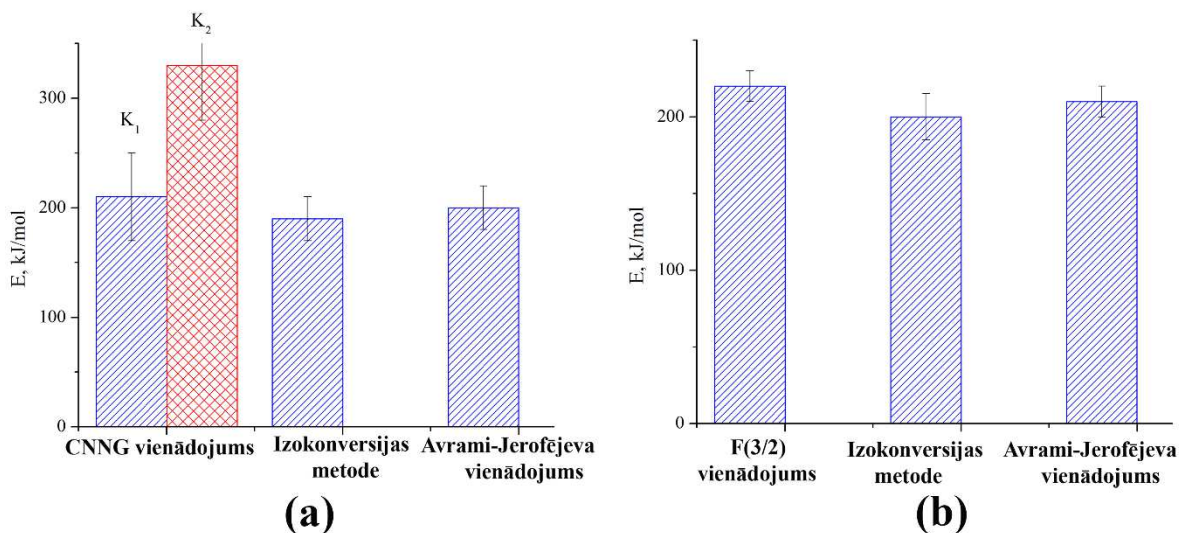


3.32. att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda fāžu pāreja *in-situ* režīmā: (a) $Z \rightarrow A$; (b) $M \rightarrow A$

No 3.32. attēla ir redzams, ka zemākās temperatūrās (105-110 °C) formas Z fāžu pārejas eksperimentālie punkti veido sigmoidālu līkni, kas raksturīga aizmetņu veidošanās un augšanas kinētikai. Formas M gadījumā eksperimentālie punkti veido eksponenciālu līkni.

Abu fāžu pāreju mehānisma noskaidrošanai izmantoja linearizācijas metodi. No iegūtajiem grafikiem tika konstatēts, ka formas M gadījumā eksperimentālie punkti deva augstu linearitāti koordinātēs $g(\alpha)-t$, izmantojot F(3/2) un Avrami-Jerofējeva vienādojumu, bet formas Z gadījumā – izmantojot Avrami-Jerofējeva vienādojumu. Tā kā abas fāžu pārejas

deva labu sakritību ar Avrami-Jerofējeva vienādojumu, tad abu formu fāžu pārejas tika raksturotas arī ar CNNG modeli. Formas Z gadījumā, iegūtie dati rādīja labu sakritību, bet formas M gadījumā eksperimentālos punktus nebija iespējams pietiekami labi aprakstīt ar CNNG modeli. Aprēķinātas aktivācijas enerģijas fāžu pārejai no formas Z uz formu A un no formas M uz formu A ir apkopotas 3.33. attēlā.



3.33. att. Fāžu pāreju aktivācijas enerģijas vērtības, iegūtas ar dažādām metodēm: (a) $Z \rightarrow A$; (b) $M \rightarrow A$

No iegūtajiem datiem ir redzams, ka formai M iegūtās aktivācijas enerģijas vērtības ir savā starpā līdzīgas, bet formai Z tās ir nedaudz atšķirīgākas. Formai Z atšķirīgāku rezultātu dod aktivācijas enerģijas vērtība, kura iegūta no CNNG modeļa K_2 vērtībām. Iegūtās vērtības pēc CNNG vienādojuma datiem ir ar vislielāko drošības intervālu, kas norāda, ka ātruma konstantes nedod tik labu linearitāti koordinātēs $\ln k - 1/T$. Formas Z aizmetņu veidošanās un augšanas procesiem ir atšķirīgas aktivācijas enerģijas vērtības. Fāžu pārejā no formas X uz formu A šīs vērtības bija gandrīz vienādas. Gan formas M, gan arī formas Z fāžu pārejas aktivācijas enerģijas vērtības norāda, ka abas fāžu pārejas ir jutīgas pret temperatūras paaugstināšanos.

Izturot formu Z pie 80, 90 un 100 °C temperatūras, konstatēja ka forma Z ir stabila 80 °C temperatūrā un nepāriet par formu A, bet 90 °C temperatūrā fāžu pāreja ir ļoti lēna. Iegūtās kinētiskās līknes ir ar tādu pašu raksturu kā 3.32. attēlā parādītās ar *in-situ* metodi iegūtās līknes, tāpēc dati darbā netiks prezentēti.

Zemāk apkopotas ātruma konstanšu vērtības atkarībā no temperatūras un sākuma parauga beršanas ilguma (izmantotas divas dažādas eksperimentu sērijas). Ātruma konstanšu aprēķināšanā formai Z izmantoja Avrami-Jerofējeva un CNNG vienādojumus, bet formai M – Avrami-Jerofējeva vienādojumu. Iegūtās ātrumu konstanšu vērtības attēlotas 3.3. un 3.4. tabulās (kinētiskie dati attēloti 1. pielikumā).

Ātruma konstantes fāžu pārejām no formas Z uz A un no formas M uz A atkarībā no temperatūras

Apstākļi	Z→A		M→A	
	Ātruma konstante			
Temperatūra, °C	h ⁻¹ (Avrami- Jerofējeva vjms)	K ₁ , h ⁻¹ (CNNG vjms)	K ₂ , g·h ⁻¹ (CNNG)	h ⁻¹ (Avrami-Jerofējeva vjms)
	105	0.11	5.89·10 ⁻²	0.19
110	0.18	6.59·10 ⁻²	0.45	0.76
115	0.76	3.54·10 ⁻¹	1.6	1.4
120	1.0	3.27·10 ⁻¹	3.1	3.4
125	2.4	1.78	58	11

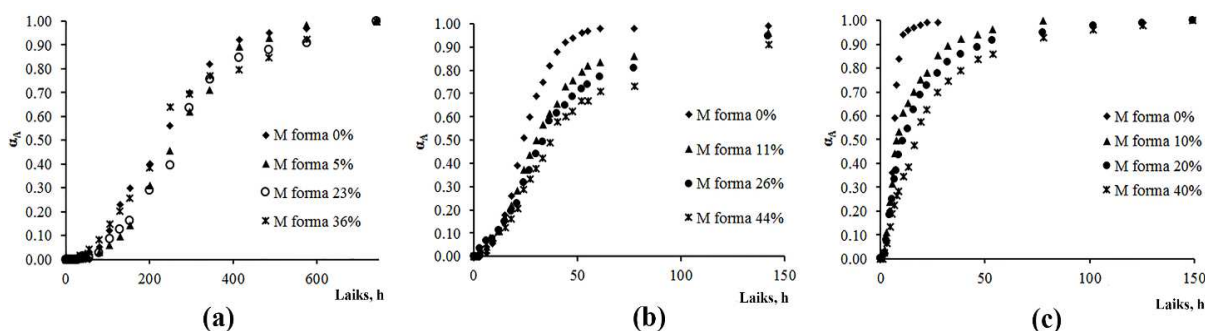
Ātruma konstantes fāžu pārejām no formas Z uz A un no formas M uz A atkarībā no sākuma parauga beršanas ilguma

Apstākļi	Z→A			M→A	
	Ātruma konstante				
Parauga saberšana, min	h ⁻¹ (Avrami- Jerofējeva vjms)	K ₁ , h ⁻¹ (CNNG vjms)	K ₂ , g·h ⁻¹ (CNNG)	h ⁻¹ (Avrami- Jerofējeva vjms)	h ⁻¹ (Avrami- Jerofējeva vjms)
	100 °C			90 °C	100 °C
0	0.058	4.8·10 ⁻⁴	1.4	0.11	0.15
2	0.074	7.1·10 ⁻⁴	1.8	0.13	0.23
4	0.079	6.0·10 ⁻⁴	2.1	0.23	0.46
10	0.11	1.5·10 ⁻³	2.4	0.30	0.38

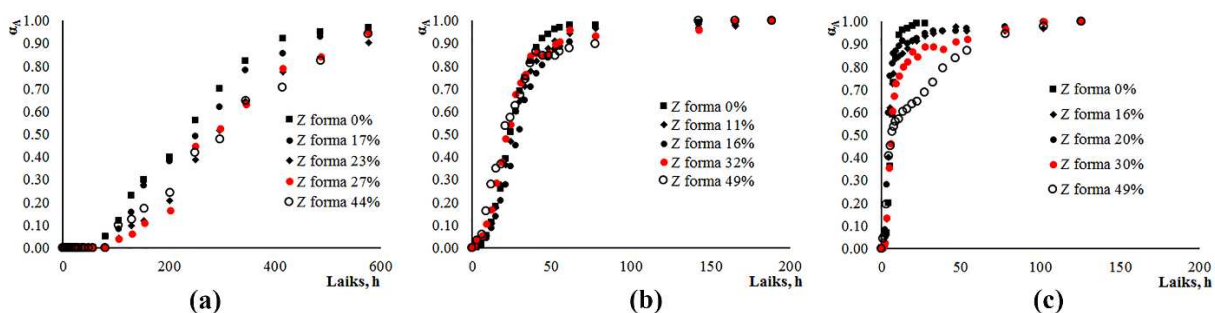
No iegūtajiem datiem ir redzams, ka ātruma konstante pieaug, palielinoties katram no faktoriem. Formas Z saberšana pirms eksperimenta fāžu pārejas ātrumu ietekmē mazāk nekā temperatūras palielināšanās, jo no abiem vienādojumiem iegūtās iegūtās ātruma konstantes ir līdzīga. Formas M fāžu pārejai ātruma konstantes izmainās vairāk nekā formai Z gan 90 °C, gan 100 °C temperatūrā. No 3.4. tabulas ir redzams, ka formas M pārejas ātruma konstante abās temperatūrās pieaug vienādi. No rezultātiem var secināt, ka temperatūras izmaiņas dod lielāku ieguldījumu ātrumu izmaiņā nekā parauga saberšana.

3.3.2. Fāžu pāreja maisījumos $X \xrightarrow{+Z} A$ un $X \xrightarrow{+M} A$

Pagatavoti maisījumi ar dažādu formu M un X, kā arī Z un X attiecību, kuri izturēti 70, 80 un 90 °C temperatūrā. Iegūtie fāžu pāreju dati apkopoti 3.34. un 3.35. attēlos.



3.34. att. Formas A pārvēršanās pakāpe atkarībā no formu M un X dažādu sastāvu maisījumiem dažādās temperatūrās: (a) 70 °C; (b) 80 °C, (c) 90 °C

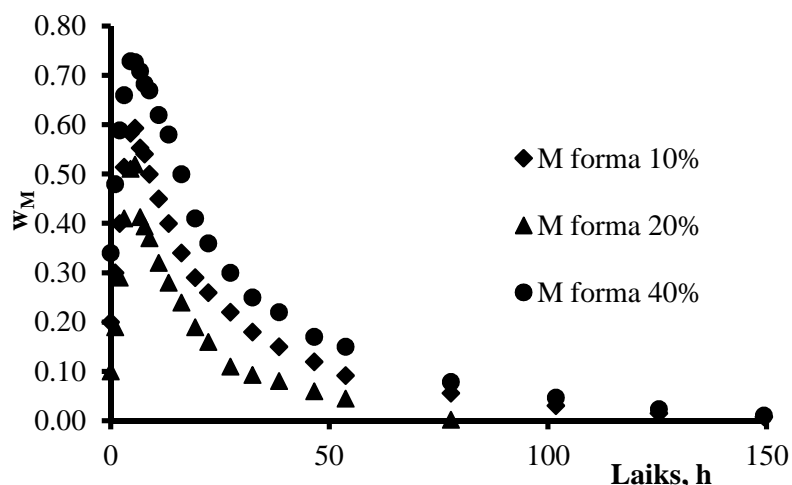


3.35. att. Formas A pārvēršanās pakāpe dažādu sastāvu formu Z un X maisījumiem dažādās temperatūrās: (a) 70 °C; (b) 80 °C, (c) 90 °C

No 3.35. attēla ir redzams, ka iegūtās formas A masas daļa vērtības ir tuvas viena otrai visās eksperimenta temperatūrās un visos maisījumos. Fāžu pārejas laikā formas Z daudzums maisījumā samazinās ļoti nedaudz vai pat nemainās 70 un 80 °C temperatūrā, ko var novērot, ja salīdzina maisījuma pulvera difraktogrammas. Pēc visas formas X pārejas par formu A, forma Z ir stabila un nepāriet par formu A. Tīru formu A iegūst 90 °C temperatūrā.

Fāžu pārejas ātrums sākuma daļā ir vienāds visiem maisījumiem, bet tas samazinās, pieaugot formas Z daudzumam maisījumā. Ātrāka formas A veidošanās no tīras formas X notiek tāpēc, ka maisījumā paliekot formām A un Z, pāreja no formas Z uz A ir lēnāka nekā no formas X uz A.

Formu M un X maisījumos (3.34. att.) formas A masas daļa atkarībā no laika samazinās, palielinoties formas M daudzumam. Formu X un M gadījumā varētu notikt tāds pats process kā formai Z, bet attēlojot datus koordinātēs w_M -laiks (3.36. att.) ir redzams, ka cietfāžu pārejai ir cits raksturs.



3.36. att. Formas M masas daļa atkarībā no laika cietfāžu pārejā $X+M \rightarrow A$ 90 °C temperatūrā

No 3.36. attēla ir redzams, ka formas M daudzums sākumā palielinājās, bet vēlāk samazinājās. No tā var secināt, ka polimorfā forma X var pāriet formā M, ja paraugs jau sākotnēji satur formu M. Fāžu pāreja no tīras formas X uz formu M nav novērota. Eksperimenta sākumā no formas X veidojās gan forma M, gan forma A. Paralēli veidojoties gan formai A, gan arī M, fāžu pārejas ātrums no formas X uz A kļuva mazāks, salīdzinājumā ar tīra formas X formas parauga fāžu pāreju. Vēlāk formas M veidošanās vairs neturpinājās, jo termodinamiski stabilākā ir forma A, kura izkonkurē formas M veidošanos.

Kopsavilkuma daļa

Cietfāžu pārejas pētījumi, kur pētāmie objekti ir vielas divu polimorfu maisījumi, ir nepieciešami viegli interpretējamu rezultātu iegūšanai, jo vairāku dažādu polimorfo formu maisījumi var dot komplicētus un grūti modelējamus rezultātus. Pētījumā noskaidroja, ka maisījumos ir iespējama arī tāda fāžu pāreja, kura nav iespējama no tīra polimorfa.

Formu M un X maisījumam ir lielāks ieguldījums formas A veidošanās procesā nekā formu Z un X maisījumam. Formu M un X maisījumā cietfāžu pārejas sākumā notiek 2 paralēli procesi, kuri sākumā viens ar otru konkurē. Formai Z nav ietekmes uz fāžu pārejas $X \rightarrow A$ ātruma izmaiņām, jo forma Z attiecīgajos apstākļos ir pietiekami stabila, lai neietekmētu formas A veidošanos. No tā var secināt, ka pietiekami termodinamiski stabili polimorfi var neietekmēt stabilākās formas veidošanās kinētiku.

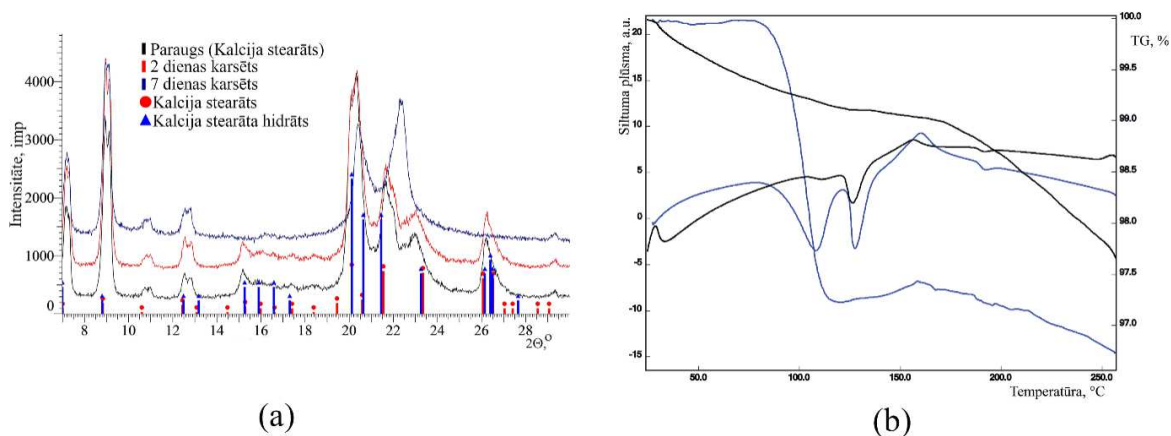
3.4. Farmaceutiski aktīvo vielu pildvielu ietekme uz aktīvās vielas stabilitāti un fāžu pārejas ātrumu

Parasti literatūrā publicēti pētījumi par aktīvās vielas stabilitāti, kas izdarīti ar tīru vielu. Šādi pētījumi nepilnīgi atspoguļo situāciju ar aktīvās vielas stabilitāti tablešu sastāvā. Gala produktā aktīvā viela ir kopā ar dažādām pildvielām, kuras parasti sastāda lielāko tablešu masas daļu. Tāpēc tālākie pētījumi parādīs divu aktīvo vielu termodinamiski nestabilo formu

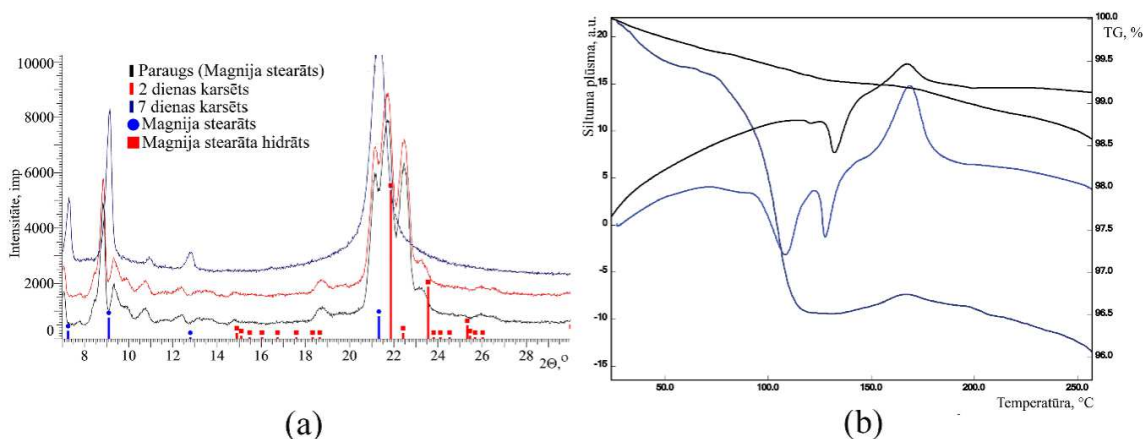
stabilitāti un fāžu pārejas ātrumu izmaiņas atkarībā no pildvielu veida un daudzuma paraugā. Izvēlētas šādas pildvielas: magnija un kalcija stearāts, kalcija karbonāts, saharoze, celuloze, laktozes monohidrāts. Visu izvēlēto pildvielu molekulu struktūras attēlotas 4. pielikumā.

3.4.1. Pildvielu stabilitāte 80 °C temperatūrā

Pirms eksperimenta, kurā nosaka aktīvās vielas – ksilazīna hidrogēnhlorīda formas X un zopiklona formas C stabilitāti atkarībā no pildvielu veida un daudzuma, sākumā nosaka pašu pildvielu stabilitāti 80 °C temperatūrā. Kalcija karbonāta, saharozes, laktozes monohidrāta un celulozes pulvera rentgendifraktogrammā netika novērotas izmaiņas pēc to karsēšanas vienu nedēļu 80 °C temperatūrā, bet izmaiņas parādījās kalcija un magnija stearāta paraugu rentgendifrakcijas ainās (sk. 3.37. un 3.38. att.).



3.37. att. Kalcija stearāta raksturojums: (a) - pulvera rentgendifraktogrammas paraugiem pēc karsēšanas 80 °C temperatūrā; (b) – DTA/TG līknes (t. zilā – sākuma paraugs; melnā – karsēts paraugs)



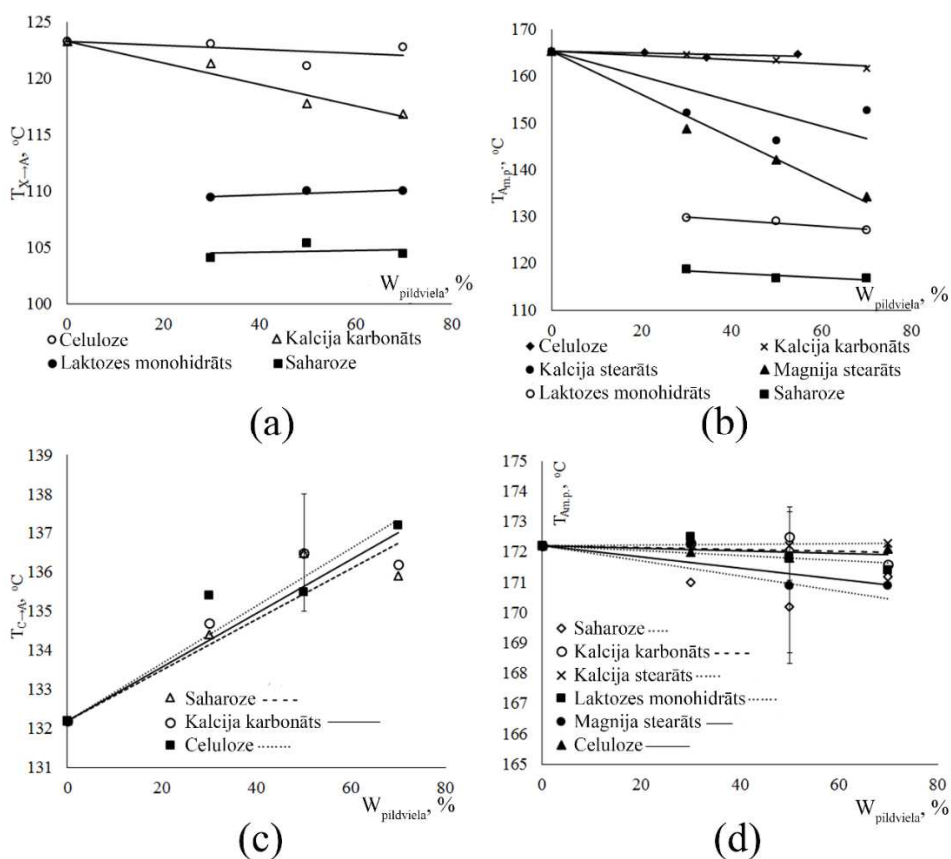
3.38. att. Magnija stearāta raksturojums: (a) - pulvera rentgendifraktogrammas paraugiem pēc karsēšanas 80 °C temperatūrā; (b) – DTA/TG līknes (t. zilā – sākuma paraugs; melnā – karsēts paraugs)

DTA/TG analīze veikta, lai izskaidrotu izmaiņas, kuras notika ar magnija un kalcija stearātu karsēšanas laikā (sk. 3.37.(b) un 3.38.(b) att.).

Var secināt, ka sākotnējie kalcija un magnija stearāta paraugi bija monohidrāta veidā, ko var redzēt pēc 3% masas zudumiem TG analīzē. Kalcija un magnija stearātu karsējot vienu nedēļu 80 °C temperatūrā, abi savienojumi sadalījās par bezūdens formām, ko var konstatēt no difraktogrammas izmaiņām, kā arī pēc DTA/TG analīzes, kur vairs netika novēroti masas zudumi. Abas pildvielas eksperimenta laikā var dehidratēties, bet tālāk tās tiks izmantotas tādā veidā kā piegādātas, jo tādā pašā formā tiek izmantotas kā pildvielas gatavo zāļu ražošanā. Tāpēc ir sagaidāms, ka abas konkrētās pildvielas varētu ietekmēt aktīvo vielu stabilitāti vairāk nekā pārējās pildvielas, kuras attiecīgos apstākļos bija stabilas.

3.4.2. Farmaceutiski aktīvo vielu termiskās īpašības atkarībā no pildvielu veida un daudzuma sākuma paraugā

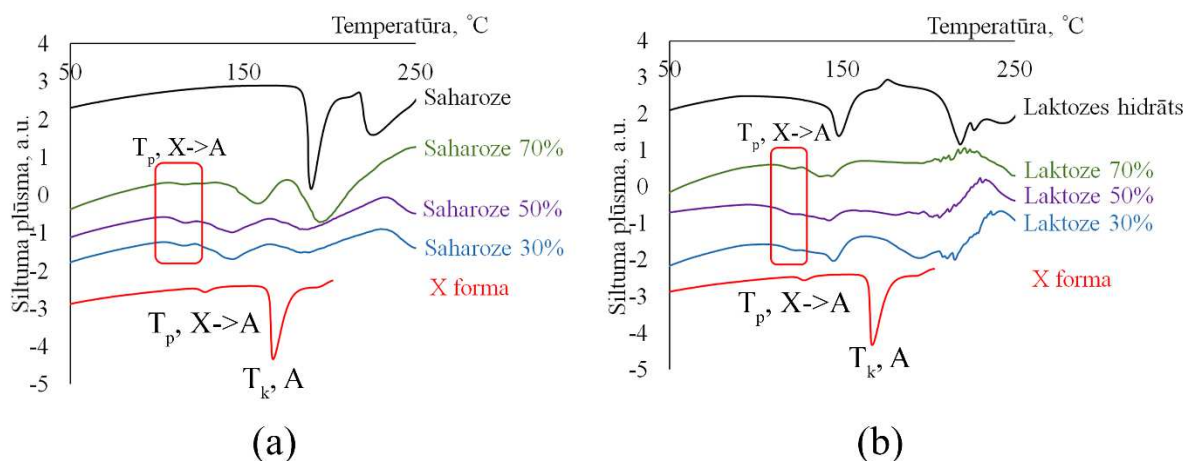
Pildvielas drīkst lietot kopā ar aktīvo vielu tad, ja ar DTA/TG analīzi netiek novērota abu vielu mijiedarbība [79,80], kas izpaužas kā aktīvās vielas kušanas signāla nobīde vai jaunu signālu parādīšanās derivatogrammā. DTA/TG analīze veikta aktīvo vielu un pildvielu maisījumiem, iegūtie rezultāti attēloti 3.39. attēlā. Visu maisījumu DTA rezultāti attēloti 5. pielikumā.



3.39. att. Aktīvo vielu termiskās īpašības raksturojošie parametri atkarībā no pildvielu veida un daudzuma paraugā: ksilazīna hidrogēnhlorīdam (a) fāžu pārejas temperatūra no formas X uz A; (b) – formas A kušanas temperatūra; zopiklonam (c) - fāžu pārejas temperatūra no formas C uz A; (d) – formas A kušanas temperatūra

No 3.39.(a) un (b) attēliem ir redzams, ka fāžu pārejas temperatūra no formas X uz A un formas A kušanas temperatūra ksilazīna hidrogēnhlorīdam samazinās, palielinoties pildvielu daudzumam paraugā. Magnija un kalcija stearāta gadījumā abu vielu dehidratācijas signāli pārklājas ar fāžu pārejas signālu un tos nav iespējams analizēt. Celuloze neizmainīja formas A kušanas temperatūru, tāpat celulozei bija mazs ietekme uz fāžu pārejas temperatūru, kamēr saharoze un laktozes monohidrāts ievērojami izmainīja termiskās īpašības.

Saharozes un laktozes hidrāta un ksilazīna hidrogēnhlorīda maisījumu derivatogrammas ir apkopotas 3.40. attēlā.



3.40. att. DTA līknes; (a) – saharozei un maisījumiem ar ksilazīna hidrogēnhlorīda formu X; (b) – laktozes monohidrātam un maisījumiem ar ksilazīna hidrogēnhlorīda formu X

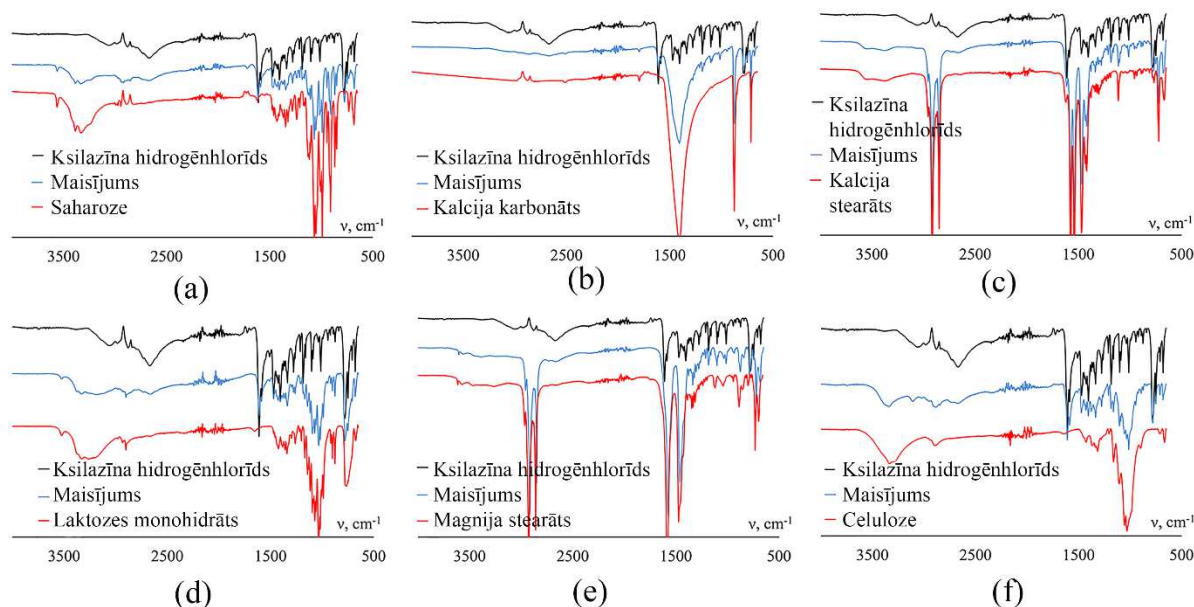
No attēla ir redzams, ka maisījuma gadījumā derivatogrammas signāli ir saplūduši kopā, no kā var secināt, ka saharozes un ksilazīna hidrogēnhlorīda maisījumā, kā arī laktozes monohidrāta un ksilazīna hidrogēnhlorīda maisījumā ir notikusi fizikāla mijiedarbība. Saharozes un laktozes monohidrāta struktūras ir ļoti līdzīgas (sk. 4. pielikumu), jo tie pieder vienai savienojumu klasei - ogļhidrātiem. Abu savienojumu molekulas satur daudzus ūdeņraža atomus, iespējamā sadarbība varētu notikt ar to starpniecību. Laktozes monohidrāta gadījumā pastāv vēl divi skaidrojumi, kāpēc DTA neparādās formas A kušanas signāls: 1) laktozes monohidrāts dehidratējas, un no kristāla struktūras atbrīvotais ūdens var izšķīdināt ksilazīna hidrogēnhlorīdu (ūdenī šķīstošo savienojumu šķīdība parasti palielinās, paaugstinoties temperatūrai) [81]. Zopiklona gadījumā šādu īpašību nenovēro, jo tas ir praktiski nešķīstošs ūdenī [33]. 2) Laktozes monohidrāts kūst ātrāk nekā ksilazīna hidrogēnhlorīds, līdz ar to ksilazīns var izšķīst izkausētā laktozē. Šie divi skaidrojumi neder saharozes un ksilazīna hidrogēnhlorīda maisījuma gadījumā, jo saharoze nepastāv hidrāta formā, kā arī tā nekūst zemākā temperatūrā par ksilazīna hidrogēnhlorīdu.

Jāpiebilst, ka temperatūras efekti ne vienmēr ir saistīti ar potenciālo mijiedarbību starp aktīvo vielu un pildvielu, reizēm tos dod arī faktori, kuri ir saistīti ar maisījuma komponentu tīrību.

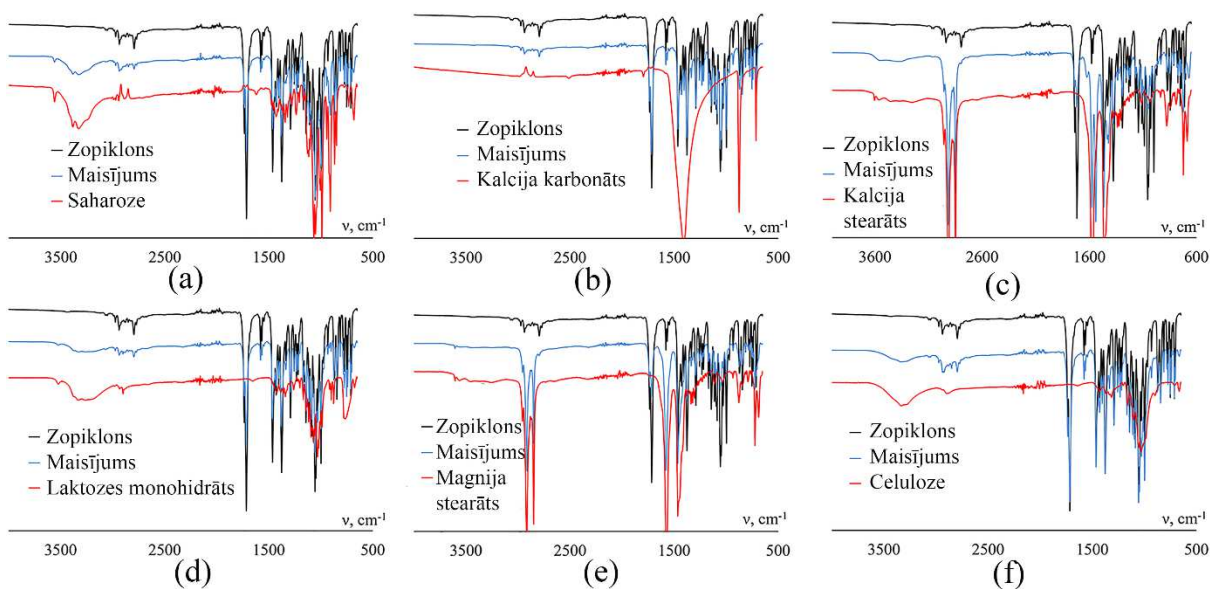
No 3.39.(c) un (d) attēliem ir redzams, ka nepieciešamā temperatūra zopiklona fāžu pārejai no C uz A palielinās, pieaugot pildvielu daudzumam paraugā, bet formas A kušanas temperatūra praktiski nemainās. Kalcija stearāta un laktozes monohidrāta dehidratācijas signāls pārklājās ar zopiklona fāžu pārejas signālu, un magnija stearāta dehidratācijas signāls derivatogrammā vispār nav redzams (5. pielikuma 2. attēls). Pildvielas mazāk ietekmē zopiklona fāžu pārejas temperatūru nekā ksilazīna hidrogēnhlorīda gadījumā. Iepriekš tika minēts, ka zopiklons ir praktiski nešķīstošs ūdenī, tāpēc iespējams, ka tam mazāk mainās īpašības maisījumos ar pildvielām, kuras ir hidratāta formā.

Iepriekšējās nodaļās tika ziņots, ka ksilazīna hidrogēnhlorīda fāžu pāreju no formas X uz A ietekmē relatīvais gaisa mitrums, tāpat arī tika apskatīts, ka paaugstinātā temperatūrā formas A veidošanās ir atkarīga no formu X un H daudzumiem. Tāpēc kalcija un magnija stearāta monohidrāta un laktozes monohidrāta maisījuma gadījumā termisko īpašību izmaiņas var tikt skaidrotas ar ūdens izdalīšanos analīzes laikā, kas varētu veicināt ātrāku formas A veidošanos. Tāpat pildvielu virsma var veicināt ātrāku aktīvo vielu polimorfu pāreju vai kušanu, jo var notikt aktīvās vielas absorbcija pildvielā [82]. Šis process var veicināt aktīvās vielas daļiņas samazināšanos, jo palielina īpatnējo virsmu. Īpatnējās virsmas palielināšanās var veicināt ātrāku fāžu pārejas norisi. Iepriekš tika minēts, ka ksilazīna hidrogēnhlorīda fāžu pārejas ātrums no X uz A pieaug, palielinoties formas X daļiņu lielumam.

Lai pārbaudītu, vai pildviela un aktīvā viela neveido ķīmisko mijiedarbību, tika uzņemti infrasarkanie spektri. Ķīmisko mijiedarbību parādītu signālu nobīde vai kādu jaunu joslu parādīšanās spektros [83].



3.41. att. Ksilazīna hidrogēnchlorīda un pildvielu maisījumu IS spektri: (a) – saharoze; (b) – kalcija karbonāts; (c) - kalcija stearāta hidrāts; (d) – laktozes monohidrāts; (e) – magnija stearāta hidrāts; (f) - celuloze



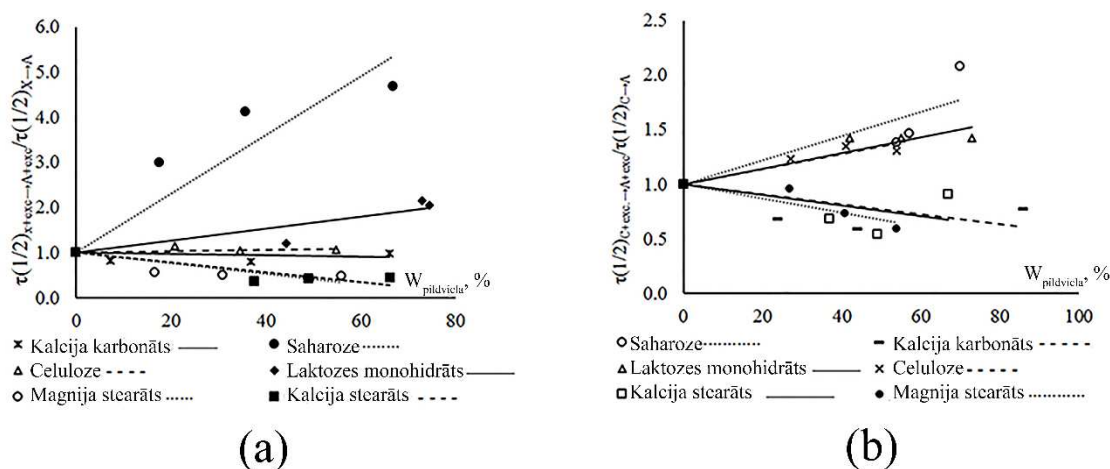
3.42. att. Zopiklona un pildvielu maisījumu IS spektri: (a) – saharoze; (b) – kalcija karbonāts; (c) - kalcija stearāta hidrāts; (d) – laktozes monohidrāts; (e) – magnija stearāta hidrāts; (f) - celuloze

Iegūtos rezultātus var apskatīt 3.41. un 3.42. attēlos. Kā redzams, tad ne ksilazīna hidrogēnchlorīda, nedz arī zopiklona gadījumā nav novērojama maisījumu signālu nobīde, kā arī jaunu signālu parādīšanās. Signālu nobīde arī netiek konstatēta maisījumiem ar pildvielām, ar kurām bija novērojama fizikālā mijiedarbība. Ķīmiskā mijiedarbība starp pildvielu un aktīvo vielu tiek novērota ļoti reti [83].

No rezultātiem var secināt, ka visas izmantotās pildvielas vairāk vai mazāk veicinās ātrāku fāžu pāreju no ksilazīna hidrogēnhlorīda formas X uz A, bet mazāk ietekmēs zopiklona fāžu pāreju no formas C uz A.

3.4.3. Farmaceutiski aktīvo vielu fāžu pārejas kinētika atkarībā no pildvielu veida un daudzuma

Eksperimentam sagatavotie maisījumi tika izturēti 80 °C temperatūrā. No iegūtajiem datiem aprēķinātas abu fāžu pārejas ātruma konstantes (ksilazīna hidrogēnhlorīda gadījumā izmantots CNNG vienādojums, bet zopiklona gadījumā – pirmās pakāpes vienādojums) un fāžu pārejas pusperiods (laika sprādis, kurā puse no termodinamiski nestabilās formas ir pārvērtusies). Iegūtie pusperiodi ir apkopoti 3.43. attēlā.



3.43. att. Nestabilās formas pusperiods atkarībā no pildvielu veida un daudzuma: (a) – ksilazīna hidrogēnhlorīds, (b) - zopiklons

No 3.43.(a) attēla ir redzams, ka fāžu pārejas pusperiods ksilazīna hidrogēnhlorīda formai X pieaug, palielinot saharozes un laktozes monohidrāta daudzumus paraugā. Celuloze neietekmē pusperiodu, bet kalcija karbonāta, magnija stearāta hidrāta un kalcija stearāta hidrāta daudzuma palielināšana samazina pusperiodu. Ja šos rezultātus salīdzinām ar DTA datiem, tad abos gadījumos rezultātus visvairāk ietekmē saharozes un laktozes pievienošana paraugam. Kalcija karbonāts tikai nedaudz maina pusperioda vērtību tā noteikšanas kļūdu robežās, no kā izriet secinājums, ka tas būtiski neietekmē pusperioda vērtību.

No 3.43.(b) attēla ir redzams, ka zopiklona gadījumā pildvielas var iedalīt divās grupās – vienas palielina, bet otras samazina pusperioda vērtību formai C. Pildvielas mazāk ietekmē pusperioda vērtību izmaiņas zopiklonam, salīdzinot ar ksilazīna hidrogēnhlorīdu, kas atkal korelē ar DTA rezultātiem. Tās pašas pildvielas, kuras samazināja zopiklona C formas stabilitāti, samazina arī ksilazīna hidrogēnhlorīda formas X stabilitāti.

No iegūtajiem rezultātiem ir redzams, ka izmantojot noteiktas pildvielas, ir iespējams gan samazināt, gan arī palielināt aktīvās vielas stabilitāti, līdz ar to izmainīt gatavo zāļu formu derīguma termiņu, kurās tās ir stabilas.

Aprēķinātās fāžu pāreju ātruma konstantes ir apkopotas 3.5. tabulā.

3.5. tabula

Aktīvo vielu fāžu pāreju ātrumu konstanšu atkarība no pildvielu veida un daudzuma

Pildviela	W _{pildviela} , %	Ksilazīna hidrogēnhlorīds		W _{pildviela} , %	Zopiklons k, h ⁻¹
		K ₁ , g·h ⁻¹	K ₂ , h ⁻¹		
Saharoze	0	5.7·10 ⁻²	0.29	0	0.11
	30	1.7·10 ⁻²	0.11	30	0.080
	50	5.9·10 ⁻³	0.16	50	0.074
	70	7.9·10 ⁻³	0.10	70	0.052
Kalcija karbonāts	0	7.5·10 ⁻³	0.10	0	0.10
	30	1.3·10 ⁻²	0.093	30	0.15
	50	7.8·10 ⁻³	0.15	50	0.18
	70	2.0·10 ⁻³	0.24	70	0.14
Celuloze	0	4.1·10 ⁻³	0.18	0	0.09
	30	1.1·10 ⁻³	0.31	30	0.074
	50	1.2·10 ⁻⁴	0.33	50	0.065
	70	9.1·10 ⁻⁴	0.38	70	0.069
Kalcija stearāta hidrāts	0	8.3·10 ⁻⁴	0.27	0	0.11
	30	1.2·10 ⁻³	0.99	30	0.15
	50	4.2·10 ⁻³	0.43	50	0.19
	70	6.9·10 ⁻³	0.29	70	0.17
Magnija stearāta hidrāts	0	1.1·10 ⁻⁴	0.66	0	0.11
	30	1.4·10 ⁻³	0.50	30	0.11
	50	5.9·10 ⁻³	0.27	50	0.14
	70	1.1·10 ⁻²	0.18	70	0.17
Laktozes hidrāts	0	8.0·10 ⁻⁴	0.64	0	0.090
	30	6.0·10 ⁻⁴	0.55	30	0.062
	50	9.2·10 ⁻⁵	0.56	50	0.064
	70	2.9·10 ⁻⁴	0.50	70	0.062

No 3.5. tabulas ir redzams, ka zopiklona fāžu pārejas C → A ātruma konstante kļūst lielāka, ja sākuma paraugam ir pievienots kalcija un magnija stearāta hidrāts un kalcija karbonāts, bet mazāka, ja pievieno saharozi, celulozi un laktozes monohidrātu. Magnija un kalcija stearāta dehidratācija, iespējams, veicina zopiklona formas A veidošanos. Kalcija karbonāta gadījumā ir iespējams, ka formas A veidošanos veicina kāds cits faktors, kā pildvielu virsmas vai piemaisījuma efekts.

No 3.5. tabulas ir redzams, ka ksilazīna hidrogēnhlorīda fāžu pāreju X → A apraksta ar divām ātruma konstantēm – aizmetņu veidošanos un to augšanu. Aizmetņu veidošanās ātruma konstante samazinās, palielinoties saharozes, kalcija karbonāta, celulozes un laktozes monohidrāta daudzumiem sākuma paraugā, bet palielinās magnija un kalcija stearāta hidrāta gadījumā. Konstantes palielināšanos var izskaidrot ar abu pildvielu dehidratāciju un gaisa mitruma veicinošo ietekmi uz formas A aizmetņu veidošanos. Laktozes monohidrāts

eksperimenta apstākļos ir stabils, līdz ar to fāžu pārejas ātrumu neietekmē. Aizmetņu augšanas ātruma konstante palielinās kalcija karbonāta, celulozes un kalcija stearāta gadījumā, bet samazinās vai nemainās pārējo pildvielu gadījumā. Fāžu pārejas pusperioda vērtības nemainījās, kad paraugam tika pievienota celuloze, bet no ātruma konstantes vērtībām konstatēja, ka aizmetņu veidošanās ātrums samazinājās, un augšanas vērtība palielinājās. No tā var secināt, ka kopējo procesu celuloze varētu neietekmēt.

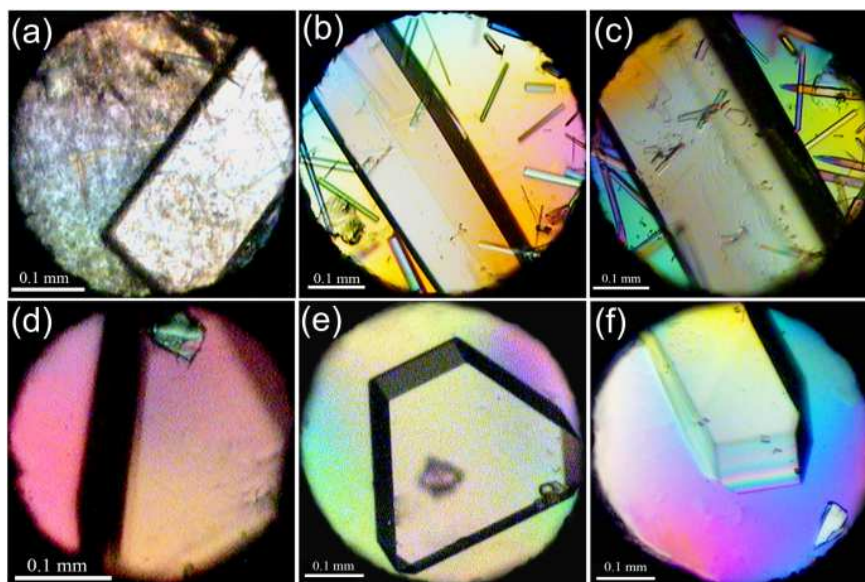
Salīdzinot kopējos rezultātus, var secināt, ka saharoze un laktozes monohidrāts samazina fāžu pārejas ātrumu gan zopiklonam, gan ksilazīna hidrogēnhlorīdam, līdz ar to neveicinot abu vielu termodinamiski stabilāko formu veidošanos, kamēr magnija un kalcija stearāta hidrāts palielina fāžu pāreju ātrumu. Magnija un kalcija stearāta hidrāti ir visbiežāk izmantotās pildvielas farmaceitiskajā rūpniecībā tablešu ražošanā, tāpēc to izmantošana jāizvērtē, ja var notikt ātrāka termodinamiskās formas veidošanās, iesaistot pildvielā esošo ūdens daudzumu.

Kopsavilkuma daļa

Gatavo zāļu formu tablešu ražošanai, veicot pildvielu izvēli, nepieciešams veikt rūpīgu aktīvo vielu un pildvielu fizikālo mijiedarbību izpēti, jo tādu mijiedarbību eksistence var radīt nepieciešamību aizstāt pildvielas ar citām, kuras neveicina mijiedarbību. Iegūtie rezultāti tāpat arī parādīja, ka pildvielas var ne tikai samazināt aktīvās vielas stabilitāti, bet arī to palielināt, kas ir būtisks faktors pierādot zāļu vielu (tablešu) derīguma termiņu un glabāšanas apstākļus. Aktīvo vielu un pildvielu maisījumam jāveic ne tikai termisko īpašību pārbaude, bet arī fāžu pāreju pētījumi paaugstinātās temperatūrās, jo tādi eksperimenti var dod citu ainu nekā DTA analīze, kā tas bija zopiklona un pildvielu maisījumu gadījumā. Stabilāko formu veidošanās bija atkarīga no pildvielu daudzuma sākuma paraugā, tāpēc nepieciešams izvērtēt kritisko masas daudzumu gala produktā, ja tādā veidā tiek ietekmēta tā stabilitāte.

3.5. Ksilazīna hidrogēnhlorīda solvātu īpašības paaugstinātā spiedienā

Ksilazīna hidrogēnhlorīdam *in-situ* režīmā dimanta šūnā iegūti sešu dažādu formu monokristāli. Iegūtās monokristālu fotogrāfijas ir apkopotas 3.44. attēlā. Iegūta viena polimorfā forma Z un pieci solvāti.



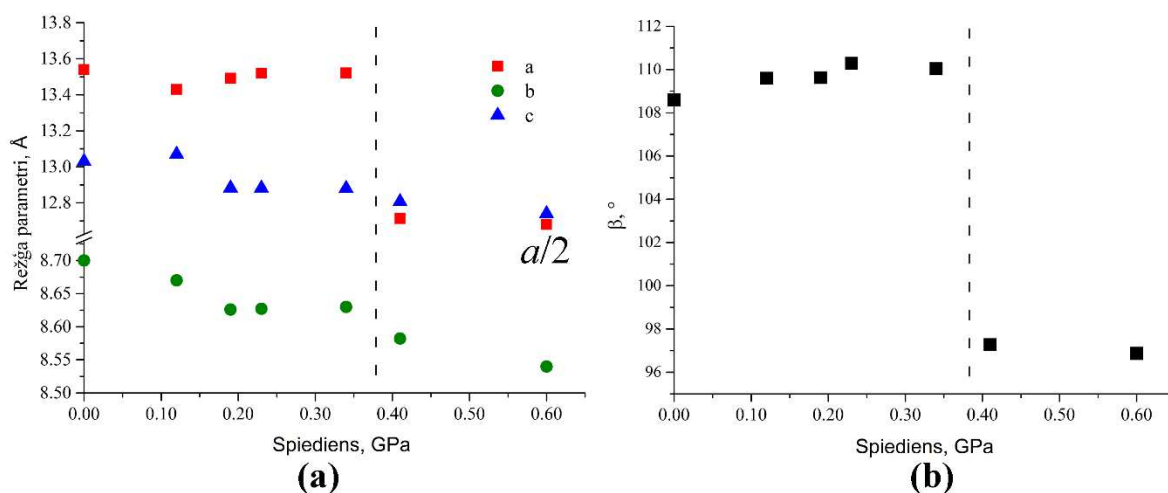
3.44. att. Iegūtie ksilazīna hidrogēnhlorīda monokristāli dimanta šūnā: (a) Z forma, (b) hidrāts H1, (c) hidrāts H2, (d) hloroforma solvāts, (e) dihlorometāna solvāts, (f) izopropanola solvāts

No 3.44. attēla ir redzams, ka katrai ksilazīna hidrogēnhlorīda formai ir sava kristālu morfoloģija. Dažādu formu iegūšana atkarīga no izmantotā šķīdinātāja, kā arī no tā, kuru no ksilazīna hidrogēnhlorīda formām izmanto, lai iegūtu piesātinātu šķīdumu pirms kristalizācijas veikšanas. Kā šķīdinātāju izmantojot metanolu, ieguva divas ksilazīna hidrogēnhlorīda formas – polimorfu Z un hidrātu. Tas, kura no formām kristalizējās, bija atkarīgs no metanolā izšķīdinātās formas: ja izšķīdināja bezūdens formu, tad veidojās zemās temperatūrās termodinamiski stabilākā forma Z [58], bet ja hidrātu, tad radās hidrāts. Šajā darbā pirmo reizi ieguva formas Z monokristālu, kuram veica rentgendifrakcijas analīzi, un no iegūtajiem datiem atrisināja struktūru. Līdz šim literatūrā [76] formas Z struktūra noteikta no pulvera rentgendifraktometrijas datiem. Hidrāta kristāls ir stabils līdz 0.60 GPa, bet forma Z – līdz 0.20 GPa. Virs attiecīgajiem spiedieniem veidojās polikristāliska masa, kura traucēja kvalitatīvu datu uzņemšanai. Formas Z gadījumā veikts tikai viens mērījums, un noteiktā struktūra sakrita ar literatūrā attēloto un aprakstīto struktūru [76] (struktūras kristalogrāfiskos datus skatīt 2. pielikuma 2. tabulā), bet hidrāta gadījumā veikti vairāki mērījumi pie dažādiem spiedieniem līdz 0.60 GPa. Pirmo reizi raksturotas ksilazīna hidrogēnhlorīda hloroforma, dihlorometāna un izopropanola solvātu struktūras, kuru veidošanās ir konstatēta iepriekšējos pētījumos. Hloroforma solvāta gadījumā veikti 4 mērījumi dažādos spiedienos, izopropanola - 2, bet dihlorometāna gadījumā raksturotas tikai režģa parametru vērtības.

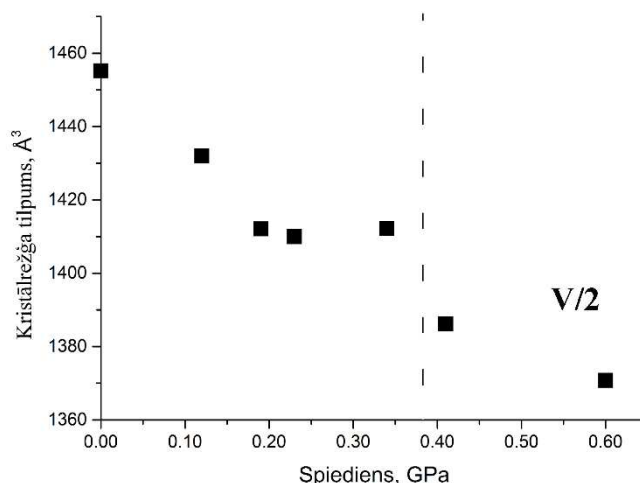
3.5.1. Ksilazīna hidrogēnhlorīda hidrāta stabilitāte, paaugstinoties spiedienam

Spiedienam paaugstinoties virs 0.41 GPa, konstatēja jauna hidrāta polimorfa veidošanos (tālāk apzīmēts ar H2), tātad spiediena ietekmē notika fāžu pāreja. Hidrāta polimorfa (H2) kristāliskajā režģī bija divas neatkarīgas formulvienības ($Z=2$), saglabājot monoklīno

singoniju un $P2_1/c$ simetrijas grupu. Abu hidrātu režģa parametru izmaiņas saistībā ar spiediena palielināšanos ir apkopotas 3.45. un 3.46. attēlos.



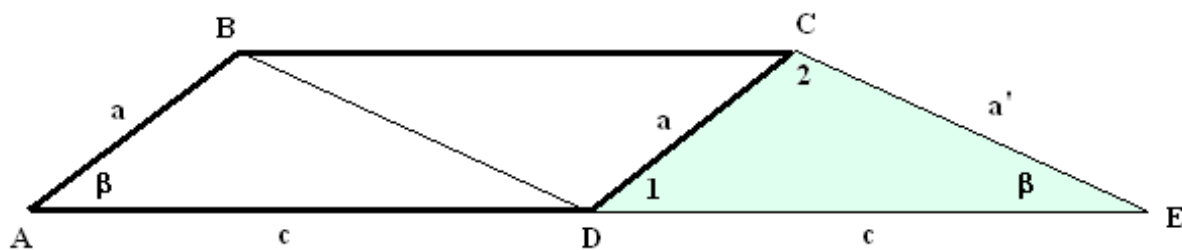
3.45 att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda polimorfo formu H (a) režģa parametru un (b) β leņķa izmaiņas, pieaugot spiedienam



3.46. att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda polimorfo formu H tilpumu izmaiņas, pieaugot spiedienam

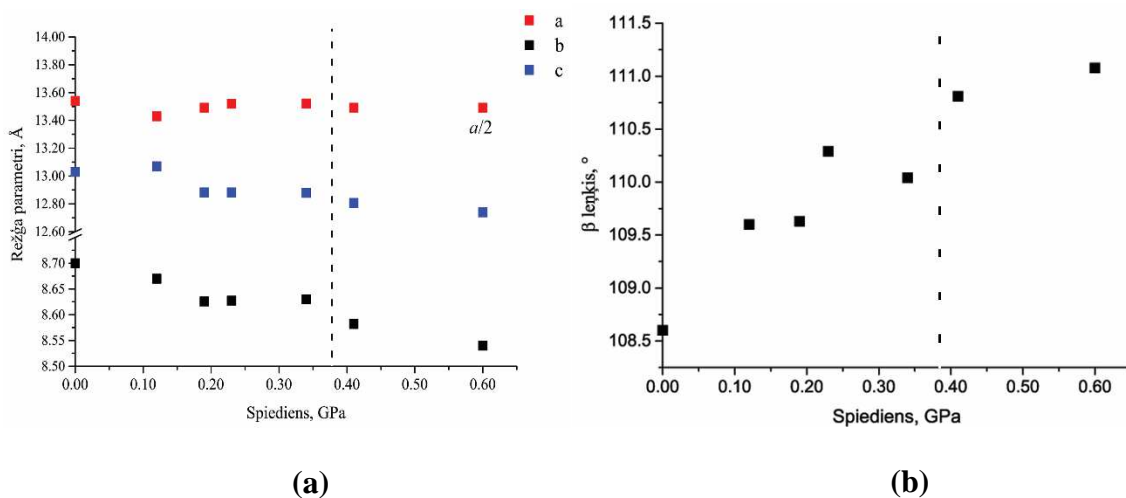
No 3.45. un 3.46. attēliem ir redzams, ka ir pārtraukums koordinātēs starp $a-p$ un $\beta-p$ vērtībām, kas ir mazāk novērojams $V-p$ un pārējo režģa parametru vērtību grafikā. Šāda rezultātu nevienlīdzība neļauj spriest, vai notikusi pirmā vai otrā veida fāžu pāreja starp formām H1 un H2. Pirmā veida fāžu pārejām ir pārtraukums, bet otrā veida – nepārtrauktība [84].

Tātad ir iespējams monoklīno singoniju attēlot ar citu a malas garumu un β leņķa vērtību, saglabājot iepriekšējo b, c malu garumus un kristālrežģa tilpumu V . Iespējamais pārveidojums ir parādīts 3.47. attēlā, kur ir redzams, ka a ir iepriekšējā, bet a' - jaunā vērtība. Tāpat ABCD ir iepriekšējais kristālrežģis, bet BCED - jaunais.



3.47. att. Monoklīno singoniju pārveidojums a malai un β leņķim

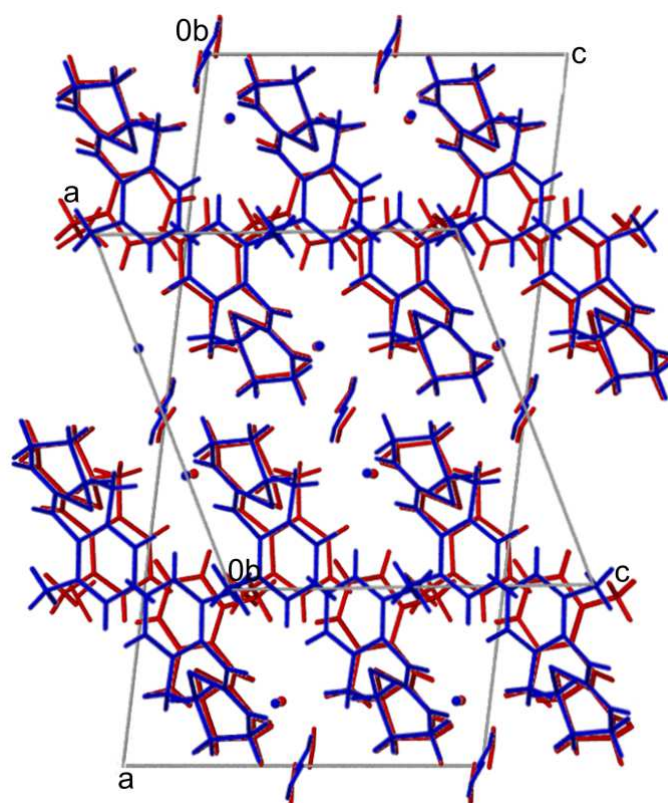
Attiecīgi parametru pārrēķini tika veikti pie 0.41 un 0.60 GPa iegūtajām struktūrām, kuru dati atlikti koordinātēs β - p un a (b , c)- p , un parādīti 3.48. attēlā.



3.48. att. Pārrēķinātās ksilazīna hidrogēnhlorīda polimorfo formu H (a) režģa parametru un (b) β leņķa izmaiņas, pieaugot spiedienam

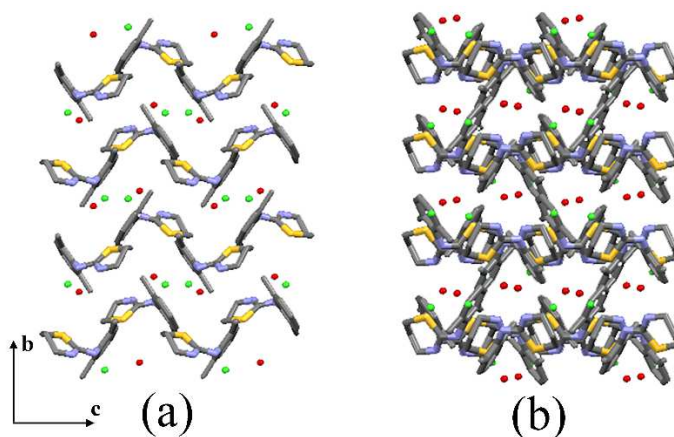
No 3.48. attēla ir redzams, ka attēlojot datus koordinātēs a - p un β - p , pārtraukumu vairs nenovēro, kas norāda uz otrā veida fāžu pāreju starp H1 un H1 formām.

Abu hidrātu struktūras ir ļoti līdzīgas gan pēc molekulu ģeometrijas, gan arī pēc molekulu novietojuma kristālrežģī (skat. 3.49. att.).



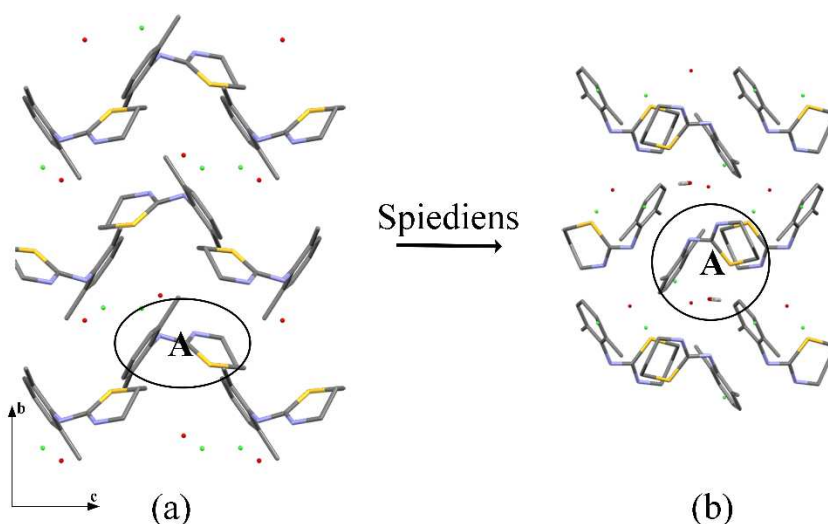
3.49. att. Abu hidrātu molekulu sakrītība kristāliskajā režģī perpendikulāri *b* asij: H1 (zils) un H2 (sarkans)

Būtiskākās atšķirības starp abiem hidrātiem ir *a* ass malas garumā, kura H2 struktūrā ir gandrīz divas reizes garāka nekā H1 struktūrā, kā arī ir novērojamas atšķirības molekulu izkārtojumā, tās projicējot perpendikulāri *a* asij (skat. 3.50. att.).



3.50. att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda molekulu pakojums perpendikulāri *a* asij: (a) – H1, (b) – H2

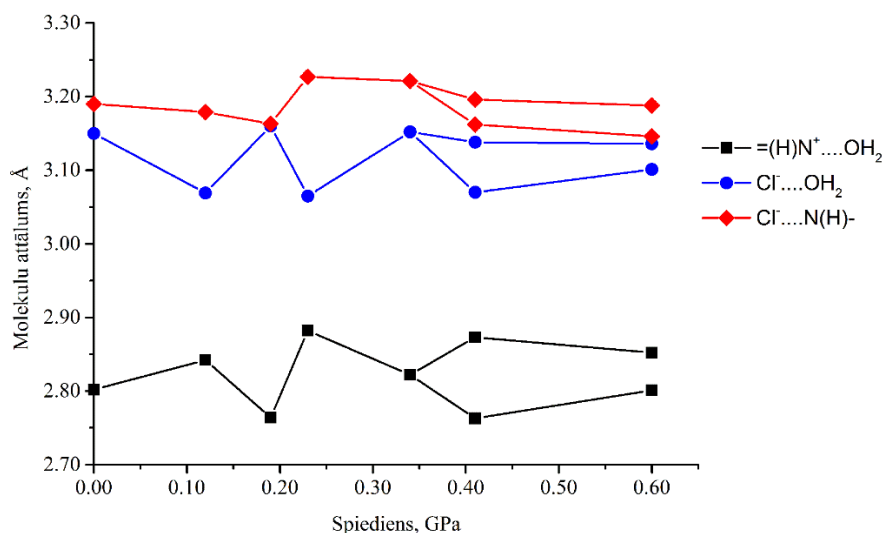
No 3.51. attēla ir redzamas ar fāžu pāreju saistītās molekulu izmaiņas spiediena ietekmē *b* ass virzienā.



3.51. att. Ksilazīna hidrogēnchlorīda molekulu pakojuma izmaiņas spiediena ietekmē: (a) – forma H1; (b) – forma H2

No 3.51. attēla ir redzams, ka molekula (apzīmēta ar A), kas veido atsevišķu slāni H1 struktūrā, spiediena ietekmē pārvietojās uz blakus esošu slāni. Pēc fāžu pārejas molekulas ir novietojušās tā, ka tās vairs neveido atsevišķu slāni formā H2. Notiekot slāņu apvienošanai, struktūras projekcijā perpendikulāri a asij pārklājas divi ksilazīna molekulu dihidrotiazīna gredzeni.

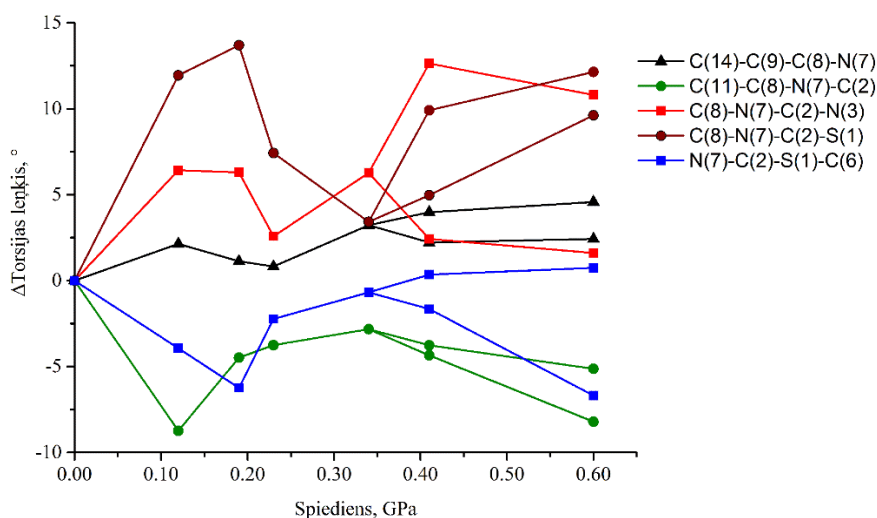
Aplūkojot ūdeņraža saišu motīvus, var secināt ka forma H2 neveido jaunas saites, un saišu motīvi abu hidrātu polimorfēm ir vienādi.



3.52. att. Ksilazīna hidrogēnchlorīda hidratā esošo smago atomu attālumu izmaiņas, pieaugot spiedienam

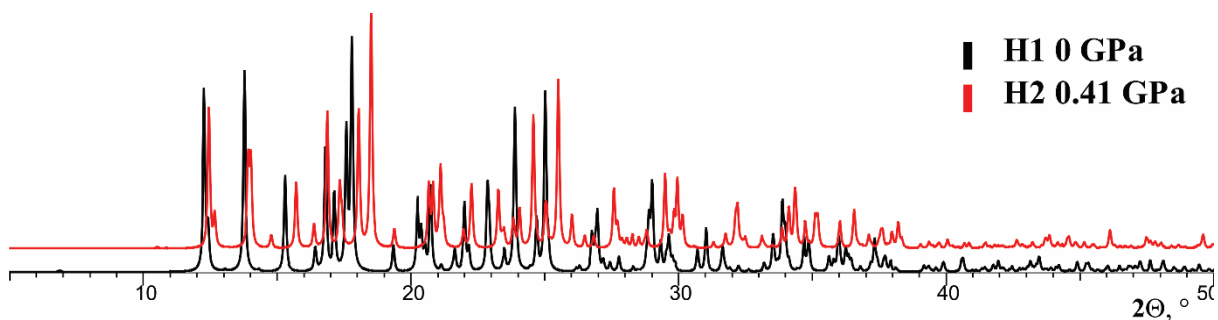
No 3.52. attēla (atomu numerācija dota 2. pielikuma 2. attēlā) ir redzami attālumi starp smagajiem atomiem ūdeņraža saitēs atkarībā no spiediena. Ir redzams, ka līdz ar spiediena palielināšanos attālums starp smagajiem atomiem būtiski nemainās. Salīdzinot abas

neatkarīgās molekulas formā H2, ir redzams ka tām katrai ir citādas īpašības – vienā formā attālums starp smagajiem atomiem palielinās vai nemainās, bet otrā tas samazinās.



3.53. att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda ksilazīna fragmenta dihedrālo leņķu vērtības, pieaugot spiedienam

Dihedrālo leņķu starpības starp lielumiem paaugstinātā spiedienā un normālos apstākļos ir apkopotas 3.53. attēlā. Ir redzams, ka pieaugot spiedienam dažu dihedrālo leņķu vērtības palielinājās, bet citos gadījumos tās nedaudz samazinājās. Lielākās izmaiņas bija par 13°, ko novēroja starp dihedrālajiem leņķiem ($\tau_{p0.42} - \tau_{p=0}$) formas H1 struktūrā. Vislielākās izmaiņas notika starp tiem leņķiem, kuri ir starp abiem gredzeniem: C(8)-N(7)-C(2)-S(1) un C(8)-N(7)-C(2)-N(3), jo tie ir elastīgāki nekā pārējie.

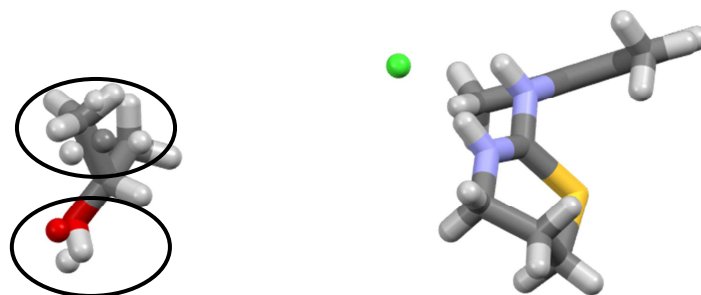


3.54. att. No monokristāla struktūras datiem simulēto pulvera rentgendifraktogrammu salīdzinājums H1 un H2 paraugiem

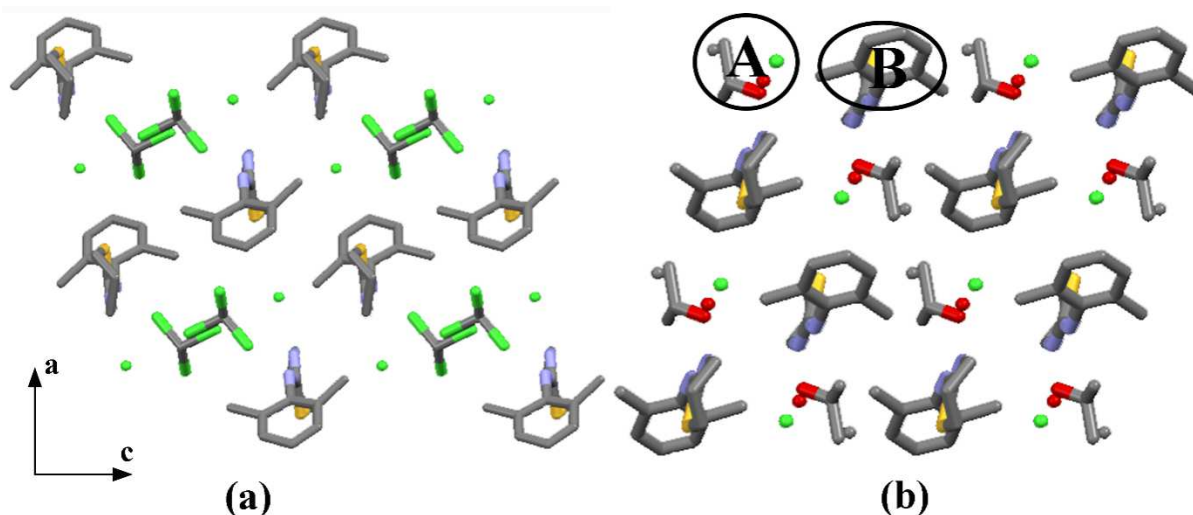
No iegūtajiem rezultātiem ir redzams, ka abi hidrātu polimorfi savā starpā ir ļoti līdzīgi. Salīdzinot abu hidrātu pulvera difraktogrammas, kas simulētas no struktūras datiem (3.54. att.), ir redzams ka daudzu refleksu pozīcijas ir sakrītošas vai līdzīgas. H2 pulvera difraktogrammā ir novērojami daži jauni refleksi. Abu hidrātu maisījumam normālos apstākļos ar pulvera rentgendifraktometrijas metodi būtu ļoti grūti atšķirt atsevišķu hidrātu refleksus. Iespējams, ja šāds maisījums ir bijis, tad tas nav identificēts refleksu līdzīgā novietojuma dēļ.

3.5.2. Ksilazīna hidrogēnhlorīda jaunu kristālisko formu kristalizācija, izmantojot paaugstinātu spiedienu

Iegūti triju ksilazīna hidrogēnhlorīda solvātu (ar hloroformu, dihlorometānu un izopropanolu) monokristāli, kuru veidošanās bija konstatēta arī iepriekšējos pētījumos [61]. Kristalizācija no hloroforma, ja tajā pirms eksperimenta ir izšķīdināta bezūdens forma, ļāva iegūt hloroforma solvātu. Šķīdinot hidrātu, iegūst hidrāta monokristālu, kura struktūras dati ir atspoguļoti jau iepriekš pie 0.23 GPa. Dihlorometāna solvāta gadījumā veica kristāla rentgendifrakcijas analīzi un noteica, ka tas kristalizējās triklīnajā singonijā, bet struktūra netika atrisināta, jo iegūto datu apjoms nebija pietiekams. Izopropanola solvāta struktūra ir atrisināta, bet, kā redzams no 3.55. attēla, tad šķīdinātāja molekula šajā struktūrā ir nesakārtota. Izopropanola solvātam ir izdarīti mērījumi pie divām spiediena vērtībām. Nesakārtotība izopropanolā pastāv gan 0.21 GPa, gan 0.60 GPa struktūrā.



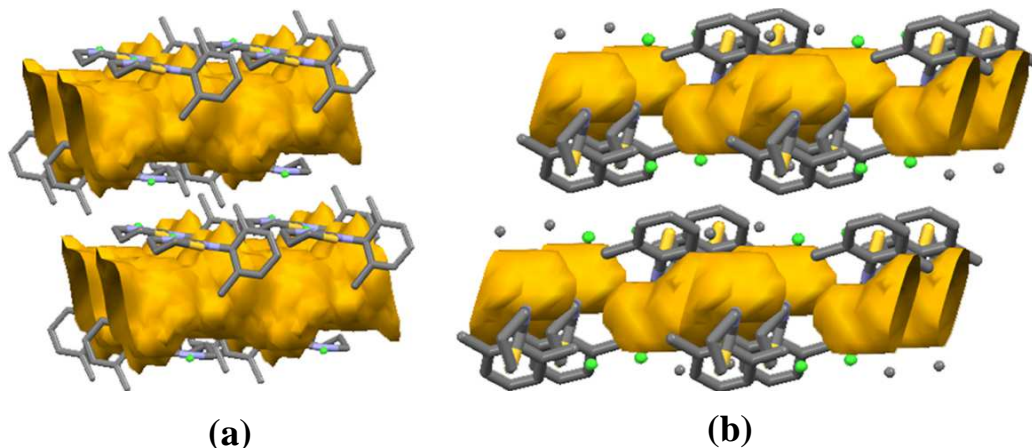
3.55.att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda izopropanola solvāta viena formulu vienība



3.56. att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda solvātu molekulu pakojums: (a) – hloroforma solvāts; (b) – izopropanola solvāts

Abu solvātu struktūras ir parādītas 3.56. attēlā. Tie abi kristalizējās triklīnajā singonijā ar $Z=1$. No attēla ir redzams, ka abos solvātos ksilazīna molekulu pakojums ir ļoti līdzīgs (a ass virzienā). Hloroforma solvāts ir kanālu solvāts, ko var uzskatāmi redzēt 3.57.(a) attēlā, bet izopropanola solvātā neveidojas nepārtraukti kanāli ar šķīdinātāja molekulām, ko var labi

redzēt 3.57.(b) attēlā, kurā parādīti pārtraukumi starp izopropanola molekulām. Šādu atšķirīgu šķīdinātāju molekulu novietojumu var saistīt ar katra šķīdinātāja molekulas tilpumu, kas izopropanolam ($60.18 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$) ir mazāks nekā hloroformam ($69.07 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$), kā arī izopropanolā esošais skābekļa atoms veido ūdeņraža saiti ar ksilazīna katjona sp^3 hibridizēto amīna slāpekli NH.



3.57. att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda solvātu šķīdinātāju molekulu aizņemtās telpas attēlojums: (a) – hloroforma solvāts; (b) – izopropanola solvāts

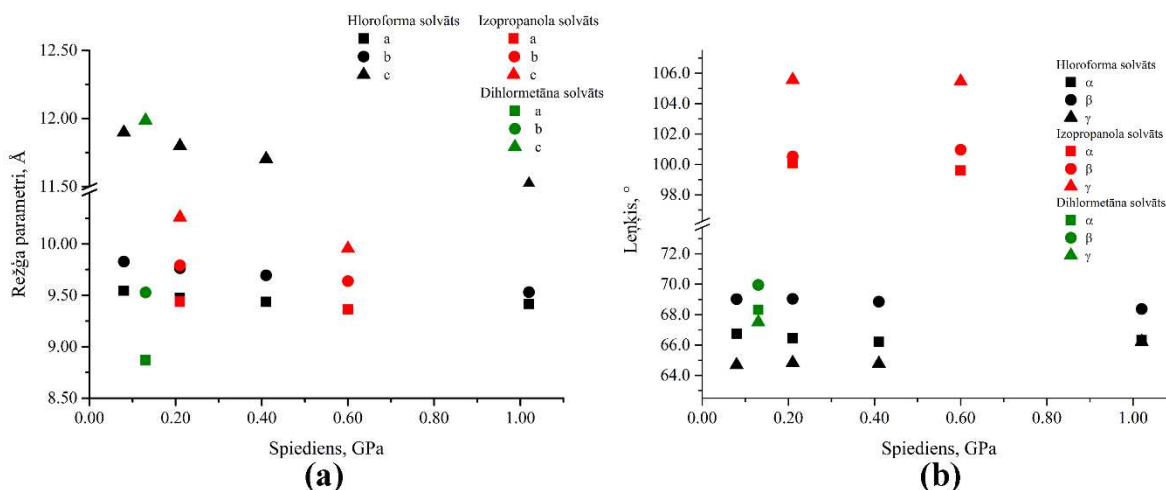
No 3.56. attēla ir redzams molekulu izvietojs abu solvātu kristālu struktūrās. Hloroforma solvāta a ass virzienā molekulas ir sakārtojās slāņos, kur vienā slānī esošās molekulas ir orientētas vienā virzienā, bet divi slāņi ir viens pret otru novietojosies antiparalēli, veidojot ksilazīna molekulu dubultslāņus, starp kuriem atrodas hloroforma molekulas. Izopropanola solvātā a ass virzienā ksilazīna molekulas veido līdzīgu pakojumu kā hloroforma solvātā. Lielākās atšķirības ir šķīdinātāja molekulu izvietojumā, kur izopropanola molekulas neatrodas starp ksilazīna molekulu dubultslāņiem, bet gan vienā slānī esošās izopropanola molekulas novietojas starp divām ksilazīna molekulām, veidojot molekulu ķēdi, kuru var apzīmēt kā *ABABA*. Līdz ar to ksilazīna molekulas neveido dubultslāni kā hloroforma solvātā, tomēr pašu ksilazīna molekulu ģeometriskais novietojums abiem solvātiem ir līdzīgs.

Hloroforma solvātā viens ksilazīna fragments veido divas ūdeņraža saites ar hlorīda anjoniem, veidojot grafu kopu $R^2_1(6)$, tieši tāpat kā formas A gadījumā. Izopropanola solvātā izteiktu grafu kopu nevar saskatīt, bet ksilazīna fragments ar hlorīda anjonu un izopropanola molekulu veido grafu kopu $R^2_2(8)$, hlorīda anjons un izopropanola fragments veido līdzīgu molekulu izkārtojumu kā formās Z un X, bet vienu hlorīda anjonu aizvieto izopropanola molekula, un divi ksilazīna katjoni ir novietojās vienā virzienā, nevis antiparalēli.

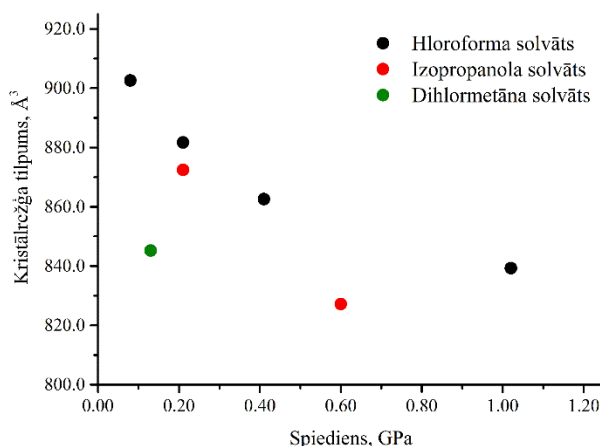
Hloroforma solvātā starp ksilazīna fragmentu un hloroformu neveidojās stipras ūdeņraža saites. Hloroforms veido vienu ūdeņraža saiti ar hlorīda anjonu, turklāt abas šīs saites veidojās ar diviem dažādiem hloroforma fragmentiem. Starp ksilazīna fragmentu un hloroforma fragmentu veidojās vājas ūdeņraža saites. Izopropanola solvātā ūdeņraža saites

veidojās starp ksilazīna fragmenta H7A un izopropanola skābekļa atomu, kā arī starp H3A un hlorīda anjonu. Pietiekami stipra ūdeņraža saite veidojās starp izopropanola fragmenta H2A atomu un hlorīda anjonu.

Abi solvāti ir stabili līdz 1 GPa spiedienam, bet augstākā spiedienā solvāti sāka sadalīties tāpat kā hidrāts, veidojot polikristālisku vielu. Abi solvāti ir nedaudz stabilāki paaugstinātā spiedienā nekā hidrāts, jo tie sadalās nedaudz vēlāk.



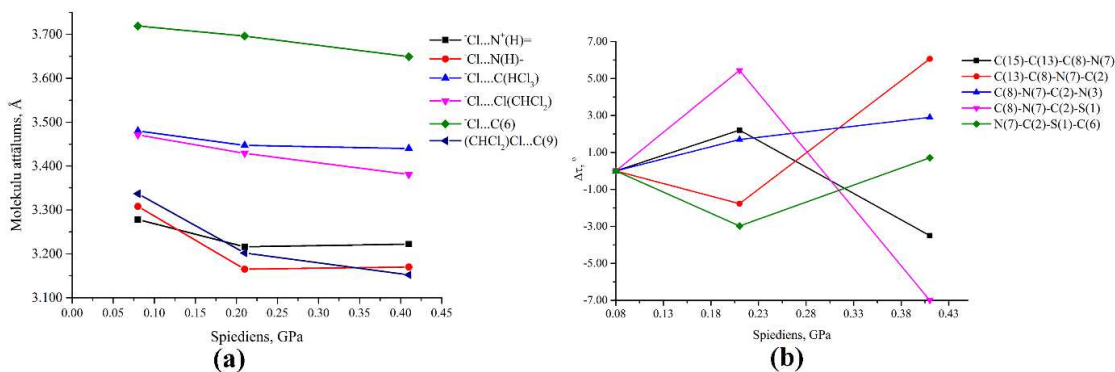
3.58. att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda solvāta (a) – režģa parametra un (b) leņķu izmaiņas, pieaugot spiedienam



3.59. att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda solvātu tilpuma izmaiņas, pieaugot spiedienam

Režģa parametru vērtību un tilpuma izmaiņas līdz ar spiediena palielināšanos ir redzamas 3.58. un 3.59. attēlos, kuri rāda ka kristālrežģu vērtības (a , b un c malas) un tilpums samazinās, palielinoties spiedienam. No režģa parametru vērtībām ir redzams, ka hloroforma un izopropanola solvātu struktūru a un b malu garumi ir vienādi un uzrāda vienādas īpašības, palielinoties spiedienam. Atšķirības ir c malas garumā, kura ir garāka hloroforma solvātā. Dihlormetāna solvāta malu garumi ar hloroforma un izopropanola solvātiem nav tik līdzīgi, bet pilnīgākai izpratnei būtu nepieciešami papildus pētījumi. No leņķu vērtībām (sk. 3.58. att. (b)) ir redzams, ka tie ir lielāki izopropanola solvātā, kam par iemeslu varētu būt atšķirīgais

šķīdinātāju molekulu novietojums. Hloroforma un dihlormetāna solvātā leņķu vērtības ir līdzīgākas savā starpā, bet dihlormetāna solvātā esošo leņķu vērtības savā starpā ir tuvākas viena otrai nekā hloroforma solvātā. No 3.59. attēla ir redzams, ka mazākais kristālrežģa tilpums ir dihlormetāna solvātam, bet straujāks tilpuma samazinājums ar spiedienu ir novērojams izopropanola solvātam.



3.60. att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda hloroforma solvāta (a) – smago atomu attālumus un (b) dihedrālo leņķu izmaiņas, pieaugot spiedienam

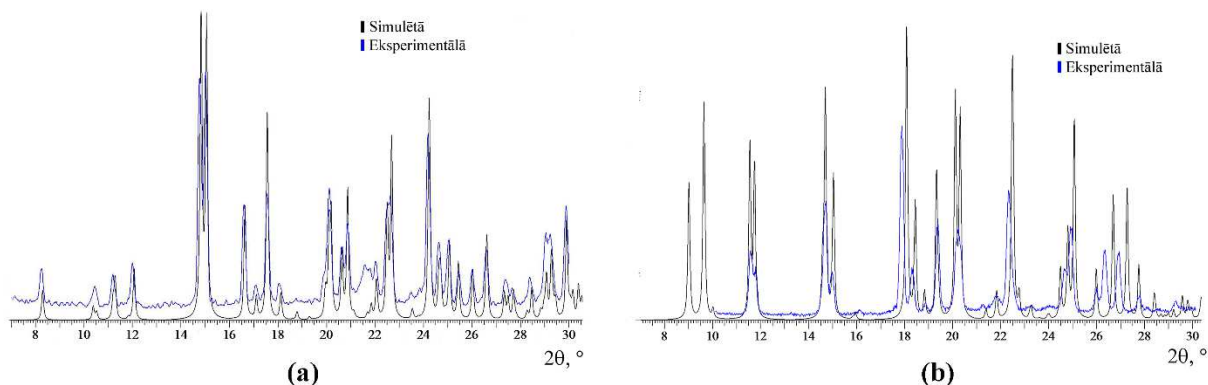
3.6. tabula

Izopropanola solvāta smago atomu attālumus un dihedrālo leņķu izmaiņas, pieaugot spiedienam

	0.21 GPa	0.60 GPa
$\text{Cl}\cdots\text{N}^+(\text{H})=$	3.105	3.090
$\text{Cl}\cdots\text{N}(\text{H})-$	2.800	3.200
$(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{H})\text{O}\cdots\text{Cl}$	3.224	2.827
$-\text{HC}(10)\cdots\text{C}(17)\text{H}_3\text{CHCH}_3\text{OH}$	3.379	3.399
$\text{Cl}\cdots\text{C}(6)-$	3.653	3.558
$\text{C}(15)-\text{C}(13)-\text{C}(8)-\text{N}(7)$	4.53	4.77
$\text{C}(13)-\text{C}(8)-\text{N}(7)-\text{C}(2)$	-95.17	-95.31
$\text{C}(8)-\text{N}(7)-\text{C}(2)-\text{N}(3)$	-179.94	-179.91
$\text{C}(8)-\text{N}(7)-\text{C}(2)-\text{S}(1)$	4.56	7.12
$\text{N}(7)-\text{C}(2)-\text{S}(1)-\text{C}(6)$	179.59	177.81

No 3.60.(a) attēla ir redzami attālumi starp smagiem atomiem, palielinoties spiedienam. Starpatomu attālumi samazinās, jo spiediena ietekmē sarūk kristālrežģī esošā brīvā telpa, bet notikušās izmaiņas ir nelielas. Dihedrālo leņķu vērtību (3.60.(b) att.) izmaiņas līdz ar spiedienu nav viennozīmīgas, jo sākumā dažu leņķu vērtības pieaug, bet pēc tam samazinās. Dihedrālo leņķu neparedzamās izmaiņas varētu būt saistītas ar to, ka izejas dati bija ar sliktu kvalitāti. Lai iegūtu labākus datus, būtu nepieciešamas veikt molekulu ģeometrijas optimizāciju pie attiecīgā spiediena. Apskatot 3.6. tabulā dotās izopropanola solvāta smago atomu attālumus izmaiņas pieaugot spiedienam, ir redzams ka apskatītie attālumi pārsvarā

samazinās, izņemot starp izopropanola molekulas skābekli un hlorīdu, kā arī C(10)···C(17). Tajā pašā laikā hloroforma solvāta izmaiņas atkarībā no spiediena nebija viennozīmīgas, tāpēc pilnīgākai izpratnei nepieciešami izopropanola solvāta papildus pētījumi. Izopropanola solvātā dihedrālo leņķu izmaiņas nav tik lielas kā hloroforma solvātā. Iespējams, tas ir saistīts ar to, ka izopropanola solvātā starp diviem ksilazīna katjoniem ir novietojusies izopropanola molekula, kura varētu apgrūtināt dihedrālo leņķu izmaiņas spiediena ietekmē.



3.61.att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda (a) hloroforma un (b) izopropanola solvātu kristāliskās struktūras paaugstinātā spiedienā, simulētās difraktogrammas salīdzinājums ar normālos apstākļos eksperimentāli iegūto

No 3.61. attēla ir redzama simulētās un eksperimentālās difraktogrammas sakritība gan hloroforma, gan arī izopropanola solvātam. Refleksu pozīcijas un refleksu attiecība labi sakrīt hloroforma solvātam, bet izopropanola solvāta gadījumā sakritība ir sliktāka un ir novērojama refleksu pozīciju nesakritība, tomēr var secināt, ka abi solvāti ir iegūti arī iepriekšējos pētījumos.

Kopsavilkuma daļa

Farmaceutiski aktīvo vielu struktūru pētījumi paaugstinātā spiedienā ir nepieciešami, jo ar tiem var modelēt pārvērtības tabletēšanas procesā, kā arī fāzu pārejas glabāšanas laikā. Ražojot gatavās zāļu formas, tiek izmantots paaugstināts mehāniskais spiediens, kas var radīt izmaiņas aktīvās vielas struktūrā un veicināt fāzu pārejas. No iegūtajiem rezultātiem konstatējām, ka ksilazīna hidrogēnhlorīda hidrātam paaugstinātā spiedienā eksistē otrs polimorfs. Abu šo formu maisījumu būtu grūti analizēt, jo to kristāliskās struktūras ir ļoti tuvas, kā rezultātā pulvera rentgendifraktogrammas arī ir ļoti līdzīgas.

Augstspiediena kristalogrāfijas pētījumi ļauj gūt priekšstatu par aktīvās vielas stabilitāti *in-situ* režīmā, kā arī ļauj noskaidrot polimorfu un solvātu struktūras, kuras parastos apstākļos nav stabilas, vai kurām nav iespējams iegūt rentgendifrakcijas analīzei pietiekami labas kvalitātes monokristālus.

SECINĀJUMI

1. Pilnveidots CNNG cietfāžu pārejas kinētiskais modelis, kas ietver aizmetņu veidošanos un to augšanas stadijas. Izveidota šo modeli aprakstošās diferenciālvienādojumu skaitliskās risināšanas metode, kas tiek kombinēta ar daudzparametru optimizācijas metodi un kas pēc mazāko kvadrāta metodes ļauj noteikt stadiju ātruma konstantes. Datu apstrādes metode salīdzinājumā ar citiem kinētikas vienādojumiem dod vismazāko standartnovirzi ksilazīna hidrogēnhlorīda cietfāžu pārejai no X uz A formu.
2. Pilnveidots Kardeva izstrādātais kinētiskais modelis un procesu aprakstošo vienādojumu risināšanas paņēmieni, kas pretstatā autora oriģinālam risinājumam ļauj pilnībā aprakstīt eksperimentālos punktus pārvešanās pakāpes robežās no 0 līdz 1 koordinātēs α -t.
3. Ksilazīna hidrogēnhlorīda cietfāžu pāreja $H \rightarrow X \rightarrow A$ notiek divās stadijās. Sākuma stadijā paralēli notiek gan dehidratācija no formas H uz X, gan arī fāžu pāreja no formas X uz A. Atkarībā no mainīgajiem vides un formas H pirmsapstrādes apstākļiem, mainās fāžu pārejas ātrums no formas X uz A. Temperatūras, relatīvā gaisa mitruma un mehāniskā spiediena pieaugums veicina ātrāku formas A veidošanos no formas X, bet formas H īpatnējās virsmas palielināšana palēnina formas A veidošanos.
4. Zopiklona cietfāžu pāreja $B \rightarrow C \rightarrow A$ notiek divās stadijās ar pilnīgu formas B dehidratēšanos. Ātrāka formas A veidošanās fāžu pārejā no formas C uz A notiek, ja sākuma paraugam pievieno formu B, kā arī ja forma B tiek saberzta pietiekami ilgi.
5. Ksilazīna hidrogēnhlorīda cietfāžu pārejas $X \rightarrow A$ ātrums nemainās, ja sākuma paraugam pievieno formu Z, jo pārejas laikā tā ir metastabila. Pārejas $X \rightarrow A$ ātrums samazinās, ja sākuma paraugam pievieno formu M, jo paralēli notiek formas X pāreja uz formu M.
6. Ksilazīna hidrogēnhlorīda un zopiklona termodinamiski metastabilās formas stabilitāte samazinās, ja kā pildvielas tiek izmantoti magnija un kalcija stearātu hidrāti, bet stabilitāte palielinās, ja pievieno saharozi vai laktozes hidrātu. Termiskā analīze ne vienmēr parāda aktīvās vielas un pildvielas maisījuma mijiedarbību, kas var notikt fāžu pārejas laikā.
7. Ksilazīna hidrogēnhlorīda formai H paaugstinātā spiedienā pastāv otra polimorfā forma. Augstspiediena H2 forma kristalizējas monoklīnajā singonijā $P2_1/c$ simetrijas grupā ar diviem neatkarīgiem ksilazīna katjoniem elementāršūnā.
8. Ksilazīna hidrogēnhlorīds veido hloroforma, dihlormetāna un izopropanola solvātus. Tie visi kristalizējas triklīnajā singonijā.

IZMANTOTĀ LITERATŪRA

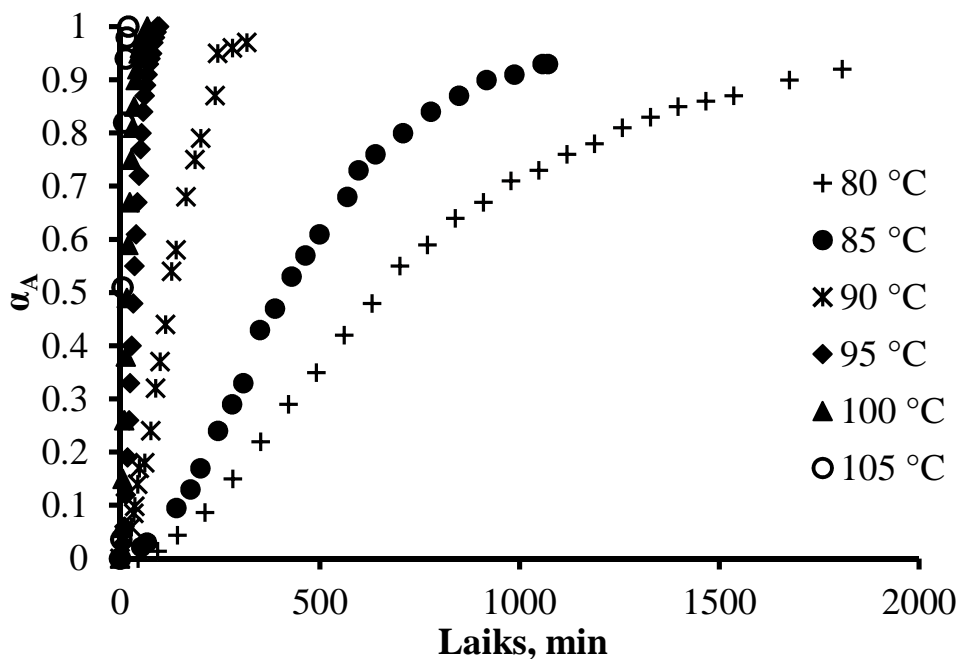
1. Rodríguez-Spong, B.; Price, C. P.; Jayasankar, A.; Matzger, A. J.; Rodríguez-Hornedo, N. General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2004**, 56, 241–74.
2. Giron, D.; Mutz, M.; Garnier, S. Solid-state of pharmaceutical compounds: Impact of the ICH Q6 guideline on industrial development. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2004**, 77, 709–747.
3. Brittain, H. G. (Ed.). *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*; Informa Healthcare USA, Inc.: New York, 2009, 427.
4. Vippagunta, S. R.; Brittain, H. G.; Grant, D. J. Crystalline solids. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, 48, 3–26.
5. Hilfiker, R. Polymorphism of Crystalline Systems. In: *Cryst. Basic Concepts Ind. Appl.*; Beckmann, W., Ed.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2013.
6. Kishi, Y.; Matsuoka, M. Phenomena and Kinetics of Solid-State Polymorphic Transition of Caffeine. *Cryst. Growth Des.* **2010**, 10, 2916–2920.
7. Gu, C. H.; Grant, D. J. Estimating the relative stability of polymorphs and hydrates from heats of solution and solubility data. *J. Pharm. Sci.* **2001**, 90, 1277–87.
8. Sarraguça, M. C.; Cruz, A. V.; Soares, S. O.; Amaral, H. R.; Costa, P. C.; Lopes, J. a. Determination of flow properties of pharmaceutical powders by near infrared spectroscopy. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2010**, 52, 484–92.
9. Yu, L. Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, 48, 27–42.
10. Giron, D. Monitoring of Polymorphism – From Detection to Quantification. *Eng. Life Sci.* **2003**, 3, 103–112.
11. Ghugare, P.; Dongre, V.; Karmuse, P.; Rana, R.; Singh, D.; Kumar, A.; Filmwala, Z. Solid state investigation and characterization of the polymorphic and pseudopolymorphic forms of indapamide. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2010**, 51, 532–40.
12. Brittain, H. G. Polymorphism and Solvatomorphism 2010. *J. Pharm. Sci.* **2012**, 101, 464–484.
13. Giron, D. Characterisation of salts of drug. *J. Therm. Anal.* **2003**, 73, 441–457.
14. Hilfiker, R.; Blatter, F. Relevance of Solid-state Properties for Pharmaceutical Products. *Differences* **2006**, 1–20.
15. Yu, L.; Reutzel, S. M.; Stephenson, G. a. Physical characterization of polymorphic drugs: an integrated characterization strategy. *Pharm. Sci. Technol. Today* **1998**, 1, 118–127.
16. Miller, J.; Collman, B.; Greene, L.; Grant, D.; Blackburn, A. Identifying the Stable Polymorph Early in the Drug Discovery-Development Process. *Pharm. Dev. Technol.* **2005**, 10, 291–297.
17. Okumura, T.; Ishida, M.; Takayama, K.; Otsuka, M. Polymorphic Transformation of Indomethacin under High Pressures. *Synthesis (Stuttg)*. **2006**, 95, 689–700.
18. Sheridan, A. K.; Anwar, J. Kinetics of the Solid-State Phase Transformation of Form β to γ of Sulfanilamide Using Time-Resolved Energy-Dispersive X-ray Diffraction. *Chem. Mater.* **1996**, 8, 1042–1051.
19. Mnyukh, Y. V. Molecular Crystals and Liquid Crystals Polymorphic Transitions in Crystals : Kinetics Polymorphic Transitions in Crystals : Kinetics. **2011**, 37–41.
20. Khawam, A.; Flanagan, D. R. Solid-state kinetic models: basics and mathematical fundamentals. *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110, 17315–17328.
21. Galwey, A. K. A. K.; Brown, M. E. E. *Thermal Decomposition of Ionic Solids*; Elsevier B.V.: Amsterdam, 1999, 596.

22. Bamford, C. H.; Tipper, C. F. H. Reactions in the Solid State. In: *Compr. Chem. Kinet.*; Elsevier B.V.: 1980, p. 340.
23. Boldyrev, V. V. Topochemistry of thermal decompositions of solids. *Thermochim. Acta* **1986**, 100, 315–338.
24. Galwy, A.; Laverty, G. The nucleus in solid state reactions: Towards a definition. *Solid State Ionics* **1990**, 38, 155–162.
25. Jacobs, P.; Tompkins, F. *Chemistry of the Solid State*; Butterworth: London, 1955.
26. Allnatt, a. R.; Jacobs, P. W. M. Theory of nucleation in solid state reactions. *Can. J. Chem.* **1968**, 46, 111–116.
27. Galwey, A. K.; Brown, M. E. *Thermal Decomposition of Ionic Solids*; Elsevier B.V.: Amsterdam, 1999, 596.
28. Guo, L.; Radisic, A.; Searson, P. C. Kinetic Monte Carlo simulations of nucleation and growth in electrodeposition. *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 24008–15.
29. Avrami, M. Kinetics of Phase Change. I General Theory. *J. Chem. Phys.* **1939**, 7, 1103.
30. Jacobs, P. W. M. Formation and Growth of Nuclei and the Growth of Interfaces in the Chemical Decomposition of Solids: New Insights †. *J. Phys. Chem. B* **1997**, 101, 10086–10093.
31. Mnyukh, Y. V. Molecular Mechanism of Polymorphic Transitions. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1979**, 52, 163–199.
32. Forms, S. D. Pharmaceutical Sciences Stability of Solids and Solid Dosage Forms. *J. Pharm. Sci.* **1974**, 63, .
33. Terblanche, R. J.; Liebenberg, W.; de Villiers, M. M.; Lötter, a P. Characterization of zopiclone crystal forms found among generic raw materials. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2000**, 26, 531–537.
34. House, J. *Principles of Chemical Kinetics*, 2nd Ed.; Elsevier Inc: Hardbound, 2007, 336.
35. Khawam, A.; Flanagan, D. R. Basics and Applications of Solid-State Kinetics : A Pharmaceutical Perspective. *J. Pharm. Sci.* **2006**, 95, 472–498.
36. Matsuo, K.; Matsuoka, M. Solid-State Polymorphic Transition of Theophylline Anhydrate and Humidity Effect. *Cryst. Growth Des.* **2007**, 7, 411–415.
37. Taylor, L. S.; York, P. Characterization of the phase transitions of trehalose dihydrate on heating and subsequent dehydration. *J. Pharm. Sci.* **1998**, 87, 347–55.
38. Schmalzried, H. *Chemical Kinetics of Solids*; VCH Publishers: Weinheim, Germany, 1995, 433.
39. Mura, P.; Faucci, M. T.; Manderioli, A.; Bramanti, G.; Ceccarelli, L. Compatibility study between ibuprofen and pharmaceutical excipients using differential scanning calorimetry, hot-stage microscopy and scanning electron microscopy. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1998**, 18, 151–163.
40. Mroso, P. V; Li Wan Po, a; Irwin, W. J. Solid-state stability of aspirin in the presence of excipients: kinetic interpretation, modeling, and prediction. *J. Pharm. Sci.* **1982**, 71, 1096–101.
41. Freire, F. D.; Aragão, C. F. S.; Lima e Moura, T. F. A.; Raffin, F. N. Compatibility study between chlorpropamide and excipients in their physical mixtures. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2009**, 97, 355–357.
42. Airaksinen, S. *Role of Excipients in Moisture Sorption and Physical Stability of Solid Pharmaceutical Formulations* by; 2005.
43. Woolfson, M. M. *An introduction to X-ray crystallography*, 2nd Ed.; Cambridge University press: 1997, 402.
44. Hammond, C. *The Basics of Crystallography and Diffraction*, 3rd Ed.; Oxford University press: 2009, 448.
45. Waseda, Y.; Matsubara, E.; Shinoda, K. *X-Ray Diffraction Crystallography*; Springer: New York, 2011, 310.

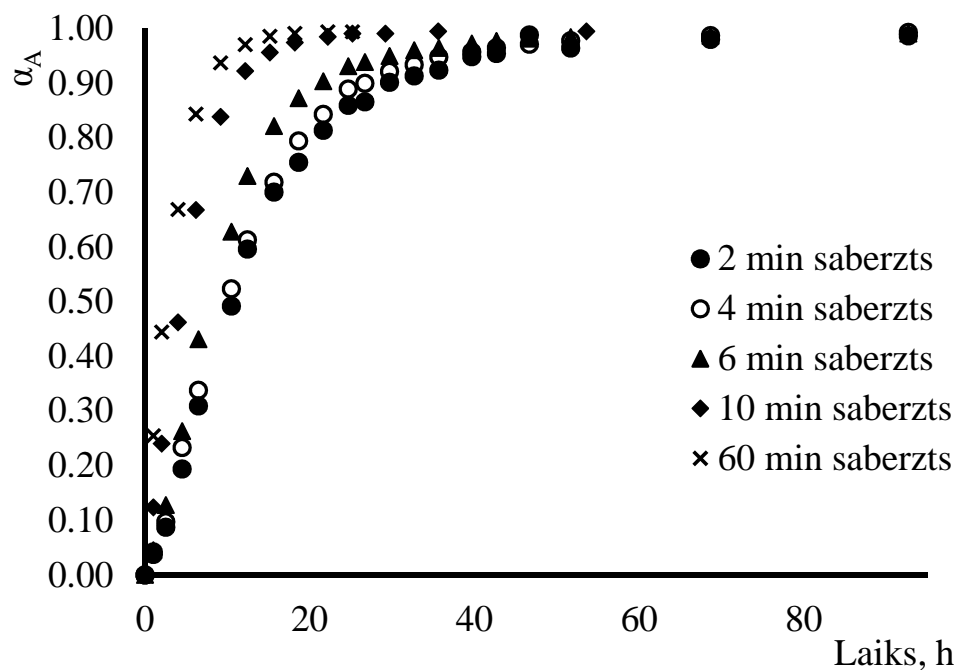
46. Brittain, H. G. Developing an Appropriate Salt Form for an Active Pharmaceutical Ingredient. *Am. Pharm. Rev.* **2009**, 62–65.
47. Jenkins, R.; Snyder, R. L. *Introduction to X-ray Powder Diffractometry*; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 1996, 403.
48. Bernstein, J. *Polymorphism of Organic Compound*; Oxford University press: Oxford, 2008, 407.
49. Craig, D. Q. M.; Reading, M. (Eds.). *Thermal analysis of pharmaceuticals*; Taylor & Francis Group: 2006, 416.
50. Brittain, H. G. (Ed.). *Spectroscopy of Pharmaceutical Solids*; Taylor & Francis Group: New York, NY, 2006, 592.
51. Katrusiak, A. High-pressure crystallography. **2008**, 135–148.
52. Hemley, R. J. Effects of high pressure on molecules. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2000**, 51, 763–800.
53. Fabbiani, F. P. a; Pulham, C. R. High-pressure studies of pharmaceutical compounds and energetic materials. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, 35, 932–42.
54. Piermarini, G. J.; Block, S.; Barnett, J. D.; Forman, R. A. Calibration of the pressure dependence of the R1 ruby fluorescence line to 195 kbar. *J. Appl. Phys.* **1975**, 46, 2774.
55. Boldyreva, E. High-pressure studies of the hydrogen bond networks in molecular crystals. *J. Mol. Struct.* **2004**, 700, 151–155.
56. Boldyreva, E. V. High pressure and supramolecular systems. *Russ. Chem. Bull.* **2004**, 53, 1369–1378.
57. Blumberga, A.; Actiņš, A. Zopiklona kristālisko modifikāciju termodinamiskā stabilitāte. *Latv. Ķīmijas Žurnāls* **2005**, 150–158.
58. Bērziņš, A.; Krūkle, K.; Actiņš, A.; Kreišmanis, J. P. The relative stability of Xylazine hydrochloride polymorphous forms. *Pharm. Dev. Technol.* **2010**, 15, 217–222.
59. Veterinary product Information. Xylazine HCl Injection. **n.d.,**
60. *European Pharmacopoeia*, 7th Ed.; Strasbourg, 2010, 3238–3239.
61. Bērziņš, A.; Actiņš, A.; Veldre, K. Ksilazīna hidrogēnhlorīda kristāliskās formas. *Latv. J. Chem.* **2008**, 3, 226–232.
62. Shankland, N.; David, W. I. F.; Shankland, K.; Kennedy, A. R.; Frampton, C. S.; Florence, A. J. Structural transformations in zopiclone. *Chem. Commun.* **2001**, 21, 2204–2205.
63. Xcalibru CCD System, CrysAlisPro software system. **2009,**
64. Ostwinowski, Z.; Minor, W. *Methods in Enzymology: Macromolecular Crystallography*; Academic Press: New York, 1997, 307–326.
65. Dolomanov, O. V; Bourhis, L. J.; Gildea, R. J.; Howard, J. A. K.; Puschmann, H. OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program. *J. Appl. Crystallogr.* **2009**, 42, 339–341.
66. Bruker AXS. Topas. **1999,**
67. Gavezzotti, A. Efficient computer modeling of organic materials. The atom–atom, Coulomb–London–Pauli (AA-CLP) model for intermolecular electrostatic-polarization, dispersion and repulsion energies. *New J. Chem.* **2011**, 35, 1360.
68. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A., J.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, N. J.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R.

- E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. *Gaussian 09*. **2009**.
69. Krūkle, K. Ksilazīna hidrogēnhlorīda stabilitāte un fāžu pāreju kinētika, Latvijas Universitāte, 2009.
 70. Krūkle-Bērziņa, K. Kinētikas modeļa pilnveidošana un izmantošana izvēlēto farmaceitiski aktīvo cietvielu fāžu pārējām, Latvijas Universitāte, 2011.
 71. Cardew, P. T.; Davey, R. J.; Ruddick, A. J. Kinetics of polymorphic solid-state transformations. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2* **1984**, 80, 659.
 72. Bērziņš, A.; Actiņš, A.; Kreišmanis, J. P. Hydration and dehydration kinetics of xylazine hydrochloride. *Pharm. Dev. Technol.* **2009**, 14, 388–399.
 73. Carstensen, J. T. *Advanced Pharmaceutical Solids*; Marcel Dekker, Inc: New York, NY, 2001, 518.
 74. Macrae, C. F.; Edgington, P. R.; McCabe, P.; Pidcock, E.; Shields, G. P.; Taylor, R.; Towler, M.; van de Streek, J. Mercury : visualization and analysis of crystal structures. *J. Appl. Crystallogr.* **2006**, 39, 453–457.
 75. Veidis, M. V; Orola, L.; Arajs, R. N-(2,6-Dimethyl-anilino)-5,6-dihydro-4H-1,3-thiazin-3-ium chloride monohydrate. *Acta Crystallogr. Sect. E. Struct. Rep. Online* **2008**, 64, o1062.
 76. Zvirgzdins, A.; Mishnev, A.; Actins, A. Structure determination of three polymorphs of xylazine from laboratory powder diffraction data. *Acta Crystallogr. B. Struct. Sci. Cryst. Eng. Mater.* **2014**, 70, 342–6.
 77. Steiner, T. Hydrogen-Bond Distances to Halide Ions in Organic and Organometallic Crystal Structures: Up-to-date Database Study. *Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Sci.* **1998**, 54, 456–463.
 78. Giovannini, J.; Céolin, R.; Perrin, M.-A.; Toscani, S.; Louër, D.; Leveiller, F. Polymorphism and hydration of zopiclone : Determination of crystal structures, and thermodynamic studies as a function of temperature and water vapor pressure. *Le J. Phys. IV* **2001**, 11, Pr10–93–Pr10–97.
 79. Chadha, R.; Arora, P.; Bhandari, S.; Bala, M. Thermomicroscopy and its pharmaceuticals applications. In: *Curr. Microsc. Contrib. to Adv. Sci. Technol.*; Méndez-Vilas, A., Ed.; Formatex: Badajoz, 2012, pp. 1013–1024.
 80. Storey, R. A.; Ymén, I. (Eds.). *Solid State Characterization of Pharmaceuticals*; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, 2011, 506.
 81. Verma, R. K.; Garg, S. Compatibility studies between isosorbide mononitrate and selected excipients used in the development of extended release formulations. **2004**, 35, 449–458.
 82. Jackson, K.; Young, D.; Pant, S. Drug–excipient interactions and their affect on absorption. *Pharm. Sci. Technolo. Today* **2000**, 3, 336–345.
 83. Tița, B.; Fuliș, A.; Bandur, G.; Marian, E.; Tița, D. Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2011**, 56, 221–227.
 84. Evers, J.; Klapötke, T. M.; Mayer, P.; Oehlinger, G.; Welch, J. alpha- and beta-FOX-7, polymorphs of a high energy density material, studied by X-ray single crystal and powder investigations in the temperature range from 200 to 423 K. *Inorg. Chem.* **2006**, 45, 4996–5007.

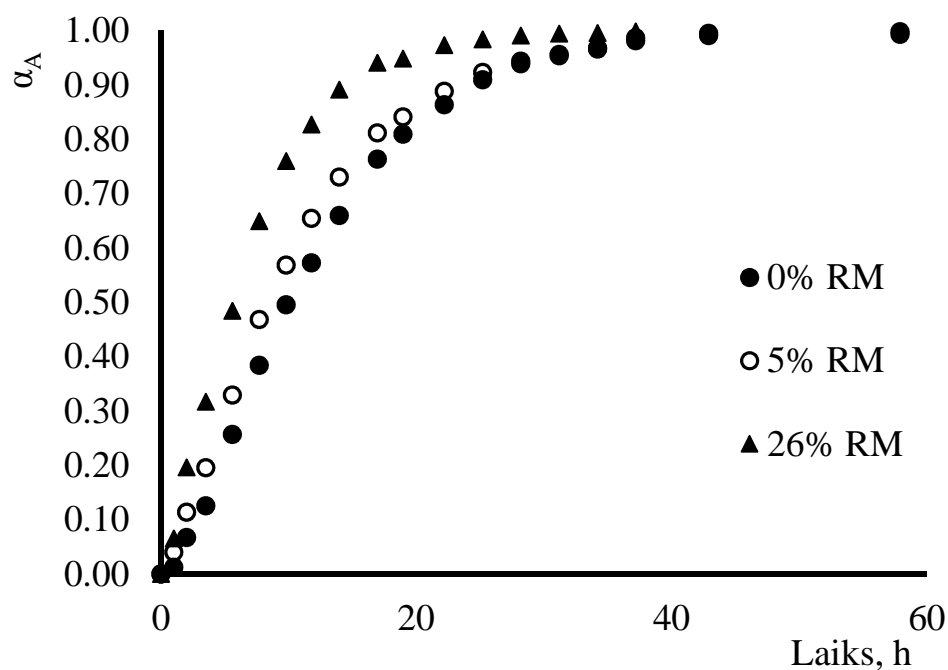
Fāžu pāreju kinētiskie dati



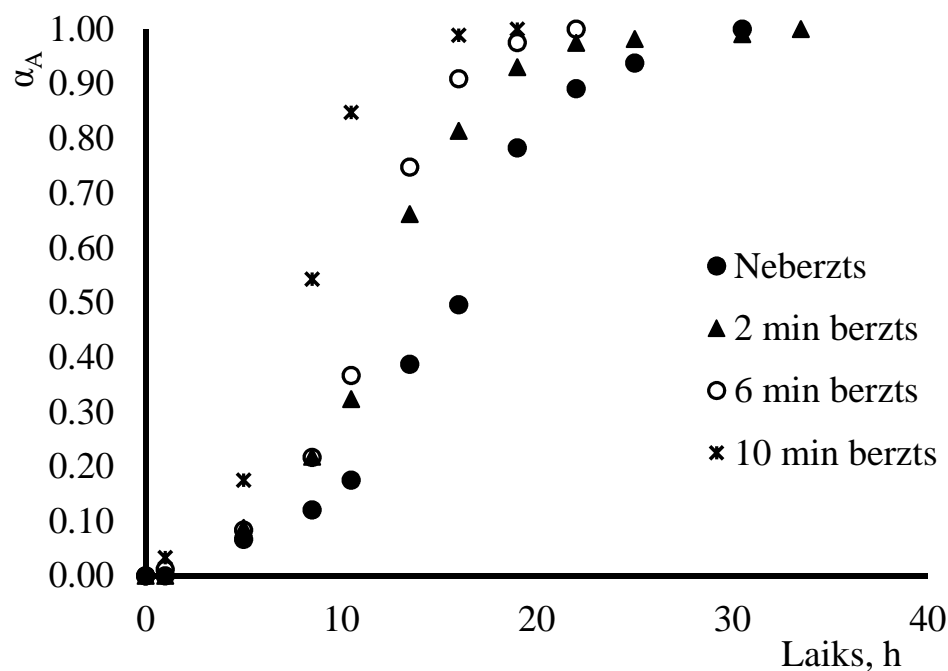
1. att. Ksilazīna hidrogēnchlorīda formas A pārvēršanās pakāpe no formas X uz A *in-situ* režīmā atkarībā no laika dažādās temperatūrās



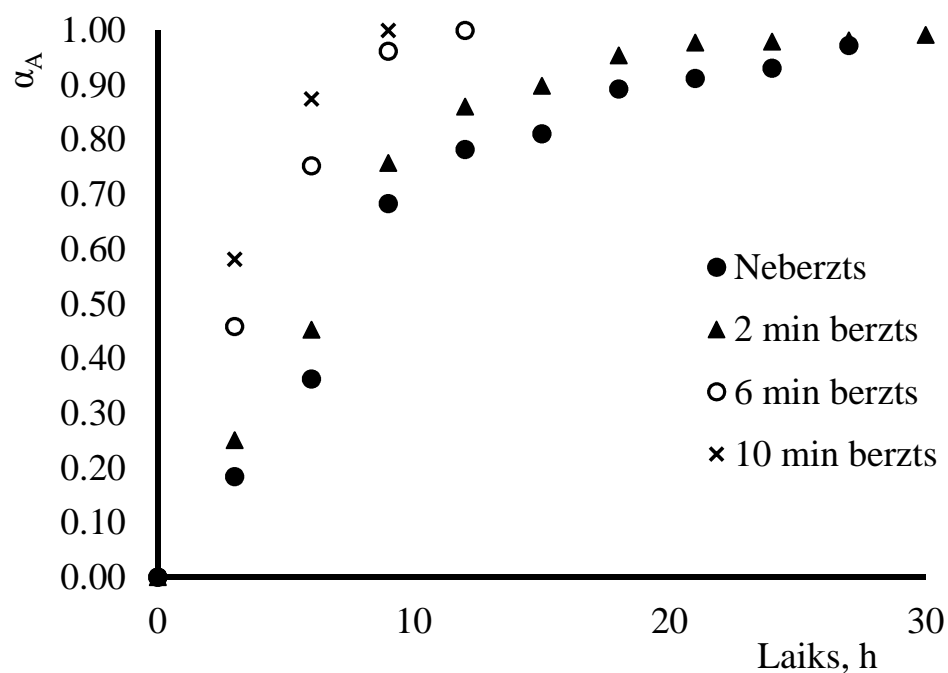
2. att. Zopiklona formas A pārvēršanās pakāpe atkarībā no laika fāžu pārejā no formas C uz A 80 °C temperatūrā atkarībā no C formas saberšanas laika



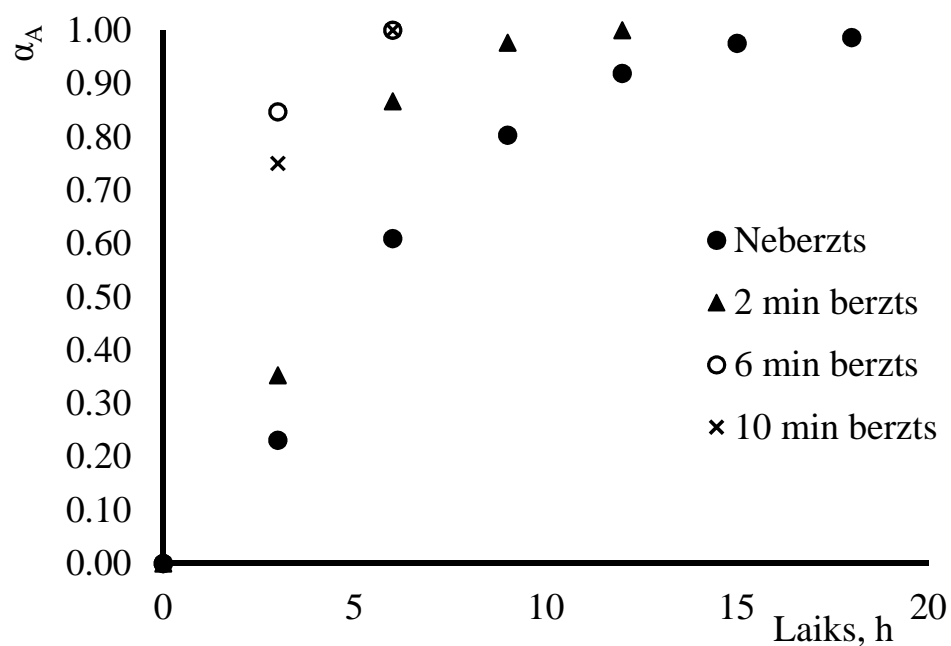
3. att. Zopiklona formas A pārvēršanās pakāpe atkarībā no laika fāžu pārejā no formas C uz A 80 °C temperatūrā pie dažāda relatīvā gaisa mitruma



4. att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda formas A pārvēršanās pakāpe atkarībā no laika fāžu pārejā no formas Z uz A 100 °C temperatūrā atkarībā no formas Z saberšanas eksperimenta sākumā



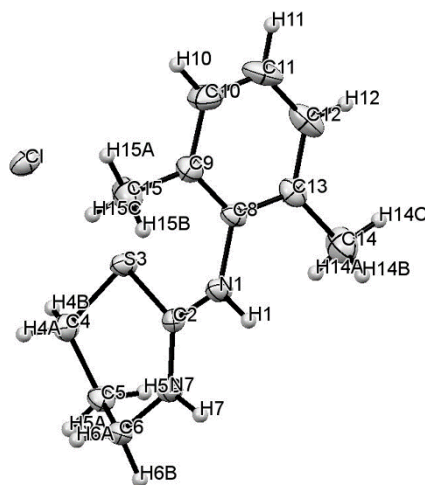
5. att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda formas A pārvēršanās pakāpe atkarībā no laika fāžu pārejā no formas M uz A 90 °C temperatūrā atkarībā no formas M sabēršanas eksperimenta sākumā



6. att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda formas A pārvēršanās pakāpe atkarībā no laika fāžu pārejā no formas M uz A 100 °C temperatūrā atkarībā no formas M sabēršanas eksperimenta sākumā

2. pielikums

Ksilazīna hidrogēnlorīda struktūras dati



1. att. Ksilazīna hidrogēnlorīda formas A struktūra, attēlota ar atomu elipsoīdām pie 50% varbūtības un atomu numerācija

1. tabula

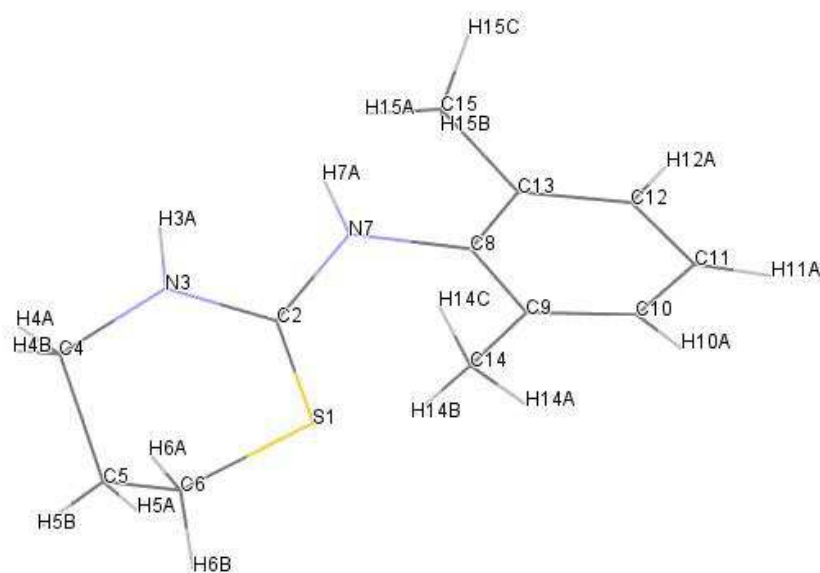
Kristalogrāfisko datu salīdzinājums ksilazīna hidrogēnlorīda formai A

Dati	SCXRD*	PXRD [76]
Temperatūra	173±2 K	istabas
Kristalogrāfiskā sistēma	monoklīnā	monoklīnā
Telpiskā grupa	P2 ₁ /c	P2 ₁ /c
<i>a</i> /Å	11.42340(10)	11.5735(3)
<i>b</i> /Å	8.6643(2)	8.70728(17)
<i>c</i> /Å	14.6931(3)	14.8636(3)
β /deg	114.5900(10)	115.1461(18)
<i>V</i> /Å ³	1322.37(4)	1355.90(5)
<i>Z</i>	4	4
Refleksi	12236	
Kristāla izmēri (mm)	0.6 × 0.5 × 0.5	
<i>R</i> _{wp}		0.130

*Struktūras dati noteikti šī darba ietvaros no monokristāla

Formas Z kristalogrāfiskie dati, kas noteikti no monokristāla paaugstinātā spiedienā

Dati	
Formula	$C_{12}H_{17}N_2S^+Cl^-$
Spiediens, GPa	0.11
Temperatūra, K	293
Šķīdinātājs	metanols
Kristalogrāfiskā sistēma	monoklīnā
Telpiskā grupa	$P2_1/n$
$a/\text{Å}$	12.4207
$b/\text{Å}$	11.578
$c/\text{Å}$	9.3303
β/deg	97.448
$V/\text{Å}^3$	1330.5
Z/Z'	4/1



2. att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda struktūras numerācija augstspiediena pētījumos

3. pielikums

Ksilazīna hidrogēnhlorīda formas H dehidratācijas entalpijas

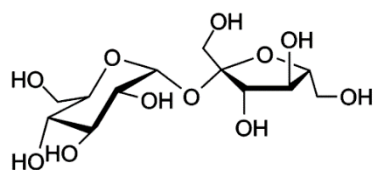
1.tabula

Dažādi berztu H formas dehidratācijas entalpijas no DSK datiem

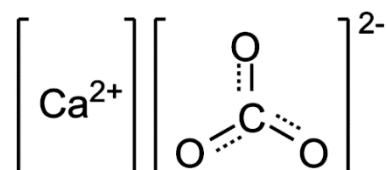
	ΔH , J/g
Neberzta	158
Berzta 2 min	169
Berzta 10 min	162
Berzta 60 min	159

4. pielikums

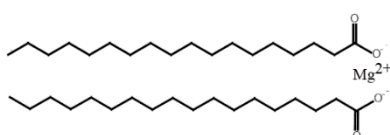
Izvēlēto pildvielu molekulu struktūras



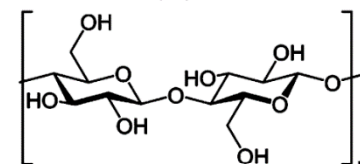
(a)



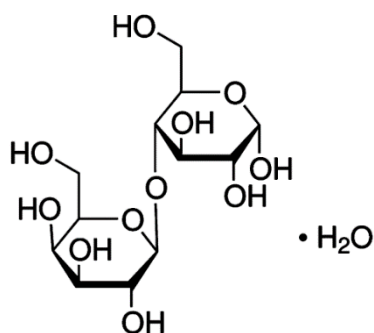
(b)



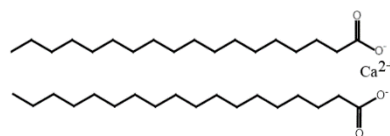
(c)



(d)



(e)

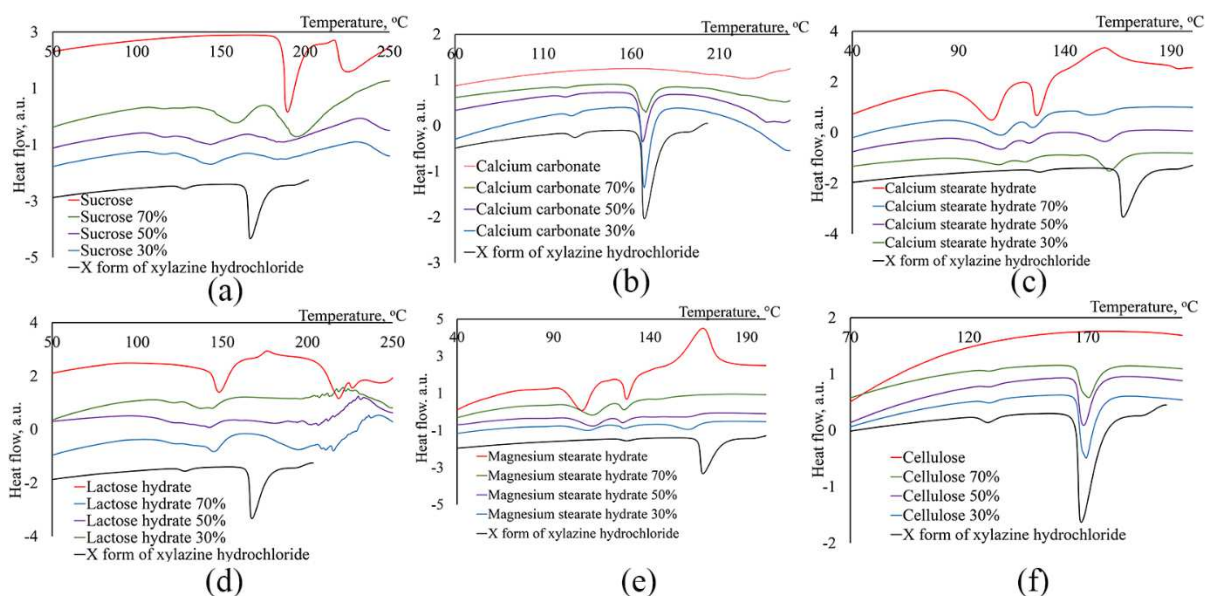


(f)

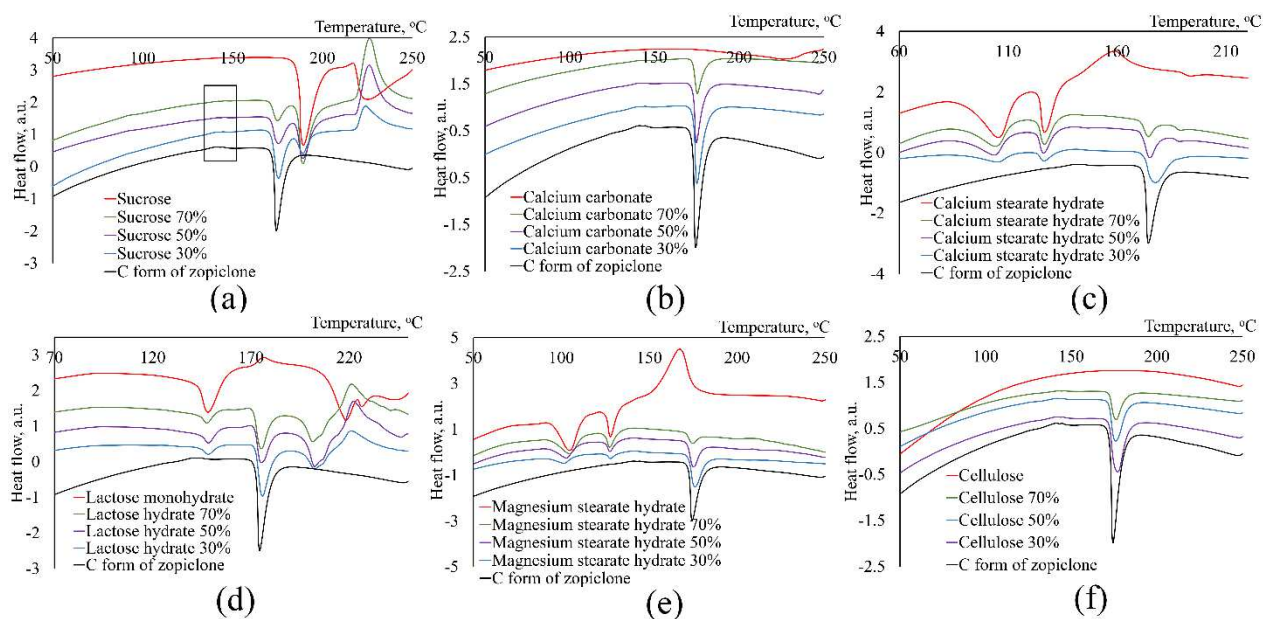
1. att. Pildvielu molekulu uzbūve: (a) – saharoze, (b) – kalcija karbonāts, (c) – magnija stearāts, (d) – celuloze, (e) – laktozes monohidrāts, (f) – kalcija stearāts

5. pielikums

Pildvielu un aktīvās vielas maisījumu derivatogrammas



1. att. Ksilazīna hidrogēnhlorīda un pildvielu maisījumu derivatogrammas: (a) – saharoze, (b) – kalcija karbonāts, (c) – kalcija stearāts, (d) – laktozes monohidrāts, (e) – magnija stearāts, (f) – celuloze



2. att. Zopiklona un pildvielu maisījumu derivatogrammas: (a) – saharoze, (b) – kalcija karbonāts, (c) – kalcija stearāts, (d) – laktozes monohidrāts, (e) – magnija stearāts, (f) – celuloze

Promocijas darbs “**Apstrādes, izturēšanas apstākļu un blakus vielu ietekme uz farmaceitiski aktīvo cietvielu fāžu pārejām**” izstrādāts LU ķīmijas fakultātē un Adam Mickiewicz Universitātē, Polija, Poznaņa.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autors: _____

/K.Krūkle-Bērziņa/

2015. gada _____

Rekomendēju darbu aizstāvēšanai

Zinātniskais vadītājs: Dr. ķīm., prof. Andris Actiņš

Paraksts: _____

/A.Actiņš/

2015. gada _____

Darbs iesniegts

LU Ķīmijas nozares Promocijas padomē: _____ (datums)

Padomes sekretāre: _____
(personiskais paraksts) (paraksta atšifrējums)

Darbs aizstāvēts Promocijas padomes sēdē :

_____ protokols Nr. _____
(datums) (protokola Nr.)

Padomes sekretāre: _____
(personiskais paraksts) (paraksta atšifrējums)

Publikācijas par darbā iegūtajiem rezultātiem



The effect of excipients on the stability and phase transition rate of xylazine hydrochloride and zopiclone



Kristīne Krūkle-Bērziņa*, Andris Actiņš

Faculty of Chemistry, University of Latvia, Kr. Valdemara iela 48, LV-1013 Riga, Latvia

ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 October 2014

Received in revised form

17 December 2014

Accepted 18 December 2014

Available online 26 December 2014

Keywords:

Polymorphs

Excipients

Stability

Thermal properties

Phase transition kinetics

ABSTRACT

The compatibility of thermodynamically unstable polymorph of two active pharmaceutical compounds (xylazine hydrochloride form X and zopiclone form C) with different excipients was investigated. The effects of the excipient and its amount in the sample on the thermal properties and possible chemical interactions were studied. The most commonly used excipients in the pharmaceutical industry – calcium carbonate, lactose hydrate, cellulose, magnesium stearate hydrate and calcium stearate hydrate were selected for this study. The dependence of the phase transition rate from an unstable to a more stable polymorph on the excipients and their amounts in the initial sample was analysed at 80 °C, and the corresponding phase transition rate constants were calculated.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Pharmaceutically active compounds can exist in different polymorphic and pseudopolymorphic forms [1]. Different polymorphic forms typically have different stability, solubility, and bioavailability [2].

Nowadays, pharmaceutical companies often sell drugs as metastable polymorphic forms, typically because of the inferior solubility of the thermodynamically stable forms [3], or intellectual property issues [2]. Particular attention should be dedicated to the stability testing of pure pharmaceutically active compounds and formulations, if the commercial form is not the thermodynamically stable form [4], because it is known that during the transportation and storage there must be no changes of the polymorphic form of the drug product [5]. Many different factors can significantly influence the stability of drug substances and promote phase transitions, including the temperature, humidity, composition of final drug formulations, degree of crystallinity, etc. [6,7].

It is known that most pharmaceutically active compounds are formulated with excipients in the finished drug dosage form [8]. An excipient is inactive substance used as a diluent or means of delivery. These compounds also can serve various therapeutically

enhancing purposes, such as to facilitate absorption or solubility of a drug, or other pharmacokinetic considerations. The excipient is only usable if it does not interact with the active substance or other excipients [9], but several investigations have shown that excipients can interact with pharmaceutically active compounds [10–12]. The most common methods for screening of the possible drug–excipient interactions are differential scanning calorimetry, isothermal stress testing, and microcalorimetry [13]. Physical or chemical interactions between the drug and excipients can be identified from the shifting, disappearance, or appearance of new analytical signal(-s) [12,14]. In thermal analysis, the interactions between drug molecules and excipients can also introduce changes in enthalpy values [12].

In the scientific literature often the stability studies of pure pharmaceutically active compounds are carried out at different temperatures and relative humidities [15,16], but to predicting the stability of drug during the transportation and storage, it is much more useful to investigate the stability of the final drug product, as excipient/-s can affect the stability of pharmaceutically active compounds and reduce the shelf-life of drugs [12,17]. The drug storage conditions recommended in pharmaceutical industry are established according to ICH Guideline Q1A, which states that stability studies must be performed for final drug formulations [18].

In this paper the effect of various excipients and their amounts in the initial sample was investigated, by studying the effect not only on the API thermal properties, but also on the thermal

* Corresponding author. Tel.: +371 67372576.

E-mail address: kristine.kruckle-berzina@lu.lv (K. Krūkle-Bērziņa).

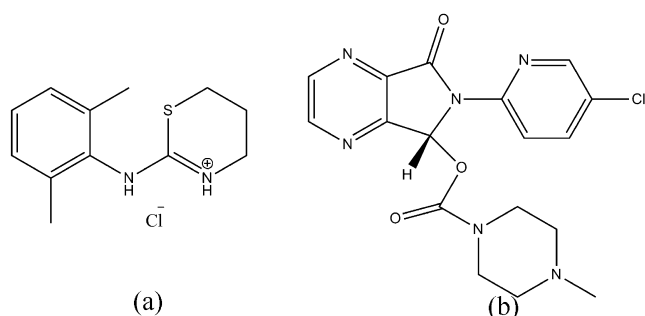


Fig. 1. Molecular structure of (a) xylazine hydrochloride and (b) zopiclone.

stability and phase transition rates of thermodynamically unstable polymorphs for two active pharmaceutical compounds – xylazine hydrochloride and zopiclone. The effect of excipients on API thermal stability and thermal properties is presented in many research articles [11,12,14,19], whereas investigation of phase transitions is hardly studied [20], although the observed effects might be different than those observed in the studies of thermal properties.

These pharmaceutically active compounds were chosen because both have relatively stable metastable polymorphs that are obtained after dehydration of the corresponding hydrates and can be potentially used in the final drug product. The phase transition of the corresponding unstable polymorph to stable polymorph at elevated temperatures is relatively fast and well-studied for xylazine hydrochloride [21], while only qualitatively described for zopiclone [22,23]. The chemical structures of these compounds are shown in Fig. 1.

The xylazine hydrochloride (2-(2,6-dimethylphenyl)-5,6-dihydro-4H-1,3-thiazine hydrochloride) is used in veterinary medicine as a muscle relaxant. It has four known polymorphic forms (A, M, Z, and X) and several pseudopolymorphs from which monohydrate is the most stable one [24]. It has been determined that the form X is the least thermodynamically stable of these polymorphs, whereas the form A is the most stable at temperatures above $48 \pm 1^\circ\text{C}$. The polymorphs X and A are enantiotropically related, but the phase transition point has not been determined and is expected to be below ambient temperature [25]. It is reported that the phase transition from the xylazine hydrochloride form X to A occurs by the nucleation and nuclei growth mechanism and is affected by different atmospheric humidity, mechanical pressure, and particle size of the initial form X [15].

Zopiclone ((RS)-6-(5-chloropyridin-2-yl)-7-oxo-6,7-dihydro-5H-pyrrolo[3,4-b]pyrazin-5-yl-4-methylpiperazine-1-carboxylate) is used in the treatment of insomnia. It has two pharmaceutically significant polymorphs (A and C), and the form C has been found to be thermodynamically unstable, whereas the form A is stable. The polymorphs C and A are monotropically related [22,23]. It is reported that C is obtained by dehydrating the dihydrate B, because of the structural similarity of these two polymorphs [22], but the phase transition from C to A form has not been reported in the literature.

The excipients used in this study are some of the most commonly used excipients [8] in the pharmaceutical industry – magnesium stearate hydrate, calcium stearate hydrate, lactose hydrate, microcrystalline cellulose, calcium carbonate and sucrose. Although the amount of excipients added to the final drug formulation is distinctly different (20–65% for sucrose, 1–75% for cellulose, 0.25–5% for magnesium stearate, up to 1% for calcium stearate, and not specified for lactose monohydrate and calcium carbonate [8]), identical amount of the excipients was added to the APIs in this study: 30%, 50% and 70%.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Magnesium stearate hydrate and calcium stearate hydrate (Peter Greven, Venlo, The Netherlands, $\geq 99.5\%$), microcrystalline cellulose (JRS Pharma, Rosenberg, Germany, $\geq 99.5\%$), lactose hydrate (DMW Fonterra Excipients, Goch, Germany, $\geq 99.5\%$), calcium carbonate and sucrose (Sigma-Aldrich, Germany, $\geq 99.5\%$) was used. Xylazine hydrochloride (99.9%) and zopiclone (99.9%) were supplied by JSC Grindeks (Riga, Latvia). The purity with respect to phase composition of all of the used compounds was confirmed by powder X-ray diffraction (PXRD) analysis.

2.2. Preparation of pharmaceutical active compounds unstable forms

Preparation of xylazine hydrochloride polymorph X was performed as follows: the supplied sample was recrystallized from water and dried at the ambient temperature. The obtained sample was then thermostated at 50°C temperature for 2–4 days. The phase identity of the X form was confirmed by recording the PXRD pattern and comparing with the literature [24].

Preparation of zopiclone polymorph C: the supplied sample was recrystallized from water and dried at the ambient temperature. The obtained sample was then thermostated at 50°C temperature for 1 day. The phase identity of the form C was confirmed by recording the PXRD pattern and comparing with the literature [22].

2.3. Preparation of samples

Physical mixtures of xylazine hydrochloride or zopiclone with each of the selected excipient were prepared in the 30:70, 50:50 and 70:30 (w:w) ratio by simply accurately weighing the components using analytical balance and mixing in the weighing bottle. The mixing time necessary for preparation of homogeneous mixtures was approximately 1 min.

2.4. Powder X-ray diffraction

The PXRD patterns were determined on a Bruker D8 Advance (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Germany) diffractometer equipped with a LynxEye position sensitive detector, using copper radiation ($\text{CuK}\alpha$) at the wavelength of 1.54180 \AA . The tube voltage and current were set to 40 kV and 40 mA, respectively. The divergence slit was set at 1.0 mm, and the antiscattering slit was set at 8.0 mm. The PXRD patterns were acquired using a scan speed of $0.2\text{ s}/0.02^\circ$ going from 7 to 30° (for xylazine hydrochloride) and 3 – 30° (for zopiclone) on the 2θ scale. To prevent the atmospheric humidity effect during the analysis, samples were covered with a $10\text{ }\mu\text{m}$ thick polyethylene film.

2.5. Differential thermal analyses

Measurements were carried out with an Exstar6000 TG/DTA6300 instrument (SII Nanotechnology Inc., Chiba, Japan). Open aluminium pans were used. Heating of samples from 30 to 250°C was performed at the heating rate of $10^\circ\text{C min}^{-1}$ under 100 mL min^{-1} nitrogen flow. The sample mass was approximately 7 mg.

2.6. Infrared spectroscopy

ATR-FTIR spectra were obtained with a Frontier FTIR spectrometer (Perkin-Elmer Inc., Norwalk, CT, USA) with a Universal ATR Sampling Accessory attachment. A background spectrum was

recorded before each sample, and a small amount of powder was placed on the diamond ATR crystal. Spectra were recorded over the 4000–650 cm^{-1} range with 2 cm^{-1} resolution, and built up over 16 scans per sample.

2.7. Stability studies

The prepared mixtures of active compounds and excipients were pressed in glass sample holders. Then the prepared samples were inserted in an air thermostat at 80 °C temperature. After a pre-determined time, the samples were removed from the thermostat and phase composition was determined using PXRD.

Calculation of the sample composition for the mixtures where the crystal structure data were available was performed by Rietveld method with the TOPAS v.4.2. Program (Bruker AXS GmbH). However, for mixtures where the crystal structure data for at least one of the compounds were not available, phase composition was determined with a full profile method [15].

Calculation of the phase transition rate constants was performed by describing the phase transition of xylazine hydrochloride polymorphs using CNNG mechanism and using the corresponding rate constants [15,26]. To describe the phase transition of zopiclone polymorphs, first-order rate equation and the corresponding rate constants were used. This model was found to be the most appropriate for fitting the phase transition using linearisation in $g(\alpha)-t$ coordinates [27]. Characteristic fits in $g(\alpha)-t$ and $\alpha-t$ coordinates are given in Fig. S1, Supporting material.

3. Results and discussion

3.1. The stability of pure excipients at 80 °C temperature

After thermostating pure excipients at 80 °C temperature for one week, no changes in the PXRD pattern were observed for calcium carbonate, sucrose, lactose hydrate, and cellulose, whereas the PXRD pattern of magnesium and calcium stearate samples had changed (Fig. 2a and c). Besides the experimental PXRD patterns, peak positions from PDF-2 database (Release 2013) are also shown. To understand the phase transitions occurring at 80 °C, thermal analysis of these two samples was performed (Fig. 2b and d).

From Fig. 2 it can be seen that magnesium stearate and calcium stearate in the initial samples were in a hydrate form. Both compounds are monohydrates, as determined from TG analyses: 3% weight loss was observed for both compounds, which corresponds to one water molecule per formula unit.

It was observed that by thermostating magnesium and calcium stearate hydrates at 80 °C temperature for one week, both of these compounds formed non-solvated forms (as determined by DTA/TG; Fig. 2). Thus, they can dehydrate during the study of API phase transition process. However, in the following experiments these two excipients were studied in a form that is used in the preparation of final drug formulations. Therefore it is expected that these two excipients can affect the stability of pharmaceutically active compounds more than those excipients that did not change.

3.2. The dependence of API thermal properties on the excipient and its amount in the sample

As mentioned above, the excipient can be used only if no drug–excipient interaction is observed during the thermal analyses. Thermal analyses were performed for different mixtures from the studied drug–excipient systems and the obtained onset temperatures determined from xylazine hydrochloride and zopiclone DTA curves are presented in Fig. 3. The peak in DTA corresponding

to the transition from xylazine hydrochloride form X to A is overlapping with the peak of calcium and magnesium stearate dehydration and therefore could not be analysed (Fig. S2, Supplementary material).

As can be seen from Fig. 3, the phase transition temperature from the form X to A (123.3 °C, Fig. 3a) and the melting point of xylazine hydrochloride form A (165.3 °C, Fig. 3b) decreased by increasing the amount of excipient in the sample. From all of the used excipients, cellulose did not change the melting point of the form A and also had only a slight effect on the transition temperature from X to A, while sucrose and lactose monohydrate had the largest effect on these thermal characteristics (the sucrose changed the transition temperature by ~20 °C and the melting temperature by ~50 °C, while the lactose monohydrate changed the transition temperature by ~13 °C and the melting temperature by ~36 °C). In Fig. 4, the DTA curves of pure sucrose (Fig. 4a) and lactose monohydrate (Fig. 4b) and the mixture of these excipients and xylazine hydrochloride form X and A are shown. It can be seen that the peaks are merged together in the DTA curves of sucrose or lactose monohydrate mixtures with xylazine hydrochloride, which means that there is a physical interaction between both of these excipients and xylazine hydrochloride. Chemical structures of sucrose and lactose are very similar, thus the possible interaction can be related to the presence of many hydroxyl groups in the structure of these excipients. Another two possible explanations for the disappearance of the melting peak of polymorph A in mixtures of lactose monohydrate and xylazine hydrochloride are: (1) the water released from lactose monohydrate could dissolve xylazine hydrochloride (high water solubility of drug in combination with the temperature increase during DTA experiments), and therefore the peaks corresponding to phase transitions of the drug could disappear [28]. The low solubility of zopiclone in water explains why it did not show such thermal behaviour [23]. (2) Lactose monohydrate melts at lower temperature and the melt can dissolve xylazine hydrochloride. However, these two scenarios do not explain the thermal features of xylazine hydrochloride mixtures with sucrose, as sucrose is not a hydrate and does not melt at temperature lower than xylazine hydrochloride.

However, it should be noted that the changes in melting point and transition temperature does not necessarily indicate a potential interaction between the excipient and the API, as it can also be attributed to the mixing process that lowers the purity of each component in the mixture.

As can be seen from Fig. 3, the phase transition temperature from zopiclone form C to A (132.2 °C) increases by increasing the amount of excipient in the sample (Fig. 3c), whereas the melting point of form A (172.2 °C) practically was not affected (Fig. 3d). The DTA peak corresponding to the transition from zopiclone form C to A is overlapping with the dehydration peak of calcium and magnesium stearate and lactose monohydrate (Fig. S3, Supplementary material). It can also be concluded that the phase transition temperature of zopiclone form C is less affected by the excipients than that of xylazine hydrochloride form X. As mentioned above, zopiclone has very low solubility in water and therefore the thermal properties of zopiclone are less affected by the excipients which contain water.

It has been reported that the xylazine hydrochloride phase transition from X to A was affected by increasing the relative humidity and also the amount of the xylazine hydrochloride monohydrate in the sample [21]. Therefore, it is possible that the explanation for the thermal property changes in mixtures with magnesium and calcium stearate, as well as lactose monohydrate occurred because these excipients are all hydrates and water molecules can interact with xylazine hydrochloride form X by stimulating its faster transition to A form. Also the surfaces of excipient particles can promote faster polymorph transition or melting of the APIs, because of the

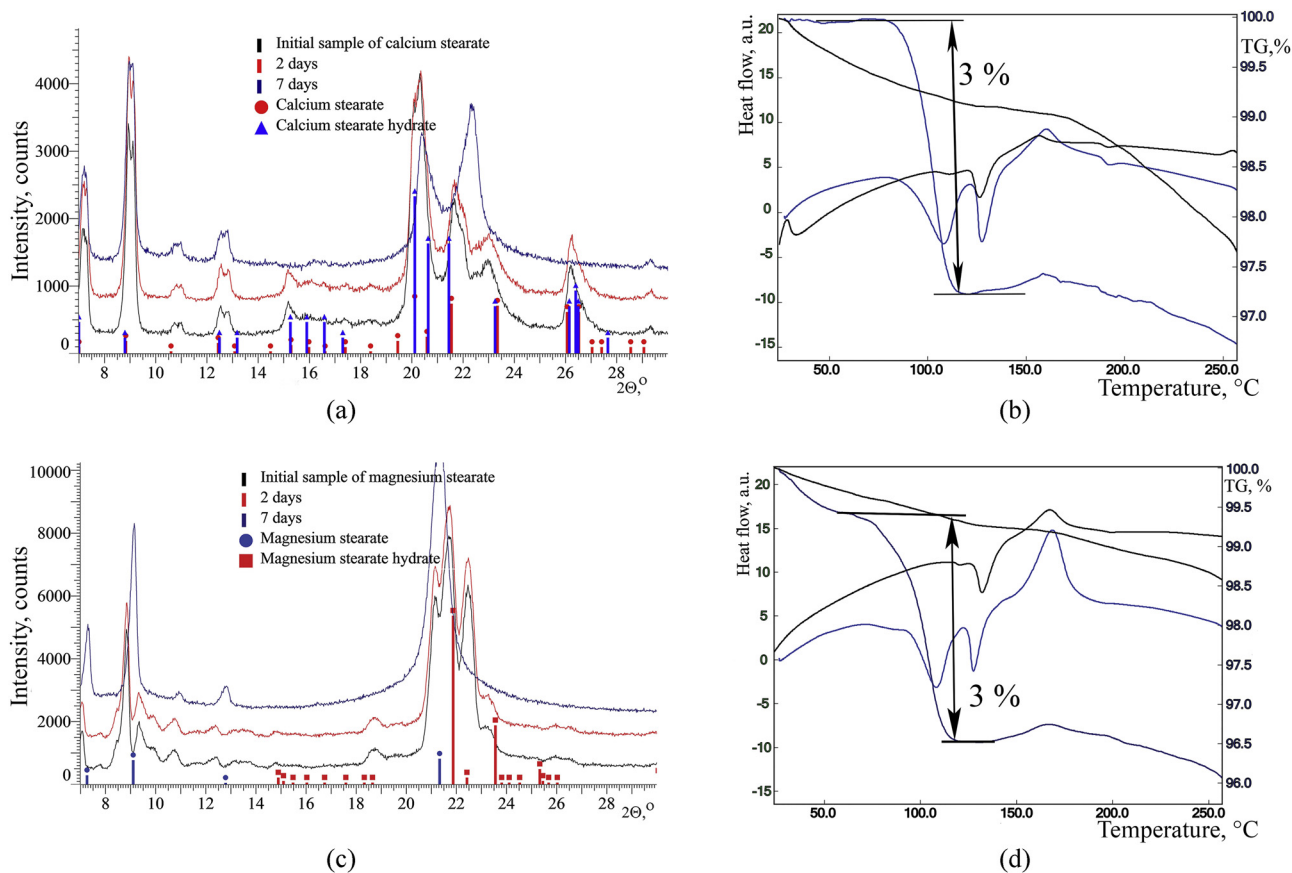


Fig. 2. Stability of two excipients at 80 °C temperature: (a) PXRD patterns of the calcium stearate, with red circles marking calcium stearate and blue triangles – calcium stearate hydrate peak positions from PDF-2 database; (b) DTA/TG curve of the calcium stearate; (c) PXRD patterns of the magnesium stearate, with blue circles marking magnesium stearate and red squares – magnesium stearate hydrate peak positions from PDF-2 database; (d) DTA/TG curve of the magnesium stearate (blue line – the starting sample; black line – sample after 7 days at 80 °C temperature). (For interpretation of the references to color in text, the reader is referred to the web version of this article.)

possible adsorption of drug molecules onto the excipient surfaces. This process can reduce the particle size of APIs, thus increasing the specific surface area [29]. Larger specific surface area of the API particles can increase the transition rate. Previously published research [15] has shown that the transition from xylazine hydrochloride form X to A is enhanced by increasing the specific surface area of particles.

From these results it can be expected that all of the excipients used will more or less facilitate faster transition of xylazine hydrochloride from the form X to A, but will have only slight or no effect on zopiclone transition from the form C to A.

3.3. Infrared spectroscopic investigation of the mixtures of pharmaceutically active compounds and excipients

The IR spectra recorded for xylazine hydrochloride and zopiclone mixtures with excipients are presented in Figs. S4 and S5. As can be seen from Figs. S4 and S5, it is not possible to identify in the recorded spectra any interactions between any of the used excipients and xylazine hydrochloride or zopiclone, even for those excipients which had some physical interactions, as determined by the DTA analysis. The presence of interactions would appear in the form of new absorption band/-s, shifts or broadening of the bands. For both of the APIs, no changes of the absorption band positions were observed. It should be noted that chemical interactions between excipients and active pharmaceutical ingredients have been observed only very rarely [14].

3.4. The phase transition kinetics of pharmaceutically active compounds in mixtures with excipients at 80 °C temperature

Physical mixtures of pharmaceutically active compounds and excipients have been prepared and the phase transitions in these mixtures have been investigated. From the results obtained by studying the excipient effect on the phase transition temperature of unstable forms, it is expected that all of the excipients but cellulose should affect the stability of xylazine hydrochloride form X, while the stability of zopiclone form C should not be affected.

For both of the studied phase transitions, the metastable form half-life (time period during which half of the metastable form has been transformed to the stable form) was dependent on the excipient and its amount in the sample, as presented in Fig. 5.

As can be seen from Fig. 5a, the half-life of xylazine hydrochloride form X increased by increasing the amount of sucrose and lactose monohydrate in the sample. Cellulose did not affect the half-life, while increasing the amount of calcium carbonate and magnesium and calcium stearates decreased the half-life of the xylazine hydrochloride form X. If these results are compared to the excipient effect on the peak temperatures in DTA, the highest changes of the phase transition temperature from X to A and the melting point of form A was observed after adding sucrose and lactose monohydrate in particular. Addition of calcium carbonate to xylazine hydrochloride slightly affected the half-life, but the impact was so small that it can as well be within the order of the accuracy of half-life determination, and therefore it can be considered that calcium carbonate does not affect the thermal properties of this sample.

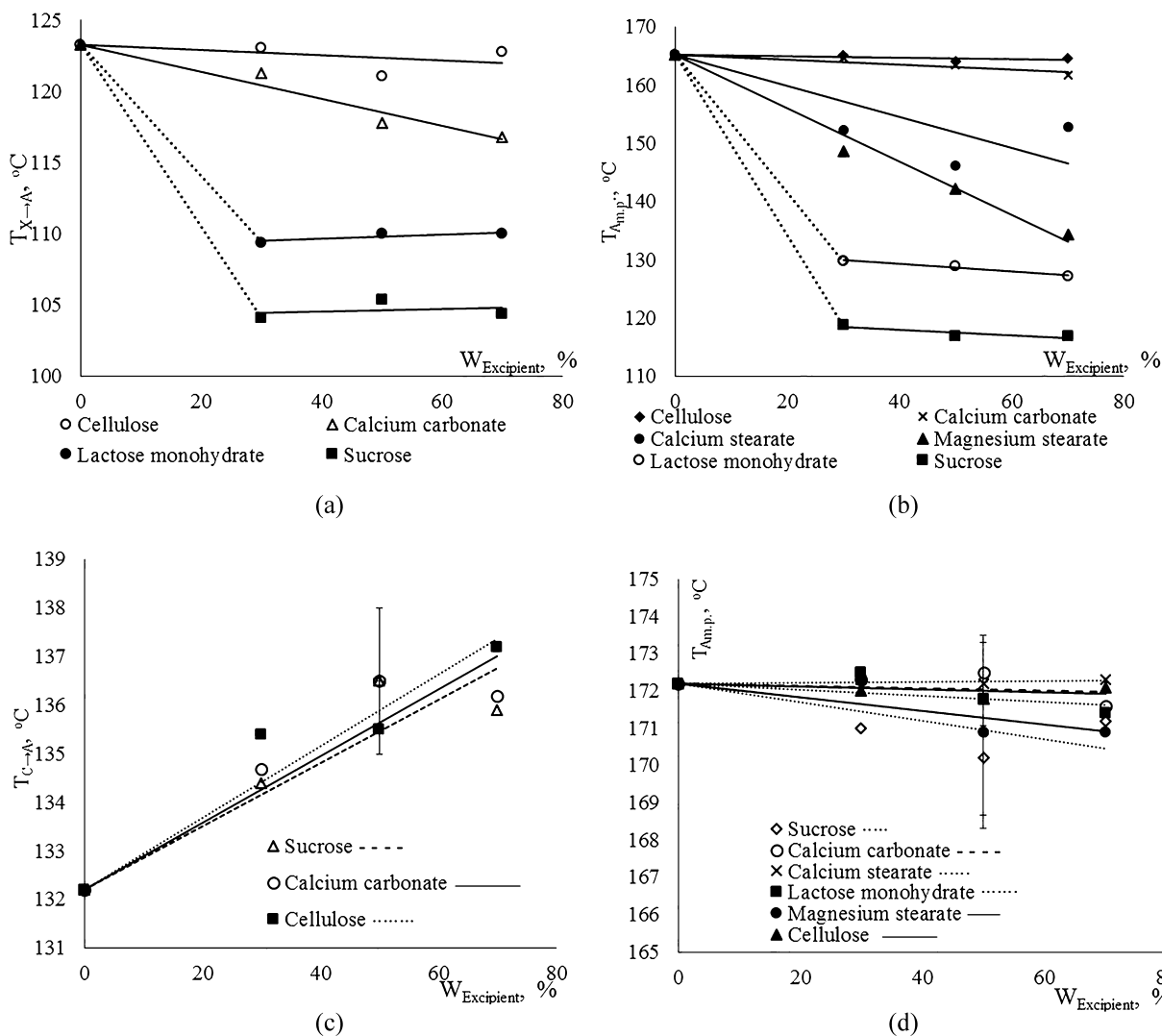


Fig. 3. Dependence of API thermal properties on the excipients and amounts of excipients in the sample was determined using DTA. (a) Onset temperature for phase transition from xylazine hydrochloride X to A form; (b) onset temperature for melting of xylazine hydrochloride form A, (c) onset temperature for phase transition from zopiclone form C to form A; (d) onset temperature for melting of zopiclone form A. The trendline is added for clarity.

As can be seen from Fig. 5b, based on the effect of the excipient on phase transition rate, selected excipients can be divided into two groups: ones that increased the half-life, and ones that decreased the half-life of zopiclone form C. The effect of the excipients on the metastable form half-life in phase transition from zopiclone form C

to A was smaller than for the case of xylazine hydrochloride, which again can be correlated with the smaller changes in the thermal properties. Moreover, the same excipients that decreased the stability of the less stable polymorph of zopiclone, did the same for the less stable polymorph of xylazine hydrochloride.

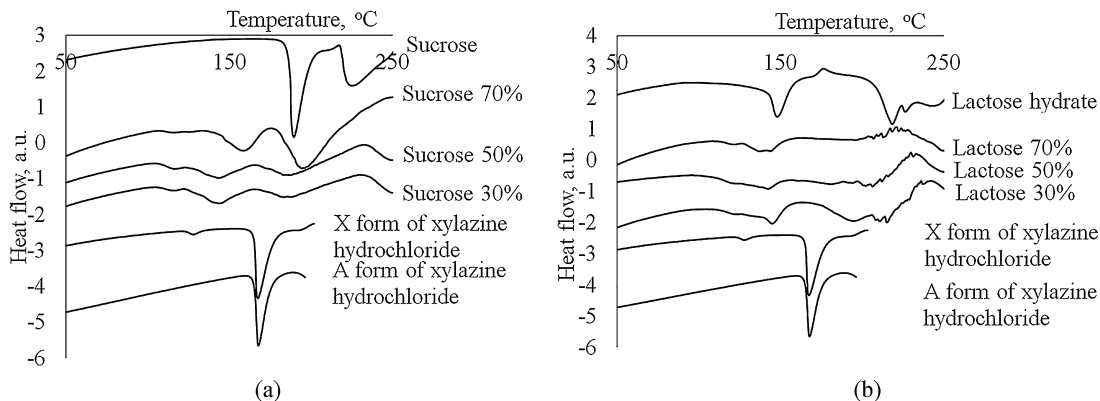


Fig. 4. The DTA curve: (a) Sucrose and mixture of sucrose and xylazine hydrochloride form X and A; and (b) lactose monohydrate and mixture of lactose and xylazine hydrochloride form X and A.

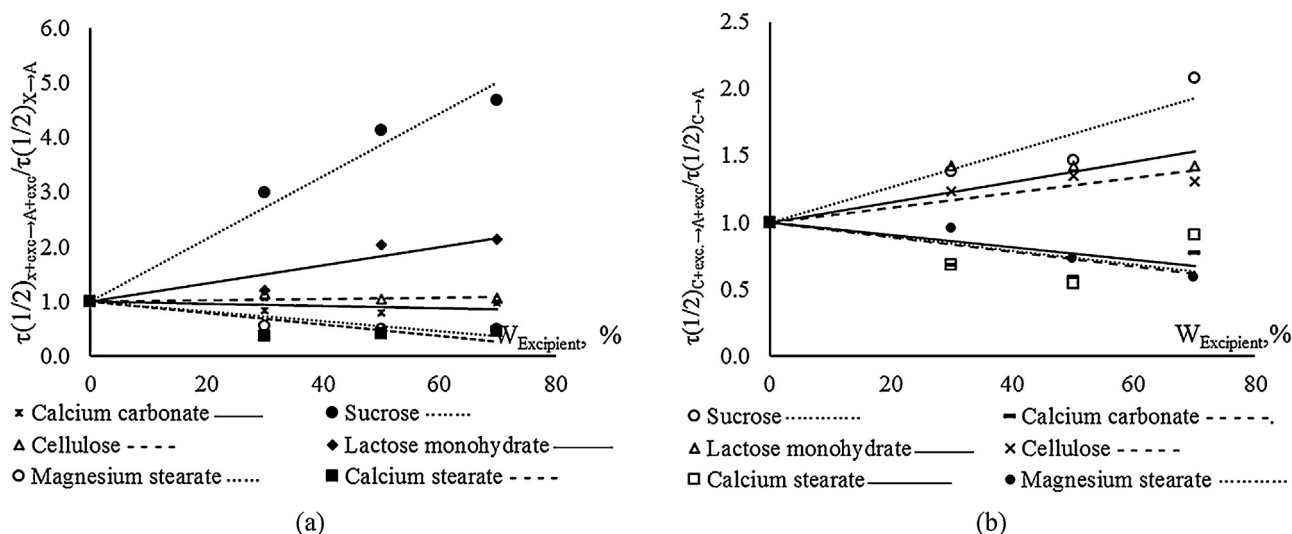


Fig. 5. The dependence of half-life of metastable polymorphs on the excipients and their amounts in the sample for (a) xylazine hydrochloride and (b) zopiclone.

From the obtained results it can be seen that by using certain excipients the shelf life of metastable polymorphs of active pharmaceutical ingredients can be either shortened or prolonged.

The phase transition rate constants of the studied API phase transitions are presented in Table 1. For the phase transition of xylazine hydrochloride polymorphs, the first constant (K_1) shows the rate of the stable polymorph nucleation, while the second constant (K_2) shows the nuclei growth rate.

As can be seen from Table 1, the rate constants of zopiclone phase transition became slightly higher when calcium and magnesium stearate monohydrates and calcium carbonate were added to the initial sample, whereas they became smaller when sucrose, cellulose, and lactose hydrate were added. These results can be directly related to the half-life of the unstable polymorph, as the half-life was shorter when the rate constant was higher. The dehydration of magnesium and calcium stearates possibly facilitated the

formation of zopiclone form A. When calcium carbonate was added to the initial sample, possibly some other factor facilitated the formation of form A, such as the excipient surface properties or the presence of impurities.

As can be seen from Table 1, in the phase transition kinetics of xylazine hydrochloride both of the different rate limiting processes – nucleation and nuclei growth – can be analysed separately. The nucleation rate constant decreased by increasing the amount of sucrose, calcium carbonate, cellulose, and lactose monohydrate in the initial sample, while increase of the amount of magnesium and calcium stearate hydrates increased this constant. The faster nucleation rate constant in the presence of magnesium and calcium stearates should be associated with the dehydration of these excipients, because it is already reported that water facilitates the formation of form A nuclei [15]. However, this was not observed in the mixture with lactose monohydrate, as the lactose monohydrate

Table 1
The rate constants for the studied phase transitions in the API mixtures with certain excipients.

Excipient	$W_{\text{Excipient}} (\%)$	Xylazine hydrochloride		$W_{\text{Excipient}} (\%)$	Zopiclone, $k (\text{h}^{-1})$
		$K_1 (\text{g h}^{-1})$	$K_2 (\text{h}^{-1})$		
Sucrose	0	5.7×10^{-2}	0.29	0	0.11
	30	1.7×10^{-2}	0.11	30	0.080
	50	5.9×10^{-3}	0.16	50	0.074
	70	7.9×10^{-3}	0.10	70	0.052
Calcium carbonate	0	7.5×10^{-3}	0.10	0	0.10
	30	1.3×10^{-2}	0.093	30	0.15
	50	7.8×10^{-3}	0.15	50	0.18
	70	2.0×10^{-3}	0.24	70	0.14
Cellulose	0	4.1×10^{-3}	0.18	0	0.09
	30	1.1×10^{-3}	0.31	30	0.074
	50	1.2×10^{-4}	0.33	50	0.065
	70	9.1×10^{-4}	0.38	70	0.069
Calcium stearate monohydrate	0	8.3×10^{-4}	0.27	0	0.11
	30	1.2×10^{-3}	0.99	30	0.15
	50	4.2×10^{-3}	0.43	50	0.19
	70	6.9×10^{-3}	0.29	70	0.17
Magnesium stearate monohydrate	0	1.1×10^{-4}	0.66	0	0.11
	30	1.4×10^{-3}	0.50	30	0.11
	50	5.9×10^{-3}	0.27	50	0.14
	70	1.1×10^{-2}	0.18	70	0.17
Lactose monohydrate	0	8.0×10^{-4}	0.64	0	0.090
	30	6.0×10^{-4}	0.55	30	0.062
	50	9.2×10^{-5}	0.56	50	0.064
	70	2.9×10^{-4}	0.50	70	0.062

is stable under the experimental conditions. The nuclei growth process was facilitated only by calcium carbonate, cellulose, and calcium stearate, while the other excipients reduced or did not change the nuclei growth rate. Remarkably, by evaluating the half-life of xylazine hydrochloride form X, it was observed that cellulose did not change the stability of form X, while the rate constant values revealed that the nucleation rate decreased but nuclei growth rate increased by adding cellulose, therefore the total process was not affected by cellulose addition to the initial sample.

By comparing the results for both APIs, it can be concluded that sucrose and lactose monohydrate reduced the transition rate and therefore the formation of stable form for both the studied compounds, while magnesium and calcium stearates in both cases enhanced the phase transition rate. Both of these are among the most frequently used excipients in the pharmaceutical industry and it would be difficult to avoid these excipients, but in the cases when water from the excipient can promote the phase transition of active substance in the final drug formation, replacement of these excipients with others should be considered.

When the excipients are selected for the final formulations of pharmaceutically active compounds, it is important to carefully evaluate possible interactions and the effects on the API. The obtained results showed that it is necessary to evaluate not only the excipient effect on the thermal properties, but also its effect on the phase transition rate if the final formulation contains a metastable polymorph, because the stability of the metastable form can be affected differently than the thermal properties, as was observed from the excipient effect on zopiclone thermal properties.

4. Conclusions

In this study it has been shown that an excipient cannot only reduce the stability of pharmaceutically active compound in the cases of using metastable polymorphs, but also to increase it, thus enabling the extension of drug shelf-life. This study also has shown that the effect of an excipient on the pharmaceutically active compound needs to be evaluated not only with thermal methods, but also by studying the stability at elevated temperatures when unexpected effects may be observed.

Neither xylazine hydrochloride nor zopiclone showed any chemical interaction with the studied excipients in the infrared spectra.

Two of the studied excipients – magnesium and calcium stearate hydrates – were not stable under the experimental conditions and both dehydrated to a lower stoichiometry hydrate, which most probably was the reason why increase of the content of both of these excipients decreased the stability of xylazine hydrochloride form X and zopiclone form C at 80 °C temperature. On the other hand, sucrose and lactose monohydrate promoted the stability of thermodynamically metastable polymorphs of both pharmaceutically active compounds examined in this study. The formation of the stable form also depended on the amount of excipient in the initial sample and therefore it would be necessary to evaluate the critical mass of the excipient that can be added to the final formulation by not affecting the polymorphic stability of the API.

Acknowledgements

The authors thank JSC Grindeks (Riga, Latvia) for kindly providing active pharmaceutical ingredients and excipients.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2014.12.031>.

References

- [1] S. Aitipamula, R. Banerjee, A.K. Bansal, K. Biradha, M.L. Cheney, A.R. Choudhury, et al., Polymorphs, salts, and cocrystals: what's in a name? *Cryst. Growth Des.* 12 (2012) 2147–2152.
- [2] R. Hilfiker, Polymorphism of crystalline systems, in: W. Beckmann (Ed.), *Crystallization: Basic Concepts and Industrial Application*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Wilhelm, 2013, pp. 85–105.
- [3] D. Giron, Monitoring of polymorphism – from detection to quantification, *Eng. Life Sci.* 3 (2003) 103–112.
- [4] A. Serajuddin, A. Thakur, R. Ghoshal, M. Fakes, S. Ranadive, K. Morris, S.A. Varia, Selection of solid dosage form composition through drug–excipient compatibility testing, *J. Pharm. Sci.* 88 (1999) 696–704.
- [5] A.Y. Lee, D. Erdemir, A.S. Myerson, Crystal polymorphism in chemical process development, *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* 2 (2011) 259–280.
- [6] A. Katdare, Excipient Development for Pharmaceutical, Biotechnology, and Drug Delivery Systems, Taylor & Francis Group, New York, 2006.
- [7] H.G. Brittain, Solid-state phase transformations, in: H. Brittain (Ed.), *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*, Informa Healthcare USA, Inc., New York, 2009, pp. 481–509.
- [8] R.C. Rowe, P.J. Sheskey, M.E. Quinn (Eds.), *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, sixth ed., Pharmaceutical Press, London, 2009.
- [9] R. Chadha, P. Arora, S. Bhandari, M. Bala, Thermomicroscopy and its pharmaceutical applications, in: A. Méndez-Vilas (Ed.), *Current Microscopy Contributions to Advances in Science and Technology*, Formatex, Badajoz, 2012, pp. 1013–1024.
- [10] S. Wissing, D.Q. Craig, S. a Barker, W.D. Moore, An investigation into the use of stepwise isothermal high sensitivity DSC as a means of detecting drug–excipient incompatibility, *Int. J. Pharm.* 199 (2000) 141–150.
- [11] N.R. Pani, L.K. Nath, S. Acharya, Compatibility studies of nateglinide with excipients in immediate release tablets, *Acta Pharm.* 61 (2011) 237–247.
- [12] P. Mura, M.T. Fucci, A. Manderioli, G. Bramanti, L. Ceccarelli, Compatibility study between ibuprofen and pharmaceutical excipients using differential scanning calorimetry, hot-stage microscopy and scanning electron microscopy, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 18 (1998) 151–163.
- [13] Y. Qiu, Y. Chen, G.G.Z. Zhang, L. Liu, W. Porter (Eds.), *Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory and Practice*, first ed., Academic Press, London, 2009.
- [14] B. Tița, A. Fuliș, G. Bandur, E. Marian, D. Tița, Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 56 (2011) 221–227.
- [15] K. Krūkle-Bērziņa, A. Actiņš, Powder X-ray diffraction investigation of xylazine hydrochloride solid phase transformation kinetics, *Int. J. Chem. Kinet.* 46 (2014) 161–168.
- [16] S. Petkune, A. Actins, Modelling phase transition kinetics of chenodeoxycholic acid with the Runge–Kutta method, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 53 (2010) 7–14.
- [17] S.S. Bharate, S.B. Bharate, A.N. Bajaj, Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive, *J. Excip. Food Chem.* 1 (2010) 3–26.
- [18] ICH Expert Working Group, Stability Testing of New Drug Substances and Products Q1A, 2003.
- [19] F.D. Freire, C.F.S. Aragão, T.F.A. Lima e Moura, F.N. Raffin, Compatibility study between chlorpropamide and excipients in their physical mixtures, *J. Therm. Anal. Calorim.* 97 (2009) 355–357.
- [20] P.V. Mroso, L.W. Po, W.J. Irwin, Solid-state stability of aspirin in the presence of excipients: kinetic interpretation, modeling, and prediction, *J. Pharm. Sci.* 71 (1982) 1096–1101.
- [21] K. Krūkle-Bērziņa, A. Actiņš, Investigation of the phase transitions occurring during and after the dehydration of xylazine hydrochloride monohydrate, *Int. J. Pharm.* 469 (2014) 40–49.
- [22] N. Shankland, W.I.F. David, K. Shankland, A.R. Kennedy, C.S. Frampton, A.J. Florence, Structural transformations in zopiclone, *Chem. Commun.* 21 (2001) 2204–2205.
- [23] R.J. Terblanche, W. Liebenberg, M.M. de Villiers, a P. Lötter, Characterization of zopiclone crystal forms found among generic raw materials, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 26 (2000) 531–537.
- [24] A. Bērziņš, A. Actiņš, K. Veldre, Ksilazīna hidrogēnhlorīda kristāliskās formas, *Latv. J. Chem.* 3 (2008) 226–232.
- [25] A. Bērziņš, K. Krūkle, A. Actiņš, J.P. Kreišmanis, The relative stability of xylazine hydrochloride polymorphous forms, *Pharm. Dev. Technol.* 15 (2010) 217–222.
- [26] K. Krūkle-Bērziņa, A. Actiņš, A. Bērziņš, A new methodology for the simulation of solid state phase transition kinetics by combination of nucleation and nuclei growth processes, *J. Math. Chem.* 50 (2012) 2120–2129.
- [27] A. Khawam, D.R. Flanagan, Solid-state kinetic models: basics and mathematical fundamentals, *J. Phys. Chem. B* 110 (2006) 17315–17328.
- [28] R.K. Verma, S. Garg, Compatibility studies between isosorbide mononitrate and selected excipients used in the development of extended release formulations, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 35 (2004) 449–458.
- [29] K. Jackson, D. Young, S. Pant, Drug–excipient interactions and their affect on absorption, *Pharm. Sci. Technol. Today* 3 (2000) 336–345.



Investigation of the phase transitions occurring during and after the dehydration of xylazine hydrochloride monohydrate



Kristne Krūkle-Bērziņa*, Andris Actiņš

Faculty of Chemistry, University of Latvia, Kr. Valdemara iela 48, LV-1013, Riga, Latvia

ARTICLE INFO

Article history:

Received 10 March 2014

Accepted 8 April 2014

Available online 13 April 2014

Keywords:

Polymorph

Molecular packing

Solid state phase transition

Sample grinding

Relative humidity

Mechanical compression

ABSTRACT

This paper reports an investigation of a complex solid state phase transition where two inter-converting polymorphs (X and A) of the pharmaceutical molecule xylazine hydrochloride formed and transformed during and after the dehydration of its monohydrate (H). The crystal structures of all three forms were compared. During the investigation of this solid state phase transition it was determined that the dehydration of H produced either a pure X form, or a mixture of the X and A forms. The phase composition depended on the sample preparation procedure and the experimental conditions. It was found that grinding of the hydrate enhanced the formation of polymorph X as a product of dehydration, whereas higher humidity, temperature, or mechanical compression enhanced the formation of polymorph A. The transition mechanism of this complex process was analysed and explained by taking into account the crystal structures of these three forms.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Polymorphism is the ability of compounds to crystallize into different crystalline forms named polymorphs (Giron et al., 2004; Hilfiker, 2013), and it is known that many active pharmaceutical substances exhibit polymorphism (Aitipamula et al., 2012). Polymorphs differ by the spatial arrangement of the constituents and typically also by the lattice parameters, but have the same chemical composition (Hilfiker, 2013; Brittain, 2012). Sometimes besides host molecules also one or several equivalents of solvent molecules are incorporated in the crystal lattice during the crystallization. Such a phase is named solvate and is classified as a pseudopolymorph or solvatomorph. In this case, the chemical composition is not the same as that of polymorphs (Aitipamula et al., 2012; Brittain, 2012). Different polymorphs have different physical and chemical properties in the solid state, whereas they have the same liquid and gaseous state (Giron et al., 2004).

During the last two decades pharmaceutical industry has started to pay more attention to the solid state chemistry aspects of pharmaceutical compounds, which includes also the topic of solid state kinetics (Khawam and Flanagan, 2006). This interest is associated with the fact that during the manufacturing processes or storage active pharmaceutical ingredients (API) are exposed to a

wide range of environmental conditions and encounter multiple physical stresses throughout the production cycle. There is a high possibility that phase transformations may occur during the production and storage (Morris et al., 2001), and solid state changes may affect the medicinal performance of the API (Bernstein, 2002).

Solid-solid phase transitions or reactions can occur during the drying, milling, tableting and/or other processes involved in API manufacturing (Lee et al., 2011). Different types of phase transitions can occur, including transformations between the crystalline and amorphous phases; between polymorphs; between solvates and neat non-solvated forms, solvates with different stoichiometry, or solvates formed with different solvent molecules (Khawam and Flanagan, 2006; Lee et al., 2011). Numerous factors can affect the phase transition kinetics, including temperature, pressure, humidity, particle size, impurities, and crystal defects (Lee et al., 2011).

Most commonly investigations of phase transition kinetics between two polymorphic forms (Sheridan and Anwar, 1996; Li and Brill, 2007) or between a particular polymorph and solvate (Agbada and York, 1994; An et al., 2012) are reported. However, there are limited number of studies where more complex solid state transition processes including the formation of intermediate phases have been examined (Petkune and Actins, 2010). Nevertheless, there are cases where it is useful and necessary to study and understand the phase transitions which involve a transformation through an intermediate phase.

* Corresponding author. Tel.: +371 67372576.

E-mail address: kristine.kruckle-berzina@lu.lv (K. Krūkle-Bērziņa).

Xylazine hydrochloride (2-(2,6-dimethylphenyl)-5,6-dihydro-4H-1,3-thiazine hydrochloride) is used in veterinary medicine as a muscle relaxant (European Pharmacopoeia, 2010). There are four polymorphic forms of xylazine hydrochloride known as A, M, Z and X, and several pseudopolymorphs, most stable of which is the monohydrate H (Krūkļe-Bērziņa et al., 2011). It has been determined that the form X is the least thermodynamically stable of these polymorphs, whereas the form A is the most stable at temperatures above $48 \pm 1^\circ\text{C}$. The polymorphs X and A are enantiotropically related, but the transition point between them has not been determined (Bērziņš et al., 2010). It has been reported that the dehydration of xylazine monohydrate H produced polymorph X. However, at elevated temperature X transformed to the polymorph A (Bērziņš et al., 2009; Krūkļe-Bērziņa and Actiņš, 2014).

From all of the possible phase transitions between xylazine hydrochloride polymorphs, the kinetics of the solid state phase transition from X to A has been explored the best. The kinetics of this phase transition can be characterized with a nucleation and nuclei growth mechanism, and it depends on the temperature, humidity, mechanical pressure, and particle size of the initial phase (Krūkļe-Bērziņa and Actiņš, 2014). The activation energy for this process is $220 \pm 20 \text{ kJ/mol}$ (Krūkļe-Bērziņa and Actiņš, 2013). Nevertheless, it has also been determined that dehydration of H produced the polymorph X, and this process can be described by a two dimensional phase boundary mechanism, with an activation energy of $50 \pm 10 \text{ kJ/mol}$ (Bērziņš et al., 2009).

The crystal structures of the polymorphs A and X, as well as that of the hydrate H have been reported. The crystal structures of A and X have been determined from powder X-ray diffraction (PXRD) data, whereas that of the hydrate H has been determined from single crystal X-ray diffraction data. All three structures belong to the $P2_1/c$ space group (Veidis et al., 2008; Zvirgzdiņš et al., 2014).

In this study we investigated the kinetics of solid state phase transition where xylazine hydrochloride monohydrate transformed to the intermediate anhydrous form X, followed by the formation of the more stable anhydrous form A. To better understand these phase transitions, we studied the structural similarity of these three phases.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Xylazine hydrochloride (specified purity >99.0%) sample was obtained from JSC Grindeks and was found to consist of pure monohydrate H. The purity with respect to polymorphic forms was evaluated using PXRD, by comparing to the diffraction patterns given in the literature (Bērziņš et al., 2008). For all the experiments (except the grinding experiment), the supplied sample was recrystallized from water and the resulting phase was evaluated using PXRD.

To obtain a fresh sample of the monohydrate H (recrystallized sample, used for study of the grinding effect), xylazine hydrochloride was crystallized from a 1:3 mixture of ethanol and ethyl acetate. Xylazine hydrochloride was dissolved in a hot mixture of ethanol and ethyl acetate, the obtained solution was then cooled, allowed to crystallize, and filtered. Phase identification of the obtained product was performed with PXRD.

In order to prepare pure anhydrous form X, the supplied Xylazine Hydrochloride was recrystallized from water, and the obtained form H was thermostated at 40°C temperature for two days. The purity of the form X was determined using PXRD by comparison to the previously reported diffraction pattern (Bērziņš et al., 2008).

2.2. Methods

2.2.1. Powder X-ray diffractometry

The PXRD patterns were determined on a Bruker D8 Advance diffractometer equipped with a position sensitive LynxEye detector, using copper radiation ($\text{CuK}\alpha$) at the wavelength of 1.54180 \AA . The tube voltage and current were set to 40 kV and 40 mA, respectively. The divergence slit was set at 1.0 mm, and the antiscattering slit was set at 8.0 mm. The diffraction patterns were acquired using a scan speed of $0.2 \text{ s}/0.02^\circ$ from 9° to 25° on the 2θ scale. The atmospheric humidity effects were excluded during the analysis by covering the samples with a $10 \mu\text{m}$ polyethylene film.

2.2.2. Single crystal X-ray diffractometry (SCXRD)

Single crystals of the form A were grown by slowly evaporating an ethylacetate solution at 50°C temperature. The X-ray data were collected at 173 K on a Nonius Kappa CCD single crystal X-ray diffractometer (Bruker AXS GmbH) with $\text{MoK}\alpha$ radiation (0.71073 \AA). Data reduction was performed with the DENZO/SCALEPACK program (Ostwinowski and Minor, 1997). Crystal structure was solved by direct methods using SHELXS97, and refinement was performed using SHELXL97 (Sheldrick, 2008).

2.2.3. Differential thermal analysis and thermogravimetry (DTA/TG)

The thermal properties of ground samples were studied using DTA/TG. The analyses were performed with an Exstar6000 TG/DTA6300 (SII) instrument. Open aluminium pans were used. Heating of samples from 30 to 220°C was performed with a heating rate of $10^\circ \text{ min}^{-1}$. The sample mass was approximately 7 mg.

2.2.4. Hot stage microscopy (HSM)

For HSM, a Laborlux 12 PolS (Leitz) polarized light microscope equipped with a heating stage and a Newtronic heating control module was used. The heating rate was 5° min^{-1} . Images were collected with Leica Application Suite software from a DFC450 (Leica) digital microscope camera. The crystals of form H for the HSM study were grown from a 1:1 mixture of ethanol and ethyl acetate.

2.3. Sample preparation and the phase transition kinetic experiments.

The first heating time for all samples during this kinetic study was 30 min.

2.3.1. Study of the temperature effect

Xylazine hydrochloride monohydrate (form H) was ground in a mortar for 2 min. The sample was inserted in a glass sample holder. The prepared samples were inserted in an air thermostat set at a fixed temperature. After a predetermined time the samples were removed from the thermostat and phase composition was determined by PXRD.

2.3.2. Study of the relative humidity (RH) effect

Xylazine hydrochloride form H was ground in a mortar for 2 min. The sample was inserted in a glass sample holder. The samples were inserted in constant humidity chambers (desiccators, where constant relative humidity of 15, 10.5, 5.2, and $\sim 0\%$ was provided with 64% (mass %) sulphuric acid solution, saturated LiCl solution, saturated LiBr solution, and P_2O_5 , respectively), and which were thermostated at 80°C temperature. After a predetermined time the samples were removed from the thermostat, and the phase composition was determined by PXRD.

2.3.3. Study of the particle size effect

Xylazine hydrochloride monohydrate H (the commercial sample and also the recrystallized sample) was ground in a ball

mill at the ambient conditions for 2, 10, and 60 min with 15 Hz frequency. Cylindrical stainless steel jar (internal volume = 5 mL) and two stainless steel balls (diameter = 0.9 cm) were used for the grinding. The ground samples were characterized by powder X-ray diffractometry, DTA/TG, DSC, and particle size distribution measurements. Kinetic analyses of the ground samples were performed at 80 °C temperature. The samples were heated in an air thermostat and after a predetermined time removed from the thermostat for a phase composition determination using PXRD.

2.3.4. Study of the mechanical compression effect

Samples were prepared by compressing the form H at three different mechanical pressure values – 74.8, 114, and 225 MPa. The pressure was applied for 15 s with a hydraulic press. Approximately 300 mg of sample and a 13 mm diameter die was used. Kinetic analyses of the compressed samples were performed at 80 °C temperature. Samples were inserted in air thermostat and after a predetermined time removed from the thermostat, and phase composition was determined by PXRD.

2.3.5. Preparation of a mixture of the forms H and X

Xylazine hydrochloride form H was physically mixed in various ratios with the form X in a mortar. The composition of the mixture was determined by PXRD. A full profile analysis was used for phase quantification.

2.4. Quantification of the phase composition

To extract the kinetic data from the PXRD patterns, phase composition was determined through the full profile analysis. In this approach each point in the diffraction pattern was used to calculate the composition of the mixture. The intensity of each diffraction pattern point i can be described by the following equation:

$$I_{theo,i} = Q \times (I_{A,i}W_A + I_{X,i}(1 - W_A)) \quad (1)$$

where $I_{A,i}$ – the reflex intensity of pure form A at the diffraction 2θ angle i , $I_{X,i}$ – the reflex intensity of pure form X at the diffraction 2θ angle i , W_A – mass fraction of the form A in the sample, Q – normalizing factor. The sum of squared differences between the experimental and theoretically calculated intensity values was then calculated over all data points. The least squares method was used to reduce the difference between theoretical and experimental data using Excel add-in Solve by optimizing W_A and Q . The validity of this method for phase quantification of xylazine hydrochloride form A and X mixtures has already been evaluated (Krūkļe-Bērziņa and Actiņš, 2014).

2.5. The crystal structure refinement of forms A and X

The crystal structures of forms X and A had been previously determined from PXRD data (Zvirgzdiņš et al., 2014). The structural information for the forms A and X was taken from the literature (Zvirgzdiņš et al., 2014), and improvements were applied in the following order: (1) molecular cluster consisting of a central molecule surrounded by 12 closest neighbour xylazine hydrochloride moieties was modelled; (2) the positions of all hydrogen atoms of the central molecule were optimized at the B3LYP/6–31G level in Gaussian09 (Frisch et al., 2009). For further calculations, the corrected structures of X and A were used. For energy comparison of both polymorphs, the structure of A determined from PXRD data was used, because both structures had to be determined at the same temperature and with the same accuracy in order to obtain comparable results.

2.6. Lattice energy calculation in PIXEL

The crystal lattice energy calculations were performed according to the semi-empirical PIXEL methodology (with code provided in the CLP software suite). Empirical parameters were used as provided in the literature (Gavezzotti, 2011). The atom positions for the purposes of this calculation were obtained by standard procedure using RETCIF and RETCOR modules. The hydrogen atom positions were renormalized. Molecular electron density calculations were performed in Gaussian09 at the MP2/6–31G(d,p) level using standard grid parameters. The condensation level 4 and a calculation cutoff value of 35 Å were used.

3. Results and discussion

3.1. Analysis of the crystal structures

3.1.1. Crystal structure of the form A

Single crystals of the form A suitable for SCXRD analysis were obtained, and the crystal structure was determined. The crystallographic data of the obtained structure are presented in Table 1 and compared to the literature data (Zvirgzdiņš et al., 2014).

From the Table 1 it can be seen that there were only minor differences between the lattice parameters and cell volume determined according to both methods, mostly because of the use of lower temperature for the single crystal X-ray diffraction measurement. Also the identified crystal structure was the same with both methods, which can be evaluated by comparing the molecular packing, hydrogen bonding pattern, and interatomic distances. The overlay of both determined crystal structures of polymorph A in Fig. 1 shows the identical molecular conformation and packing.

The thermal vibration ellipsoids and the atomic numbering of xylazine hydrochloride polymorph A are presented in Fig. 2.

3.1.2. Crystal structure comparison of the forms A, X, and H

The molecular conformation of all three structures is compared in Fig. 3. It can be seen that the molecular conformation of all three forms was very similar, although there were minor differences in the conformation of dihydrothiazine ring.

The hydrogen bonding patterns and the molecular packing diagrams generated using Mercury 3.1 (Macrae et al., 2008) for xylazine hydrochloride monohydrate H (Veidis et al., 2008) and the forms X (Zvirgzdiņš et al., 2014) and A are given in Fig. 4.

As shown in Fig. 4(bX), the 1D structural pattern of the form X consists of infinite layers along the b -axis, where the molecules are packed parallel to each other and molecules in one layer are oriented in the same direction, whereas the molecules in both adjacent layers are oriented in the antiparallel direction. It can be seen that one chloride anion interacts with two xylazine cations

Table 1

Comparison of crystallographic data for the form A determined from SCXRD and from PXRD (Zvirgzdiņš et al., 2014).

Data	SCXRD	PXRD ^[21]
Temperature	173 ± 2 K	Ambient
Crystal system	monoclinic	monoclinic
Space group	P2 ₁ /c	P2 ₁ /c
a/Å	11.42340(10)	11.5735(3)
b/Å	8.6643(2)	8.70728(17)
c/Å	14.6931(3)	14.8636(3)
β/deg	114.5900(10)	115.1461(18)
V/Å ³	1322.37(4)	1355.90(5)
Z	4	4
Reflections	12236	
Crystal size (mm ²)	0.6 × 0.5 × 0.5	
R_{wp}		0.130

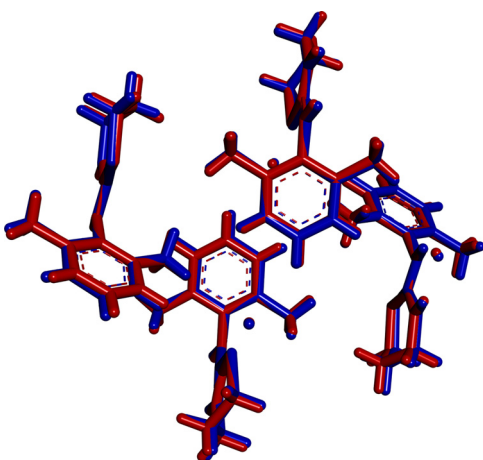


Fig. 1. Overlay of the xylazine hydrochloride form A crystal structure fragments extracted from structures determined by SCXRD (red) and PXRD (blue). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

(See Fig. 4(aX)). Two chloride anions and two xylazine cations are connected by hydrogen bonds forming a tetramer with the graph set $R_2^4(12)$. The distance between the chloride anion and the H7 atom in the xylazine cation is 2.01 Å, whereas that between the chloride anion and the H1 atom in xylazine cation is 2.10 Å (the numbering is the same for all forms and is given in Fig. 2). In the literature (Steiner, 1998) the average hydrogen bond distance between the hydrogen atom and the chloride anion is 2.126(6) Å for $(CC)N^+-N$ as an acceptor, and 2.221(7) Å for $>Nsp^2-H$ as an acceptor. Therefore in the form X both hydrogen bonds are shorter than the average hydrogen bond length.

As shown in Fig. 4(bH), the molecular packing of the form H share common features with that of the form X. The 1D structural pattern of the form H is defined by the same layered molecular arrangement and a similar orientation of the layers with respect to each other. Also in this case these layers were arranged along the *b*-axis. The main difference between both structures is the connectivity of the chloride anion to the xylazine cation (See Fig. 4(aH)), because the hydrate structure features hydrogen

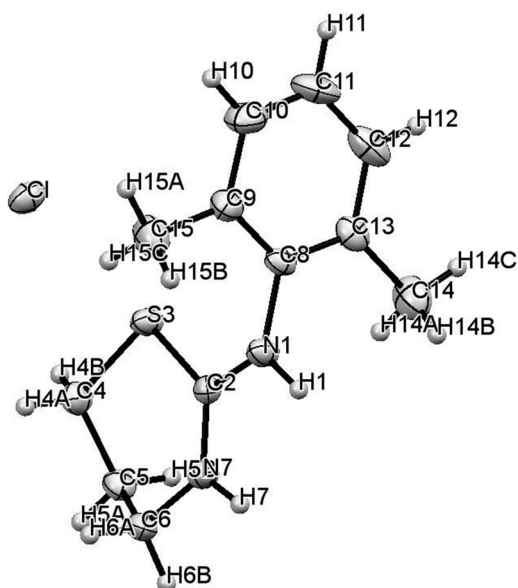


Fig. 2. The thermal vibration ellipsoids of 50% probability and the atomic numbering for the asymmetric unit of xylazine hydrochloride form A.

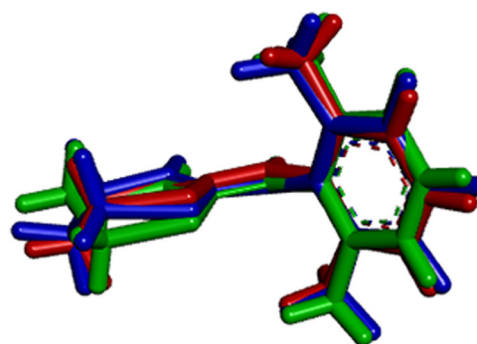


Fig. 3. Overlay of the xylazine moieties extracted from the crystal structures of H (red), X (blue), and A (green). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

bonding between two xylazine cations and two chloride anions, as well as two water molecules. Thus, the water molecules and the chloride anions between two xylazine moieties form hydrogen bonded tetramer with the graph set notation $R_2^4(8)$, and these xylazine moieties are connected with this tetramer by forming a hydrogen bonded hexamer with the graph set notation $R_4^6(16)$. The distance between the H1 atom of xylazine cation and the chloride anion is 2.35 Å, whereas that between the chlorides anion and an H atom of the water molecule is 2.36 Å, and the distance between the O atom of the water molecule and the H7 atom of xylazine cation is 1.96 Å. Therefore the hydrogen bond distance between the H1 atom of the xylazine cation and the chloride anion is longer than that in the structure of the form X.

As shown in Fig. 4(bA), the molecular packing of the form A also share some common features with that of the forms X and H. However, the structural 1D pattern is defined by layers consisting of molecules which have been flipped by 180° with respect to the adjacent molecules, and molecules in the adjacent layers are not antiparallel with respect to each other. The same molecular orientation repeats after every two molecules in the layer, and the layer also repeats itself after two layers. Another difference from the structures of the forms H and X is the position of the chloride anions (See Fig. 4(aA)). In this case the chloride anions are not positioned between two xylazine moieties by forming a channel, but are close to only one xylazine moiety by forming a hydrogen bonded dimer with this xylazine cation characterized by the graph set $R_1^2(6)$. The distance between the chloride anion and the atom H7 of the xylazine cation is 2.23 Å, whereas the distance to the atom H1 is 2.28 Å.

Thus it can be seen that molecular packing in all three crystal structures share some common features. However the monohydrate H and the form X are basically the same, and the only difference is the inclusion of water molecules adjacent to the chloride anions, whereas the relative orientation of the xylazine cations, and the arrangement of the chloride anions is different in the form A.

Therefore it can be concluded that the observed structural features can be used to understand phase transitions: it can be easily understood why the dehydration of hydrate H produces the form X instead of the A. In this transition the molecules do not change the orientation and location in the crystal structure. In the dehydration process water leaves the structure, and the most significant rearrangement happening is the decreasing distance between the xylazine moieties involved in the formation of hydrogen bonded ring structures. Besides, it can be concluded that the transformation of the form X into A will be more complex than the dehydration process, because the required molecular rearrangement and reorientation is much larger than that involved in the transition from the form H to X.

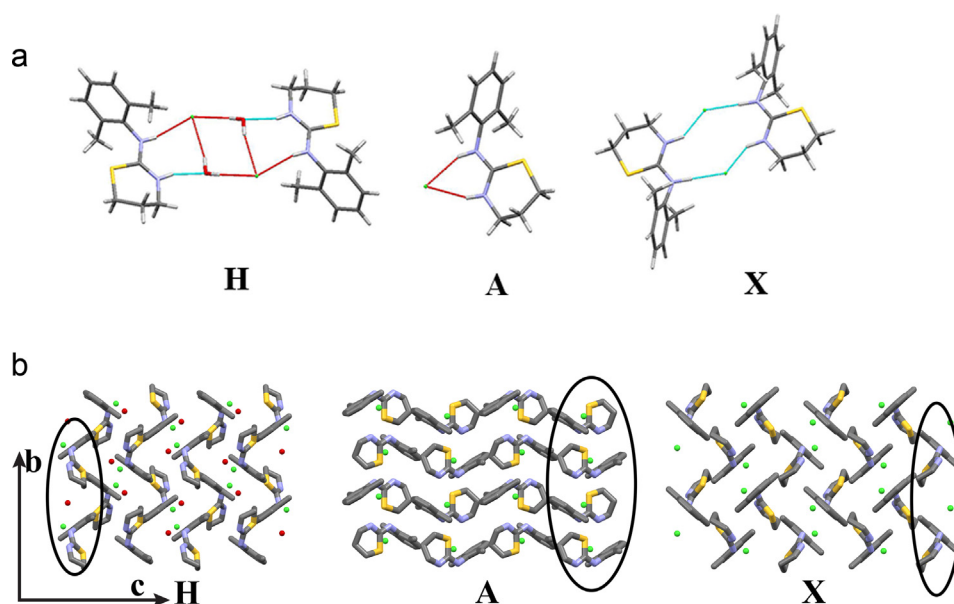


Fig. 4. The hydrogen bonding patterns (a) and the molecular packing (b) in xylazine hydrochloride monohydrate H, the form A, and the form X.

3.1.3. Comparison of the thermodynamic stability of the forms A and X, based on the lattice energy

To compare the stability of the forms A and X, calculation of the crystal lattice energy for these forms has been performed with the PIXEL software (Gavezzotti, 2011). It was not possible to perform this calculation for the hydrate, because its formula unit contains a water molecule and thus should be represented as three chemical entities in the asymmetric unit. The obtained results are presented in Table 2.

As can be seen from the Table 2, the form A has a higher total lattice energy, which means that the form X is more stable at 0 K (because the xylazine moiety has the same molecular conformation in both crystal structures). As mentioned above, the forms A and X have an enantiotropic relationship, but the phase transition point is not known. From previously obtained results it can be concluded that the transition point should be below 283 K (Bērziņš et al., 2010). The lattice energy calculations confirmed this conclusion. Comparing the results obtained for both crystal structures of the form A, it can be seen that the results were different, meaning that the lattice energies for the comparison of crystal structures should be determined at the same accuracy level.

The large Coulombic energy term in both structures was due to the ionic nature of xylazine hydrochloride. By comparing both polymorphs, the form A had the larger Coulombic energy, meaning that the interaction between the chloride anion and the xylazine cation was stronger than that in the form X, because of the closer chloride ion position to the xylazine moieties. However, the difference was not large. The repulsion energy value showed how

tightly packed were the polymorphs, and for tighter packing this energy and the density has to be higher (Dunitz and Gavezzotti, 2005). Although the repulsion energy of X is higher, the calculated density is larger for the form A (1.258 g/cm³), but the difference with the form X (1.249 g/cm³) is small. However, in the form X the repulsion energy was higher due to (a) the presence of a repulsion energy between the two chloride anions, which is absent in the polymorph A and (b) the smaller distances between the closest xylazine moieties.

3.2. Study of the phase transition kinetics

3.2.1. Effect of the temperature

Fig. 5 shows the PXRD patterns of the form H sample after 30 min of heating at three different temperatures (70, 80, and 90 °C). The amount of the forms X and H in the sample decreased if the temperature was increased. After heating the sample for 30 min we did not detect the presence of the form H at the 90 °C temperature, and the form A at the 70 °C temperature.

Fig. 6 presents the mass fraction of the form A at different temperatures as a function of time for two cases: when the initial sample is (a) pure form H (further in the text – transition (1)) and (b) pure form X (further in the text – transition (2)). As can be seen from Fig. 6, the formation of the polymorph A was faster at the beginning part of the process when the initial sample was the form H, compared to the case when the polymorph X was the initial sample. It has been already reported (Bērziņš et al., 2009) that when the form H is dehydrated, the polymorph X formed instead of the polymorph A. Therefore we think that there can be two possible explanations for our results: (1) the monohydrate H dehydrated to the polymorph X as usual (Bērziņš et al., 2009), and part of it rapidly transformed into the polymorph A because the water evolved from the monohydrate H structure stimulated the formation of the stable polymorph A; (2) some factors promoted the direct formation of polymorph A in the dehydration process instead of the formation of polymorph X (as observed before (Bērziņš et al., 2009)). By further analysing the results obtained for the phase transformations (1) and (2) it can be seen that there was a significant difference between the results obtained at 70 and 80 °C. At 70 °C the form H transformed by the transition (1) into a mixture of forms A and X, but after all the H form had been

Table 2

Lattice energy and its components for the forms A and X, as calculated by the PIXEL software.

Form	E_{coul} (kJ/mol)	E_{pol} (kJ/mol)	E_{disp} (kJ/mol)	E_{rep} (kJ/mol)	E_{tot} (kJ/mol)
X ^a	−305.0	−63.7	−88.9	121.8	−335.8
A ^a	−307.1	−51.5	−87.7	113.4	−332.9
A ^b	−312.2	−52.1	−93.5	120.2	−337.6

^a The crystal structure calculated from powder X-ray diffraction data

^b The crystal structure calculated from single crystal X-ray diffraction data

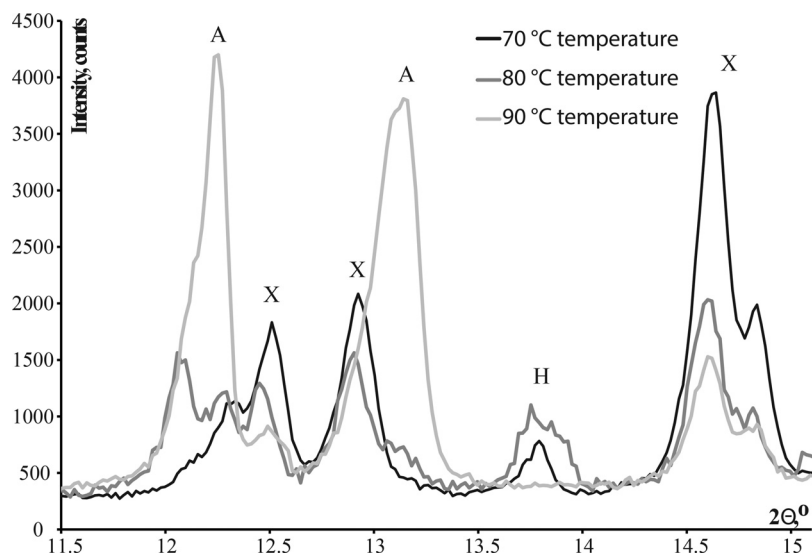


Fig. 5. The PXRD patterns recorded after 30 min heating of Xylazine hydrochloride form H at three different temperatures (70, 80, and 90 °C).

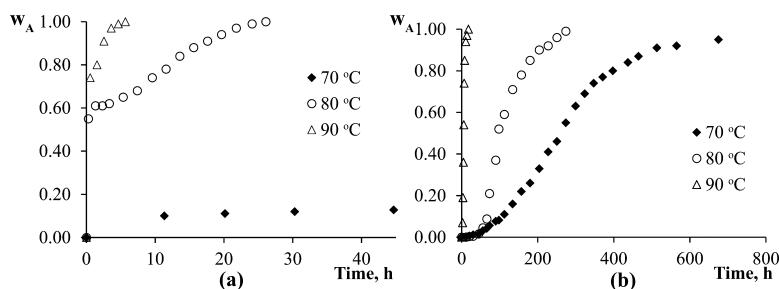


Fig. 6. The mass fraction of the form A at three different temperatures (70, 80, and 90 °C) as a function of time, using (a) a pure form H or (b) a pure form X as the initial sample.

transformed, the transition rate from X to A was slower, as compared to the transition (2). At 80 °C the nucleation stage in case of transition (1) was much faster than in transition (2), but the nuclei growth occurred with a similar rate.

Further we investigated how different amounts of the forms H and X in the initial sample affected the amount of the form A appearing at different experimental temperatures. Fig. 7 shows how the amount of the polymorph A varied when the initial sample

contained different amounts of the form H after heating the samples for 30 min at different temperatures.

It can be seen that the amount of polymorph A formed during 30 min was linearly related to the amount of the forms H and X in the initial samples. Thus we concluded that the increase of the form H amount in the initial sample increased the relative humidity above the sample, which in turn resulted in the formation of polymorph A.

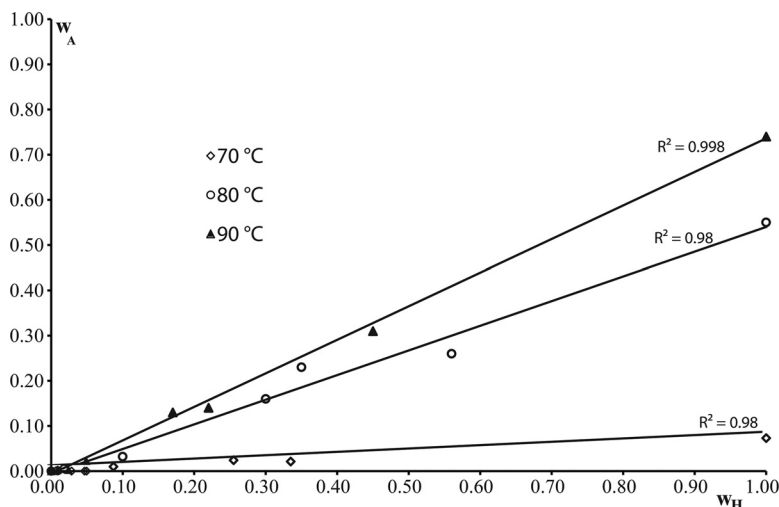


Fig. 7. The weight fraction of the form A formed after 30 min heating of the initial sample containing different amounts of the form H.

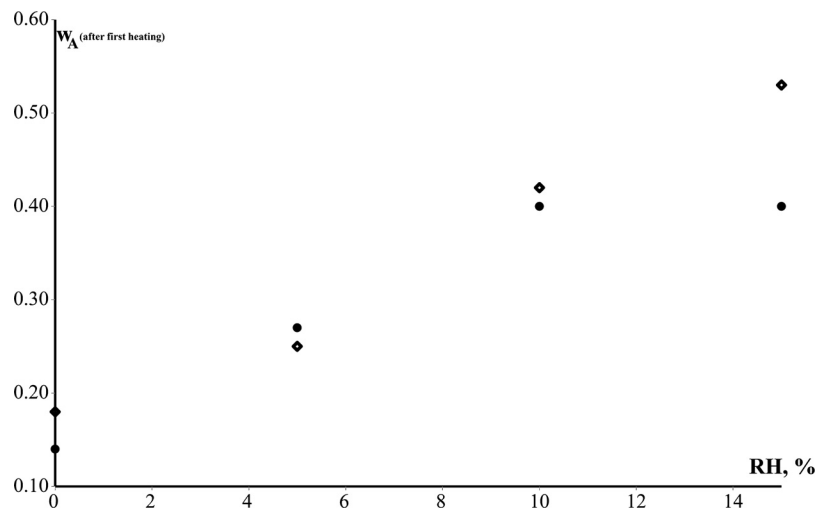


Fig. 8. The amount of the form A obtained by storing a sample of the form H at 80 °C temperature at different relative humidity levels for 30 min (results from two different experiments).

3.2.2. Effect of the relative humidity

Fig. 8 presents the amount of the polymorph A depending on the relative humidity, when the hydrate was heated for 30 min at 80 °C temperature. We performed the experiments two times to determine the reproducibility. It can be seen that the reproducibility in all the used relative humidity interval was high, except for the 15% RH, where changes of the atmosphere composition could occur, because it was not possible to guarantee that concentration of the sulphuric acid solution did not change during the storage at 80 °C temperature. From **Fig. 8** it can be seen that the amount of the polymorph A formed was linearly dependent on the relative humidity at least up to 10%. In order to check the non-linear nature above 10% RH, we performed the experiment also at higher RH, but under these conditions the dehydration of the form H produced not only the polymorphs X and A form, but also the hemihydrate (the form Y) (Bērziņš et al., 2009, 2008).

The amount of the form A obtained by storing a sample of the form H at 80 °C temperature at different relative humidity levels for 30 min (results from two different experiments).

This experiment proved that the increase of the relative humidity stimulated the formation of polymorph A after the dehydration, thus confirming the previous conclusions. This can be due to the fact that water molecules at high temperatures can facilitate molecular fluctuations in the crystal structure, which can accelerate the formation of the form A, by helping to change the molecular orientation. However, the relative humidity could not be too high because otherwise the hydrate would be thermodynamically stable and would not dehydrate.

3.2.3. Effect of the particle size

To analyse the effect of the hydrate sample particle size on the transition rate and the obtained products, we performed dehydration experiments with two different samples – one coming from the manufacturing process and the second one crystallized in the laboratory before the experiment. Both samples were ground in the ball mill for 2, 10, and 60 min. **Fig. 9** presents the PXRD patterns of (a) the manufactured sample and (b) the recrystallized sample after four different grinding times, heated for 30 min at 80 °C temperature.

It can be seen that the amount of the dehydration products obtained from both samples were different. After the dehydration there was more of the form A present in the manufactured sample (except in that ground for 60 min), whereas higher amounts of the forms X and H were present in the recrystallized sample. From both samples it was concluded that the grinding of the form H stimulated the formation of the form X after the dehydration. It was because the hydrate sample particles became smaller in the grinding process. This was confirmed by the determination of the particle size distribution (see Fig. S1). It should be mentioned that the appearance of the bigger particles in the sample ground for 60 min was associated with the agglomeration of the smaller particles. Thus the larger surface area of the hydrate particles facilitated the formation of the polymorph X.

The DTA/TG analyses were performed for all four differently prepared fractions of both samples to make sure that the grinding process did not cause dehydration (see Fig. S2) and enthalpy changes (see Table S1). The obtained results are given in **Fig. 10**.

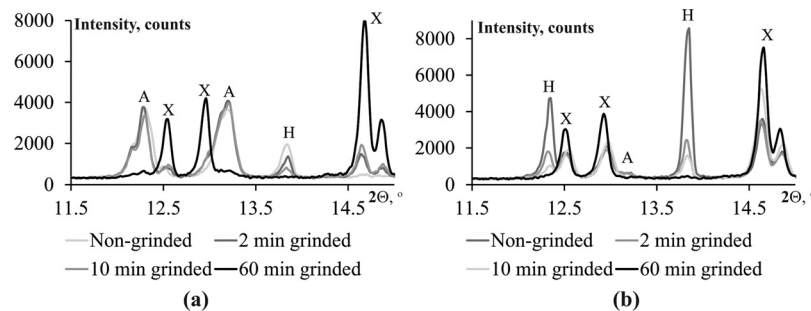


Fig. 9. The PXRD patterns of the differently ground form H samples after 30 min heating at 80 °C temperature, using (a) manufactured and (b) recrystallized form H samples.

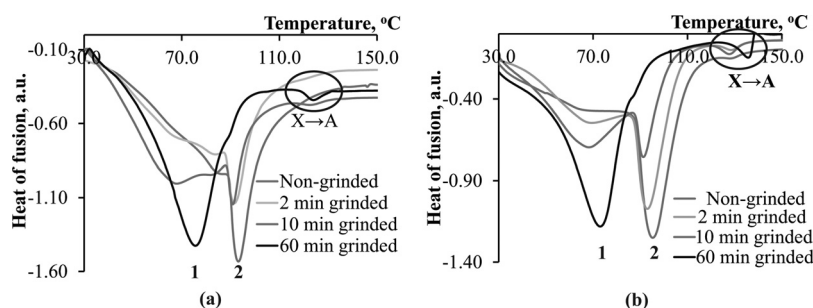


Fig. 10. The DTA curves of differently ground (a) manufactured and (b) recrystallized form H samples.

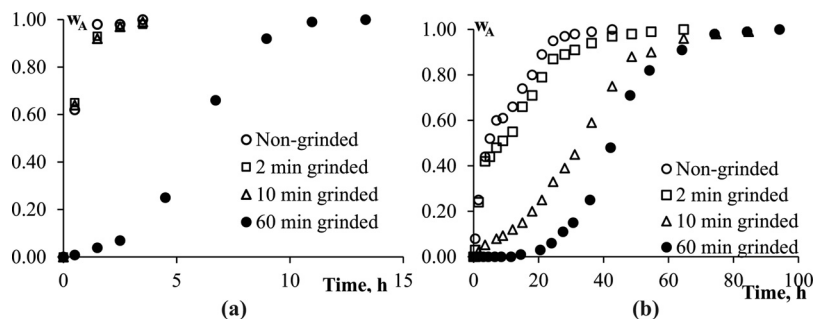


Fig. 11. The mass fraction of the form A as a function of time when differently ground (a) manufactured and (b) recrystallized form H samples were heated at 80°C temperature.

Fig. 10 shows that the thermal properties of these samples were different. It can be seen that the grinding process itself did not introduce dehydration because the mass changes for all of the analysed samples were the same. In the DTA curves we observed two endothermic peaks occurring during the mass loss (see Figs. 10, 1 and 2). The first peak (1) corresponded to the dehydration process of the hydrate. The second peak (at 98°C) did not appear if the sample was ground for a long enough time and all of the water was lost before reaching the 95°C temperature. Therefore this peak can be associated with the melting of the hydrate (as supported by the HSM study). Two peaks corresponding to dehydration were observed also in the DSC scans. We observed that the dehydration starting and also the ending temperature decreased by increasing the grinding time. This was because the smaller particles obtained after the grinding dehydrated more easily. In this study we observed that the formation of the form A after the dehydration was connected to the appearance of the second signal: in the absence of the hydrate melting peak only the form X was obtained after the dehydration. Therefore the formation of A can be connected to the fact that during the dehydration of the hydrate, the dehydration product dissolved in the evolved water and crystallisation of the thermodynamically stable form A occurred. In a kinetic study performed at temperatures below 95°C such a situation would not occur. However, also after complete dehydration at lower temperatures the form A appeared only for samples with the hydrate melting peak in the DTA curve. Thus it is possible that formation of A can be related to the particle size of the hydrate, and for sufficiently large particles the form A can form because of the condensation of the evolved water in the crystal, whereas this does not occur for smaller particles where water escape from the particles would be easier.

Fig. 11 shows the amount of polymorph A formed after the dehydration of (a) the manufactured sample and (b) the recrystallized sample with different grinding times. It can be seen that for the samples where a large amount of the polymorph A had formed after the first heating, the shape of the kinetic curve was different

compared to the curves obtained for samples where the hydrate transformed only to the polymorph X. It was also obvious that there were differences between the manufactured sample and the recrystallized sample. It is clear that during the first heating more of the polymorph A formed from the manufactured sample and this difference can be connected to the fact that in the manufactured sample there were nuclei of the more stable polymorph A in amounts undetectable by PXRD, and these nuclei accelerated the phase transition rate associated with the formation of form A (Krūkle-Bērziņa and Actiņš, 2014). The mechanism of the phase transition from X to A for the samples where dehydration produced a mixture of the forms A and X was different from that when pure form X transformed to A. It is possible that in this case the nuclei of the form A developed rapidly and the only rate limiting step was the nuclei growth.

3.2.4. Effect of the mechanical compression

Fig. 12 shows the phase composition after the first heating of the mechanically compressed hydrate samples. It can be seen that the pressure enhances the formation of polymorph A during the

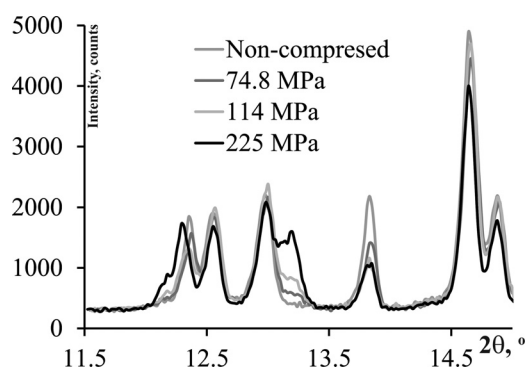


Fig. 12. The PXRD patterns of the differently compressed form H samples after 30 min of heating at 80°C temperature.

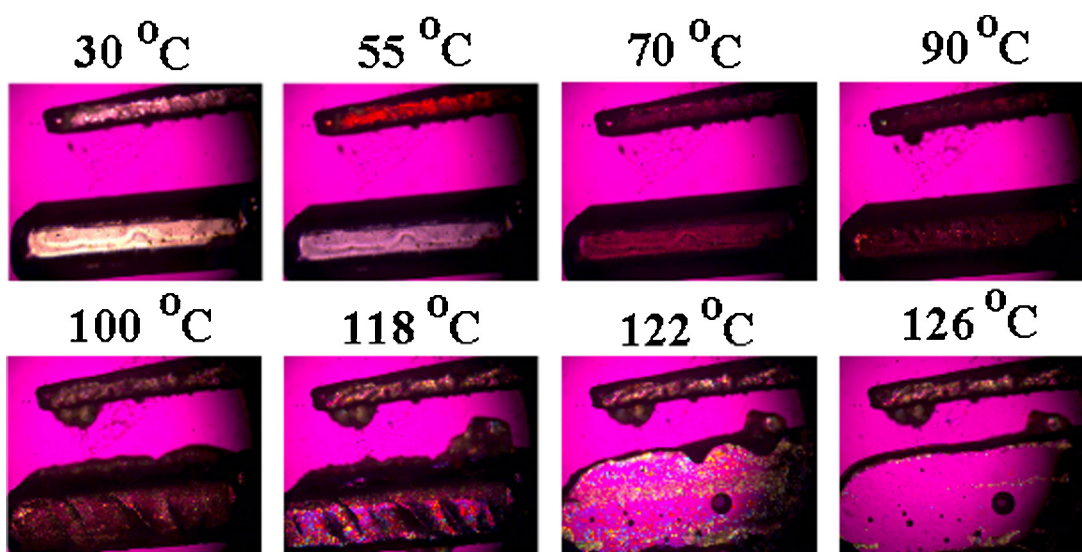


Fig. 13. HSM photomicrographs of the H form crystal dehydration.

first heating. This result is in accordance with the literature (Krūkle-Bērziņa and Actiņš, 2014), where it was shown that increasing the pressure applied to the polymorph X enhanced the formation rate of the polymorph A during the study of the phase transition kinetics. The pressure created crystal defects and cracking, thus enhancing the nucleation of the polymorph A, compared to the mechanically unaffected sample.

After the mechanical compression the hydrate particles were more densely packed, and the free space between the particles was reduced by increasing the mechanical pressure. Therefore, the escape of water during the dehydration process was delayed and this delay was dependent on the applied pressure. This accumulation of the evolved water in the sample facilitated the formation of polymorph A.

3.2.5. Hot-stage microscopy study

Fig. 13 shows hot-stage micrographs representing the phase transitions of the hydrate crystals during the heating. It can be seen that the dehydration process started to occur at approximately 70 °C temperature, then at 100 °C the crystals cracked, other phases appeared (because a colour change was observed), and liquid evolved from the centre of the larger crystal suggesting that melting of the hydrate occurred. At 122 °C this crystal dissolved in the evolved water, because the evolved water did not escape from the crystal. Clearly it was not the melting of polymorph A, which occurs at 168 °C (Bērziņš et al., 2010). However, the smaller crystal did not evolve as much water and did not dissolve, suggesting that its dehydration occurred faster.

4. Conclusions

By comparing the crystal structures of xylazine hydrochloride polymorphs A and X and the hydrate H it was found that the molecular packing in the forms X and H was very similar, thus explaining the observed fact that the form X was obtained in the dehydration of the form H. However, the molecular conformations were similar in the crystal structures of all three forms. The calculation of lattice energy values for the forms A and X showed that the form X was more stable at 0 K temperature, in agreement with the previous experimental conclusions.

The solid state phase transition investigation showed that it is possible to control the type of polymorphs obtained after the dehydration of the hydrate: either the pure form X, or a mixture of

the forms A and X. The grinding of the hydrate enhanced the formation of X, whereas dehydration at higher humidity increased the temperature, and mechanical compression of the hydrate enhanced the formation of the form A. It was proved that the dehydration of sufficiently large particles resulted in melting of the hydrate and formation of the polymorph A. However, formation of the polymorph A at lower temperatures was associated with the condensation of water if the hydrate particles were sufficiently large. Our investigation showed that it is possible to analyse and understand more complex phase transitions where an intermediate stage is involved. Such investigations sometimes are necessary to completely understand the factors affecting the results of complex transitions, where the investigation of a solid state phase transition between only two forms cannot give sufficient information for an accurate characterisation of the entire transformation.

Acknowledgement

This work has been supported by the within the project “Support for Doctoral Studies at University of Latvia” scholarship to Mrs. Krūkle-Bērziņa.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.04.025>.

Crystallographic information file is available from the Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC) upon request (<http://www.ccdc.cam.ac.uk>, CCDC deposition number 987868).

References

- Agbada, C.O., York, P., 1994. *International Journal of Pharmaceutics* 106, 33–40.
- Aitipamula, S., Banerjee, R., Bansal, A.K., Biradha, K., Cheney, M.L., Choudhury, A.R., Desiraju, G.R., Dikundwar, A.G., Dubey, R., Duggirala, N., 2012. *Crystal Growth and Design* 12, 2147–2152.
- An, J.-H., Choi, G.J., Kim, W.-S., 2012. *International Journal of Pharmaceutics* 422, 185–193.
- Bernstein, J., 2002. *Polymorphism in Molecular Crystals*. Oxford University Press, Oxford, pp. 337.
- Bērziņš, A., Actiņš, A., Veldre, K., 2008. *Latvian Journal of Chemistry* 3, 226–232.
- Bērziņš, A., Actiņš, A., Kreišmanis, J.P., 2009. *Pharmaceutical Development and Technology* 14, 388–399.

- Bērziņš, A., Krūkle, K., Actiņš, A., Kreišmanis, J.P., 2010. *Pharmaceutical Development and Technology* 15, 217–222.
- Brittain, H.G., 2012. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 101, 464–484.
- Dunitz, J.D., Gavezzotti, A., 2005. *Crystal Growth and Design* 5, 2180–2189.
- European Pharmacopoeia, Strasbourg 2010.
- Frisch, M.J., Trucks, G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., Scalmani, G., Barone, V., Mennucci, B., Petersson, G.A., et al., 2009. et al., Gaussian 09, Revision D.01. Gaussian Inc., Wallingford, CT.
- Gavezzotti, A., 2011. *New Journal of Chemistry* 35, 1360.
- Giron, D., Mutz, M., Garnier, S., 2004. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 77, 709–747.
- Hilfiker, R., 2013. In: Beckmann, W. (Ed.), *Crystallization: Basic Concepts and Industrial Applications*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, pp. 85–103.
- Khawam, A., Flanagan, D.R., 2006. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 95, 472–498.
- Krūkle-Bērziņa, K., Actiņš, A., Bērziņš, A., 2011. *Latvian Journal of Chemistry* 50, 73–84.
- Krūkle-Bērziņa, K., Actiņš, A., 2013. XVth International Conference “Heterocycles Bio-Organic Chemistry Rīga”, pp. 190.
- Krūkle-Bērziņa, K., Actiņš, A., 2014. *International Journal of Chemical Kinetics* 46, 161–168.
- Lee, A.Y., Erdemir, D., Myerson, A.S., 2011. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering* 2, 259–280.
- Li, J., Brill, T.B., 2007. *Propellants, Explosives, Pyrotechnics* 32, 326–330.
- Macrae, C.F., Bruno, I.J., Chisholm, J.A., Edgington, P.R., McCabe, P., Pidcock, E., Rodriguez-Monge, L., Taylor, R., van de Streek, J., Wood, P.A., 2008. *Journal of Applied Crystallography* 41, 466–470.
- Morris, K.R., Griesser, U.J., Eckhardt, C.J., Stowell, J.G., 2001. *Advanced Drug Delivery Reviews* 48, 91–114.
- Petkune, S., Actins, A., 2010. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 53, 7–14.
- Sheldrick, G.M., 2008. *Acta Crystallographica Section A* 64, 112–122.
- Sheridan, A.K., Anwar, J., 1996. *Chemistry of Materials* 8, 1042–1051.
- Steiner, T., 1998. *Acta Crystallographica, Section B: Structural Science* 54, 456–463.
- Veidis, M.V., Orola, L., Araj, R., 2008. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online* 64, o1062.
- Zvirgzdiņš, A., Mishnevs, A., Actiņš, A., 2014. *Acta Crystallographica Section B* 70, 342–346.

Powder X-Ray Diffraction Investigation of Xylazine Hydrochloride Solid Phase Transformation Kinetics

KRISTĪNE KRŪKLE-BĒRZIŅA, ANDRIS ACTIŅŠ

Faculty of Chemistry, University of Latvia, Kr. Valdemara iela 48 LV-1013, Riga, Latvia

Received 3 January 2013; revised 18 June 2013; 31 October 2013; accepted 14 November 2013

DOI 10.1002/kin.20839

Published online 12 December 2013 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com).

ABSTRACT: The kinetics of the solid-state phase transformation of xylazine hydrochloride form X to A has been investigated using powder X-ray diffraction and differential thermal analysis. Three different kinetic models have been used to describe transition kinetics: the Avrami–Erofeev equation, the Cardew equation, and the methodology for simulation of solid-state phase transition kinetics by the combination of nucleation and nuclei growth processes. The latter has been recently developed and has been tested in this paper for the case of a real solid-state transition. The relative humidity, mechanical pressure, temperature, and sample-preparation effect on phase-transition kinetics have been investigated, and rate constant changes have been analyzed. © 2013 Wiley Periodicals, Inc. *Int J Chem Kinet* 46: 161–168, 2014

INTRODUCTION

Many pharmaceutical solids exhibit polymorphism [1,2], which is defined as the ability of a substance to exist in two or more crystalline phases that have different arrangements and/or conformations of the molecule in crystal lattice [1,3]. Polymorphs of active pharmaceutical ingredients can have different chemical and physical properties, such as the melting point, chemical reactivity, apparent solubility, dissolution rate, optical and electrical properties, density, and vapor pressure [4]. Several xylazine hydrochloride polymorphs and their properties have been reported so

far [5–7]. The molecular structure of xylazine hydrochloride is shown in Fig. 1.

From the phase rule, it is clear that only one phase can exist at any given temperature and pressure, except at the transition temperature at defined pressure when two phases, that is, polymorphs, will exist in equilibrium [8]. At temperatures above 50°C, the thermodynamically stable form of xylazine hydrochloride is form A, while the form X is thermodynamically unstable [7]. Transition from the unstable to a more stable polymorph can occur, and the major factors affecting polymorphic transition kinetics are temperature, humidity, mechanical stress, compression, crystal defects, and particle size [9,10].

Polymorph phase transitions are both of considerable scientific interest, as well as of industrial importance. In each of these disciplines, a great deal of attention is focused on the kinetics of the phase transitions involved [11].

Correspondence to: K. Krūkle-Bērziņa; e-mail: kristine.krukle-berzina@lu.lv

Contract grant sponsor: Support for Doctoral Studies at University of Latvia; European Social Fund.

© 2013 Wiley Periodicals, Inc.

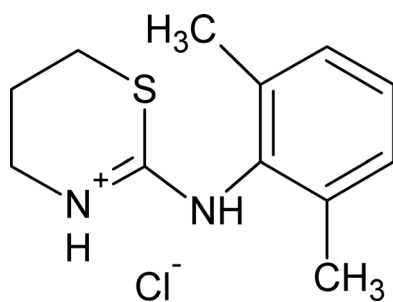


Figure 1 Molecular structure of xylazine hydrochloride.

Kinetics in the solid state as a function of time is often studied by a variety of techniques [12]. The characterization of solid-state kinetics typically involves modeling the fractions transformed as a function of time (the α -time curve) [11], and the experimental points can be described by a mathematical equation representing a theoretical kinetic model [12].

The kinetics of many solid-state reactions have been described by the Avrami theory [12] (α -conversion fraction; k -rate constant, time^{-1} ; t -time; and n -dimensional factor):

$$\alpha = 1 - e^{-(kt)^n} \quad (1)$$

which describes that transformations proceed by a nucleation and growth mechanism and takes into account the coalescence and inclusion of other nuclei as the new phase grows [11]. A similar theory has been developed by Cardew et al. [13]. (k_N -nucleation rate constant, s^{-1} ; k_G -nuclei growth constant, s^{-1}):

$$\alpha = \frac{k_N}{k_G} e^{-k_N t} \int_0^{k_G t} e^{\left(\frac{k_N}{k_G} u\right)} \phi(u) du \quad (2)$$

but only for the case when one nucleus is involved in the transformation of each crystal ($u = k_G t$, $\phi = u^3 (2-u)^3$). Many other solid-state kinetic models have been developed in the past century [12]. New methodology for the simulation of solid-state phase transition kinetics by the combination of nucleation and nuclei growth (CNNG) processes has been recently developed [14]:

$$\alpha = K_1 \int_0^t \left(1 + \frac{K_2}{3} \int_\tau^t W_\alpha^p(\tau) dt \right)^3 W_\alpha(\tau) d\tau \quad (3)$$

where K_1 -nucleation rate constant; g - time^{-1} ; K_2 -nuclei growth constant; time^{-1} ; W_α -residual mass fraction of phase α ; and τ -time when the nucleus formed. Equa-

tion (3) has been solved according to the Runge–Kutta method of numerical integration.

EXPERIMENTAL

Preparation of Xylazine Hydrochloride Polymorphic Form X

The xylazine hydrochloride (specified purity 99%) sample obtained from JSC Grindeks (Riga, Latvia) was found to consist of the hydrate H. The purity with respect to polymorphic forms was verified using powder X-ray diffraction (PXRD) by comparison to the diffraction pattern available in the literature [6]. No contaminants were detected. To obtain pure anhydrous form X, the supplied xylazine hydrochloride was thermostated at 60°C temperature for 2 days.

Powder X-Ray Diffraction

The PXRD patterns were determined on a Bruker D8 Advance diffractometer using copper radiation (CuK_α) at the wavelength of 1.54180 Å. The tube voltage and current were set to 40 kV and 40 mA, respectively. The divergence and antiscattering slits were set at 1.0 mm, and the receiving slit was set at 0.6 mm. The patterns were acquired using a scan speed of 0.2 s/0.02° going from 9° to 25° on the 2θ scale.

Sample Preparation for Kinetic Analysis

Xylazine hydrochloride polymorph X was ground in a mortar for 2 min in a glovebox, where low relative humidity (RH) was maintained by the presence of 80% sulfuric acid solution. The sample was inserted in a glass sample holder and pressed with a glass press.

Evaluation of Different Parameter Effects on the Transition Kinetics

The prepared samples were maintained in an air thermostat at a fixed temperature. After a predetermined time, the samples were removed from the thermostat and phase composition was determined using PXRD.

Relative Humidity. The samples were maintained at two different temperatures (70°C and 80°C) in constant humidity chambers (desiccators, where constant RH of 25%, 15%, 5%, and ~0% was provided with sulfuric acid solutions).

Preparation of the Powder Sample. Three different samples were prepared by varying the milling time;

samples were ground for 2, 4, and 8 min. The particle sizes of the obtained sample were determined by using a Mastersizer 2000 MAL 102023 laser diffraction instrument (laser-beam length, 10.00 mm; integration time, 3000 ms; measurement time, 3 s; and measurement range, 0.020 – 2000 μm). For kinetic analyses, the samples were maintained at 80°C.

Mechanical Pressure. Samples were prepared by compressing the polymorph X with three different mechanical pressure values—0.0748, 0.114, and 0.151 GPa. Pressure was applied for 15 s with a hydraulic press. Dies with a diameter of 13 mm were used. For kinetic analysis, the samples were maintained at 80°C temperature.

Determination of the Specific Surface

Surface area was determined with a modified chromatograph, detecting the amount of argon involved in a monolayer adsorption–desorption process.

Differential Thermal Analysis

The thermal properties of samples affected by mechanical pressure were studied with differential thermal analysis (DTA)/thermogravimetric analysis. Anal-

yses were performed with an Exstar6000 TG/DTA6300 (SII) instrument. Open aluminum pans were used. Heating of samples from 30°C to 220°C was performed with a heating rate of 5°·min⁻¹. The sample mass was approximately 7 mg.

Quantification of the Phase Composition

The PXRD patterns of xylazine hydrochloride pure form A, form X, and their mixture are shown in Fig. 2. To extract the kinetic data from the PXRD patterns, phase composition was determined through a full-profile analysis. In this approach, each point in the diffraction pattern was used to calculate the composition of the mixture. Thus, the intensity of each diffraction pattern point i can be described by the following equation:

$$I_{\text{theo},i} = Q \cdot (I_{A,i}W_A + I_{X,i}(1 - W_A)) \quad (4)$$

where $I_{A,i}$ is the intensity of pure A form at diffraction angle i , $I_{X,i}$ is the intensity of pure X form at diffraction angle i , W_A is the mass fraction of A form in the sample, and Q is the normalizing factor. The sum of squared differences between the experimental and theoretically calculated intensity values was then calculated over all data points. The least-squares method was used to

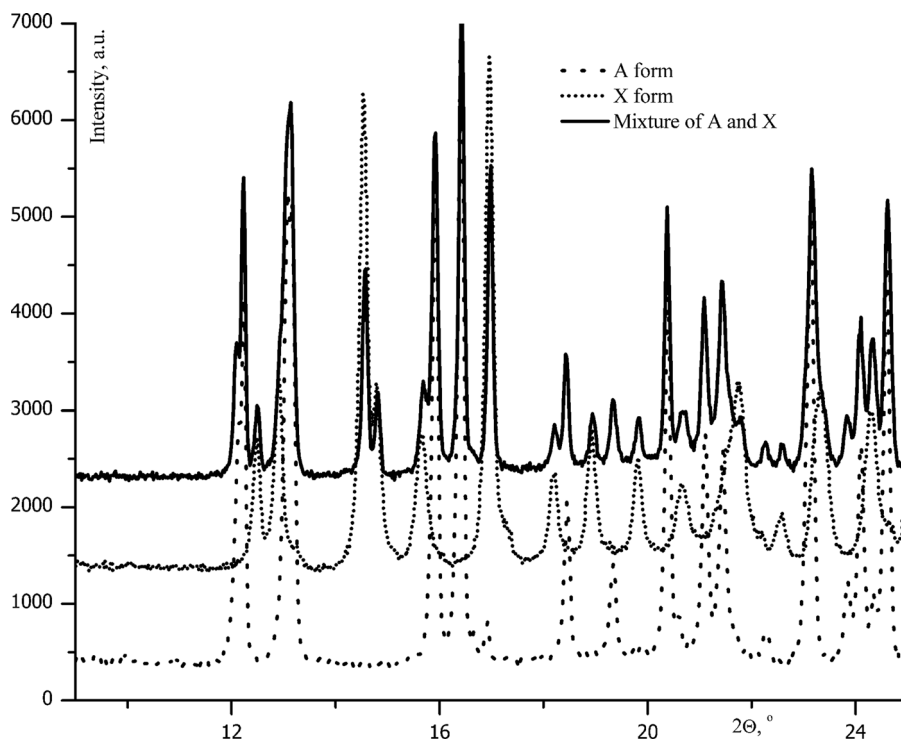


Figure 2 PXRD patterns of xylazine hydrochloride A and X forms.

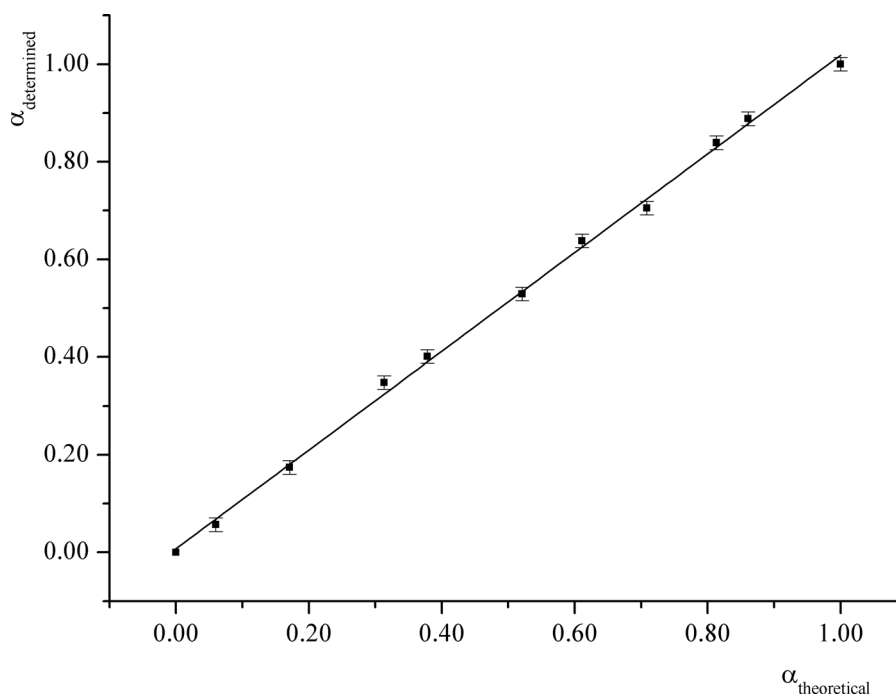


Figure 3 Calibration curve of xylazine hydrochloride polymorphic form A and X mixture calculated by full profile analyses.

optimize the compatibility between theoretical and experimental data using the Excel add-in *Solve* by optimizing W_A and Q .

To evaluate the validity of this method, xylazine hydrochloride form A was physically mixed in various ratios (0, 0.06, 0.17, 0.31, 0.38, 0.52, 0.61, 0.71, 0.81, 0.86, 1; determined on analytical balance) with form X. The PXRD patterns of these mixtures were then recorded and the phase composition was determined. The calibration curve showed good linearity and precision (standard deviation (SD) was 0.014) and is shown in Fig. 3.

RESULTS AND DISCUSSION

For determination of phase-transition rate in the solid state, the fraction α was used as a function of time. The obtained kinetic curve has a sigmoid shape, which is typical for many solid-state transformations in bulk powder samples. Obtained kinetic curves were then approximated with the appropriate kinetic equation, and the phase-transition rate constant was determined.

Analysis of the Kinetics

Data for kinetic analysis were obtained by maintaining a sample at 70°C temperature and 15% RH. The kinetic

analyses were performed by fitting data to the available primary solid-state kinetic models [12] and to two more complicated kinetic models, both corresponding to kinetic curves of sigmoid shape and based on nucleation and growth kinetics. For the first procedure, linearity of experimental points in the coordinates $g(\alpha)$ –time was determined. The more complicated Cardew model and methodology for the simulation of solid-state phase transition kinetics by CNNG processes was evaluated. The CNNG equation is applied for the first time to a real solid-state transition in this paper.

From the basic solid-state kinetic models, two most appropriate equations were further analyzed by simulating theoretical curves and calculating rate constants with Microsoft Excel Solver, where the least-squares method was used for fitting theoretical lines to experimental data. The two best equations were those of Avrami–Erofeev (A) and power law (P1/2). The Avrami equation was mentioned above and Avrami–Erofeev equation is the same form, but the power law equation is [9]

$$a^{0.5} = kt \quad (5)$$

The experimental data and theoretically predicted curves for kinetic models A2 and P1/2 are shown in Fig. 4b.

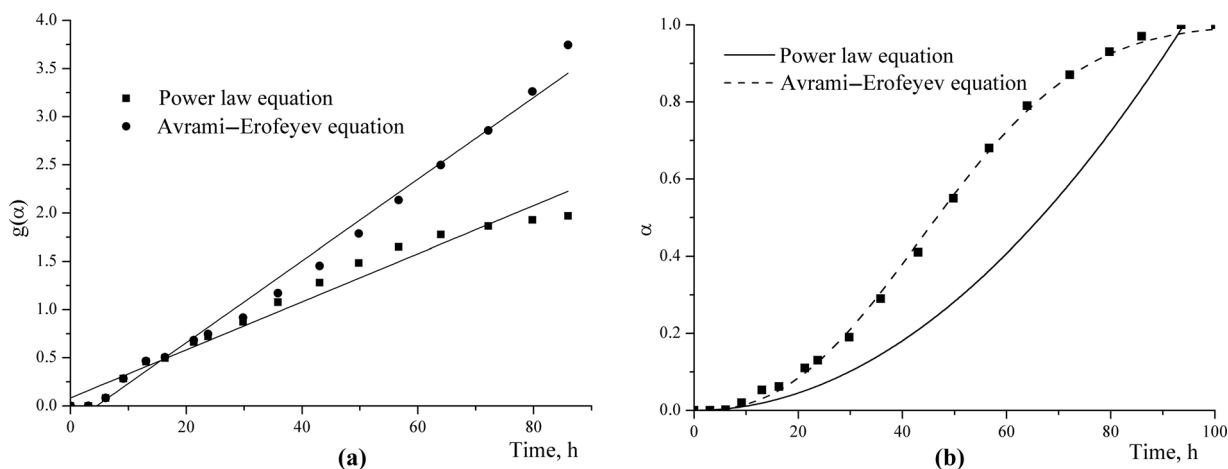


Figure 4 Kinetic curves predicted from the Avrami–Erofeev (A2) and power law (P1/2) kinetic models for the X to A transformation in Xylazine hydrochloride at 80°C temperature (15% RH) superimposed on the observed data in the coordinates; (a) $g(\alpha)$ – t and (b) α – t .

As can be seen in Figs. 4a and 4b, from these two equations the more appropriate is the Avrami–Erofeev model. The SD between experimental points and theoretically calculated values was 0.013 for the Avrami–Erofeev model and 0.20 for the power law equation model. On the basis of these considerations, the Avrami–Erofeev equation is chosen for the analysis of the rest of the data. The optimized rate constant is 0.018 h^{-1} , and $n = 2.53$, meaning that the crystal growth is two-dimensional in this case.

The second method used for data analysis was the Cardew model. The experimental and theoretically predicted curves are shown in Fig. 5. As can be seen from Fig. 5, the Cardew model describes the experimental points worse (SD = 0.027) than the Avrami–Erofeev equation (SD = 0.013). The obtained rate constants are $k_N = 0.059 \text{ h}^{-1}$ and $k_G = 0.016 \text{ h}^{-1}$. The Cardew equation describes the cases when only one nucleus is involved in the transformation of each crystal and it develops only within the area of this particular crystal and does not overlap with other growing nuclei in neighbor crystals. Besides the fact that such assumption is very hard to prove experimentally, it can not possibly be true for the real system. Based on these arguments, we have chosen not to use this model for describing our results.

The third method used for data analysis was a methodology involving the simulation of solid-state phase transition kinetics by CNNG processes. The experimental and theoretically predicted curves are shown in Fig. 6. As it can be seen from Fig. 6, the theoretical curve is in a good agreement with the experimental points (SD = 0.008) as it was in the case

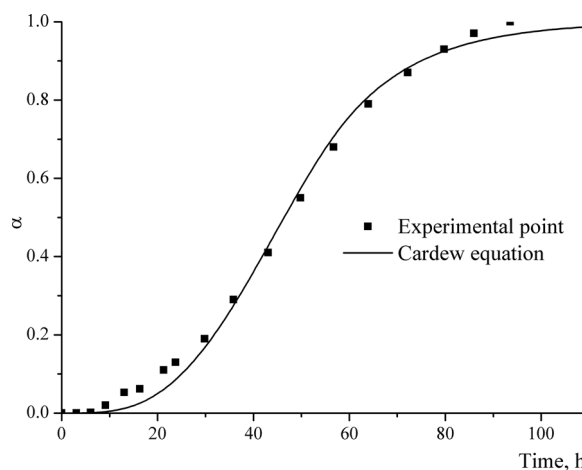


Figure 5 α –Time curve calculated from the Cardew equation for the X to A transformation in xylazine hydrochloride at 80°C (15% RH) superimposed on the observed data.

with the Avrami–Erofeev equation. With the latter method, three constants were obtained ($k_1 = (1.46 \pm 0.13) \cdot 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{h}^{-1}$, $k_2 = 0.134 \pm 0.008 \text{ h}^{-1}$, and $p = 0.76 \pm 0.03$). This mathematical equation was constructed for crystal growth in three dimensions. The first constant (k_1) reflects the mass of nuclei developed in the described time, as can be seen from the units of the constant. The second constant (k_2) characterizes nuclei-growth rate, while p is used for the description of contact area between the growing particles. A multiparameter optimization method has been used to calculate the errors of the constants.

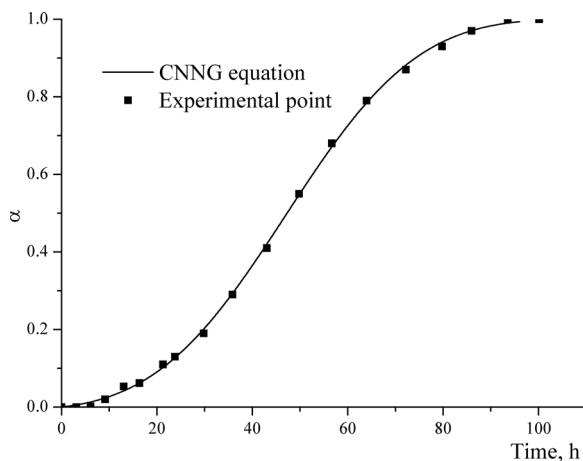


Figure 6 α –Time curve calculated from the CNNG equation for the X to A transformation in xylazine hydrochloride at 80°C temperature (15% RH) superimposed on the observed data.

After kinetic analyses, two methods have been chosen for further work: the Avrami–Erofeev equation and the methodology for the simulation of solid-state phase transition kinetics by CNNG processes. Both equations are based on the theory about nucleation and nuclei growth process, but the difference between those two equations is that only one rate constant is used in the Avrami–Erofeev equation, while in CNNG simulation methodology, there are two rate constants characterizing the process. The differences between both of these equations are described in the literature [14].

Despite the reported assertions that a phase-transition mechanism based on nucleation and nuclei growth process can be identified through microscopy [15], such investigation was not possible because crystals of appropriate size and properties for microscopy measurements could not be prepared, since the polymorph X can be obtained only through the dehydration of the hydrate and it was not found to crystallize from any solvent due to its thermodynamic instability [7].

Parameters Affecting Phase-Transition Kinetics and Their Effects

As already pointed out, many parameters can affect the phase-transition kinetics. In this paper, we examine the effects of RH, sample preparation procedures, and mechanical pressure. All experimental data have been analyzed with the Avrami–Erofeev equation and the CNNG equation. The obtained rate constants, the Avrami–Erofeev exponent n and the parameter p for all analyzed samples are shown in Table I.

Table I Rate Constants Calculated from the Avrami–Erofeev and CNNG Equations

	Avrami–Erofeev equation				CNNG equation				
	n	k (h^{-1})	$\Sigma(\alpha_{\text{exp}}-\alpha_{\text{cal}})^{2a}$	SD^b	k_1 ($\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$)	k_2 (h^{-1})	p	$\Sigma(\alpha_{\text{exp}}-\alpha_{\text{cal}})^{2a}$	SD^b
Temperature (°C)									
70	1.95	0.0026	0.002	0.015	$(4.0 \pm 1.3) \cdot 10^{-4}$	0.014 ± 0.004	0.97 ± 0.12	0.003	0.019
	2.53	0.018	0.003	0.013	$(1.46 \pm 0.13) \cdot 10^{-3}$	0.134 ± 0.008	0.76 ± 0.03	0.0010	0.008
80	1.16	0.0033	0.05	0.05	$(3.4 \pm 0.6) \cdot 10^{-4}$	0.061 ± 0.005	2.56 ± 0.03	0.0013	0.008
	1.95	0.019	0.003	0.013	$(4.3 \pm 0.5) \cdot 10^{-3}$	0.078 ± 0.011	0.83 ± 0.07	0.003	0.016
Sample grinding time (min)									
2	2.00	0.009	0.005	0.013	$(1.61 \pm 0.17) \cdot 10^{-3}$	0.044 ± 0.004	0.90 ± 0.05	0.0061	0.015
4	1.62	0.025	0.003	0.008	$(8.0 \pm 0.6) \cdot 10^{-3}$	0.072 ± 0.008	1.07 ± 0.05	0.007	0.013
8	1.45	0.033	0.002	0.008	$(1.58 \pm 0.07) \cdot 10^{-2}$	0.086 ± 0.004	0.94 ± 0.05	0.004	0.011
Mechanical pressure (GPa)									
0	1.80	0.079	0.003	0.015	$(1.25 \pm 0.17) \cdot 10^{-2}$	0.51 ± 0.06	1.23 ± 0.07	0.0015	0.011
0.0748	1.63	0.15	0.003	0.015	$(4.2 \pm 0.5) \cdot 10^{-2}$	0.58 ± 0.00	1.20 ± 0.06	0.0012	0.010
0.114	1.31	0.21	0.002	0.013	$(1.05 \pm 0.07) \cdot 10^{-1}$	0.57 ± 0.07	1.37 ± 0.06	0.0006	0.007
0.151	1.25	0.27	0.006	0.02	$(1.14 \pm 0.07) \cdot 10^{-1}$	0.68 ± 0.19	1.62 ± 0.09	0.002	0.013

^aThe sum of the squared differences between experimental and calculated conversion fractions.

^bStandard deviation.

As can be seen from Table I, the crystal-growth dimensionality determined from the Avrami–Erofeev equation varies from one to two, while it is known that the CNNG equation has been developed for crystal growth in three dimensions. Unfortunately, no mathematical method provides a proof for the crystal growth process dimensions, because both equations produce simulated curves that fit very well with the experimental data points, and the correct dimensionality can not be identified. However, from the shape of the experimental curve, it is clear that the phase transition from xylazine hydrochloride polymorph X to A occurs as a two-stage nucleation and nuclei growth process.

From the rate constant, it can be considered that at a higher RH, the transition rate is higher than at a lower RH. From results obtained with the CNNG equation, one can see that at a higher RH, the nucleation is affected more than the nuclei growth. The RH effect can be explained through water diffusion into channels in the xylazine hydrochloride structure and stimulation of nuclei development throughout the entire particle volume. This interpretation can be correct only if diffusion is not the rate-limiting stage. Such an explanation coincides with specific surface-determination results. These results showed that xylazine hydrochloride form X has a large specific surface area (16–21 m²/g), which can be explained by the fact that argon diffuses into the structural cavities.

The sample preparation affected both the nucleation and nuclei growth process, although the greater impact was observed on the nucleation, due to the fact that during the sample grinding, particles get smaller and the amount of crystal lattice defects increases. The particle-size distribution in the samples is shown in Fig. 7.

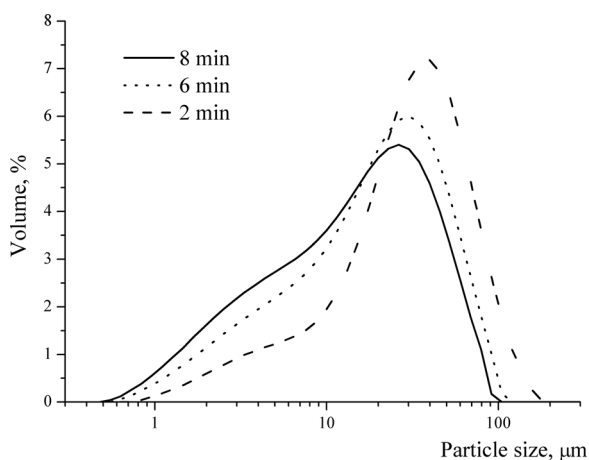


Figure 7 Particle-size distribution in the analyzed samples.

From Fig. 7, it can be seen that in the sample ground for the longest time, the abundance of small particles is higher. Also, it can be observed that an increased grinding time moves the maximum of the particle-size distribution curve to the left, and the intensity of this peak is decreased.

For smaller particles, the specific surface is larger, and there are more possibilities for development of nuclei. Also, it is known that smaller particles are more reactive than larger ones, and that sample-preparation time increases the occurrence of lattice defects. At the crystal defect sites, nucleation proceeds faster because activation energy is minimized at these points [12].

From Table I, it can be seen that application of mechanical pressure changes only the nucleation constant, while the nuclei growth constant is essentially not affected, unlike in the two previous cases where both constants were changed. When a sample is compressed, the lattice defects and mechanical stress increase. In the case when the higher mechanical pressure is used, the increase in the occurrence of defects is the highest. At these lattice-defect locations, nuclei development is facilitated, while not affecting the nuclei-growth process. These experiments indicate that the CNNG equation is designed correctly, because it has been shown that defect introduction has an effect on the nucleation process, not on the nuclei growth. Also, it has been shown that a phase transition can be correctly described with a nucleation and nuclei-growth model.

Besides phase transition kinetics investigations, thermal property changes have also been analyzed after the sample compression.

As can be seen from Fig. 8, the melting point of form A practically does not change, but the transition point of form X decreases until a pressure of 0.15 GPa has

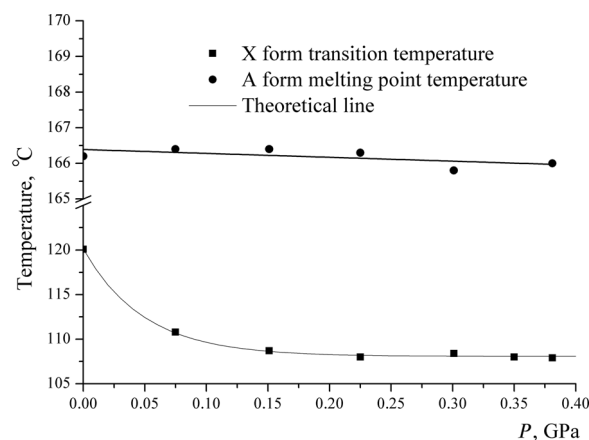


Figure 8 Sample thermal property dependence on the applied mechanical pressure.

been reached, and then the change stops. The obtained transition points that pressure dependence can be described by exponent function $T = T_{\infty} + (T_0 - T_{\infty})e^{-kp}$, where T is the transition temperature, T_{∞} is the transition temperature when pressure approaches ∞ , T_0 is the transition temperature when pressure approaches zero, k is the constant of the pressure effect (GPa^{-1}), and p is the pressure (GPa). These results correlate with the nucleation rate constant. At higher pressure, the nucleation is faster, so the temperature of the observed transition point decreases.

CONCLUSIONS

Kinetics of polymorphic solid-state transition of xylazine hydrochloride form X (the least stable form of all known xylazine hydrochloride polymorphs) to form A (thermodynamically stable at elevated temperatures) were investigated. The phase-transition kinetics were well described by the Avrami–Erofeev equation and also by a methodology for the simulation of solid-state phase transition kinetics by CNNG processes. The difference between the two equations was in the number of rate constants used for the description of nucleation and nuclei growth. By using the CNNG equation, it was determined that nucleation is affected by the RH, sample preparation, and pressure, while nuclei growth is affected only by the RH and sample preparation. The compression of the initial phase affected not only the nucleation, but also the thermal properties of the sample. Methodology for the simulation of solid-state phase transition kinetics by CNNG processes

was approbated in a real solid-state transition for the first time.

BIBLIOGRAPHY

1. Brittain, H. G. Ed. In *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*; Informa Healthcare: New York, 2009.
2. Vippagunta, S. R.; Brittain, H. G.; Grant, D. J. W. *Adv Drug Delivery Rev* 2001, 48, 3–26.
3. Ghugare, P.; Dongre, V.; Karmuse, P.; Rana, R.; Singh, D.; Kumar, A.; Filmwala, Z. *J Pharm Biomed Anal* 2010, 51, 532–540.
4. Karabas, I.; Orkoula, M. G.; Kontoyannis, C. G. *Talanta* 2007, 71, 1382–1386.
5. Berzins, A.; Actins, A.; Kreismanis, P. *Pharm Dev Technol* 2009, 14, 388–399.
6. Bērziņš, A.; Actiņš, A.; Veldre, K. *Latvian J Chem* 2008, Nr. 3, 226–232.
7. Berzins, A.; Krukle, K.; Actins, A.; Kreismanis, J. *Pharm Dev Technol* 2010, 15, 217–222.
8. Giron, D. *J Therm Anal Calorim* 2001, 64, 37–60.
9. Khawam, A.; Flanagan, D. R. *J Pharm Sci* 2006, 95, 472–498.
10. Kishi, Y.; Matsuoka, M. *Cryst Growth Des* 2010.
11. Sheridan, A. K.; Anwar, J. *Chem Mater* 1996, 8, 1042–1051.
12. Khawam, A.; Flanagan, D. R. *J Phy Chem B* 2006, 110, 17315–17328.
13. Cardew, P. T.; Davey, R. J.; Ruddick, A. J. *J Chem Soc, Faraday Trans 2* 1984, 80, 659–668.
14. Krūkle-Bērziņa, K.; Actiņš, A.; Bērziņš, A. *J Math Chem* 2012, 50, 2120–2129.
15. Carlton, R. A. *Pharmaceutical Microscopy*; Springer: New York, 2011.

A new methodology for the simulation of solid state phase transition kinetics by combination of nucleation and nuclei growth processes

Kristīne Krūkle-Bērziņa · Andris Actiņš ·
Agris Bērziņš

Received: 12 December 2011 / Accepted: 22 March 2012 / Published online: 5 April 2012
© Springer Science+Business Media, LLC 2012

Abstract A new methodology for the simulation of solid state phase transition kinetics has been developed by combining the influence of nucleation rate, nuclei growth rate and the power p characterizing the contact area between the growing particles. The equations used in this methodology were well known, and have been used previously for creating some of the most popular solid-state kinetic equations. The developed methodology made possible calculations of separate rate constants for two processes affecting the rate of phase transition—nucleation (described with K_1) and nuclei growth (described with K_2). Similar phase transitions were also approximated with the well-known single constant Avrami–Erofeev equation, but we successfully calculated both constants according to the new methodology, which allowed a separate evaluation of these two processes and explained the different induction periods. The effects of empirically adjusted constants on theoretically calculated kinetic curves were thus determined.

Keywords Nucleation · Nuclei growth · Phase transition · Kinetic model · Induction period

1 Introduction

The study of solid state phase transition kinetics may be complicated by various factors that can affect and limit the rates of these processes. These factors also depend on the type of solid state reaction. The most common types are decomposition processes, reactions between solid components and phase transformations [1, 2]. Various models for solid state reactions have been put forward and analysed on the basis of

K. Krūkle-Bērziņa (✉) · A. Actiņš · A. Bērziņš
Faculty of Chemistry, University of Latvia, Riga, Latvia
e-mail: kristine.kruckle-berzina@lu.lv

transformation. These mechanisms are defined by rate limiting steps, such as nucleation, nuclei growth, phase interface movement or diffusion [1–4].

2 Theoretical background

Nucleation is typically described by the Eq. (1):

$$\frac{dN}{dt} = k_N(N_o - N) \quad (1)$$

Where N is the number of nuclei at time t , k_N is the nucleation rate constant, and N_o is the number of potential nucleation sites (since a phase α to phase β conversion can only start at crystal imperfections, known as nucleation sites) [1,5]. However, this equation is valid for isolated analysis of nucleation alone, when nuclei growth is not involved.

The Eq. (1) describes a single step nucleation. The concept of multistep nucleation is also known, assuming that for the generation of new nuclei several distinct steps may be necessary. In those cases nucleation is described by the Eq. (2), where β is the number of successive events necessary for growth of nuclei, and k_i is a rate constant [1,6].

$$\frac{dN}{dt} = \frac{N_o \cdot k_i^\beta}{\beta!} \beta t^{\beta-1} \quad (2)$$

The second rate determining factor is the growth of nuclei. The volume of nuclei at the time $v(t)$ can be described with the Eq. (3):

$$v(t) = \sigma [r(t, t_o)]^\lambda \quad (3)$$

where σ is a shape factor, r is the radius of nuclei at time t , and λ is the number of growth dimensions. The total volume occupied by all nuclei can be assessed by combining both nucleation and nuclei growth rate in the Eq. (4):

$$V(t) = \int_0^t v(t) \left(\frac{dN}{dt} \right)_{t=t_o} dt \quad (4)$$

If nucleation rate follows the Eq. (2), and nuclei growth rate is constant, then this is a power law (P) type of a model. In the case when some of the possible nucleation sites are eliminated by the growth of existing nuclei, nucleation would not follow Eqs. (1) or (2) [7]. In such a case the reaction rate follows the Avrami–Erofeev or JMAEK model [7,8].

Reactions in solid state also can be described by geometric contraction models, which assume that nucleation happens rapidly on the crystal surface, and depending on the shape of the particle, one of the phase boundary controlled reaction models (R) applies [3,4].

If diffusion is the rate limiting step, then the reaction rate decreases proportionally with the thickness of the product layer, through which diffusion must happen.

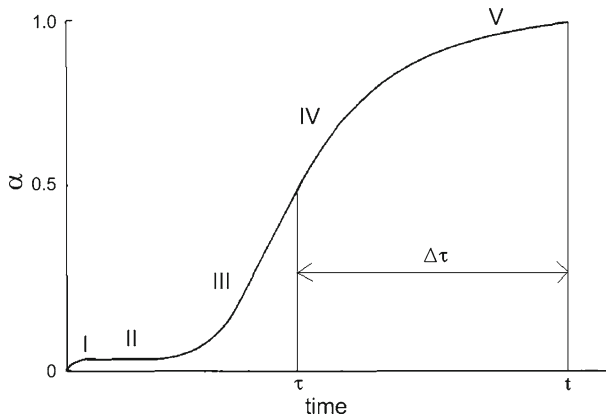


Fig. 1 Generalized α — t plot showing the characteristic experimental curve, where τ indicates the time when an individual nuclei form, t is the point where the calculation is done, and $\Delta\tau$ denotes nuclei growth over the time τ

Depending on the mechanism of diffusion, various diffusion models have been developed [1,4].

Experimental data points can also be described by order-based rate laws (F), which were originally developed for homogeneous reactions in gas or liquid phase, but were later adopted also for solid state reactions [9,10]. The aforementioned mathematical models are listed in the literature [1,7,11].

Generally, the kinetic curve in the coordinate system of α versus time can be described according to the Fig. 1, where I is the initial reaction phase, sometimes associated with the reaction of impurities or unstable superficial material, II is the induction period, III is the acceleration range, IV is the deceleration range and V denotes the reaction completion [1]. Each mathematical model has a different applicability of specific regions of the curve, thus for each model there is a typical curve shape, as represented in the literature [11]. While the definition of rate acceleration or deceleration region depends mostly on the selected model, the most variable part of experiments is the induction period. This period can be influenced by:

- a) thermal inertia;
- b) some other changes in sample delaying the onset of the reaction;
- c) a slow start of the main reaction.

The last interpretation matches the true induction period t_i [1]. Although the induction time is not typically included in mathematical models, it is possible to incorporate a mathematically reasoned induction period in a reaction model.

3 A mathematical expression of the theoretical model

As said before, the nucleation rate can be described with Eq. (1). The nucleation rate decreases with time, because the number of remaining potential nucleation sites at time ($N_o - N$) also decreases. If we look at the phase transition expressed as:

$$\alpha_{(s)} \rightarrow \beta_{(s)}$$

then the value of $N_o - N$ is proportional to W_α (residual mass fraction of phase α) if nucleation sites are equally distributed in the whole volume, so the Eq. (1) can be written also as Eq. (5), where k_1 is the nucleation rate constant:

$$\frac{dN}{dt} = k_1 W_\alpha(\tau) \tag{5}$$

By assuming that nuclei growth rate would be isotropic and proportional to the phase boundary area, at low conversion degree values this phase boundary area is equal to the total surface of all growing particles. However, there is a possibility that two growing nuclei can come into contact, blocking further growth at this contact area. Such a contact area, which must increase with conversion degree, is determined by the residual phase α mass fraction. The total effect of these processes can be described by the Eq. (6), which includes dependence of nuclei growth rate on the surface area of growing phase β and the residual mass fraction of phase α to the power p , which describes the influence of contact area between the β phase crystals.

$$\frac{dm}{dt} = k'_2 S_\beta W_\alpha^p(\tau) \tag{6}$$

The surface area of a growing spherical particle can be expressed from its density and mass:

$$\frac{dm}{dt} = k_2 (m_i(\tau))^{2/3} W_\alpha^p(\tau) \tag{7}$$

By integration of this equation, the following expressions can be obtained:

$$\frac{dm}{(m_i(\tau))^{2/3}} = k_2 W_\alpha^p(\tau) dt \tag{8}$$

$$3dm^{1/3} = k_2 W_\alpha^p(\tau) dt \tag{9}$$

$$m^{1/3} = \frac{k_2}{3} \int_{\tau}^t W_\alpha^p(\tau) dt + \text{const} \tag{10}$$

In the Eq. (10), the mass of a single nucleus (formed at the time τ) is obtained at time t (see the Fig. 1). As noted previously, the growth starts only when nuclei with mass m_o are formed, thus we can calculate an integration constant, because when $t = \tau$, then $m = m_o$, so the constant equals to $m_o^{1/3}$:

$$m_{(t-\tau)} = m_o \left(1 + \frac{k_2}{3m_o^{1/3}} \int_{\tau}^t W_\alpha^p(\tau) dt \right)^3 \tag{11}$$

If the constant k_2 is combined with $m_o^{1/3}$, then a constant K_2 is obtained:

$$m_{(t-\tau)} = m_o \left(1 + \frac{K_2}{3} \int_{\tau}^t W_{\alpha}^p(\tau) dt \right)^3 \quad (12)$$

In order to calculate the mass increase of all nuclei formed at the time $d\tau$, the Eq. (12) describing the growth of these nuclei should be multiplied by the Eq. (5), which describes the amount of nuclei formed at a given time:

$$dM(\tau) = k_1 m_o \left(1 + \frac{K_2}{3} \int_{\tau}^t W_{\alpha}^p(\tau) dt \right)^3 W_{\alpha}(\tau) d\tau \quad (13)$$

The mass increase of all particles formed between $t = 0$ to t , expressed in the Eq. (13), should be integrated. A new constant $K_1 = k_1 \cdot m_o$ is thus created.

$$1 - W_{\alpha} = \alpha = \int_0^t dM(\tau) = K_1 \int_0^t \left(1 + \frac{K_2}{3} \int_{\tau}^t W_{\alpha}^p(\tau) dt \right)^3 W_{\alpha}(\tau) d\tau \quad (14)$$

By solving this integral equation, the dependence of α on time can be obtained. The method for solving the Eq. (14) is presented further.

4 Calculation methods

The Eq. (14) was solved according to the Runge–Kutta method of numerical integration [12], and for this purpose the Eq. (15) describing nucleation and the Eq. (17) describing nuclei growth were introduced. The starting conditions were $W_{\alpha(t=0)} = 1$, and each formed nucleus was assumed to have a mass of m_o . In these equations ΔN was replaced with $\Delta M/m_o$, because $\Delta M = \Delta N \cdot m_o$, obtaining:

$$\Delta M = K_1 \cdot W_{\alpha}(\tau) \Delta t \quad (15)$$

where ΔM is the total mass of nuclei formed over Δt , and τ is the moment of formation.

A non-dimensional mass multiplication parameter Z was inserted into the Eq. (7), where $Z = m/m_o$, resulting in the Eq. (16):

$$\Delta Z = K_2 Z_{\tau-\Delta t}^{2/3} W_{\alpha}^p(\tau) \Delta t \quad (16)$$

The growing particle mass multiplication parameter Z over Δt , relative to the initial nuclei mass can be calculated at time t , according to the Eq. (17):

$$Z_{t-\tau} = Z_{\tau-\Delta t} + \Delta Z \quad (17)$$

Table 1 Tables used for calculations representing nucleation and nuclei growth

<i>i</i>	<i>j</i>				
	1	2	3	...	<i>z</i>
A					
1	ΔM_1	0	0	0	0
2	ΔM_1	ΔM_2	0	0	0
3	ΔM_1	ΔM_2	ΔM_3	0	0
...	ΔM_1	ΔM_2	ΔM_3	...	0
<i>z</i>	ΔM_1	ΔM_2	ΔM_3	...	ΔM_n
B					
1	Z_{11}	0	0	0	0
2	Z_{12}	Z_{22}	0	0	0
3	Z_{13}	Z_{23}	Z_{33}	0	0
...	$Z_{1\dots}$	$Z_{2\dots}$	$Z_{3\dots}$...	0
<i>z</i>	Z_{1z}	Z_{2z}	Z_{3z}	...	Z_{zz}

This process can be simulated by using two Table 1A and B, of which the former represents the amount of formed nuclei, calculated according to the Eq. (15), and the latter represents a mass multiplication factor of growing nuclei calculated according to the Eq. (17). Each table consists of rows *i* (numbered from 1 to *z*) and columns *j* (numbered from 1 to *z*), both representing time. Changing column or row by one means changing time by Δt . The values in the table cells were calculated in such a way that changing *j* means changing τ , and changing *i* means changing *t*. If we look at the example shown in the Table 1, then the amount of nuclei formed (in the Table 1A) in time τ (corresponding to the first column *j*) did not depend on changes in the time *t* (corresponding to any of the rows *i*), if $i > j$. However, by changing the time *t* (corresponding to any of the rows *i*), the mass multiplication factor *Z* in the Table 1B was increased.

Each cell of the Table 1A was filled according to the following rules:

- 1) $\Delta M_{(i,j)} = 0$, if $j > i$
- 2) $\Delta M_{(i,j)} = \text{Eq. (15)}$, if $j = i$
- 3) $\Delta M_{(i,j)} = \Delta M_{(i-1,j)}$, if $j < i$

Each cell of the Table 1B was filled according to the following rules:

- 1) $Z_{(i,j)} = 0$, if $j > i$
- 2) $Z_{(i,j)} = 1$, if $j = i$
- 3) $Z_{(i,j)} = \text{Eq. (17)}$, if $j < i$

The conversion degree was obtained from the Eq. (18), by calculating the sum of products of $\Delta M_{(i,j)}$ and $Z_{(i,j)}$ for each given time, according to the row *i*:

$$1 - W_{\alpha,t} = M_{\alpha,t} = \sum_{j=1}^z (\Delta M_{(i,j)} \cdot Z_{(i,j)}) \tag{18}$$

In that way, the corresponding conversion degree for the given constants K_1 , K_2 and p was found for the time t .

After describing the experimental process with such a mathematical procedure, a least squares method in *Excel Solver* was used for optimizing the equation constants K_1 , K_2 and p , in order to minimize the divergence between experimental and theoretical conversion degree values at given times.

5 Discussion

The developed methodology produced a kinetic curve with a sigmoid shape, as shown in the Fig. 2. From the kinetic curve shown in the Fig. 2 it was concluded that a phase transition with an induction period can be described analytically. Similar curves could also be obtained with the Avrami–Erofeev equation [7,8].

The major differences between the well-known Avrami–Erofeev equation and our provided method can be outlined as:

1. The number of nuclei appearing in a volume V was obtained in the Avrami equation [13] by:

$$N = V \dot{N} d\tau, \quad (19)$$

where \dot{N} is the rate constant of nucleation. The reduction of nucleation sites due to growth of nuclei was not included in this equation, and this shortcoming was circumvented by further analysing an extended volume—the volume of the new phase that would form if the entire sample was not yet transformed. However, in the provided equation we used the real volume from the very beginning, and the nucleation rate was described with the Eq. (5), including a decrease of nucleation rate with an increasing mass fraction of the product.

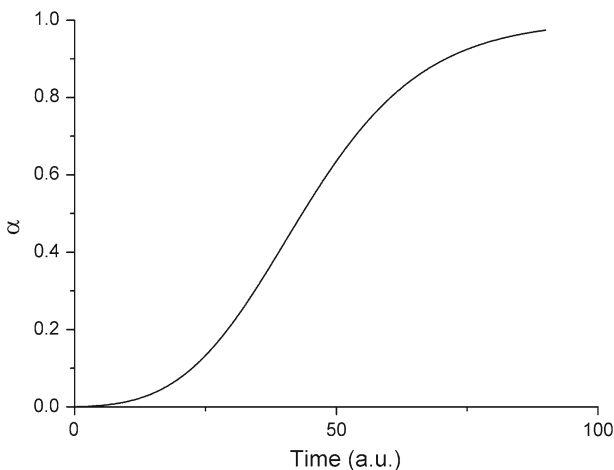


Fig. 2 An example of a calculated kinetic curve

2. With both approaches an increase of volume was obtained by multiplying equations describing nucleation and nuclei growth. In Avrami equation a constant growth rate of particle volume was used, and the extended volume was again obtained due to ignoring any contact areas of growing particles. In our Eq. (6) we used a more realistic mass increase rate, which was proportional to the growing phase surface area, and the mass fraction of initial phase raised to the power p . By using this function, we introduced a rate adjustment due to the predicted contact between growing particles.
3. The starting mass of nuclei m_o was obtained from integrating the Eq. (7), describing the growth of nuclei. Although the size of nuclei and their Gibbs energy diagrams have been characterized in the literature [14], the concept of critical mass has not been introduced neither in Avrami equation, nor in other published equations.
4. A simple equation describing an extended volume with two constants was obtained by a combination of nuclei growth rate and the nucleation rate. For obtaining the real volume, it was multiplied with a volume fraction [13]. Our equation included a correction already from the beginning, and it was different for each nucleation and nuclei growth process.
5. Finally, the Avrami equation was obtained as integral equation, and the nucleation and nuclei growth constants were combined into one constant K . This form of Avrami equation made it impossible to obtain separate growth and nucleation rate constants. However, a second constant n was introduced, characterizing dimensions. Our equation was obtained in differential form, and the product of both constants could not be obtained. Solving of such a differential equation was possible only through numerical integration, which gave both nucleation and nuclei growth constants combined together with the constant p .

In Fig. 3 we show the parameter change effect on simulated theoretical plots with general kinetic parameters $K_1 = 0.00013 \text{ g h}^{-1}$, $K_2 = 0.13 \text{ h}^{-1}$ and $p = 1$. In each case the rest of the parameters were not changed. It can be seen that both constants K_1 and K_2 influenced the shape of the curve. The constant K_2 mainly determined the curvature of the line, while the constant K_1 mainly affected the induction period. The constant p had a slight effect on the curve at the end of the phase transition, when growing nuclei were starting to aggregate, and therefore the growth rates were slower than would be in an ideal case.

When such a numerical integration was performed, the results depended on the calculation time interval. The Fig. 4a shows the differences in calculated conversion degree values, compared with those calculated with $\Delta t = 0.05 \text{ h}$, but the Fig. 4b presents a comparison with those calculated with $\Delta t = 0.3 \text{ h}$. The largest calculated conversion degree difference created by Δt increase from 0.05 to 0.3 h was smaller than 0.004, but when comparing the effect of $\Delta t = 0.05 \text{ h}$ versus $\Delta t = 0.45 \text{ h}$, then the largest difference was approximately 0.006. These errors were negligible in the context of the typical X-ray powder diffraction analysis accuracy, used for phase content determination in real phase transitions.

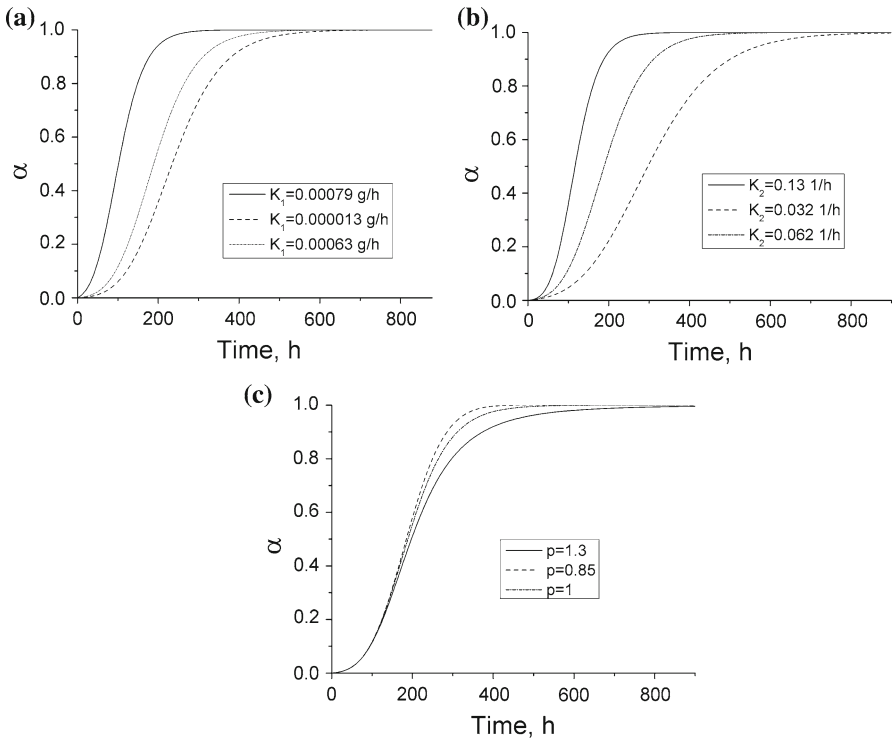


Fig. 3 Effects of **a** K_1 , **b** K_2 and **c** p on the plot of differential equation (14)

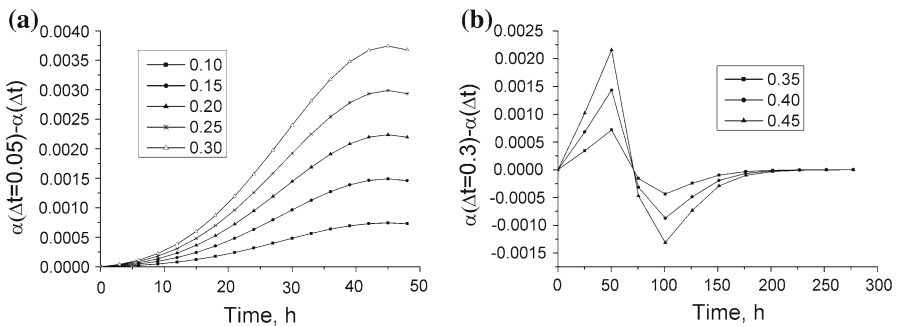


Fig. 4 Differences in calculated conversion degree values for various Δt , comparing **a** $\Delta t = 0.05$ h and **b** $\Delta t = 0.3$ h

6 Conclusions

With this developed methodology it was possible to successfully simulate and analyse phase transitions, where both nucleation and nuclei growth represented rate limiting steps, and a certain induction period was observed. Such phase transitions were described with an equation involving three constants—rate constants of nucleation (K_1) and crystal growth (K_2), and a constant p characterizing the contact area between

the growing particles. For experimental phase transitions these constants would be determined from kinetic data with *Excel Solver*. It was concluded that the value of nucleation rate constant (K_1) affected mostly the early part of the curve, while the crystal growth rate constant (K_2) defined the curvature of the kinetic plot.

Acknowledgments This work has been supported by the European Social Fund within the project “Support for Doctoral Studies at University of Latvia” and by Latvian Academy of Sciences Grant No. 09.1555.

References

1. M.E. Brown, D. Dollimore, A.K. Galwey, *Reactions in the Solid State. Comprehensive Chemical Kinetics*, vol. 22 (Elsevier, Amsterdam, 1980), pp. 41–246
2. R.C. Ropp, *Solid State Chemistry* (Elsevier, Amsterdam, 2003), pp. 129–189
3. S.F. Hulbert, *J. Br. Ceram. Soc.* **6**, 11 (1969)
4. J. Sestik, G. Berggren, *Thermochim. Acta* **3**, 1 (1971)
5. V.V. Boldyrev, *Thermochim. Acta* **100**, 315 (1986)
6. C. Bagdassarian, *Acta Physicochim. URSS* **20**, 441 (1945)
7. A.K. Galwey, M.E. Brown, *Thermal Decomposition of Ionic Solids* (Elsevier, Amsterdam, 1999), pp. 75–115
8. B.V. Erofeev, *C.R. Dokl. Acad. Sci. URSS* **52**, 511 (1946)
9. K.L. Mampel, *Z. Phys. Chem. Abt. A* **187**, 235 (1940)
10. K.L. Mampel, *Z. Phys. Chem. Abt. A* **187**, 43 (1940)
11. K. Khawami, D.R. Flanagan, *J. Pharm. Sci.* **95**, 472 (2006)
12. J.C. Butcher, *Numerical methods for ordinary differential Equations* (Wiley, Chippenham, 2003), pp. 86–96
13. M. Avrami, *J. Chem. Phys.* **1103**, 7 (1939)
14. A.K. Galwey, G.M. Laverty, *Solid State Ion.* **155**, 38 (1990)

RESEARCH ARTICLE

The relative stability of xylazine hydrochloride polymorphous forms

Agris Bērziņš, Kristīne Krūkle, Andris Actiņš, and Juris P. Kreišmanis

Faculty of Chemistry, University of Latvia, Rīga, Latvia

Abstract

All four known xylazine hydrochloride polymorphous forms were obtained and their relative stabilities were compared directly at three different temperatures. At higher temperatures, it is possible to determine the relative stability of all forms directly by measuring the changes in the composition of the mixtures of two polymorphous forms using powder x-ray diffraction methods. At lower temperatures, a solvent was added to the mixture and the changes in composition were determined. Polymorph transition temperatures were determined directly. To predict the transition temperature which was not found using the direct method, the polymorph melting data and determined transition temperatures were used. A phase stability diagram was constructed from the acquired data. The stability of all anhydrous polymorphous forms was compared in the presence of water vapor pressure that was higher than the equilibrium pressure.

Keywords: Polymorphism; xylazine hydrochloride; phase equilibrium; transition temperature; hydration

Introduction

Many pharmaceutical solids can exist as crystalline phases with different arrangements of molecules.^[1] Such structures are called polymorphs and in pharmaceutical research and development, it is necessary to investigate which polymorphic form is used and to determine whether it is the most stable one, because polymorphs have different stabilities, melting points, solubilities, bioavailabilities, dissolution rates and other properties.^[1–3]

An important task that should be undertaken in pharmaceutical research is characterization of polymorphs. One very important piece of such characteristic information is the relative stability of the polymorphs. It is necessary to produce a polymorph, which under given conditions is stable and does not undergo phase transitions. Stability relation of two polymorphs can be characterized using the transition temperature and the transition rate at temperatures which are not the transition temperatures. Thus, to characterize two polymorphs, both factors – the transition temperature and the transition rate – are important.^[4,5]

If one compound exists as more than two polymorphs, the phase transition temperatures between the two unstable polymorphs at a given temperature are harder to determine due to the fact that the most stable state can form.^[6] General method for prediction of thermodynamic relationship of polymorphs is differential scanning calorimetry (DSC),^[7–9] but the most popular method for transition temperature determination is use of relative solubility measurements.^[10–12] The transition temperature can also be calculated from heat of solution and solubility data^[13] and from polymorph melting temperatures and enthalpies of fusion.^[9] In this paper, polymorphous form stability is studied using a complicated example where four polymorphous forms can exist and requiring no additional equipment other than what is necessary for the identification of polymorphs. While examining stability, it is also necessary to consider kinetic aspects due to the fact that some polymorphs can be kinetically stable under conditions where another form is thermodynamically more stable.^[1,5]

Another important parameter which characterizes anhydrous phase stability is the hydration rate.^[14] The

Address for Correspondence: Agris Bērziņš, Faculty of Chemistry, University of Latvia, Kr. Valdemāra 48, Rīga, LV-1013, Latvia. Tel: +37 1283 48745. E-mail: agris86@inbox.lv.

(Received 29 January 2009; revised 06 May 2009; accepted 12 June 2009)

ISSN 1083-7450 print/ISSN 1097-9867 online © 2010 Informa UK Ltd
DOI: 10.3109/10837450903127368

<http://www.informahealthcare.com/phd>

RIGHTS LINK
Copyright Clearance Center

rates of hydration for two xylazine hydrochloride polymorphic forms were described in the literature,^[15] but it was necessary to compare the hydration rates of all four polymorphic forms to determine which polymorph is the most stable in humid atmospheres and which ones are unstable in these conditions.

Xylazine hydrochloride (2-(2,6-xylidino)-5,6-dihydro-4H-1,3-thiazine hydrochloride) is an adrenergic α -agonist used as a sedative, analgesic, and muscle relaxant in veterinary medicine. It is a white or almost white hygroscopic crystalline powder.^[16] It is a rather complicated sample for polymorphous form physical stability studies. It has four polymorphous forms, hydrate, hemihydrate and solvates with dichloromethane and 2-propanol.^[17] In this research, all four polymorphous forms of xylazine hydrochloride, A, X, Z and M forms and the hydrate H have been used. Xylazine hydrochloride is quite hygroscopic and its anhydrous forms (especially X) easily and rapidly form the hydrate H under normal laboratory conditions.^[15]

Materials and methods

Materials

Xylazine hydrochloride was supplied by JSC Grindeks, Riga, Latvia. Sulfuric acid was purchased from P.P.H. 'Stanlab', Poland, its solutions were prepared and the concentrations were determined using the measured density of the solution. Organic solvents were purchased from ACROS Organics (Belgium). The distilled water was produced in the laboratory.

To obtain the anhydrous form A, the supplied xylazine hydrochloride was maintained in a thermostat at 100°C for two days. To gain a hydrate, a sample was crystallized from water at room temperature and it was ground with a pestle to make a paste of xylazine hydrochloride and water and subsequently dried. To prepare the anhydrous form X, the hydrate was maintained in a thermostat at 60°C for one day. To prepare the Z form, A was crystallized from methanol in a chamber where low relative humidity was maintained with the presence of an 80% sulfuric acid solution. When A was crystallized from dichloromethane in the same chamber, solvate MS formed which, in turn, after one day in low relative humidity formed anhydrous M. All polymorphous forms were confirmed with powder x-ray diffraction and correlated with diffraction patterns mentioned in the literature.^[17] Before use, all the forms were pulverized in a pestle.

Powder x-ray diffraction (PXRD)

PXRD patterns were determined on a Bruker D8 Advance diffractometer using copper radiation ($\text{CuK}\alpha$) at a wavelength of 1.54180 Å. The tube voltage and amperage

were set to 40 kV and 40 mA. The divergence and scattering slits were set at 1.0 mm and the receiving slit was set at 0.6 mm. The diffraction pattern was taken using a scan speed of 0.5 s/0.02° going from 7–30° on the 2 θ scale.

Relative stability studies

To ascertain the relative stability of xylazine hydrochloride anhydrous polymorphic forms at different temperatures, samples from two polymorphic forms were prepared with an approximate proportion of 1:1 by mass. The PXRD pattern for this sample was made and the sample was inserted in a thermostat at temperatures of 25°C, 60°C or 100°C. After a time, the samples were taken out of the thermostat and subsequent PXRD patterns were obtained. It was then determined which polymorphic form increased and which one decreased. As long as the sample consists of only these two forms, it is clear that the stable form is the one whose content is increased. By varying the polymorphic form combinations in the sample, it is possible to determine the relative stability of each polymorphic form.

At 25°C, the process was very slow and the changes were not observed even after one month. Then absolute ethanol was added to the solid sample and the mixture was allowed to dry. After evaporation of the solvent, the sample was pulverized and the PXRD pattern was obtained. Again, the content of the stable form increased and that of the less stable form decreased.

Melting point determination

The melting point of each xylazine hydrochloride polymorphic form was determined using both differential thermal analysis (DTA) and differential scanning calorimetry (DSC). For DSC, 4–7 mg of xylazine hydrochloride polymorphic form is placed in an aluminum pan and heated at a speed of 10°/min (except for X, where the heating speed is 20°/min) using a DSC 823e, METTLER TOLEDO. For DTA, approximately 10 mg of xylazine hydrochloride polymorphic form is placed in an aluminum pan and heated at a speed of 2.5–50°/min using an Exstar6000 TG/DTA6300.

Hydration rate measurements

Powdered samples of all xylazine hydrochloride polymorphs were inserted in sample holders in thermostated constant humidity chambers. After time, the PXRD patterns of samples were obtained to ascertain the degree of conversion. The experiments were conducted at 30°C at two water vapor pressures of 19.9 torr and 25.6 torr, which were maintained with the presence of sulfuric acid solutions. The analysis of the data was performed by the half-quantitative non-lapping reflex method.

Results and discussion

Characterization of the xylazine hydrochloride crystal forms

The supplied xylazine hydrochloride was analyzed using the powder x-ray diffraction method and was determined to be a mixture of the anhydrous form A and the hydrate H.^[17] All five obtained xylazine hydrochloride crystalline form PXRD patterns are shown in Figure 1.

Xylazine hydrochloride polymorph form stability at different temperatures

As described in the methodology, two polymorphic forms of xylazine hydrochloride were mixed and the changes over time were investigated with PXRD at three temperatures. At 25°C after evaporation of ethanol, the Z form was always present. The polymorphous form different from Z in the final mixture was selected as the most stable polymorph of the initial mixture. The results at every temperature are shown in Table 1, and

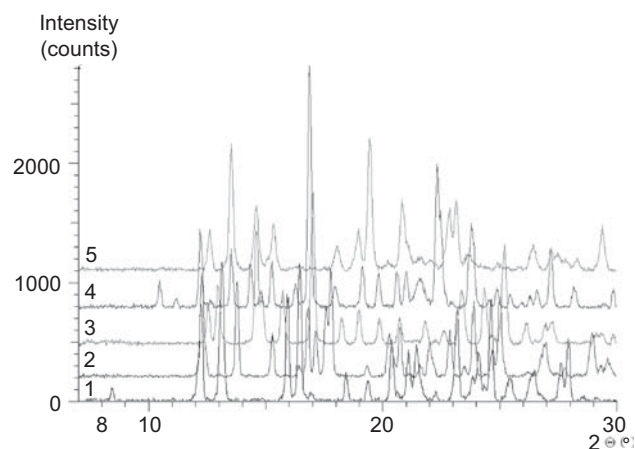


Figure 1. The PXRD patterns of five crystalline forms of xylazine hydrochloride: (1) anhydrate A, (2) hydrate H, (3) anhydrate X, (4) anhydrate Z, and (5) anhydrate M.

the polymorphic forms in order of relative stability are shown in Table 2.

At 100°C in samples without the A form present, after some heating, the A form appeared and it was determined that the A form is the most stable polymorphic form at this temperature. The time at which the A form began to appear was different for each sample and this time can be variable.

In Table 2, it is clearly seen that there is a change in which the polymorphic form is the most stable at the examined temperatures. At 25°C, form Z is the most stable polymorph, but, at 60°C and 100°C, the most stable polymorph is the A form. The X form at all temperatures is the least stable polymorph.

Xylazine hydrochloride polymorphic form transition temperatures

Polymorphic form stability can be characterized with Gibbs energy,^[7,18] so the temperature at which changes in a mixture of two polymorphs I and II do not occur, is the temperature at which the Gibbs energy for both polymorphs is the same. Thus, for the complete characterization of the polymorphous forms, it is necessary not only to determine the relative stability at some temperatures, but also to determine the polymorph transition temperature. The transition temperature can be determined directly or indirectly; the literature describes some ways to determine this with many required parameters.^[9,10] In this paper, we used a direct method to determine the polymorph stability transition temperature. By varying the temperature at which two polymorphs are examined with PXRD, the changes in phase composition were determined. At higher temperatures two polymorphs were mixed and thermostatted and the PXRD pattern variations with time were collected. At lower temperatures (below 40°C) because of slow processes, a solvent was added to the mixture and changes after solvent evaporation were examined with PXRD.

Table 1. The relative stabilities of two polymorphic forms of xylazine hydrochloride mixtures at different temperatures.

Nr.	100°C			60°C		25°C	
	Mixed polymorphs	Stable polymorph	Time when A appears, min	Mixed polymorphs	Stable polymorph	Mixed polymorphs	Stable polymorph
1	X+Z	Z	300	M+Z	Z	A+Z	Z
2	X+M	M	100	M+A	A	Z+X	Z
3	M+A	A	-	X+Z	Z	A+X	A
4	M+Z	M	1000	M+X	M	M+Z	Z
5	A+Z	A	-	A+Z	A ¹	A+M	- ²
6	A+X	A	-				

¹It was not possible to determine which polymorphic form is stable because of slow transition, so ethanol was added and the stable polymorphic form was gained.

²It is impossible to predict the more stable polymorphic form, because after evaporation of the solvent, both of the original forms and the polymorphic form Z are present.

Table 2. The relative stability of xylazine hydrochloride polymorphs at different temperatures.

Temperature		25°C	60°C	100°C
Relative stability	1	Z	A	A
	2	A, M	Z	M
	3		M	Z
	4	X	X	X

In this way, three transition temperatures for xylazine hydrochloride were examined between the A and Z forms, the Z and M forms and also the A and M forms.

In the thermostat, the A and Z forms were treated with ethanol and depending on the temperature, the phase composition was determined by PXRD and the transition temperature was determined to be $48.5 \pm 1^\circ\text{C}$.

For the Z and M forms, it is not possible to determine transition temperature with a solvent as in the case of the A and Z form sample, because, after evaporation of the solvent, almost all of the xylazine hydrochloride transforms to the most stable polymorphic A form at that temperature. So this transition temperature was determined only by observing the changes in the Z and M mixture at various temperatures and was determined to be $65 \pm 5^\circ\text{C}$. The large error is due to the slow rate of the phase transition near the equilibrium and the fact that no solvent can be added. To determine more precisely the transition temperature, more time is necessary. If there is metastability near the equilibrium temperature, it is not possible to determine a more precise temperature with the direct method.

The same failure occurred when A and M transition temperatures were determined, but at a low temperature such as the one at the A and M cross point – predicted (below 50°C) – phase transition is very slow or does not happen at all at a recordable rate. So it was impossible to determine the A and M phase transition temperature directly.

To predict the A and M equilibrium temperature or even to predict whether the Gibbs energy of these two polymorphic forms crosses, it is necessary to know the melting points of these three forms – A, M and Z and also two determined transition temperatures – Z and A, and M and Z.

To determine xylazine hydrochloride polymorph melting temperatures two methods were used – DTA and DSC. In addition, the X was also examined and its melting temperature was determined. The detected melting or re-crystallization temperatures gained from these two methods are shown in Table 3.

With the exception of the melting of Z, it is possible to see only endothermic peaks for the other polymorphs using the DSC method. For A, only one endothermic peak appears, but for other polymorphs multiple endothermic peaks are observed, which

Table 3. Melting and re-crystallization temperatures of xylazine hydrochloride polymorphs.

Method	Speed, °/min	A	Z	M	X
T(DTA), °C	20	167.8	144.3	148.7	129.3
	50	-	144.5	148.9	-
	2.5	-	133.6	136.9	-
T(DSC), °C	10	168.9	141.4, 145.0 ¹	140.6	132.7 ²

¹The first is a melting temperature, but the second is a re-crystallization temperature.

²In this case, the heating rate is $20^\circ/\text{min}$.

means that along with melting, re-crystallization may happen or the observed process is not melting of a polymorph but a phase transition. That means that obtained temperatures are very approximate. The determined temperatures are not precise melting points because in this situation, the endothermic effect from melting dominates over the exothermic effect from the re-crystallization process. At the end, it only allows us to predict whether the Gibbs energy of A and M will cross and at approximately what temperature it will do so. This fact is supported also by changes in the endothermic peak maximum in DTA when the heating rate is changed (Table 3). When the temperature increases slowly ($2.5^\circ/\text{min}$), lower temperatures are obtained, but when the increase is larger ($20^\circ/\text{min}$ and $50^\circ/\text{min}$), the melting or transition temperature is almost the same and noticeably higher than that gained at $2.5^\circ/\text{min}$. Therefore, these last temperatures will be the best for determining the polymorphic form melting temperatures.

Three of the temperatures necessary to determine the sixth are clearly known and are precise for the melting point for A and both of the determined phase transition temperatures. Although the Z and M cross point is determined with a fairly high uncertainty, by changing this temperature from 60 – 70°C , the transition temperature changes by 2 – 5°C depending on the other variables. The A and M form transition temperature was calculated using Equation (1),

$$t_{AM} = \frac{\left(\frac{(t_{MZ} - t_M)(t_{AZ} - t_Z)}{(t_{MZ} - t_Z)(t_{AZ} - t_A)} \right) \cdot t_A - t_M}{\left(\frac{(t_{MZ} - t_M)(t_{AZ} - t_Z)}{(t_{MZ} - t_Z)(t_{AZ} - t_A)} \right) - 1} \quad (1)$$

where t_{II} is the transition temperature for polymorphs I and II, but t_I is the melting temperature of polymorph I. The melting temperatures of Z and M are predicted to be approximately in the 135 – 150°C range. Further, using the M–Z transition temperature of 65°C , the Z and M melting temperatures were changed. Although DSC data shows that the Z melting temperature is higher than that of M, it is clear, that the M melting temperature has to be higher than that of Z, because at temperatures

above 70°C, the M form is more stable than the Z form. Since false results are acquired using a more precise method, the melting point determinations have a high degree of uncertainty. In Table 4, the A-M transition temperatures are shown depending on the M and Z melting temperatures.

From Table 4, it can be seen that in all examined cases, there exists an A-M equilibrium temperature which is between 41.2°C and 47.9°C. From these data it is clear that at 25°C the more stable xylazine hydrochloride polymorph for the pair A-M should be M. Although in pharmacy hydrate H and anhydrous A are used, two other polymorphs, Z and M, are more stable than these polymorphs at ambient temperatures. These polymorphs can be gained by treating anhydrous xylazine hydrochloride with organic solvents at low relative humidity which is almost impossible during storage. So we can predict the A-M transition temperature as $45 \pm 5^\circ\text{C}$ (but lower than A-Z transition temperature) and construct graphically Gibbs energy changes relative

Table 4. The calculated A-M transition temperatures.

$t_z, ^\circ\text{C}$	$t_m, ^\circ\text{C}$	$t_{AM}, ^\circ\text{C}$	$t_z, ^\circ\text{C}$	$t_m, ^\circ\text{C}$	$t_{AM}, ^\circ\text{C}$
141.4	142.0	47.9	140	144	44.0
144	148	43.3	135	140	43.2

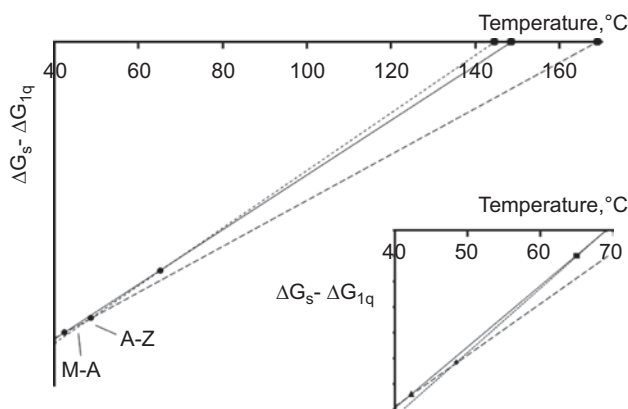


Figure 2. The relative Gibbs energy changes for polymorphic forms of xylazine hydrochloride, where (—) is the M form, (-----) is the A form and (.....) is the Z form.

Table 5. The hydration rate of xylazine hydrochloride polymorphous forms.

Water pressure, torrs	Polymorphic form	Time, h	mass fraction of hydrate, %
19.9	Z	72	0
	M	72	16
	X	72	100
25.6	A	3	6
	Z	3	2
	M	3	50

to the liquid state depending on temperature, which is shown in Figure 2.

Hydration measurements

In a recent article, the hydration rates of xylazine hydrochloride polymorphous forms A and X were compared^[15] and it was determined that the hydration of the A form is much slower than that of the X form. In these experiments, the hydration rates of all four pure xylazine hydrochloride polymorphous forms were compared. Results of the hydration experiments can be seen in Table 5.

From these results, it can be seen that the most stable polymorphic form at examined humidities is the Z form, the A form is the next stable, the M form is the third most stable, and the least stable polymorphic form of xylazine hydrochloride at these humidities is the X form. In no experiments did the semihydrate Y form, which means that the transition from all xylazine anhydrous forms to the hydrate H form is a simple reaction without conversion to semihydrate Y at this temperature and at these humidities.

Conclusion

By using the direct method, it is possible to determine the most stable of two xylazine hydrochloride polymorphous forms at 60° and 100°C. At 25°C, a solvent is necessary to determine the most stable polymorph.

At all examined temperatures, the least stable of the xylazine hydrochloride polymorphous forms was X. For all of the other three polymorphous forms, there were changes in relative stability at three determined transition temperatures $45 \pm 5^\circ\text{C}$ for A-M, $48.5 \pm 1^\circ\text{C}$ for A-Z and $65 \pm 5^\circ\text{C}$ for Z-M. The transition temperatures for the Z-M and A-Z forms can be found directly but the third one, only theoretically, using both experimentally gained transition temperatures and polymorph melting temperatures from DTA and DSC data. The most stable anhydrous polymorphic form at 30°C at examined humidities is the Z form and the least stable is the X form.

Acknowledgements

We would like to thank JSC Grindeks for supplying xylazine hydrochloride and the JSC Grindeks Foundation for the support of the science and education scholarship for Agris Bērziņš.

Declaration of interest: The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of this paper.

References

1. Polymorphism in pharmaceutical solids. Brittain HG. Editor. Basel: Marcel Dekker, Inc; 1999. 427 p.
2. Haleblan J, Mccrone W. Pharmaceutical application of polymorphism. *J Pharm Sci* 1969;58:911-929.
3. Vippagunta SR, Brittain HG, Grant DJW. Crystalline solids. *Adv Drug Deliv Rev* 2001;48:3-26.
4. Grunenberg A, Henck J-O, Siesler HW. Theoretical derivation and practical application of energy/temperature diagrams as an instrument in preformulation studies of polymorphic drug substances. *Int J Pharm* 1996;129:147-158.
5. Byrn SR, Pfeiffer RR, Stowell JG. Solid-state chemistry of drugs. West Lafayette, IN: SSCI; 1999. 574 p.
6. Lagas M, Lerk CF. The polymorphism of sulphathiazole. *Int J Pharm* 1981;8:11-24.
7. Rodríguez-Sponga B, Priceb CP, Jayasankara A, Matzgerb AJ, Rodríguez-Hornedo N. General principles of pharmaceutical solid polymorphism: A supramolecular perspective. *Adv Drug Deliv Rev* 2004;56:241-274.
8. Burger A, Ramberger R. On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals I. *Mikrochim Acta II (Vienna)* 1979;72:259-271.
9. Yu L. Inferring thermodynamic stability relationships of polymorphs from melting data. *J Pharm Sci* 1995;84:966-974.
10. Gu CH, Grant DJW. Estimating the relative stability of polymorphs and hydrates from heats of solution and solubility data. *J Pharm Sci* 2001;90:1277-1287.
11. Wenslow RM, Baum MW, Ball RG, Mccauley JA, Varsolona RJ. A spectroscopic and crystallographic study of polymorphism in an aza-steroid. *J Pharm Sci* 2000;89:1271-1281.
12. Zhang GGZ, Gu CH, Zell MT, Burkhardt RT, Munson EJ, Grant DJW. Crystallization and transitions of sulfamerazine polymorphs. *J Pharm Sci* 2002;91:1089-1100.
13. Urakami K, Shono Y, Higashi A, Umemoto K, Godo M. A novel method for estimation of transition temperature for polymorphic pairs in pharmaceuticals using heat of solution and solubility data. *Chem Pharm Bull* 2002;50:263-267.
14. Krzyzaniak JF, Williams GR, Nina N. Identification of phase boundaries in anhydrate/hydrate systems. *J Pharm Sci* 2007;96:1270-1281.
15. Bērziņš A, Actiņš A, Kreišmanis JP. Hydration and dehydration kinetics of xylazine hydrochloride. Submission accepted in *Pharm Dev Technol* 2008-0115.R1.
16. European pharmacopoeia. 4th ed. Strasbourg: Council of Europe 2001;2152-2153.
17. Bērziņš A, Actiņš A, Veldre K. Crystalline forms of xylazine hydrochloride. *Latvian J Chem* 2008;3:263-269 [in Latvian].
18. Polymorphism in the pharmaceutical industry. Hilfiker R, editor. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2006. 414 p.