

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
MEDICĪNAS FAKULTĀTE
FARMĀCIJAS PROGRAMMA

Nitrofurantoīna kristālisko formu iegūšana un raksturošana

MAGISTRA DARBS

Autors: **Jaroslavs Matvejevs**

Studenta apliecības Nr.: jm09053

Darba vadītāja: vadošā pētniece Dr. chem. Liāna Orola

RĪGA 2014

Anotācija

Iegūtas nitrofurantoīna kristāliskās formas: α forma, β forma, DMF I solvāts, DMF II solvāts, DMSO solvāts, DMSO/H₂O solvāts un II monohidrāts. Veikta to raksturošana un stabilitātes noteikšana, izmantojot pulvera rentgendifraktometriju, diferenciāli termisko analīzi/termogravimetriju un infrasarkanā spektrometriju.

Atslēgvārdi: nitrofurantoīns, kristāliskās formas, pulvera rentgendifraktometrija, diferenciāli termiskā analīze/termogravimetrija, stabilitāte.

Antotaion

Different crystal forms of nitrofurantoin were obtained: α forma, β forma, DMF I solvate, DMF II solvate, DMSO solvate, DMSO/H₂O solvate and monohydrate II. Obtained crystal forms were characterized and stability determined using powder x-ray diffraction, differential thermal analysis/thermogravimetry and infrared spectroscopy.

Key words: nitrofurantoin, crystal forms, x-ray diffraction, differential thermal analysis/thermogravimetry, infrared spectroscopy.

SATURS

APZĪMĒJUMU SARAKSTS.....	5
IEVADS	6
1. LITERATŪRAS APSKATS.....	7
1.1. Nitrofurantoīns, lietošanas indikācijas	7
1.2. Nitrofurantoīna farmakodinamika.....	9
1.3. Nitrofurantoīna farmakokinētika.....	11
1.4. Nitrofurantoīna blakus efekti	13
1.5. Vielu kristālisko formu nozīme farmācijā.....	17
1.6. Farmaceutiski aktīvo cietvielu analīzes metodes	20
1.7. Nitrofurantoīna fizikāli ķīmiskais raksturojums.....	24
2. PRAKTISKĀ DAĻA	30
2.1. Izmantotie reaģenti un aparatūra	30
2.2. Nitrofurantoīna kristālisko formu iegūšana.....	31
2.3. Nitrofurantoīna kristālisko formu stabilitātes noteikšana dažādos šķīdinātājos.....	33
2.4. Nitrofurantoīna α un β formu maisījuma termiskās stabilitātes pārbaude.....	34
2.5. Nitrofurantoīna pseidopolimorfo formu stabilitātes pārbaude	35
3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS.....	36
3.1. Nitrofurantoīna kristālisko formu iegūšana.....	36
3.2. Nitrofurantoīna kristālisko formu stabilitāte šķīdumos	48
3.3. Nitrofurantoīna α un β polimorfo formu stabilitāte.....	51
3.4. Nitrofurantoīna pseidopolimorfo formu stabilitāte	54
SECINĀJUMI	58
IZMANTOTĀ LITERATŪRA UN AVOTI.....	59

APZĪMĒJUMU SARAKSTS

AS (A/S) – akciju sabiedrība

NF - nitrofurantoīns

SMX/TMP- trimetaprīms/sulfametoksazols

ESBL – extended-spectrum beta-lactamase

MIC – minimum inhibitory concentration

GFR - glomerular filtration rate

LD₅₀ - lethal dose

PXRD – powder x-ray diffraction

DTA - differential thermal analysis

TG – thermogravimetry

IS – infrasarkanais spektrs

ATR-FT-IR - attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy

DMF - dimetilformamīds

DMSO - dimetilsulfoksīds

IDR - intrinsic dissolution rate

Solv. - solvāts

IEVADS

Kristālisko formu nozīme ir kļuvusi ļoti aktuāla farmācijā 20. gadsimta otrajā pusē. Parādījās pētījumi, kas pierāda zāļu farmaceitisko un rūpniecības parametru atkarību no vielu kristāliskās formas. Kopš tā laika pētnieki ir iemācījušies pielietot zināšanas par kristāliskajām formām kas ļauj uzlabot gan zāļu ražošanas procesu, gan gatavās zāļu formas un to farmaceitiskos parametrus. Paplašinot zināšanas par kristāliskajām vielām, kļuva iespējams izskaidrot agrāk nezināmas parādības, kā arī prognozēt zāļu vielu izmaiņas, uzglabāšanas termiņu un līdz ar to drošumu un efektivitāti. Ņemot vērā, ka lielākai daļai farmaceitiski aktīvo savienojumu ir vairākas kristāliskās formas, un katru no šīm formām var atsevišķi patentēt, pētījumi šajā jomā ir ļoti aktuāli un nozīmīgi.

Viena no tādām vielām ir nitrofurantoīns (NF) jeb Furadonīns©, ko ražo Latvijas uzņēmums A/S „Olainfarm”. Veicot nitrofurantoīna pētījumus, tiks paplašinātas zināšanas par šī savienojuma kristāliskajām formām un to stabilitāti. Šīs zināšanas var būt noderīgas nitrofurantoīna kā aktīvās vielas vai nitrofurantoīnu saturošu gatavo zāļu formu ražošanā.

Darba mērķis ir veikt nitrofurantoīna kristālisko formu meklējumus un raksturošanu ar dažādām analīzes metodēm, kā arī novērtēt iegūto kristālisko formu stabilitāti.

Darba uzdevumi:

1. veikt nitrofurantoīna kristalizāciju no dažādiem organiskiem šķīdinātājiem;
2. raksturot iegūtās formas, izmantojot pulvera rentgendifrakcijas metodi, termisko analīzi, kā arī infrasarkanā spektrometriju;
3. noteikt iegūto kristālisko formu stabilitāti dažādos apstākļos.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Nitrofurantoīns, lietošanas indikācijas

Nitrofurantoīns jeb furadonīns (1.1. att.) ir Latvijas farmaceitiskās ražotnes „Olainfarm” produkts. Tās ir zāles ar antibakteriālu iedarbību, kuras lieto jutīgu baktēriju izraisītu urīnceļu infekciju – akūtas nekomplicētas urīnceļu infekcijas, smagas hroniskas recidivējošas urīnceļu infekcijas ārstēšanai un urīnceļu infekcijas ārstēšanai un profilaksei. Zāles lieto iekšķīgi ēšanas laikā vai tūlīt pēc tās, uzdzerot pietiekami daudz šķidruma (Olainfarm).

Zāles lieto dažādās devās atkarīgi no diagnozes. Akūtās nekomplicētās infekcijas gadījumā pieaugušajiem deva ir 100 mg 2 reizes dienā, bērniem, vecākiem par 12 gadiem, var lietot pieaugušo devas, zīdaiņiem (no 1 mēneša) lieto 5–7 mg/kg/dienā *per os* sadalot dienas devu ieņemšanai ik pēc 6 stundām. Smagās hroniskās recidivējošās infekcijas gadījumā pieaugušajiem deva ir 100 mg 3–4 reizes dienā. Profilakse: pieaugušajiem – 100 mg pirms naktsmiera, zīdaiņiem 1–2 mg/kg *per os* sadalot divās ieņemšanas reizēs. Bērniem, jaunākiem par 12 gadiem, zāļu forma Furadonīns 100 mg tabletes nav piemērota nitrofurantoīna devas vienā tabletē dēļ. Šai bērnu vecuma grupai jāizvēlas zāļu forma ar mazāku nitrofurantoīna daudzumu vienā zāļu devā. (Olainfarm; Medscape).



1.1. att. Furadonīns, nitrofurantoīna zāles ražotas Latvijā (Olainfarm)

Nitrofurantoīnu lieto kā urīntrakta infekcijas ārstēšanas līdzekli kopš 1953. gada (Physicians' desk reference, 2002). Kopš tā laika mikroorganismu rezistence pret šo zāļu vielu nemainījās. Līdz ar to tas padara nitrofurantoīnu par pievilcīgu līdzekli ilglaicīgai terapijai

(Karpman and Kurzrock, 2004). Nitrofurantoīnu bieži lieto ambulatorā praksē nekomplicēto urīnceļu infekciju ārstēšanai (Garau, 2008). Ņemot vērā augošo mikroorganismu rezistenci, klasisko pretmikrobu līdzekļu lietošana kļūst ierobežota, zāļu vielu izvēle sašaurinās un alternatīvie pretmikrobu līdzekļi kā nitrofurantoīns kļūst arvien populārāki, un perspektīvāki nākotnes situācijās (Garau, 2008). Visvairāk nitrofurantoīnu izraksta tā makrokristālu formā, viena no tām ir *Macrodantin* (Garau, 2008).

Urīnceļu infekcija ir bieža komplikācija grūtniecības laikā. Tā parādās 1–2% sievietēm stāvoklī, bet asimptomātiska bakterioūrija ir novērota grūtniecēm 2–13% gadījumos (Dwyer and O'Reilly, 2002). Šo komplikāciju iemesls ir anatomiskās un hormonālās pārmaiņas grūtniecības laikā. To dēļ paplašinās urīnceļi un samazinās urīna plūsma, kas palielina infekciju rašanās risku (Le et al., 2004). Neārstēta urīnceļu infekcija var novest pie nopietnām komplikācijām kā pielonefrīts, samazināts svars jaundzimušajam, pirmslaicīga dzimšana un augļa bojāeja (Christensen, 2000). Tāpēc urīnceļu infekcijas laicīga ārstēšana ir ļoti svarīga (Lee et al., 2008). Nitrofurantoīns ir drošs līdzeklis urīnceļu infekcijas ārstēšanai grūtniecēm, ko pierāda vairāki pētījumi un ilga lietošanas pieredze (Briggs et al, 2005; Hailey et al, 1983; Czeizel et al, 2001). Mātēm kas lietoja nitrofurantoīnu, nepieaug malformāciju biežums jaundzimušajiem (Lee et al., 2008).

Nitrofurantoīns ir drošs arī urīnceļu infekcijas ārstēšanai bērniem (Karpman and Kurzrock, 2004). Ļoti bieži bērniem ar uroloģiskām saslimšanām ir nepieciešama ilglaicīga antibiotiku terapija. Nitrofurantoīns ir derīgs tieši šajā situācijā, jo izsauc maz blakus efektu, un ja tie parādās, tad atkāpjas ātri izbeidzot zāļu ieņemšanu, kā arī neizraisa rezistentu mikroorganismu rašanos. (Karpman and Kurzrock, 2004; Bains et al., 2009) Bērniem blakus efekti parādās daudz retāk nekā pieaugušajiem. Tas saistīts ar to, ka bērniem nitrofurantoīns ir nozīmēts mazākās devās, kā arī bērniem parasti ir mazāk vai nav blakusslimību un citu medikamentozu terapiju. Nopietni blakus efekti ir ļoti reta parādība un visi nevēlamie efekti pazūd pārstājot lietot zāles (Karpman and Kurzrock, 2004).

1.2. Nitrofurantoīna farmakodinamika

Nitrofurantoīnam piemīt plašs iedarbības spektrs pret gramm-negatīvām baktērijām un vairākām gramm-pozitīvām baktērijām (Bains et al., 2009). Gramm-negatīvie organismi izsauc aptuveni 90% nekomplicēto urinārā trakta infekciju gadījumu, un 80 līdz 90% no tiem organismiem ir *Escherichia coli* (Warren et al., 1999). No pārējiem izraisītājiem, īpaši grūtniecēm bieži ir B grupas *streptococci*, to rezistence pret antibiotikām ir apskatīta 1.1. tabulā. Kā redzams, nitrofurantoīns ir viens no efektīvākiem šo baktēriju apkaršanas līdzekļiem (Quiroga et al., 2008).

1.1. tabula

**B Streptokoku jutība pret dažādām antibiotikām, izdalīti no pacientiem grūtniecībā (n=62)
(Quiroga et al., 2008)**

Antibiotika	Baktēriju daudzums ar sekojošu reakciju, (%)		
	Juīgas	Vidēji juīgas	Rezistentas
Pinicilīns G	100	–	–
Ampicilīns	100	–	–
Clindamicīns	96,7	–	3,3
Eritromicīns	90,2	–	9,8
Vancomicīns	100	–	–
Tetraciklīns	71	–	29
Rifampicīns	96,8	1,6	1,6
Trimetoprim-sulfametoksazols	46,8	–	53,2
Nitrofurantoīns	98,3	1,6	–
Gatifloksacīns	98,4	–	1,6
Levofloksacīns	93,5	4,8	1,6
Ciprofloksacīns	64,5	32,3	3,2

Tā kā nitrofurantoīns bieži ir lietderīgs tikai ilgstošā terapijā, to uzskata par otrās priekšrokas medikamentu vai alternatīvu medikamentu (Garau, 2008). Kā pirmās kārtas

medikamentus urīnceļu infekcijas ārstēšanai bieži lieto sulfametoksazolu un trimetoprīmu (Warren et al., 1999). Taču baktērijas ir vairāk jutīgas pret nitrofurantoīnu, salīdzinot ar fluorokvinaloniem un sulfonilamīdu antibiotikām, kā attēlots 1.2. tabulā (Cunha, 2006).

1.2. tabula

***E. coli* jutība pret dažādām antibiotikām (Cunha, 2006)**

Zāļu viela	Jutība, (%)
Ciprofloxacīns	71
SMX/TMP*	79
Ampicillīns	62
Gentamicīns	94
Nitrofurantoīns	95

* SMX/TMP – trimetaprīms/sulfametoksazols

Vairākām baktērijām rezistence pret nitrofurantoīnu nav mainījies kopš tā atklāšanas: *E.coli*, *citrobacter* sugai, *B Streptococci*, *Enterococci*, *Staphylococcus aureus*, *S. Epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* sugas pārstāvjiem. Šis fakts vēlreiz uzsver nitrofurantoīna lietošanas priekšrocības ilglaicīgā terapijā (Karpman and Kurzrock, 2004). *E. Coli* rezistence pret nitrofurantoīnu ir zema, tikai 1,1% no baktērijām izolētām no pacientiem ar urīnceļu infekciju ir rezistentas (dati no ASV un Kanādas). Savukārt tikai 71,3% baktērijas ar paplašinātā spektra beta-laktamāzēm (*ESBL – extended-spectrum beta-lactamase*) ir jutīgas pret nitrofurantoīnu. *ESBL* baktērijas arvien vairāk tiek asociētas ar rezistenci pret b-laktāmu, ne-nepenicilīna un nespecifiskām antibiotikām. Baktērijas var izveidot rezistenci pret nitrofurantoīnu, taču pats tas nevar izsaukt rezistences veidošanos (*cross-rezistance*) pret citiem preparātiem (Garau, 2008).

Nitrofurantoīna darbības mehānisms joprojām ir neizprasts. Uzskata ka nitrofurantoīns iedarbojas uz baktēriju enzimatisko aktivitāti, inhibējot acetilkoenzīmu A, tādējādi traucējot baktēriju karbonhidrātu metabolismam un normālai šūnapvalka sintēzei (Karpman and Kurzrock, 2004). Nitrofurantoīns reducējas enzimatiski baktēriju šūnu iekšienē, un tā reducētie atvasinājumi saistās ar baktērijas ribosomu proteīniem. Taču nitrofurantoīna aktivitāte tika pierādīta arī bez nitroreduktāzes. Tas nozīmē, ka pastāv arī cits darbības mehānisms (Garau, 2008).

Nitrofurantoīna zāles tiek uzskatītas par iedarbīgām uz baktērijām ar minimālo inhibīcijas koncentrāciju (*MIC*) 32 mg/L. Balstoties uz šo faktu, *E.Coli*, *Citrobacter* baktērijas ir 90% sensitīvas pret šo medikamentu. Pretstatā tikai 20% *Entorobacter spp.*, 45% *Klebsiella spp.* ir

jūtīgas. Savukārt *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*, *Serratia*, *Acinetobacter* un *Pseudomonas* ir gandrīz pilnīgi rezistentas (Hooper, 2005). Rezistentās *E.coli* ar hromosomālo vai plazmīdu-mediēto rezistenci ir asociētas ar savas iekššūnas nitroreduktāzes inhibīciju. Tādējādi samazinās nitrofurantoīna metabolītu rašanās un bakteriostatisks/toksisks efekts netiek sasniegts. Nitrofurantoīna rezistentu baktēriju rašanās no jūtīgām baktērijām ir ļoti reta parādība. (Garau, 2008). Nitrofurantoīns ir aktuāls medikaments, jo ir lēts un efektīvs līdzeklis urīnceļu infekcijas apkarošanai, tā popularitāte var pieaugt, augot plašumā mikroorganismu rezistences draudam (Bains et al., 2009).

1.3. Nitrofurantoīna farmakokinētika

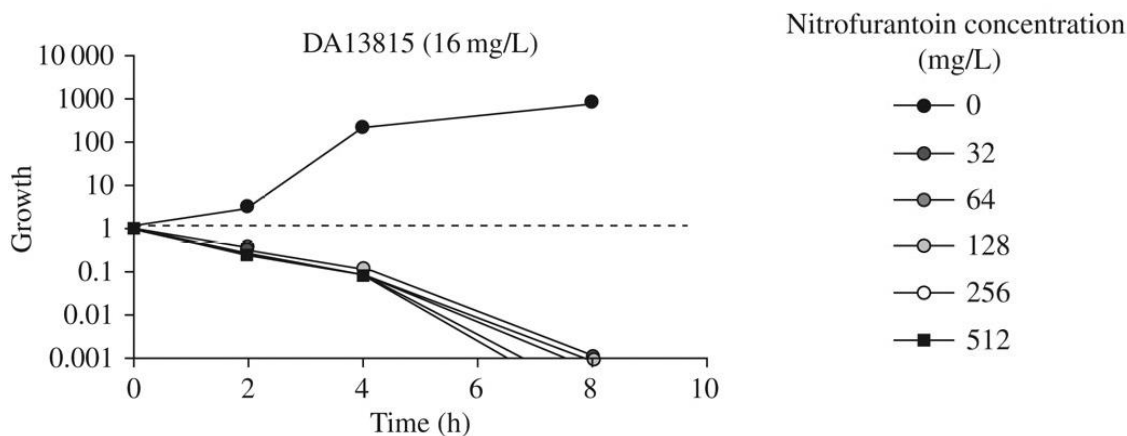
Nitrofurantoīns labi absorbējas pēc orālās ieņemšanas. Tā biopieejamība svārstās no 40-50% lietojot bez ēdiena, pēc maltītes, līdz 87% ieņemot tukšā dūšā, līdz 94% lietojot kopā ar maltīti, ieņemot makrokristalisko nitrofurantoīnu (Physicians' desk reference, 2002). Absorbēcija palielinās ieņemot zāles ar ēdienu (Garau, 2008). Nitrofurantoīns absorbējas tievo zarnu vidējā daļā. Tas tiek izvadīts no organisma galvenokārt caur urīnu, tubulārās sekrēcijas un glomerulārās filtrācijas rezultātā, neliela daļa izvadās ar žulti. Plazmas *half-life* ir 20 minūtes (Karpman and Kurzrock, 2004).

Nitrofurantoīns ir jutīgs pret enzimatisko degradāciju, tāpēc tas neakumulējas audos. Aptuveni 1/3 no ieņemtās zāļu vielas izvadās ar urīnu aktīvā formā. Zāļu distribūcijas ceļš iet tikai caur nieru medullu un taisnā ceļā uz urīnu. Nitrofurantoīns ātri eliminējas glomerulārās filtrācijas rezultātā, tubulārā reabsorbēcija notiek ļoti mazā apmērā. Pacientiem ar nieru nepietiekamību nitrofurantoīna ekskrecija ir samazināta, kamēr seruma koncentrācija ir augsta, tāpēc pastāv palielināts blakusreakciju risks (Physicians' desk reference, 2002; Bains et al., 2009).

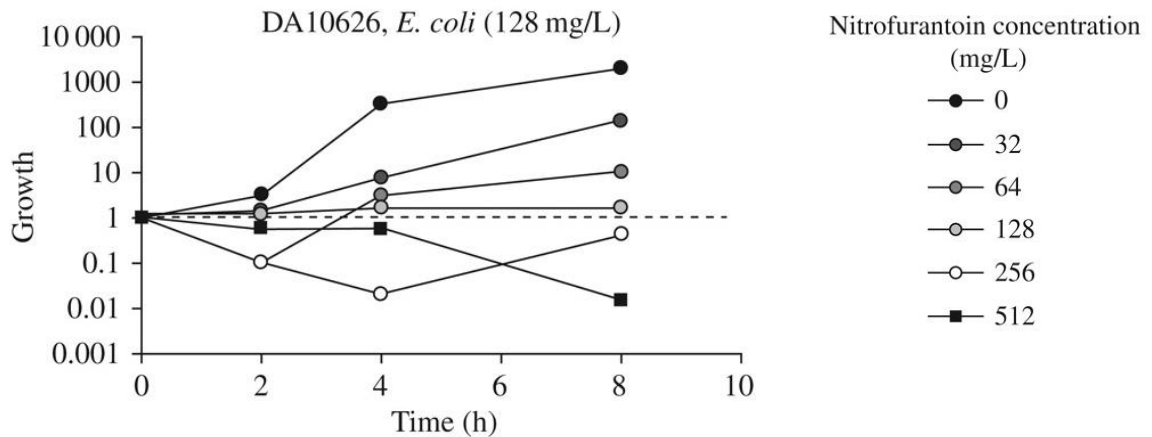
Tas fakts ka nitrofurantoīns nenonāk audos un koncentrējas gandrīz tikai urīnā, padara to par perfektu antimikrobo līdzekli urināro traktu infekciju ārstēšanai. Taču tas nav lietderīgs pielonefrīta ārstēšanai. Literatūrā sastop informāciju ka nitrofurantoīnu nedrīkst lietot pacienti ar glomerulāro filtrācija ātrumu mazāk par 50–60 mL/min, jo tas ir saistīts ar terapijas neefektivitāti un palielinātu blakusefektu risku (Bennett, 1988). Šī kontrindikācija ir balstīta uz 1968. g.

pētījumu, kurā piedalījās tikai 10 pacienti. Autors izsaka viedokli, ka nitrofurantoīns pacientiem ar nieru mazspēju nesasniedz minimālo inhibīcijas koncentrāciju urīnā 32 mg/L (*MIC*) un tādējādi ir neefektīvs (Sachs, et al., 1968). Parasti nitrofurantoīna koncentrācija urīnā ir no 50 līdz 250 mg/L (Garau, 2008). Par nieru mazspēju tiek uzskatīta nieru filtrācija ≤ 50 mL/min, normālā nieru filtrācija >50 mL/min. 2009. gadā publicētā rakstā balstoties uz 356 pacientu datiem, nitrofurantoīns ir lietojams arī pacientiem ar smagu nieru nepietiekamību (*glomerular filtration rate*) $GFR < 50$ mL/min un ir tik pat efektīvs kā pacientiem ar $GFR > 50$ mL/min. Netika konstatēts, ka pacientiem ar samazinātu *GFR* bija vairāk blakusēfetu nekā pārējiem pacientiem (Bains et al., 2009).

MIC jeb minimālā inhibīcijas koncentrācija ir vērtība ko definē no vidējās urīnceļu infekciju izraisošo baktēriju jutības pret nitrofurantoīnu. 2.3. un 2.4. attēlos ir parādītas dažādas *E. Coli* štammes, ar atšķirīgu jutību pret zāļu vielu. Ar punktētu līniju ir norobežota baktericīdā darbība. Baktēriju dzīvotspēja ar *MIC* 16 mg/L samazinās pie visām testētām nitrofurantoīna koncentrācijām. Baktēriju štammei ar *MIC* 128 mg/L tikai 256, 512 mg/L uzrāda baktericīdu iedarbību, bet 128 mg/L uzrāda bakteriostatisku iedarbību, kā tas ir parādīts 2.2. attēlā un 2.3. attēlā respektīvi (Sandegren et al., 2008). Kā redzams 2.4. attēlā nitrofurantoīns kavē baktēriju vairošanos arī nesasniedzot nepieciešamo *MIC*, taču parasti atrodas urīnā daudz lielākā koncentrācijā nekā minimāli nepieciešams.



1.2. att. Nitrofurantoīna bakteriostatiskā/baktericīdā iedarbība uz *E.Coli* štammi ar *MIC* 16 mg/L (Sandegren et al., 2008)



1.3. att. Nitrofurantoīna bakteriostatiskā/baktericīdā iedarbība uz *E.Coli* štammi ar MIC 128 mg/L (Sandegren et al., 2008)

1.4. Nitrofurantoīna blakus efekti

Nitrofurantoīns ir salīdzinoši drošs līdzeklis gan bērniem, gan pieaugušiem, gan grūtniecēm, tikai senioriem tā lietošana ir saistīta ar smagiem blakusefektu. Nitrofurantoīns ir drošs lietošanai grūtniecēm un nekaitē auglim (Lee, et al., 2008). Nitrofurantoīna blakus efektu atskaišu analīze periodā 1966.–1976. g. Zviedrijā parāda ka blakus efektu skaits pieaug absolūtos un relatīvos zāļu izplatīšanas skaitļos (2.2. tab.). Tas liecina par to, ka pacienti kļūst jūtīgāki pret nitrofurantoīnu, pacientiem notiek sensibilizācija pret šo zāļu vielu, tāpēc palielinās blakus efektu incidence (Holmberg, et al. 1980).

Biežākā deva visiem pacientiem, kam izpaudās blaknes ir 200 mg, gados vecākiem pacientiem deva ir nedaudz samazināta – vidēji 171 mg. Šīs devas ir attiecināmas arī uz divām lielākām blakņu grupām – alerģiju un pulmonoloģisko reakciju. Visizplatītākais simptoms blakus reakcijās uz nitrofurantoīnu ir paaugstināta temperatūra, elpas trūkums, izsitumi uz ādas un sauss klepus, kā tas ir attēlots 1.3. tabulā (Holmberg, et al. 1980). Nitrofurantoīns tiek nozīmēts arī pediatriskā praksē. Par laimi ne visi nitrofurantoīna blakus efekti parādās bērniem, bet tie, kas tiek novēroti izpaužas mazāk. Alerģiskās dabas reakcijas var parādīties biežāk bērniem nekā pieaugušiem (Karpman and Kurzrock, 2004). Bērniem tiek nozīmēts nitrofurantoīns mazākās

devās nekā pieaugušajiem, tas ir 5–7 mg/kg dienā un sadalīts 4–6 ieņemšanas reizēs. Profilaktiskās devās ir 1–2 mg/kg dienā.

1.3. tabula

Nitrofurantoīna blakusreakciju simptomu izpaūšanas biežums (Holmberg, et al. 1980)

Simptoms	Pacientu skaits, (%)
Temperatūra \geq 38	70
Elpas trūkums	34
Ādas izsitumi	28
Sauss klepus	26
Nogurums	12
Gripas simptomi	9
Cianoze	4
Dzeltene	3
Svara zudums	2

Blakus efektu risks ir atkarīgs no vairākiem faktoriem. Tā blakus efektu risks ir lielāks sievietēm nekā vīriešiem un palielinās ar vecumu. Pacientiem kam bija reakcija uz nitrofurantoīnu, ir lielāks risks atkārtotām reakcijām. (Holmberg, et al. 1980) Kā attēlots 1.4. tabulā lielākā daļa blakus efektu ir pulmonoloģiskās reakcijas (48%) un alerģiskās reakcijas (42%) (Holmberg, et al. 1980). Sievietēm blakus efekti parādās daudz biežāk, tā no visiem reakciju gadījumiem 86% notika sievietēm. Visās grupās izņemot asins diskraziju sievietes ir vairāk par vīriešiem. Mediānas vecums starp visiem cilvēkiem ar blakus efektiem no nitrofurantoīna ir 62 gadi (vidējais 59 gadi). Sievietes ir jaunākas par vīriešiem – mediāna 61 gads pret 67 gadiem respektīvi (Holmberg, et al. 1980).

Nitrofurantoīna lietošanas ilgums 76% gaidījumos pirms blakņu rašanās bija mazāk par 1 mēnesi. Tikai 4,6% pacientu bija ārstēti ilgāk par 1 gadu. Pacienti, kas saņēma īsu nitrofurantoīna kursu dominēja pulmonoloģiskās reakcijas grupā – 86% no kopēja pacientu skaita un alerģijas grupā – 81% respektīvi. Bet ilglaicīga terapija bija raksturīga pacientiem ar aknu bojājumu (Holmberg, et al, 1980).

Reģistrētie blakusefekti 1966.-1976.g. Zviedrijā (Holmberg, et al. 1980)

Blakus efektu grupa	Pacientu skaits ar blakus reakcijām, iedalījums grupās, (%)		
	No visiem gadījumiem	Hospitalizēti no grupas	Nāves gadījumi no grupas
Pulmonoloģisās reakc.	48	75	8,5
Allergiskā reakc.	42	63	–
Aknu bojājums	6	76	2
Asins anomālijas (diskrāzija)	2	100	20
Neiropātija	2	65	–
Kopā:	100%	71%	1%

Aptuveni 55% no blakus efektu cietušiem pacientiem arī iepriekš novēroja sev reakciju uz nitrofurantoīnu. Interesanti arī tas, ka nitrofurantoīna blakusefekti vairāk izpaužas oktobrī, novembrī, decembrī ($p < 0,001$) nekā citos mēnešos. Šīm novērojumiem vēl nav izskaidrojuma (Holmberg, et al. 1980).

Abas lielākās blakus efektu grupas alerģija un pulmonoloģiskā reakcija notiek caur akūtās sensitivitātes mehānismu, tām piemīt klasiskā alerģiskā daba. Pulmonoloģiskie blakus efekti nitrofurantoīna lietotājiem ir vispazīstamākie ārstu vidū. Tie parādās aptuveni 0,0009% lietotāju skaitam. Tas noved pie ideopātiskā fibrolizējošā alveolīta (*interstitial pneumonitis*). Starp pulmonoloģiskām reakcijām bija arī ļoti smagi gadījumi, kas atgādināja miokarda infarktu, pulmonālo embolismu un pneimoniju. Bērniem pulmonoloģiskās reakcijas ir ārkārtīgi retas (Holmberg and Boman, 1981). Uzreiz pēc nitrofurantoīna lietošanas pārtraukšanas nevēlamie efekti pazūd, bet 55% pacientiem parādās atkal sākot atkārtotu ārstēšanas kursu. Šie novērojumi izskaidro kāpēc parādās arvien vairāk blakus efektu gadījumu nitrofurantoīna lietošanā. Pacientiem, kuriem parādās reakcija uz nitrofurantoīnu ir nepieciešams nekavējoties pārtraukt ārstēšanas kursu un izvairīties no tālākās lietošanas (Holmberg, et al. 1980).

Pastāv divi mehānismi, kas apraksta nitrofurantoīna blakus efektu rašanos – imūnais un toksiskais (Holmberg, et al. 1980). Zaļu inducēts imūnā ceļā izraisītais aknu bojājums ir imūnā blakusreakcija pret proteīniem aknās, kas spēj izraisīt autoimūno hepatītu (Manns and Obermayer-Straub, 1997; Liu and Kaplowitz, 2002). Hepatiskie blakus efekti skaitās kā visbīstamākie, jo no tiem ir visvairāk letālu iznākumu. Šie blakus efekti noved pie holestatiskā sindroma (*choleostasis*), nekrozes un hroniskā hepatīta. Šiem bojājumiem ir autoimūnais rašanās

mehānisms. Visvairāk gadījumu tika novērots pēc 4 lietošanas mēnešiem. Sievietēm tas parādās biežāk nekā vīriešiem: 89% un 11% no pacientiem attiecīgi. Bērniem parādās ārkārtīgi reti (Karpman and Kurzrock, 2004). Šo autoimūno reakciju skaidro ar to, ka zāļu metabolismā radušies produkti, saistoties ar aknu proteīniem, kā piemēram citohromu P450, tiek atpazīti kā neoantigēni. (Robin, et al., 1997; Beaune and Bourdi, 1993). Tādā veidā imūnā sistēma uzsāk autoimūno iekaisumu aknās. Nitrofurantoīna izraisītie autoimūnā hepatīta gadījumi tika konstatēti reti (Fagrell et al., 1976; Stricker et al., 1988). Desmit gadu laikā tika novēroti 11 gadījumi, kad nitrofurantoīns izraisīja autoimūno aknu hepatītu (Bjornsson et al., 2010). Nitrofurantoīns spēj izsaukt plašu klāstu aknu bojājumu: vidēju aknu funkcionalitātes traucējumu, akūtu aknu mazspēju, mazspēju ar nāves iznākumu, aknu transplantācijas nepieciešamību un cirozi. (Stricker et al., 1988; Sharp et al., 1980; Bjornsson et al., 2010) Nitrofurantoīns uz 2008. gadu ASV no plaši izplatītām zālēm ir visbiežākais iemesls zāļu izsuktām autoimūnam hepatītam. (Bjornsson et al., 2010) Visiem gadījumiem ir raksturīgs ilgs nitrofurantoīna lietošanas laiks, mediāna 24 mēneši (Bjornsson et al., 2010) Autoimūna hepatīta gadījumā ir nozīmēti kortikosteroīdi, lai nomāktu autoimūno iekaisumu. Pēc kortikosteroīdu ārstēšanas kursa nobeigšanas, nitrofurantoīna izraisītais autoimūnais hepatīts vairs netika novērots (Bjornsson et al., 2010).

Gastrointestacionālie blakus efekti: abdominālais diskomforts, slikta dūša, vemšana ir visizplatītākie blakus efekti bērniem (Holmberg et al., 1980; Uhari et al., 1996 Karpman and Kurzrock, 2004). Šīs reakcijas parādās 4,4/100 cilvēkiem līdz 16 gadu vecuma gada laikā (Uhari et al., 1996) Gastrointestacionālie efekti parādās visbiežāk pēc vienas zāļu lietošanas nedēļas un parādās biežāk sievietēm nekā vīriešiem (Karpman and Kurzrock, 2004).

Ādas alergiskā reakcija: ādas bojājumi ir otrais visizplatītākais blakus efekts. Tā izpaužas galvenokārt kā plankumi, plankumi ar papulām un nātrenes veida bojājumi (Uhari et al., 1996, Holmberg et al., 1980). Lielākā daļa šo blakus efektu parādās pēc viena mēneša zāļu lietošanas. (Holmberg et al., 1980) No visiem pacientiem apmērām 2% parādās šī reakcija, bet bērniem 3,2% no pacientiem. Šī reakcija nenoved pie fatāla iznākuma un ir atgriezeniska, izbeidzot zāļu lietošanu nevēlamie efekti izzūd (Karpman and Kurzrock, 2004)

Hematoloģiskie blakus efekti: hemolitiskā anēmija ir zināms efekts nitrofurantoīna lietošanā (Karpman and Kurzrock, 2004). Tas ir asociēts ar pacientiem, kam ir glikozes-6-fosfāta dehidrogenāzes deficīts. Eritrocīti šiem pacientiem nespēj izturēt oksidatīvo stresu. Šī blakus efekta biežums ir 1 uz 100 000 nitrofurantoīna lietotājiem (Gait, 1990). Bērniem šādi gadījumi netika novēroti, bet ir gadījums kad cieta 1 mēnesi vecs jaundzimušais. Nitrofurantoīnu nedrīkst

lietot jaundzimušajiem pirmos dzīves mēnešos, jo viņu aknas vēl nav gatavas izturēt oksidatīvo stresu (Bruel et al., 2000). Citas asins anomālijas kā neitropēnija, methemoglobīnēmija un agranulocitose tika novēroti bērniem, kas lietoja nitrofurantoīnu, taču reti (Karpman and Kurzrock, 2004).

Neirotoksicitāte: perefēriskā neiropātija ir visizplatītākais neiroloģisks blakus efekts. Tas ir sensomotorā polineuropātija, sākumā paraestēzija un diestēzija rokās un kājās. Šo blakus efektu sajūt 0,0007% nitrofurantoīna lietotāju. Šīs parādības tika novērotas arī bērniem (Karpman and Kurzrock, 2004).

Vēzis: palielināts risks tradicionālo šūnu karcinomai (*transicional cell carcinoma*), kas ir urīnceļu epitēlija vēzis. Tas ir novērots pieaugušiem ar nitrofurantoīna lietošanas vēsturi. Bērniem netika novērotas hromosomālās aberācijas. Kaut gan balstoties uz vienu pētījumu, ir aizdomas, ka kumulatīvā nitrofurantoīna deva ir saistīta ar māsu hromatīdu apmaiņas biežumu bērniem pēc viena mēneša terapijas (Karpman and Kurzrock, 2004).

Neskatoties uz blakus efektu esamību, nitrofurantoīns tiek atzīts par drošu līdzekli arī pediatriiskā praksē. Bērniem smagie blakus efekti parādās ļoti reti, un arī citi blakus efekti bērniem parādās daudz retāk nekā pieaugušiem cilvēkiem un tiem, kas vienlaikus lieto vairākus medikamentus. Bērniem raksturīgie blakus efekti kā diskomforts vēderā un ādas izsitumi, tie nav smagi un pāriet uzreiz izbeidzot terapiju. Ilglaicīga lietošana ir droša, gan ārstēšanai, gan profilaksei (Karpman and Kurzrock, 2004).

1.5. Vielu kristālisko formu nozīme farmācijā

Vielu polimorfisms ir parādība kad viena un tā pati viela var veidot dažādus kristālus pēc formas un īpašībām (Rama et al. 1987). Polimorfām formām ir atšķirīgas īpašības: šķīdība, kušanas temperatūra, blīvums, cietība, kristālu morfoloģija, optiskās un elektriskās īpašības, tvaika spiediens, presējamība un citas īpašības, tāpēc polimorfo formu izvēlei ir liela nozīme farmācijā (Rama et al. 1987). Pirmo reizi zāļu polimorfismu apskatīja Aguiar un kolēģi 1967. gadā, kad uz hloramfenikola palmitāta piemēra parādīja zāļu biopieejamības un šķīšanas atkarību no vielas polimorfās formas (Aguiar et al., 1967). Šis fenomens ir ļoti svarīgs farmācijā un tiek

plaši pētīts. Polimorfisma nozīme slēpjas ne tikai vielas fizikāli-ķīmiskās atšķirībās, bet arī intelektuālā īpašuma perspektīvā, jo katra forma var tikt atsevišķi patentēta (Bernstein, 2002).

Klasiski kristāliskās vielas variācijas attiecināja tikai uz polimorfismu, solvātiem un sāļiem, bet 21. gadsimtā tiem pievienojās arī kokkristāli (Haleblian, 1975; Almarsson and Zaworotko, 2004). Kokkristāli veido vielas cietā fāzē, kur, piemēram, zāļu viela kristālā ar nekovalento saišu palīdzību ir saistīta ar citu kristālisko vielu (Vangala et al., 2012). Pseudopolimorfās formas, jeb solvāti arī atšķiras ar savām īpašībām līdzīgi kā polimorfās formas. Tādas formas bieži iegūst, kristalizējot vielu no šķīdinātāja (Caira et al., 1996). Piemēram ūdens solvātiem, jeb hidrātiem ir potenciāls farmācijā, bet organisko šķīdinātāju solvātiem nē, dēļ to toksicitātes (Rama et al. 1987; Caira et al., 1996). Daži organisko šķīdinātāju veidotiem solvātiem piemīt labāka šķīdība nekā to polimorfām formām. Tā griseofulvīna hloroforma solvāts uzrāda daudz labāku šķīdību un šķīšanas ātrumu par tā hidrātu un polimorfām formām (Bates et al., 1975). Solvātiem var piemīt lietderīgas īpašības, problēma ir tikai to toksicitātē (Rama et al. 1987).

Zāļu biopieejamība ir atkarīga no šķīdības, šķīšanas temperatūras, daļiņu izmēra, polimorfās formas, ķīmiskās formas, vielas penetrēšanas spējas, gastrointestionālās stabilitātes, biotransformācijas un citām īpašībām (Rama et al. 1987). Tā piemēram, zālēm, kurām ir maza šķīdība ūdenī, biopieejamību visvairāk ietekmējošais faktors ir šķīšanas ātrums (Martin, 1993). Tas savukārt ir atkarīgs no zāļu vielas polimorfās formas, kas tiek lietota tabletēs. Piemēram sulfametoksiazīnam (sulfonilamīdu grupas antibiotika) ir sešas dažādas kristāliskās formas. To starpā ir ļoti liela atšķirība šķīdībā, tā formai II ir par 40% labāka šķīdība salīdzinot ar formu III (Khali et al., 1972; Moustafa et al., 1972).

Literatūrā ir aprakstītas farmakoloģiskās problēmas kas bija saistītas ar nitrofurantoīna polimorfo formu (Caira et al., 1996; Paul et al., 1967). Zinātnieki ir novērojuši ka sīkkristāliskai nitrofurantoīna formai šķīšanas ātrums ir tik liels, ka viela izraisa organismā blakusreakcijas, nokļūstot plazmā lielā koncentrācijā. Palielinot zāļu vielas kristālu izmērus izdevās samazināt šķīšanas ātrumu un vielas koncentrāciju plazmā, tādējādi samazinot sliktās dūšas un vemšanas incidenci (Paul et al., 1967).

Šķīšanas ātrums un attiecīgi vielas polimorfās formas ietekmē arī toksicitāti. Zinātnieki ir analizējuši LD₅₀ pelēs tādām poliēna antibiotikām kā mepartricīnam un nistatīnam. Mepartricīna I formai LD₅₀ ir 19,5 mg/kg, bet II formai 126,3 mg/kg dēļ tās salīdzinoši zemas šķīdības un šķīšanas ātruma. Nistatīna I formai LD₅₀ ir 23,2 mg/kg, bet III formai 635,4 mg/kg, abas vielu suspensijas tika ievadītas pelēm intraperitoneāli (Ghielmetti et al., 1976).

Biežāk ir izdevīgi izstrādāt visstabilāko formu, lai nodrošinātu zāļu nemainīgu un paredzamu iedarbību, bet ir gadījumi kad metastabilas vai amorfās formas īpašības ir kārotas vairāk par stabilitāti. Piemēram metastabilai formai būs lielāka šķīdība un šķīšanas ātrums, kas liecina par pārāku biopieejamību. Par vēl vienu iemeslu var kalpot fakts ka ne visas vielas var kristalizēt, tāpēc nākas lietot to amorfā formā (Singhal and Curatolo, 2004). Izvēloties ražot zāles ar metastabilo aktīvās vielas formu, ja tas atvieglo ražošanas procesu vai uzrāda medicīniskās priekšrocības salīdzinājumā ar stabilo formu, obligāti jāveic stabilitātes pētījumi, kas apstiprina metastabilās vielas nemainību gatavā zāļu formā un drošumu pacientiem. Prakse rāda, ka izvēloties piemērotus risinājumus, ražošanas īpatnības un zāļu formulējumu, ir iespējams iegūt drošas zāles arī ar metastabilo aktīvās vielas formu (Singhal and Curatolo, 2004).

Informācijas trūkums par zālēs esošās aktīvās vielas polimorfajām formām un to īpašībām, var novest pie tā, ka cietām zāļu formām nebūs konstants un paredzēts efekts (Caira et al., 1996). Vislabāk ir izmantot termodinamiski stabilāko formu, lai nodrošinātu tās nemainību un savukārt reproducējamu biopieejamību visā uzglabāšanas laika posmā, ņemot vērā praktiskos uzglabāšanas apstākļus (Singhal and Curatolo, 2004). Arī uzglabāšanās laikā var notikt neparedzētas izmaiņas, kā tas ir aprakstīts ritonavīram. Ritonavīrs jau nonākot aptieku plauktos, pēc laika pēkšņi kļuva neefektīvs. Pētījumos tika atklāts ka kapsulu šķīdumā izkristalizējusies jauna pirms tam nezināma ritonavīra polimorfā forma, kurai ir krietni zemāka šķīdība un savukārt arī biopieejamība (Bauer et al., 2001).

Fizikāli faktori kā temperatūra, sasmalcināšana, presēšana vai ilglaicīga uzglabāšana arī spēj mainīt zāļu vielas polimorfo formu (Byrn et al., 1985). Kofeīns, sulfabenzamīds, maprotilīns spēj mainīt savas kristāliskās formas fizikālā spiediena ietekmē, kad tiek presētas tabletes (Chan and Doelker, 1985). Pētījumi par aktīvās vielas polimorfām, pseidopolimorfām formām un to iegūšanu var atklāt kristāliskās formas ar ievērojami atšķirīgām īpašībām. Tieši šo īpašību variāciju dēļ zāļu polimorfo formu pētījumi farmaceitiskā industrijā turpinās arī pēc vielas nonākšanas tirgū (Caira et al., 1996).

1.6. Farmaceitiski aktīvo cietvielu analīzes metodes

Pulvera rentgendifrakcijas metode

Pulvera rentgendifraktometrijas metode (PXRD – *powder x-ray diffraction*) ir viena no visvairāk izmantotām metodēm kristālisko formu identificēšanai (Stephenson, 2005; Ivanisevic et al., 2010; Gilmore, 2011). Rentgendifraktometrs galvenokārt sastāv no rentgenstaru avota, detektora un parauga turētāju, ar iespēju mainīt krītošo staru leņķi (2θ) pret paraugu. Metodes pamatā ir elektromagnētiskā starojuma interference, kas notiek atstarojoties rentgenstaru fotoniem no kristāliskās vielas atomu kodoliem. Lai fotoni tiktu kristāla iekšienē, to viļņu garumam jābūt mazākam nekā starpatomu attālums (apmēram no $1 \cdot 10^{-10}$ līdz $3 \cdot 10^{-10}$ m), tāpēc izmanto rentgenstarus ar viļņu garumu $2 \cdot 10^{-10}$ līdz $0,5 \cdot 10^{-10}$ m (Gilmore, 2011). Principu, pēc kura notiek rentgenstaru difrakcija pirmo reizi aprakstīja britu zinātnieki Henrijs un Lorens Bregi 1913. gadā ar vienādojumu (Ivanisevic et al., 2010):

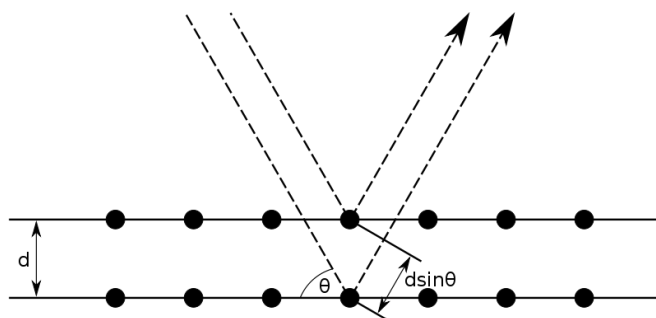
$$2d \sin \theta = n\lambda, \quad (1.1)$$

kur d – attālums starp atomiem, (nm);

θ – difrakcijas leņķis;

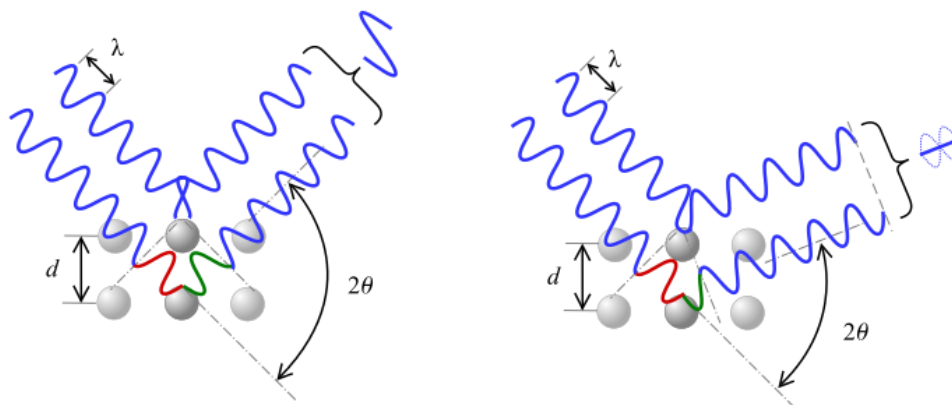
n – vesels skaitlis;

λ – starojuma viļņa garums, (nm).



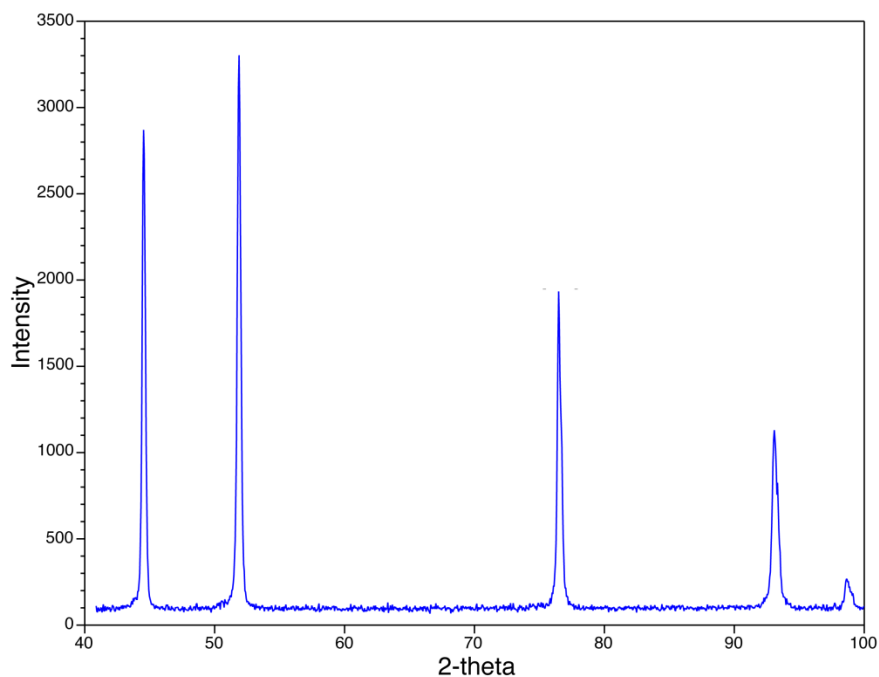
1.4. att. Fotonu atstarošanas no kristāla, shēma (Wikipedia)

Kā parādīts 1.4. attēlā fotons, kas atstarojas no otrā atomu slāņa izies garāku attālumu no avota līdz detektoram nekā fotons, kas atstarojas no atoma pirmajā slānī. Ja šis attālums ir vienāds ar fotona viļņa garumu, tad pēc interferences principiem viļņa amplitūda pieaug, pieaugot arī signāla intensitātei detektorā. Ja attālums nav vienāds ar viļņa garumu, tad amplitūdas nesakrīt un signāls izzūd (1.5. att.).



1.5. att. Brega likuma un interferences shematisks attēlojums (Wikipedia)

Mainot rentgenstaru kritiena leņķi noteiktā apgabalā, tiek iegūta rentgendifraktogramma, kas saista krītošo leņķi ar signāla intensitāti (1.6. att.). Ņemot vērā, ka katras vielas kristāliskai formai ir īpatnējs atomu izvietojums, pēc to difraktogrammām vielas var atšķirt (Ivanisevic et al., 2010).



1.6. att. Rentgendifraktogrammas paraugs (Wikipedia)

Lai aktīvā viela tiktu apstiprināta klīniskajiem pētījumiem to ir pilnībā jānoraksturo. Starp svarīgākajiem raksturošanas parametriem ir vielas iespējamās kristāliskās formas. Tāpēc jau zāļu kandidātvielas izvēles stadijā notiek tās polimorfo formu meklējumi un raksturošana. Šīm

nolūkam visbiežāk izmanto pulvera rentgendifraktometriju. Šajā zāļu izstrādes stadijā PXR metode ir ļoti ērti pielietojama, jo ir ātra, nesagraujoša, analīzei pietiek ar nelielu vielas daudzumu (vismaz 15 mg) un tā dod visu nepieciešamo informāciju, lai atšķirtu dažādas kristāliskās formas.

Katrai vielai un katrai tās kristāliskai formai būs sava īpatnēja difrakcijas aina. Tāpēc šo metodi lieto izejvielu kvalitatīvai kontrolei, lai pēc sintēzes procedūras pārliecinātos par iegūtās vielas kristālisko vai amorfo formu un tās tīrību. Iegūto difrakcijas ainu salīdzina ar iepriekš iegūtiem datiem no kristālisko formu raksturošanas etapa. Analizējot vielu maisījumu var noteikt vielu relatīvo daudzumu pēc refleksu intensitātes, bet vielu kvantitatīvai noteikšanai ar šo metodi ir jāstrādā savādāk. Salīdzinot difrakcijas ainas galvenais rādītājs ir refleksu izvietojums uz 2θ ass, un to intensitāte vienas difraktogrammas ietvaros. Divām kristāliskām formām ar līdzīgu kristālisko uzbūvi var būt līdzīgas difraktogrammas, bet tām obligāti būs atšķirīgi refleksi. Refleksi difrakcijas ainā var pārklāties dēļ svešiem piemaisījumiem, un pie 2θ lielāka par 30° vairākumam organisko vielu refleksi sakrīt un pārklājas, tāpēc vielas kristāliskās formas precīzai identificēšanai vislabāk noder izteikti refleksi no 3 līdz $30^\circ 2\theta$.

Ražošanas procesā PXR metodi lieto, lai novērotu iespējamās izmaiņas zāļu vielai ražošanas procesā. Uz vielu var iedarboties ne tikai mitrums, bet arī spiediens un citu vielu klātbūtne. Tas ir īpaši svarīgi ražojot zāles ar metastabīlu kristālisko formu. Gatavās formas analīzei paraugu saberž piestā un analizē. Analīzes rezultātā var izsekot visām pildvielām, piemaisījumiem, kā arī aktīvai vielai. Ņemot vērā gatavās formas vielu masu attiecības, PXR metodi var pielāgot gatavās formas sastāvā esošo vielu kvantitatīvai analīzei. Līdzīgi analizē gatavās formas un tās zāļu vielas nemainību glabāšanas apstākļos. Tādā veidā PXR metode tiek lietota ne tikai zāļu vielas pētniecības un ražošanas stadijā, bet arī gatavo zāļu kvalitātes kontrolē (Ivanisevic et al., 2010).

Diferenciālā termiskā analīze, termogravimetriskā analīze

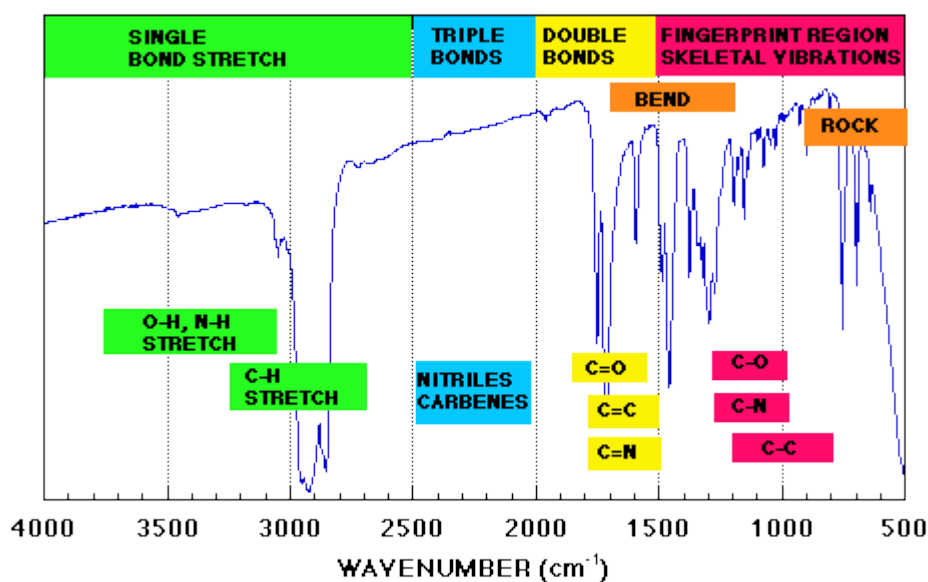
Diferenciālā termiskā analīze (DTA) ir metode, ko izmanto vielu fizikālo un ķīmisko stabilitātes notiekšanai. Metode balstās uz enerģijas izmaiņām kas notiek vielās to karsējot, atdzesējot vai uzturot konstantā temperatūrā. Enerģijas izmaiņas reģistrējas kā temperatūru izmaiņas paraugā attiecībā pret references paraugu. Ar šīs metodes palīdzību var noteikt pētāmā parauga endotermiskās izmaiņas – fāžu pāreja, kušana, viršana un eksotermiskās izmaiņas – kristalizācija.

Termogravimetriskā (TG) analīze mēra parauga masas izmaiņas attiecībā pret temperatūru, salīdzinot ar references paraugu.

Musdienīgās iekārtās abas šīs metodes ir apvienotas. Šīs metodes lieto farmaceutiskā industrijā lai noteiktu vielu fizikālās īpašības, zāļu vielu un piemaisījumu mijiedarbības maisījumos un gatavās formas stabilitāti. Metodes neprasa ilgu parauga sagatavošanu, pietiek ar 5 mg sasmalcināta parauga (Saunders and Gabbott, 2011).

Infrasarkanā spektrometrija

Infrasarkanā spektrometrija ir plaši izmantojama metode, vielu struktūras pētīšanai. Ar tās palīdzību var noteikt vielas funkcionālās grupas, kristālisko struktūru, kā arī starpmolekulārās un iekšmolekulārās mijiedarbības. Metode balstās uz ķīmisko saišu spēju absorbēt infrasarkano staru enerģiju, pārveidojot to par svārstībām. Izšķir divu veidu svārstības: valences svārstības (mainās saišu garums) un deformācijas svārstības (mainās saišu leņķis). Katra saite spēj absorbēt tikai konkrētu enerģijas daudzumu, kas atbilst noteiktam viļņu garumam. Analīzes laikā paraugs tiek apstarots ar infrasarkaniem stariem ar dažādu viļņa garumu. Ja konkrētam viļņu garumam atbilst kādas saites kustība, tad absorbējoties šīs frekvences viļņu intensitāte samazinās. Infrasarkanā spektrometra detektors reģistrē starojuma absorbcijas intensitāti atkarībā no viļņa garuma. Pēc intensitāšu atšķirības katram viļņu garumam var noteikt kādas funkcionālās grupas eksistē pētāmā vielā (1.7. att.), salīdzinot iegūtos datus ar datubāzē vai rokasgrāmatās pieejamiem datiem (O'Neill and Edwards, 2011).



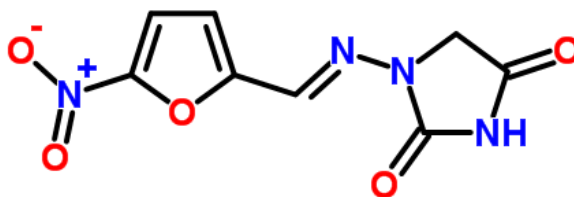
1.7. att. Funkcionālo grupu „karte” infrasarkanā spektrā

Infrasarkanais spektrs ir sadalīts 3 daļās: tuvais spektrs no 12500 līdz 4000 cm^{-1} (0,8–2,5 μm), vidējais spektrs no 4000 līdz 400 cm^{-1} (2,5–25 μm) un tālais spektrs no 400 līdz 10 cm^{-1} (25–1000 μm). Analizējot organiskās vielas, parasti izmanto infrasarkanā spektra vidējo rajonu (O'Neill and Edwards, 2011). Spektra daļu no 4000 līdz 1500 cm^{-1} sauc par funkcionālo grupu reģionu, bet daļu no 1500 līdz 500 cm^{-1} par „pirkstu nospiedumu” reģionu. „Pirkstu nospiedumu” reģiona spektrs katrai vielai individuāls, taču no tā datiem nevar notekīt konkrētu funkcionālo grupu.

Farmācijā infrasarkano spektrometriju pielieto aktīvo vielu identificēšanai, raksturošanai, kā arī veicot kvantitatīvo analīzi. Ar šo metodi ir iespējams pētīt arī šķīdības ātrumu un zāļu komponentu mijiedarbības kā, piemēram, zāļu vielas atbrīvošanos no poimēra veidotas nesējvielas (O'Neill and Edwards, 2011).

1.7. Nitrofurantoīna fizikāli ķīmiskais raksturojums

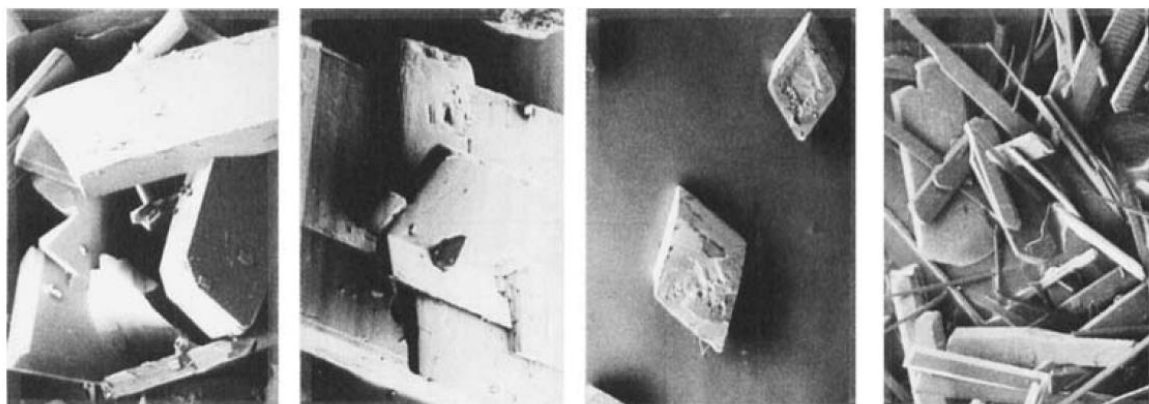
Nitrofurantoīns (N-(5-nitro-2-furfurilidēn)-1-aminohidantoinīns) redzams 1.8. attēlā ir plaši lietojams pretmikrobu līdzeklis. Nitrofurantoīna molmasa ir 238 g/mol, tā kristāli ir gaiši dzelteni, šķīdumiem piemīt dzeltenīga nokrāsa atkarībā no šķīdinātāja un izšķīdušās vielas daudzuma. (Chem spider).



1.8. att. Nitrofurantoīna formula (Chem spider)

Vielā šķīst labi nepolāros šķīdinātājos: dimetilformamīdā – 50 mg/mL; polietilēnglikolā – 15 mg/mL; acetonā – 5,1 mg/mL; un ne tik labi polāros šķīdinātājos: ūdenī – 0,19 mg/mL; etanolā – 0,51 mg/mL; glicerīnā – 0,6 mg/mL (20 °C). Ir zināms ka nitrofurantoīns eksistē divās monohidrātu formās I un II, DMF un DMSO solvātu formās un α un β polimorfās formās. Šo

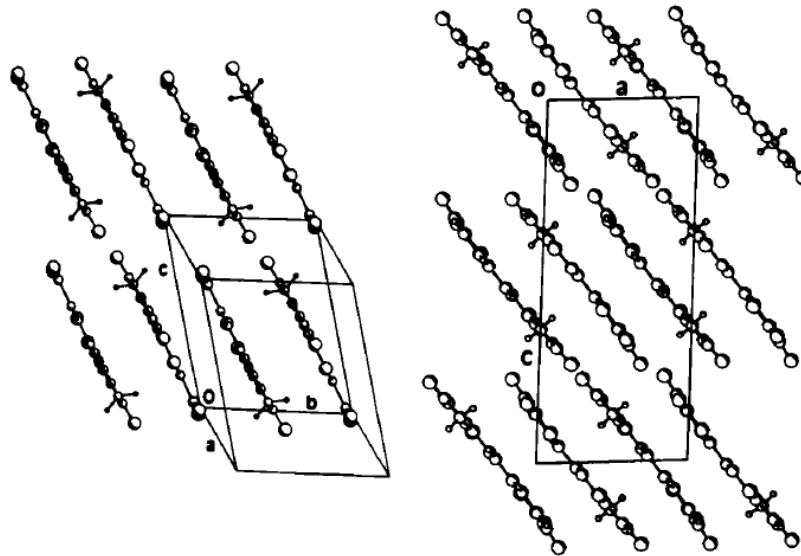
kristālisko formu veidošanos ietekmē kristalizācijas apstākļi. Dažādām formām ir dažāda kristālu morfoloģija, kā redzams 1.9. attēlā (Caira et al., 1996).



1.9. att. Nitrofurantoīna kristālu fotogrāfijas, uzņemtas ar skanējošo elektronu mikroskopu. No kreisās puses α , β , I monohidrāts, II monohidrāts (Caira et al., 1996)

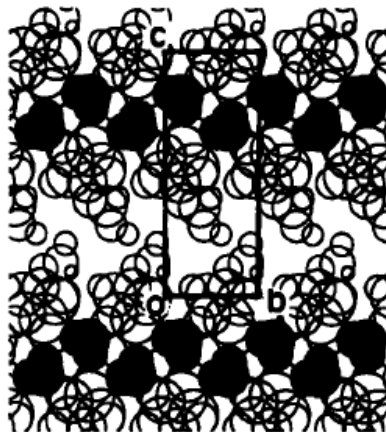
Katrai formai ir atšķirīga kušanas temperatūra: α -formai $T_{\text{kuš.}}=268$ °C, β -formai $T_{\text{kuš.}}=270$ °C. Hidrātiem atšķiras dehidratācijas temperatūras: I monohidrātam $T_{\text{dehidr.}}=108$ °C, $T_{\text{kuš.}}=272$ °C, II monohidrātam $T_{\text{dehidr.}}=128$ °C, $T_{\text{kuš.}}=271$ °C un pārsniedzot kušanas temperatūru par 1–4 °C viela sāk sadalīties (Caira et al., 1996). Kristālisko formu blīvumi 1,656 un 1,648 g/cm³ respektīvi α un β formām atšķiras tikai par 0,5%. No tā var secināt, ka α -forma ir tikai nedaudz stabilāka par β -formu. Stabilitāti var izsecināt no blīvuma likuma, kur darbojas likumsakarība ka termodinamiski stabilākai vielai ir lielāks blīvums (Singhal and Curatolo, 2004).

Abas polimorfās formas veido blīvi izvietotus slāņus no planārām nitrofurantoīna molekulām. Abu kristālisko formu molekulu izvietojums kristāliskajā struktūrā ir ļoti līdzīgs, kā to var redzēt 1.10. attēlā (Pienaar et al., 1993). Ūdeņraža saišu starpmolekulārais izvietojums šīm formām ir atšķirīgs, saišu daudzums un veidi (N–H \cdots O; C–H \cdots O) ir vienādi, bet saišu stiprums nedaudz atšķiras (Caira et al., 1996).



1.10. att. Nitrofurantoina α -formas (pa kreisi) un β -formas (pa labi) kristāliskā struktūra (Caira et al., 1996)

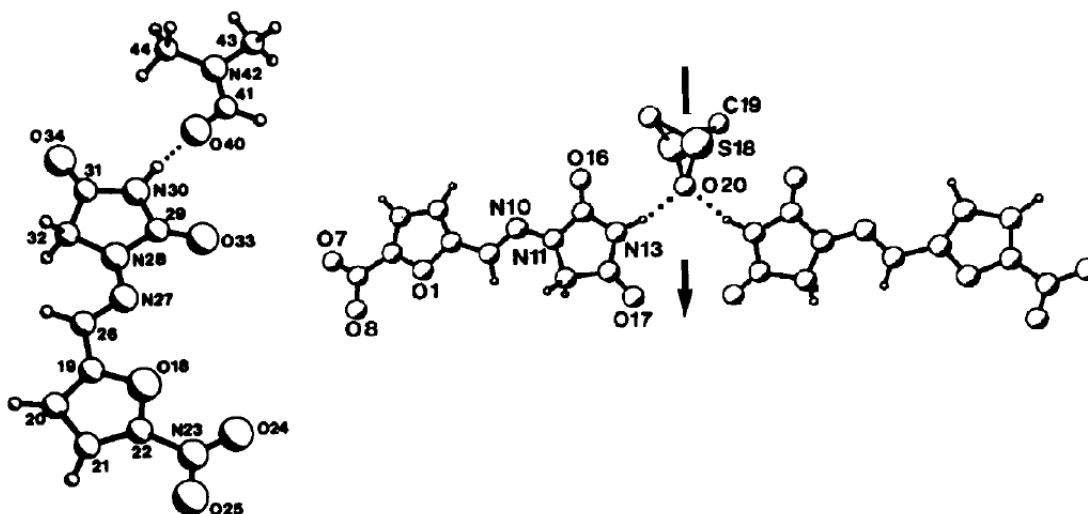
Monohidrātu dehidratācijas temperatūru atšķirības izriet no to kristālisko struktūru īpatnībām. I monohidrātam ir zemāka dehidratācijas temperatūra tāpēc, ka tā struktūrā ir tā sauktie kanāli – gara starpmolekulu telpa, kas ir aizņemta ar ūdens molekulām (1.11. att.). I monohidrātam kristāliskā struktūra ir slāņveida, tāpēc struktūrā pastāv kanāli. Tādēļ karsējot ūdens viegli izdalās ārā no kristāliem caur šiem kanāliem. Turpretī II monohidrātam šo kanālu nav, jo kristāliskā struktūra ir zigzagveida, ūdens molekulas atrodas slēgtā starpmolekulārā telpā, tāpēc nitrofurantoina dehidratācijai nepieciešama lielāka temperatūra (Caira et al., 1996).



1.11. att. Monohidrāta I kristāliskā struktūra (ar melnu ir iezīmētas ūdens molekulas) (Caira et al., 1996)

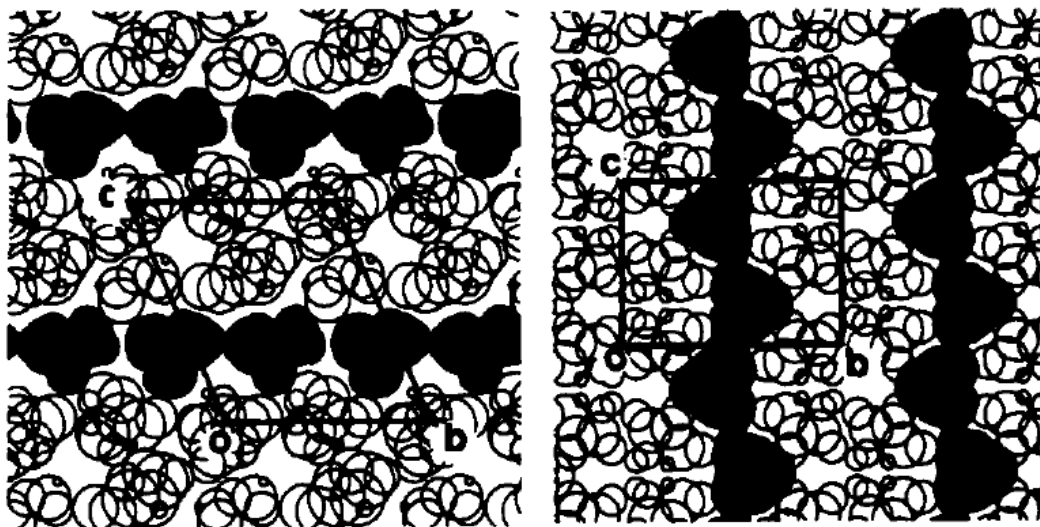
Pēc TGA datiem dehidratējoties, abi hidrāti zaudē 7% no savas masas, tas nozīmē, ka uz 1 molu nitrofurantoīna ir 1 mols ūdens.

Nitrofurantoīns spēj veidot arī solvātus, tie ir DMSO (*dimethyl sulfoxide*) solvāts un DMF (*dimethylformamide*) solvāts. Abu solvātu molekulārā struktūra ir redzama 1.12. attēlā. Karsējot līdzīgi kā nitrofurantoīna hidrāti šīs pseidopolimorfās formas desolvatējas. DMF solvāts desolvatējas 109–137 °C temperatūras intervālā, savukārt DMSO solvāts zaudē šķīdinātāja molekulas 180–234 °C temperatūrā. Masas zudums DMF solvātam TGA analīzē ir 23%, kas atbilst 1 molam DMF uz 1 molu pētāmās vielas. Savukārt karsējot DMSO solvātu tas zaudē 14,6% kas atbilst 0,5 moliem DMSO uz 1 molu nitrofurantoīna. Tas nozīmē ka DMSO solvātā nitrofurantoīna:šķīdinātāja attiecība ir 2:1. DMF solvāts dehidratējas temperatūras apgabalā no 100 līdz 125 °C, DMSO solvāts dehidratējas apgabalā no 180 līdz 234 °C, tas nozīmē ka DMSO solvāts ir stabilāks. Pēc desolvatācijas abas formas pārvēršas par β -formu (Caira et al., 1996).



1.12. att. Nitrofurantoīna DMF solvāta (pa kreisi) un DMSO solvāta (pa labi) molekulārā struktūra (Caira et al., 1996)

Abu solvātu ievērojamu desolvatācijas temperatūras starpību var izskaidrot ar atšķirībām kristāliskajā struktūrā. Abu solvātu kristāliskajā struktūrā ir kanāli: DMF solvātam tie ir salīdzinoši plašāki nekā DMSO solvātam (1.13. att.). (Caira et al., 1996).

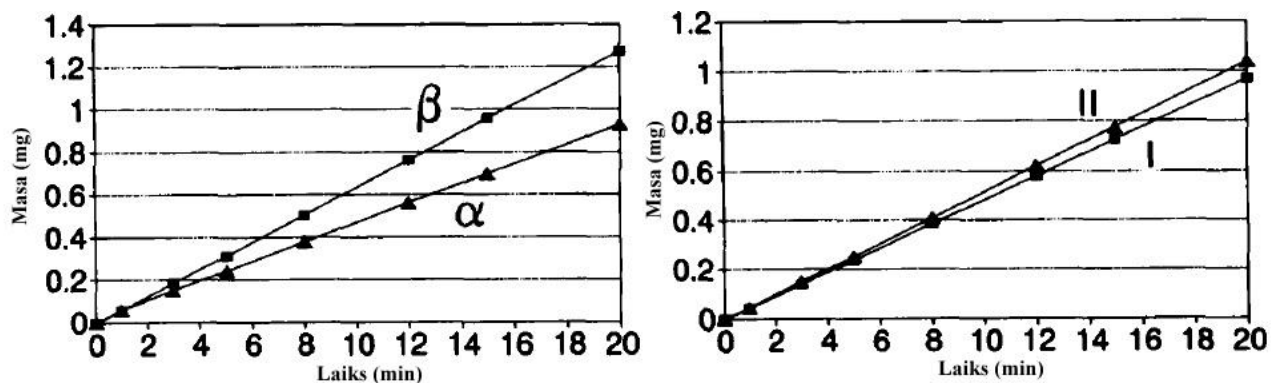


1.13. att. Nitrofurantoīna DMF solvāta (pa kreisi) un DMSO solvāta (pa labi) kristāliskā struktūra (ar melnu ir iezīmētas šķīdinātāju molekulas) (Caira et al., 1996)

Jāņem arī vērā, ka DMF molekulu ar nitrofurantoīnu saista tikai viena ūdeņraža saite, turpretim DMSO ar ūdeņraža saišu palīdzību ir saistīta uzreiz ar divām nitrofurantoīna molekulām. Šo izskaidrojumu apliecina vienkāršs eksperiments, kurā nitrofurantoīnu izšķīdina DMF/DMSO ekvimolārā šķīdumā, rezultātā veidojas tikai DMSO solvāts. Tas nozīmē ka DMSO solvāts ir salīdzinoši stabilāks par DMF solvātu (Caira et al., 1996).

Nitrofurantoīna šķīšanas ātrums ir viens no ļoti svarīgiem parametriem tā lietošanai medicīnā. Šķīšanas ātrums tiek asociēts ar blakus efektu biežumu pacientiem. Kristālu izmērs un polimorfā formā sekmēja ātrai zāļu vielas absorbcijai un lielai C_{max} , izraisot blakusreakcijas. (Caira et al., 1996; Paul et al., 1967). Šo problēmu risināja palielinot vielas kristālu izmēru līdz 74–177 μm , tādā veidā samazinot kopējo virsmas laukumu un samazinot šķīšanas ātrumu. Šīs izmaiņas aktīvās vielas daļiņu lielumā samazina vemšanas incidenci, saglabājot zāļu ārstniecisko efektu, iegūto produktu nosauca *Macrochantin* (*macro-liels*) (Paul et al., 1967). Taču šis blakusefektu gadījumu samazināšanas variants prasa stingru daļiņu izmēru kontroli ražošanas procesā, kas prasa papilduresursus. Taču pastāv arī cits veids kā samazināt zāļu vielas šķīšanas ātrumu.

Zāļu ražošanā lieto nitrofurantoīna β -formu, bet lietojot rūpniecībā citu kristālisko formu var izmainīt šķīšanas ātrumu bez papildnoslodzes ražošanas procesā, kā tas ir kontrolējot daļiņu izmēru.



1.14. att. Vidējās nitrofurantoīna tablešu šķīšanas liknes kuņģa apstākļos (IDR) (Caira et al., 1996)

Šķīšanas ātrumi dažādām tabletētām nitrofurantoīna formām atšķiras (1.14. att.). Tā IDR (*intrinsic dissolution rate*) α formai ir 34,7, β formai – 48,2, I monohidrātam – 36,6 un II monohidrātam – 39,3 $\mu\text{g/mL/min}$ 37 °C temperatūrā (Caira et al., 1996). Acīmredzams, ka β -formai ir vislielākais šķīšanas ātrums, bet starp α , I un II formām statistiski ticamu atšķirību šķīšanas ātrumā nav. Tādā veidā izmantojot zāļu ražošanā α , I vai II formas var samazināt blakusefektu biežumu (Caira et al., 1996).

2. PRAKTISKĀ DAĻA

2.1. Izmantotie reaģenti un aparatūra

Izmantotie reaģenti:

- Nitrofurantoīns, ražots A/S „Olainfarm”;
- Etanols (96 %), ražots SIA „Jaunpagasts Plus”, ķīmiski tīrs;
- Absolūtais etanols, ražots ES, piegādāts no SIA „Enola”, tīrība 99,7%;
- Toluols, ražots ES, piegādāts no SIA „Enola”, analītiski tīrs;
- Etilacetāts, ražots ES, piegādāts no SIA „Enola”, analītiski tīrs;
- Nitrometāns, ražotājs „Alfa Aesar”, tīrība 98%;
- Acetons, ražots ES, piegādāts no SIA „Enola”, tīrība 99,8%;
- Dimetilformamīds, ražots ES, piegādāts no SIA „Enola”, ķīmiski tīrs;
- Dimetilsulfoksīds, ražots ES, piegādāts no SIA „Enola”, ķīmiski tīrs;
- 1,4-Dioksāns, ražots ES, saņemts no AS „Grindeks”, tīrība 99,9%;
- Metiletilketons, ražots ES, piegādāts no SIA „Enola”, ķīmiski tīrs;
- Acetonitrils, ražotājs „Реахим”, ķīmiski tīrs;
- Tetrahidrofurāns, ražots ES, saņemts no A/S „Grindeks”, tīrība 99,96%;
- Izopropanols, ražots ES, saņemts no A/S „Grindeks”, tīrība 99,89%;
- *n*-Propanols, ražotājs “Penta”, tīrība 99,5%.

Izmantotā aparatūra:

- Gaisa termostati „Mettler”
- Mufelkrāsnis „AB Utenol electrotechnika” SNOL 7,2/1100
- Plītiņa ar magnētisko maisītāju *ThermoScientific Cimarec*.
- Laboratorijas sviri *KERN 440-33* (kļūda ±0,01 g).
- Analītiskie sviri *KERN ALS220-4N* (kļūda ±0,1 mg).
- Rentgendifraktometrs *Bruker D8 Advance* (CuK_α rentgenstarojums, λ=1,54180 Å). Tas ir aprīkots ar pozīcijas jutīgo detektoru „*LynxEye*”. Iekārtas darba režīms: *I*=40 mA; *U*=40 kV; K_β filtrs – 0,02 mm bieza Ni folija; diverģences sprauga – 0,6 mm;

pretizklīdes sprauga – 8,0 mm; solis – 0,02 °; soļa ilgums – 0,1 s; difraktoqrammas uzņemšanu veica 2θ apgabalā no 3 līdz 35 °. Paraugu sagatavošana: pietā saberzto paraugu ar stikliņa palīdzību iepresē apmēram 0,4 mm dziļā stikla kivetē.

- Diferenciāli termiskās analīzes/termogravimetrijas (DTA/TG) iekārta *Exstar6000 TG/DTA6300*. Paraugu analīzei izmantoja alumīnija kausiņus, kuros iesvēra apmēram 5 mg vielas. Iekārtas darba režīms: sākuma temperatūra – 25 °C, beigu temperatūra – 300 °C, sildīšanas ātrums – 10 °C/min, izturēšanas laiks beigu temperatūrā – 2 min. Analīzi veica slāpekļa atmosfērā, gāzes plūsma 100 mL/min.
- Infrasarkanais spektrometrs *Perkin Elmer FT-IR/FIR*. Absorbcijas mērījumus veica no 4000 līdz 400 cm^{-1} .
- Orbitālais kratītājs *Biosan OS-10*.

2.2. Nitrofurantoīna kristālisko formu iegūšana

Nitrofurantoīna kristālisko formu iegūšana, izmantojot šķīdinātāja iztvaicēšanas metodi:

Lai iegūtu ar šo metodi nitrofurantoīna kristāliskās formas, uz laboratorijas svāriem nosver vielu un pielej nepieciešamo šķīdinātāju, kuru daudzumi ir norādīti 2.1. tabulā.

2.1. tabula

Nitrofurantoīna kristālisko formu sintēzei izmantotie šķīdinātāji, to daudzums un nitrofurantoīna masa

№	Nitrofurantoīna masa, g	Šķīdinātājs	Šķīdinātāja tilpums, mL
1.	0,90	Dimetilformamīds	22
2.	0,80	Dimetilsulfoksīds	10
3.	0,50	Acetons:H ₂ O (1:1)	100
4.	0,50	Acetons:H ₂ O (2:1)	200
5.	0,10	Etanols	40
6.	0,10	Acetonitrils	10
7.	0,10	Nitrometāns	5
8.	0,10	Acetons	20
9.	0,10	Tetrahidrofurāns	20
10.	0,10	Etilacetāts	20
11.	0,10	Izopropanols	65
12.	0,10	<i>n</i> -Propanols	40
13.	0,10	1,4-Dioksāns	10
14.	1,00	Dimetilformamīds	4

Iegūto maisījumu silda līdz viela pilnīgi izšķīst, veidojot dzidru šķīdumu. Šo šķīdumu ātri nofiltrē, lai atdziestot tajā neveidotos nogulsnes. Nofiltrēto šķīdumu kristalizē tumšā vietā istabas temperatūrā (22 °C). Izveidojušās nogulsnes nofiltrē un žāvē istabas temperatūrā (22 °C). Iegūtos produktus analizē ar pulvera rentgendifraktometrisko metodi un ja nepieciešams, tad tos raksturo arī ar DTA/TG un infrasarkanā spektrometriju.

Nitrofurantoīna kristālisko formu iegūšana ar šķīdinātāja maiņas metodi:

Šajā metodē izmantotā nitrofurantoīna un šķīdinātāju daudzumi ir norādīti 2.2. tabulā.

2.2. tabula

Nitrofurantoīna kristālisko formu sintēzei izmantotie šķīdinātāji, to daudzumi un nitrofurantoīna masa

№	Nitrofurantoīna masa, g	Šķīdinātājās 1 un tā tilpums	Šķīdinātājās 2 un tā tilpums
1.	0,10	5 mL nitrometāna	10 mL acetona
2.	0,10	5 mL nitrometāna	10 mL etanola
3.	0,60	5 mL dimetilsulfoksīda	5 mL H ₂ O
4.	0,10	3 mL dimetilformamīda	12 mL etanola
5.	0,60	3 mL dimetilformamīda	6 mL etanola
6.	0,60	5,5 mL dimetilsulfoksīda	16 mL etanola
7.	0,50	15 mL dimetilformamīda	55 mL etanola
8.	0,60	5 mL dimetilformamīda	12 mL etanola
9.	1,00	7 mL dimetilformamīda	32 mL etanola

Attiecīgo vielas daudzumu nosver un karsējot, izšķīdina šķīdinātājā 1. Iegūto dzidru šķīdumu nofiltrē un pielej tam klāt šķīdinātāju 2. Šķīdinātāja maiņas rezultātā izkrīt nogulsnes, kuras atstāj kristalizēties istabas temperatūrā (22 °C). Nogulsnes nofiltrē un žāvē 22 °C temperatūrā. Iegūtos produktus analizē ar pulvera rentgendifraktometrisko metodi un ja nepieciešams, tad tos raksturo arī ar DTA/TG un infrasarkanā spektrometriju.

2.3. Nitrofurantoīna kristālisko formu stabilitātes noteikšana dažādos šķīdinātājos

Stabilitāte dažādos šķīdumos tika noteikta sekojošām nitrofurantoīna kristāliskajām formām: α -formai, β -formai, DMSO solvātam, DMF I solvātam, monohidrātam II. Izmantotie šķīdinātāji katrai nitrofurantoīna kristāliskajai formai ir norādīti 2.3. tabulā.

2.3. tabula

Nitrofurantoīna kristālisko formu suspendēšanai izmantotie šķīdinātāji

№	Šķīdinātājs	Nitrofurantoīna kristāliskā forma				
		α -forma	β -forma	II monohidrāts	DMSO solv.	DMF I solv.
1.	Etilacetāts	×	×	×	×	×
2.	Metiletilketons	–	–	×	–	–
3.	Toluols	×	×	×	×	×
4.	Acetons	×	×	×	×	×
5.	Acetonitrils	×	×	×	×	×
6.	Nitrometāns	×	×	×	×	×
7.	Etanols	×	×	×	×	×
8.	Izopropanols	×	–	×	×	–
9.	1,4-Dioksāns	–	–	×	–	–

Monohidrāta II un DMSO solvāta suspendēšanai nosvēra 0,15 g vielas un pievienoja 5 mL attiecīgā šķīdinātāja. Savukārt α -formas, β -formai, DMF solvātam un β -formai suspendēšanai nosvēra 0,10 g vielas un pievienoja 3 mL šķīdinātāja. Suspendēšanu veica 48 stundas istabas temperatūrā (22 °C). α -formas gadījumā suspendēšanu veica arī 12 dienas tajā pašā temperatūrā. Papildus tika veikti atsevišķi suspendēšanas eksperimenti, kuru apstākļi ir norādīti 2.4. tabulā.

Nitrofurantoīna suspendēšana dažādos šķīdinātājos dažādās temperatūrās

№	Nitrofurantoīna	Šķīdinātājās un tā	Suspendēšanas	Suspendēšanas
1.	1,00	10 mL acetona	1	40
2.	1,00	10 mL etanola	1	20
3.	1,00	10 mL etanola	1	50
4.	0,90	10 mL etanola	3	50
5.	1,00	10 mL etanola	6	70
6.	1,00	10 mL abs. etanola	2	55
7.	1,00	15 mL H ₂ O	1	22
8.	0,10	4 mL 1,4-dioksāna	2	45

Visos gadījumos pēc suspendēšanas nogulsnes nofiltrēja un ļāva tām izžūt istabas temperatūrā (22 °C). Paraugu analīzei izmantoja pulvera rentgendifrakcijas metodi.

2.4. Nitrofurantoīna α un β formu maisījuma termiskās stabilitātes pārbaude

Lai pagatavotu α un β formu maisījumu attiecībā 1:1, uz analītiskajiem svāriem nosver 0,05 g katras formas, samaisa vielas pietā un iegūto maisījumu iepresē kivetē, vai ieber svērglāzītē. Kivetes ievietoja gaisa termostatā ar temperatūru 70, 110 un 180 °C. Svērglāzītēs esošajam abu formu maisījumam pievienoja dažus pilienus šķīdinātāja (etanolu un acetonitrilu), lai izveidotos suspensija, kuru ievietoja gaisa termostatos ar 30 un 50 °C temperatūru. Viens paraugs svērglāzītē ACN suspensijas veidā tika ievietots gaisa termostatā ar –5 °C temperatūru. α un β formu maisījumi attiecībā 1:1 tika ievietoti arī 70 un 180 °C temperatūrā. Lai paātrinātu fāžu pāreju, ik pēc 2 minūtēm paraugiem virsū pilināja acetonitrilu. Divas kivetes ar paraugu tika ieliktas 180 °C temperatūrā un tām ik pēc 2 min vienai pilināja dejonizētu ūdeni, otrai – etanolu.

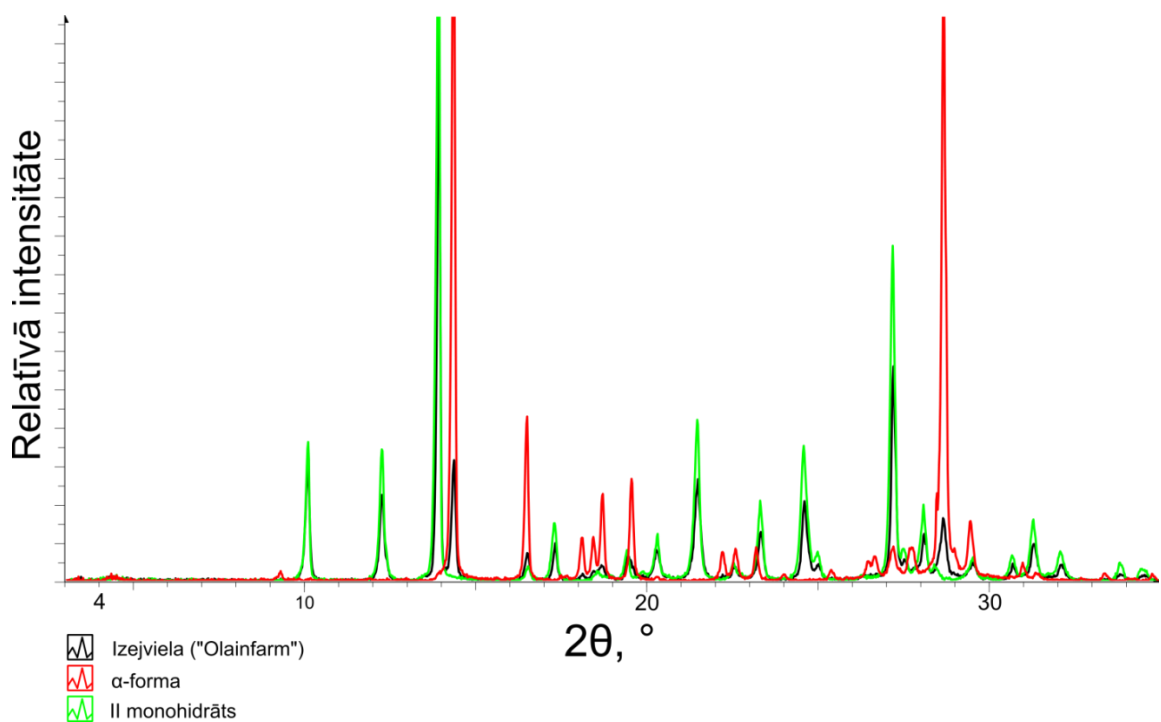
2.5. Nitrofurantoīna pseidopolimorfo formu stabilitātes pārbaude

DMSO solvāta pulveris tika iepresēts kivetē un ievietots gaisa termostatā ar temperatūru 200 °C. DMSO/H₂O jauktā solvāta pulveris tika iepresēts kivetē un ievietots krāsnī ar temperatūru 190 °C. DMSO pulveris iepresēts kivetē tika ievietots eksikatorā ar relatīvo gaisa mitrumu 79% 22 °C temperatūrā. DMSO/H₂O solvāta pulveris tika iepresēts kivetē un atstāts gaisā 22 °C temperatūrā. DMSO solvāta un DMF I solvāta pulveris tika iepresēts kivetē un atstāts gaisā 22 °C temperatūrā. Ik pēc noteikta laika (15 min, 30 min, 1 stundas, 1 dienas, 2–3 dienām, 1 nedēļas, 2 nedēļām, 1 mēneša) paraugus analizēja, izmantojot pulvera rentgendifrakcijas metodi.

3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

3.1. Nitrofurantoīna kristālisko formu iegūšana

Nitrofurantoīna kristālisko formu iegūšanai tika izmantots šīs vielas pulveris, kas ražots A/S „Olainfarm”. Analizējot tā sastāvu ar pulvera rentgendifrakcijas metodi, tika konstatēts, ka tas sastāv no divu nitrofurantoīna kristālisko formu maisījuma: β -formas un monohidrāta II (3.1. att.).



3.1. att. Nitrofurantoīna („Olainfarm”) pulvera rentgendifrakcijas ainu salīdzinājums ar β -formas un monohidrāta II rentgendifrakcijas ainām

Nitrofurantoīna kristālisko formu meklējumus veica, izmantojot divas dažādas kristalizācijas metodes: šķīdinātāja iztvaicēšanas metodi un šķīdinātāja maiņas metodi. Kristalizācijā iegūto produktu rentgendifraktogrammas salīdzināja ar literatūrā (Caira et al., 1996) dotajām un pēc refleksu izvietojšanās uz 2θ ass veica kristāliskās formas identificēšanu. Ja iegūtā kristāliskā forma literatūrā netika aprakstīta, veikta tās papildus raksturošana ar DTA/TG analīzi un infrasarkanā spektrometriju.

Kā redzams no 3.1. tabulas datiem, pārkristalizējot nitrofurantoīnu šķīdinātāja iztvaicēšanas ceļā, ir izdevies iegūt, gan zināmas nitrofurantoīna formas (α -forma, β -forma, monohidrāts II, DMSO solvāts, DMF II solvāts), kā arī jauna forma (DMF solvāts I). Šī pārkristalizācijas metode ir diezgan ilga un atkarīga no šķīdinātāja iztvaikošanas ātruma ($T_{virš}$), taču dažu kristālisko formu izveidei ir nepieciešama lēna kristalizācija.

3.1. tabula

Nitrofurantoīna kristāliskās formas, kas iegūtas kristalizējot ar šķīdinātāja iztvaicēšanas metodi istabas temperatūrā (22 °C)

№	Šķīdinātājs	Fāžu sastāvs (noteikts ar PXRD)
1.	Dimetilformamīds ¹	DMF solvāts I un DMF solvāts II
2.	Dimetilsulfoksīds	DMSO solvāts
3.	Acetons:H ₂ O (1:1)	monohidrāts II
4.	Acetons:H ₂ O (2:1)	monohidrāts II
5.	Etanols	α -forma
6.	Acetonitrils	β -forma
7.	Nitrometāns	β -forma
8.	Acetons	β -forma
9.	Tetrahidrofurāns	α + β maisījums
10.	Etilacetāts	β -forma
11.	Izopropanols	α + β maisījums
12.	<i>n</i> -Propanols	α -forma
13.	1,4-Dioksāns	α -forma
14.	Dimetilformamīds ²	DMF solvāts I

¹ Kristalizācijā izmantoti NF 0,9 g un 22 mL DMF

² Kristalizācijā izmantoti NF 1,0 g un 4 mL DMF

Tīru DMF II solvātu ir iespējams iegūt, nitrofurantoīna DMF šķīdumu kristalizējot 50 °C temperatūrā. Ja nitrofurantoīna kristalizāciju veic no piesātinātā DMF šķīduma (eksp. №14.) veidojas DMF I solvāts. Tika konstatēts ka abi DMF solvāti atšķiras pēc kristālu morfoloģijas. DMF II solvāts kristalizējas prizma veida kristālu formā. Savukārt DMF solvāts I veido adatveida kristālus. DMF II forma nekristalizējas no piesātināta DMF šķīduma iespējami tāpēc, ka tas kristāla kristalizēšanas ātrums lēnāks par DMF I solvāta kristalizēšanas ātrumu.

Pārkristalizējot nitrofurantoīnu ar šķīdinātāja maiņas metodi, iegūtas kristāliskās formas ir apkopotas 3.2 tabulā. Tika iegūtas jau iepriekš zināmas formas (α -forma, β -forma, DMSO solvāts) un viena jauna forma (DMSO/H₂O solvāts).

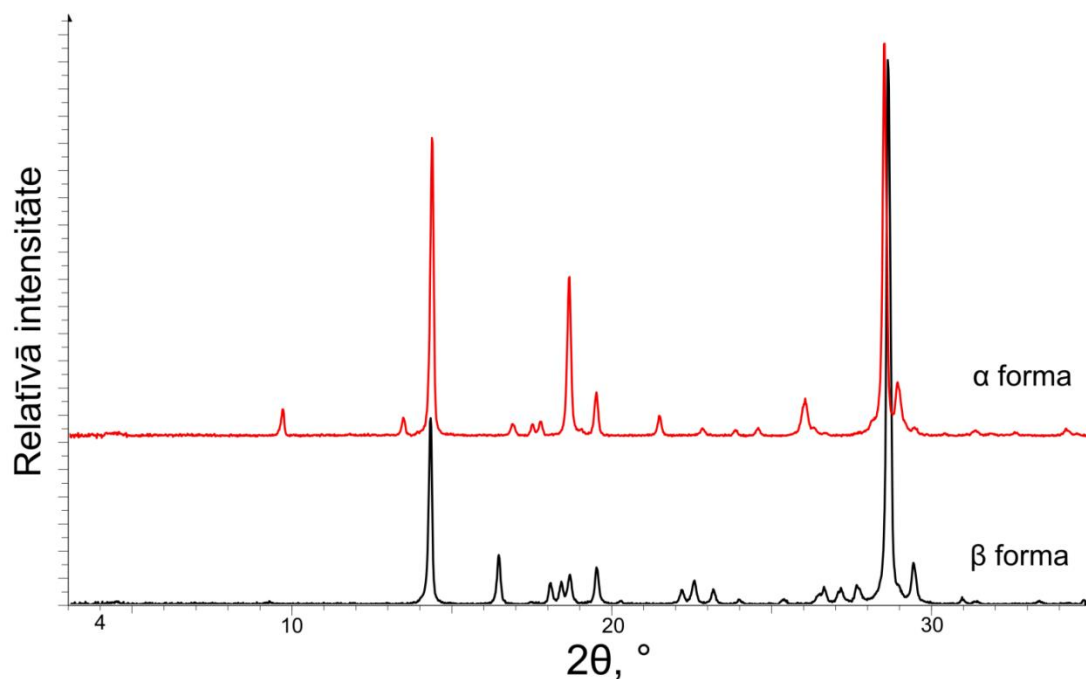
Nitrofurantoīna kristāliskās formas, kas iegūtas kristalizējot ar šķīdinātāja maiņas metodi istabas temperatūrā (22 °C)

№	Šķīdinātāji un to tilpumu attiecība	Fāžu sastāvs (noteikts ar PXRD)
1.	Nitrometans/acetons (1:2)	β-forma
2.	Nitrometāns/metanols (1:2)	α-forma
3.	Dimetilsulfoksīds/H ₂ O (1:1)	DMSO solvāts
4.	Dimetilformamīds/etanols (1:4)	α-forma
5.	Dimetilformamīds/etanols (1:2)	DMF solvāts I
6.	Dimetilsulfoksīds/etanols (5,5:16)	DMSO solvāts
7.	Dimetilformamīds/etanols (15:55)	α (nedaudz)+DMF solv. I
8.	Dimetilformamīds/etanols (5:12)	DMF solvāts I
9.	Dimetilformamīds/etanols (7:32)	α-forma

Šī jauna kristāliskā forma tika iegūta, pielejot ūdeni filtrātam, kas palika pēc nogulšņu filtrēšanas kristalizācijas eksperimentā № 2. (skat. 3.1. tab.).

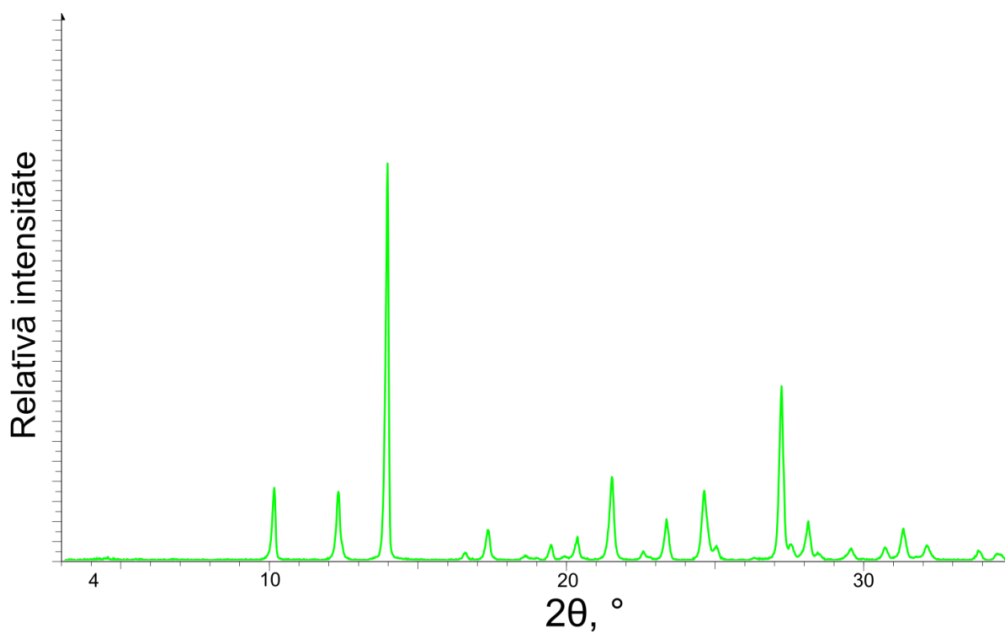
Šķīdinātāja maiņas kristalizācijas metode ir ātrāka par šķīdinātāja iztvaicēšanas metodi. Tas skaidrojams ar to, ka pielejot šķīdinātāju, kurā nitrofurantoīns šķīst slikti, samazinās tā šķīdība un rezultātā ātri izkrīt nogulsnes.

No veiktajiem kristalizācijas eksperimentiem izriet, ka nitrofurantoīns pastāv divu polimorfo formu (α un β) veidā. To rentgendifrakcijas ainas (3.2. att.) atbilst publikācijā (Caira et al., 1996) dotajām.



3.2. att. Nitrofurantoina α un β polimorfo formu rentgendifraktogramma

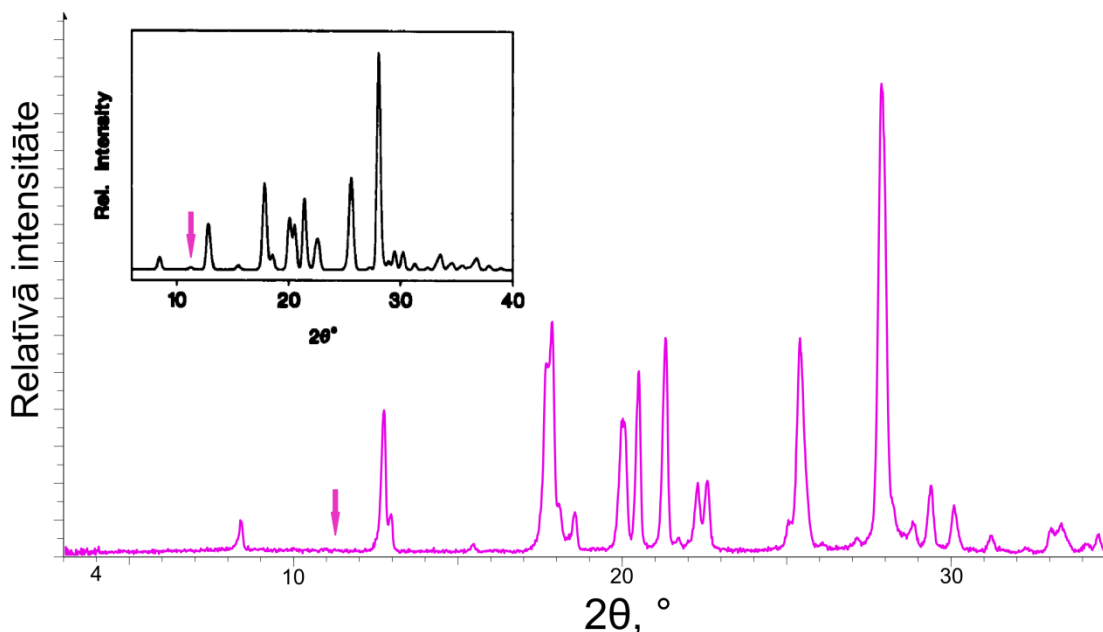
Veicot nitrofurantoina monohidrāta iegūšanu (kristalizācija № 3. un 4., skat. 3.1. tab.), kuram literatūrā (Caira et al., 1996) ir aprakstītas divas polimorfās formas (I un II), izdevās iegūt tikai formu II. Iegūtā monohidrāta II rentgendifrakcijas aina (3.3. att.) sakrīt ar publicēto.



3.3. att. Nitrofurantoina monohidrāta II rentgendifraktogramma

I monohidrāts netika iegūts, jo tā ir nestabila nitrofurantoīna hidrāta polimorfā forma un kristalizācijas rezultātā visticamāk pārvēršas par daudz stabilāku monohidrātu II.

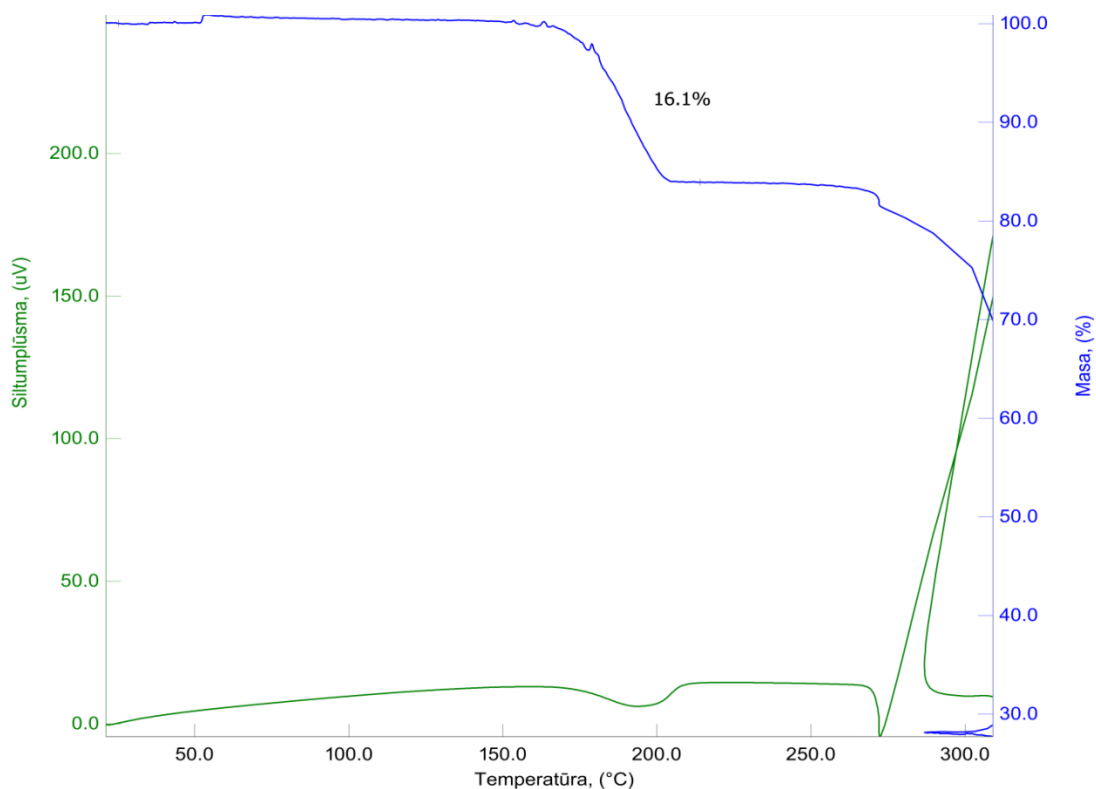
Iegūtā DMSO solvāta rentgendifraktogramma daļēji atbilst publicētajai (Caira et al., 1996). Publikācijā atrodamā rentgendifrakcijas ainā parādās viens reflekss pie $2\theta=11,2^\circ$, kas savukārt nav redzams šī darba ietvaros iegūtā DMSO solvāta rentgendifraktogrammā (3.4. att.).



3.4. att. DMSO solvāta rentgendifraktogrammas salīdzinājums ar publicēto

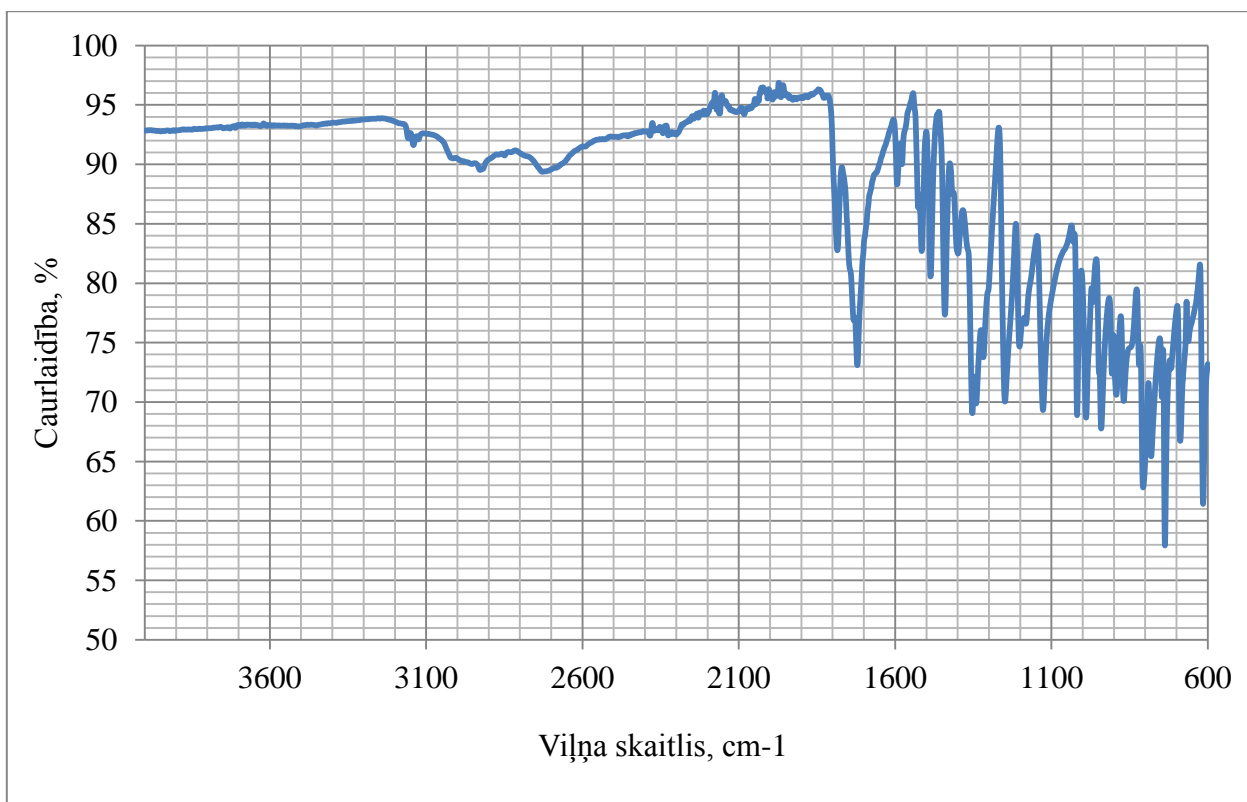
Iespējams, ka šis reflekss pieder kādam nezināmam piemaisījumam. Otrs izskaidrojums tam ir tas, ka autori ieguva citu DMSO solvātu, tad šī darba pētījumos ir iespējams iegūta jauna nitrofurantoīna DMSO forma. Tas nozīmētu, ka eksistē divas ļoti tuvas pēc uzbūves DMSO solvāta formas. Lai apstiprinātu, ka dotās solvātu formas ir atšķirīgas, tika veikta DTA/TG analīze.

No DTA/TG analīzes datiem (3.6. att.) ir skaidri redzams ka pētāmais paraugs ir solvāts. To apstiprina 16,1% masas zudums termogravimetrijas līknē, kā arī desolvatācijas endoterma, kas atbilst DMSO viršanas temperatūrai $T_{\text{virš}}=189^\circ\text{C}$.



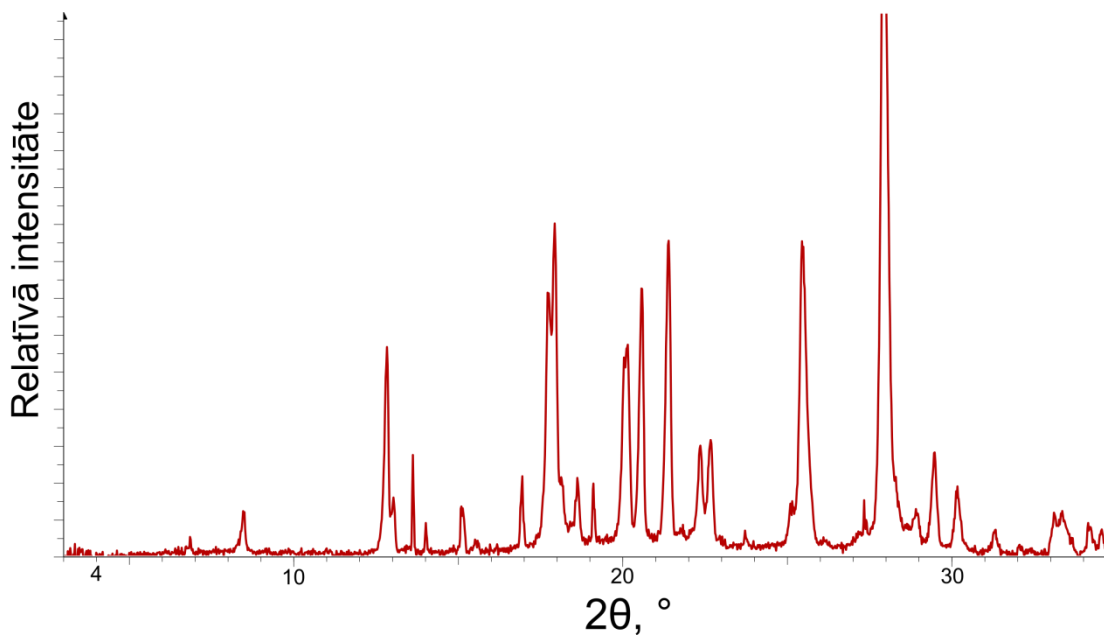
3.6. att. Nitrofurantoina DMSO solvāta DTA/TG līkne

Iegūtie nitrofurantoina DMSO solvāta DTA/TG analīžu rezultāti atšķiras no publikācijā (Caira et al., 1996) dotajiem. DTA līknē nesakrīt DMSO desolvatācijas endotermas temperatūras apgabals: publikācijā tas ir no 180 līdz 234 °C, šajā darbā iegūtajā ir no 163 līdz 211 °C. Izrēķinātais masas zudums pēc publikācijas datiem ir 14,60%, kas atbilst 2:1 nitrofurantoina DMSO solvātam. Izrēķinātais masas zudums no iegūtā solvāta DTA/TG līknes ir 16,10% kas atbilst 1,8:1 nitrofurantoina DMSO solvātam. No tā var secināt, ka iespējams pastāv divas dažādas DMSO solvāta formas. Taču par iemeslu desolvatācijas temperatūru atšķirībai var arī kalpot iepriekšminētais nezināmais piemaisījums. Tas var būt neredzams DTA/TG līknē, ja piemērām, piemaisījuma termiskais efekts pārklājas ar pētāmā savienojuma desolvatācijas efektu, tāpēc to nevar pamanīt. Diemžēl Caira et al. npublicē DMSO solvāta infrasarkanā spektra datus, kurus varētu salīdzināt ar šajā darbā iegūto (3.7. att.).



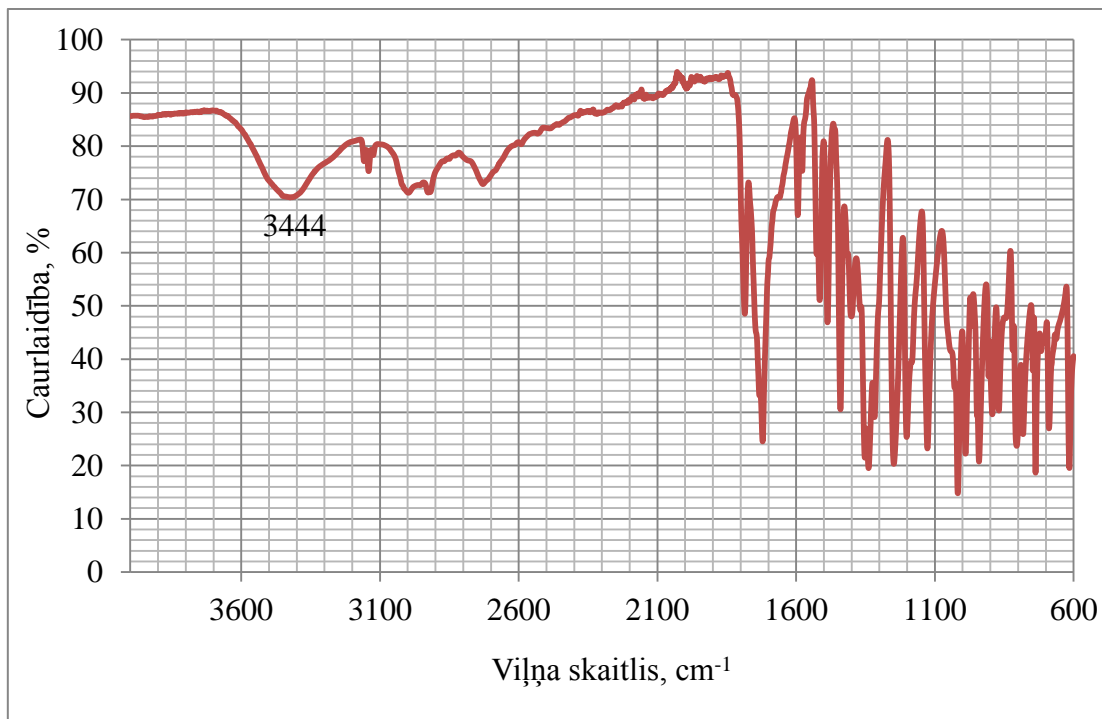
3.7. att. Nitrofurantoina DMSO solvāta infrasarkanais spektrs

Veicot nitrofurantoina kristalizāciju no DMSO un ūdens ar šķīdinātāja maiņas metodi, tika iegūta literatūrā līdz šim neaprakstīta kristāliskā forma, kuras rentgendifrakcijas aina ir dota 3.8. attēlā.



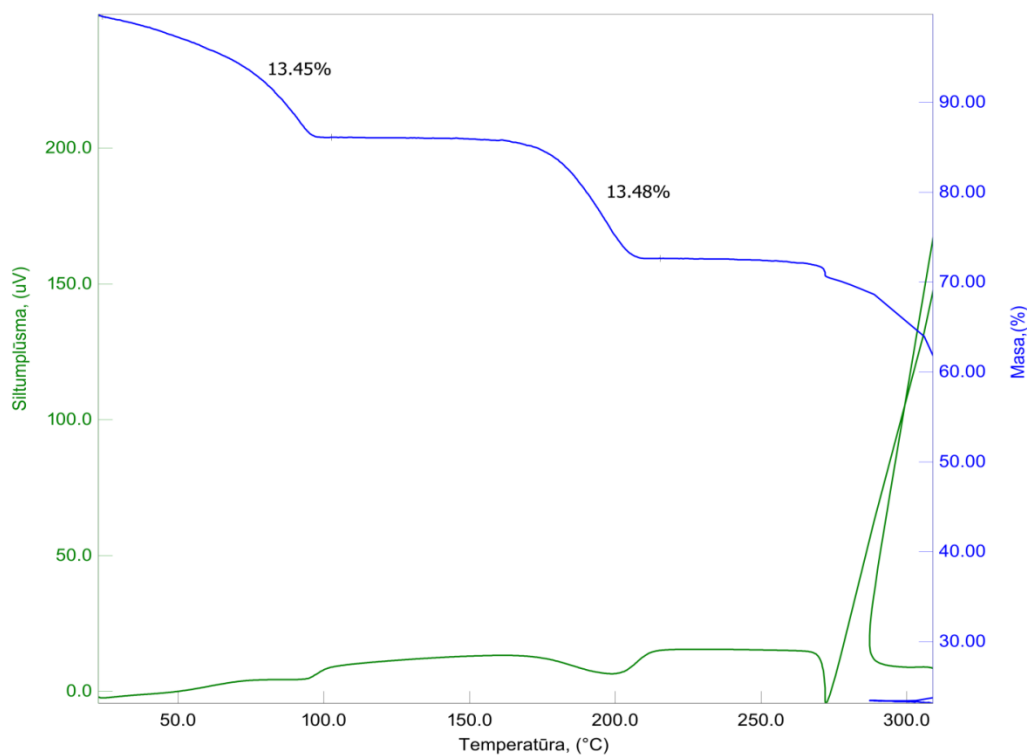
3.8. att. Nitrofurantoina DMSO/H₂O solvāta rentgendifrakcijas aina

Dotās formas raksturīgākie rentgendifrakcijas refleksi ir pie leņķiem $2\theta=13,6$; $14,0$ un $17,0^\circ$. Lai noskaidrotu šīs formas piederību pie polimorfajām vai pseidopolimorfajām, tika veikta DTA/TG analīze un infrasarkanā spektrometriskā analīze. Savienojuma infrasarkanajā spektrā (3.9. att.) ir redzama izteikta josla pie 3444 cm^{-1} , kas atbilst $-\text{OH}$ funkcionālai grupai.



3.9. att. Nitrofurantoina DMSO/H₂O solvāta infrasarkanais spektrs

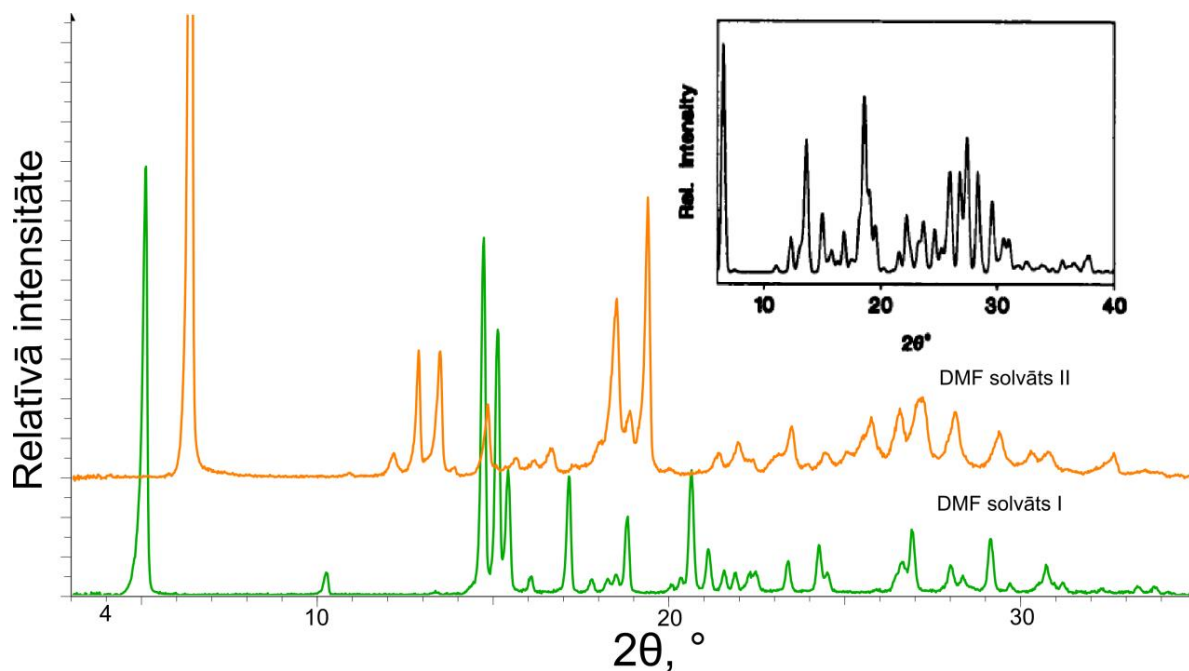
No tā var secināt, ka šī solvāta kristāliskajā struktūrā atrodas ūdens molekulas. Savienojuma DTA/TG analīzes rezultāti ir parādīti 3.10. attēlā.



3.10. att. Nitrofurantoina DMSO/H₂O solvāta DTA/TG līkne

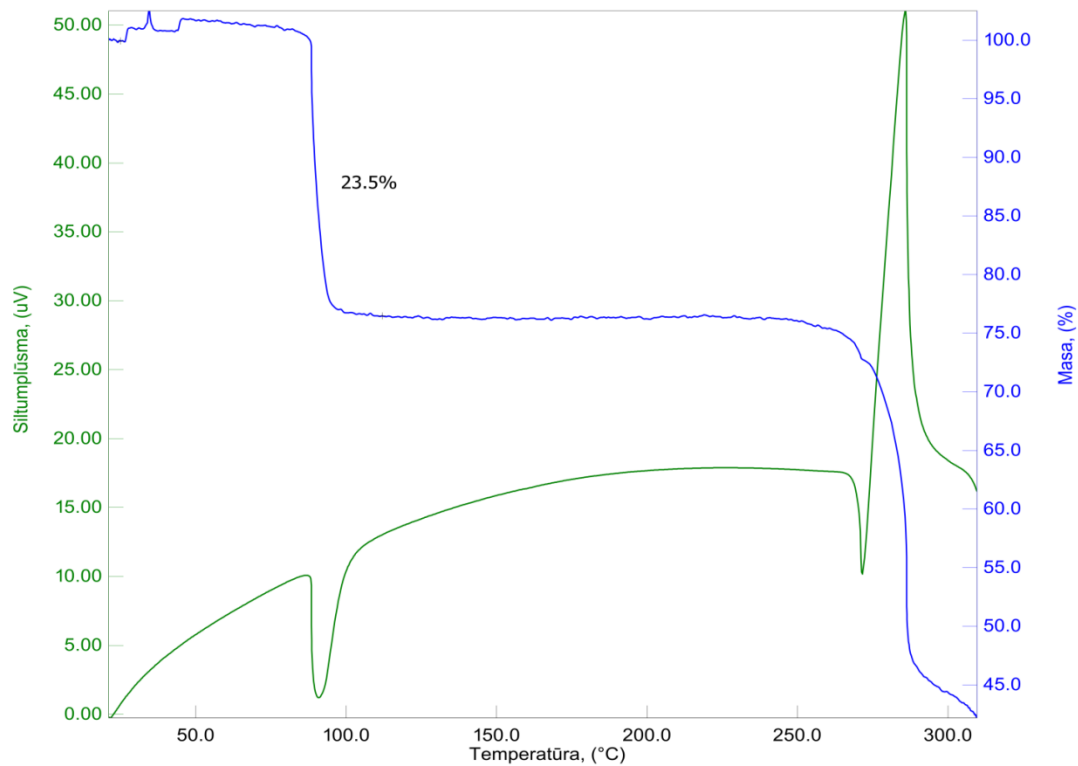
Tajos ir redzamas divas desolvatācijas endotermas un tiem atbilstoši masas zudumi. Pirmais masas zudums (13,45%) atbilst dehidratācijai, kura noris temperatūras apgabalā no 25 līdz 100 °C. Otrais masas zudums (13,48%) atbilst DMSO desolvatācijai, kura notiek temperatūras apgabalā no 167 līdz 213 °C. No termogravimetrijas datiem var secināt, ka savienojuma stehiometriskā attiecība nitrofurantoina:DMSO:H₂O ir 1,8:1:4,5.

Kristalizējot nitrofurantoinu no DMF, tika iegūti divi atšķirīgi produkti: DMF solvāts I un DMF solvāts II. DMF solvātu I un II difrakcijas aina, kā arī literatūrā (Caira et al., 1996) publicētā difrakcijas aina ir atainotas 3.11. attēlā.

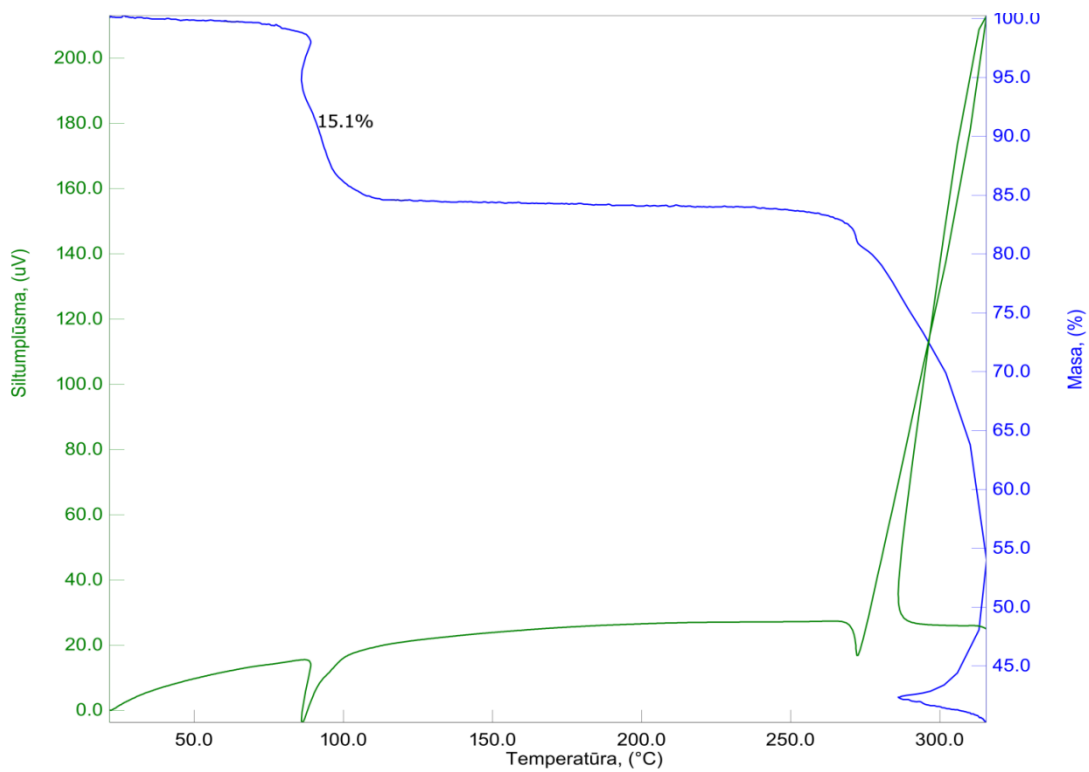


3.11. att. Nitrofurantoina DMF solvāta I un DMF solvāta II rentgendifraktogrammas salīdzinot ar publicēto

Kā redzams, DMF solvāta I difrakcijas aina nesakrīt ar publicēto, kas nozīmē, ka iegūta jauna kristāliskā forma. DMF II solvāta difrakcijas aina ir līdzīga publicētai, taču lielākā daļa refleksu ir nedaudz nobīdīta gan uz mazākiem, gan uz lielākiem difrakcijas leņķiem. Turklāt jāņem vērā, ka publicētās difrakcijas ainas kvalitāte ir diezgan sliktā, kas neļauj to precīzi salīdzināt ar iegūtā parauga difrakcijas ainu. Salīdzinot savā starpā DMF I un II solvātus arī ir novērojamas atšķirības rentgendifrakcijas ainās. Lai raksturotu abu iegūto DMF solvātu formas, tika veikta DTA/TG analīze. DMF solvāta DTA/TG līknē (3.12. att.) desolvatācijas process notiek temperatūras apgabalā no 85 līdz 103 °C.



3.12. att. Nitrofurantoina DMF I solvāta DTA/TG līkne

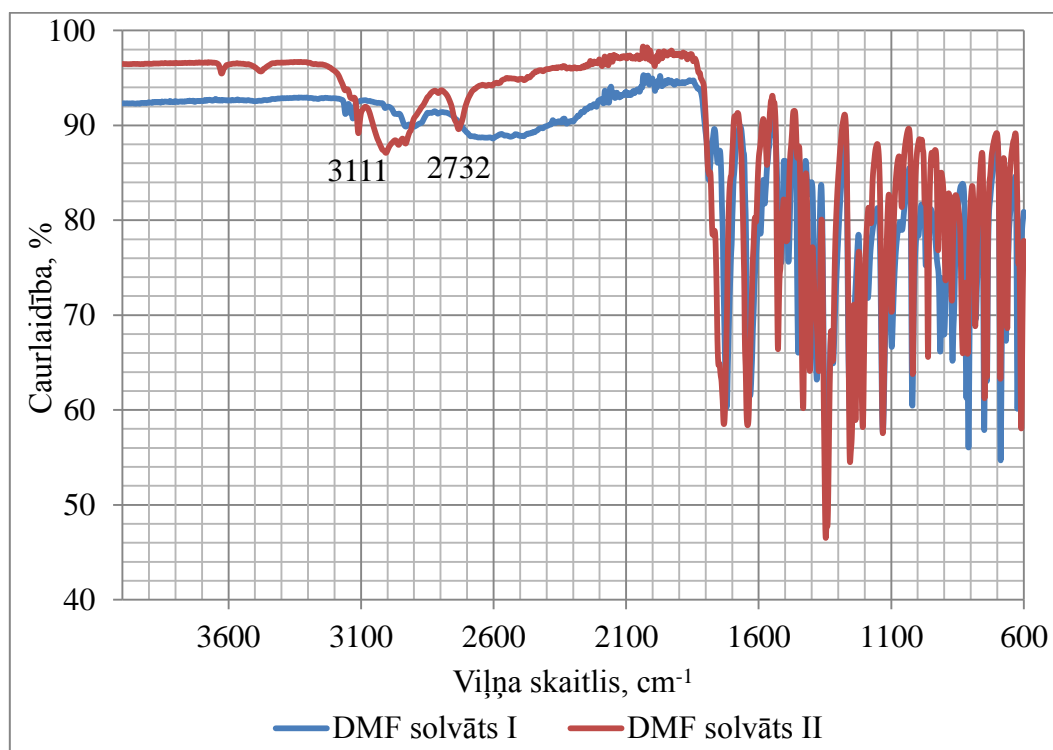


3.13. att. Nitrofurantoina DMF II solvāta DTA/TG līkne

Izrēķinātais desolvatācijas masas zudums ir 23,50%, kas atbilst DMF un nitrofurantoīna stehiometrijai 1:1. Šī savienojuma desolvatācijas temperatūra atšķiras no publikācijā dotas (Caira et al., 1996). Publicētam DMF solvātam desolvatācijas noris temperatūras robežās no 109 līdz 139 °C un masas zudums ir 23,00%, kas atbilst publikācijā norādītai nitrofurantoīna un DMF stehiometrijai 1:1 (Caira et al., 1996). No tā var secināt, iespējams iegūtais DMF I solvāts ir nitrofurantoīna jauna kristāliskā forma, taču, lai to pilnībā apstiprinātu ir vajadzīgi papildus pētījumi.

DMF II solvāta DTA līkne ir līdzīga DMF I solvāta DTA līknei. Desolvatācija notiek temperatūras apgabalā no 85 līdz 110 °C, taču ar mazāku masas zudumu (15,10%). Tas atbilst nitrofurantoīna un DMF stehiometrijai 1,8:1. Spriežot pēc DMF I un II solvātu DTA/TG datiem, abas šīs formas atšķiras no publicētā DMF solvāta.

Lai apstiprinātu, ka DMF I solvāts un DMF II solvāts ir atšķirīgas kristāliskās formas, tiem tika uzņemti infrasarkanie spektri (3.14. att.).



3.14. att. Nitrofurantoīna DMF I solvāta un DMF II solvāta infrasarkanais spektrs

No abu solvātu spektrāliem datiem ir redzams, ka starp tiem pastāv atšķirības funkcionālo grupu reģionā. DMF II solvāta spektrā parādās divas joslās pie 3111 un 2732 cm^{-1} , kuras DMF I solvāta spektrā nenovēro. Tas apstiprina to ka ir iegūtas divas atšķirīgas nitrofurantoīna DMF pseidopolimorfās formas.

3.2. Nitrofurantoīna kristālisko formu stabilitāte šķīdumos

Lai noteiktu nitrofurantoīna kristālisko formu stabilitāti šķīdumā, tikai veikta to suspendēšana dažādos organiskos šķīdinātājos ar atšķirīgu polaritāti 22 °C temperatūrā. Iegūto fāžu sastāvu noteica ar pulvera rentgendifraktomerisko metodi. 3.3. tabulā ir apkopoti nitrofurantoīna DMSO solvāta un α -formas suspendēšanas rezultāti.

3.3. tabula

Nitrofurantoīna DMSO solvāta un α -formas suspendēšanas rezultāti 22 °C temperatūrā

Šķīdinātājs	Fāžu sastāvs, kas iegūts, suspendējot DMSO solvātu 48 h	Fāžu sastāvs, kas iegūts, suspendējot α -formu 48 h	Fāžu sastāvs, kas iegūts, suspendējot α -formu 12 dienas
Etilacetāts	DMSO solvāts	α -forma	α -forma
Toluols	DMSO solvāts	α -forma	α -forma
Acetons	DMSO solvāts	α -forma	α -forma
Acetonitrils	DMSO solvāts	α -forma	α -forma
Nitrometāns	DMSO solvāts	α -forma	α -forma
Etanols	DMSO solvāts+ α -forma	α -forma	α -forma
Izopropanols	DMSO solvāts	α -forma	α -forma

No DMSO solvāta suspendēšanas rezultātiem var redzēt ka savienojums ir stabils 48 stundas visos izmēģinātos šķīdinātājos, izņemot etanolu. Etanolā notiek DMSO solvāta daļēja fāžu pāreja par α -formu. Iespējams, veicot suspendēšanu ilgāk, šī fāžu pāreja notiktu līdz galam.

Nitrofurantoīna α -forma paliek nemainīga, to suspendējot dotajos šķīdinātājos 48 stundas, kā arī 12 dienas. No tā var secināt, ka šajos apstākļos α -forma ir stabila, vai arī tās pāreja par citu kristālisko formu notiek ļoti lēni. Lai to apstiprinātu, nepieciešami papildus eksperimenti ilgākā laika posmā.

3.4. tabulā ir redzami nitrofurantoīna DMF I solvāta un β -formas suspendēšanas rezultāti 22 °C temperatūrā.

Nitrofurantoīna DMF solvāta I un β formu suspendēšanas rezultāti 22 °C temperatūrā

Šķīdinātājs	Fāžu sastāvs, kas iegūts, suspendējot DMF I solvātu 48 h	Fāžu sastāvs, kas iegūts, suspendējot β -formu 48 h
Etilacetāts	β -forma	β -forma
Toluols	$\alpha+\beta$ (nedaudz) formas	β -forma
Acetons	β -forma	β -forma
Acetonitrils	β -forma	β -forma
Nitrometāns	β -forma	β -forma
Etanols	α -forma	β -forma

DMF I solvātam visos gadījumos notika fāžu pāreja par polimorfo formu vai divu polimorfo formu maisījumu. DMF I solvāts salīdzinājumā ar DMSO solvātu dažādos šķīdinātājos ir nestabilāks. Tas skaidrojams ar to, ka starp DMF un nitrofurantoīna molekulām ir salīdzinoši vājākas saites nekā starp DMSO un nitrofurantoīnu (par to liecina arī DMF I solvāta zemāka desolvatācijas temperatūra). Tāpat kā DMSO solvāta gadījumā, no DMF I solvāta etanola klātbūtnē veidojas nitrofurantoīna α -forma. Toluola ietekmē DMF I solvāts pāriet par α un β formu maisījumu, kurā α polimorfā forma ir pārākumā.

Veicot nitrofurantoīna β -formas suspendēšanu dotajos šķīdinātājos (3.4. tab.), tā līdzīgi kā α -forma visos gadījumos paliek nemainīga. Tas var nozīmēt, ka β -forma šajos apstākļos ir stabila, vai arī to, ka tās fāžu pārejas kinētika ir pārāk lēna.

Suspendējot nitrofurantoīna monohidrātu II dažādos šķīdinātājos 22 °C temperatūrā, tajos visos novēro savienojuma fāžu pāreju, izņemot toluolā (3.5. tab.).

Nitrofurantoīna monohidrāta II suspendēšanas rezultāti 22 °C temperatūrā

Šķīdinātājs	Fāžu sastāvs pēc suspendēšanas 48 h
Etilacetāts	$\alpha+\beta$ formas
Metiletilketons	β -forma
Toluols	monohidrāts II
Acetons	β -forma
Acetonitrils	β -forma
Nitrometāns	β -forma
Etanols	$\alpha+\beta$ (nedaudz) forma
Izopropanols	$\alpha+\beta$ (nedaudz) forma
1,4-Dioksāns	$\alpha+\beta$ (30%) forma

To varētu izskaidrot ar toluola vismazāko dipola momentu (0,36 D) salīdzinot ar pārējiem šķīdinātājiem. Rezultātā tas iedarbojas uz monohidrāta II kristāliem vāji un „neizstumj” ūdens molekulu no kristāliskās struktūras, jo ir hidrofobs. Etanola klātbūtnē līdzīgi kā DMSO un DMF solvātu suspendēšanā novēro α formas veidošanos, taču šajā gadījumā maisījumā ar β -formu. α un β formas maisījums veidojas arī etilacetāta, izopropanola un 1,4-dioksāna šķīdumos.

Suspendēšanu dažādos šķīdinātājos veica arī saņemtajam no „Olainfarm” nitrofurantoīna pulverim, kas ir β -formas un monohidrāta II maisījums. Kā redzams no 3.6. tabulas datiem, fāžu pāreju ietekmē ne tikai šķīdinātājs, bet arī suspendēšanas ilgums un temperatūra.

3.6. tabula

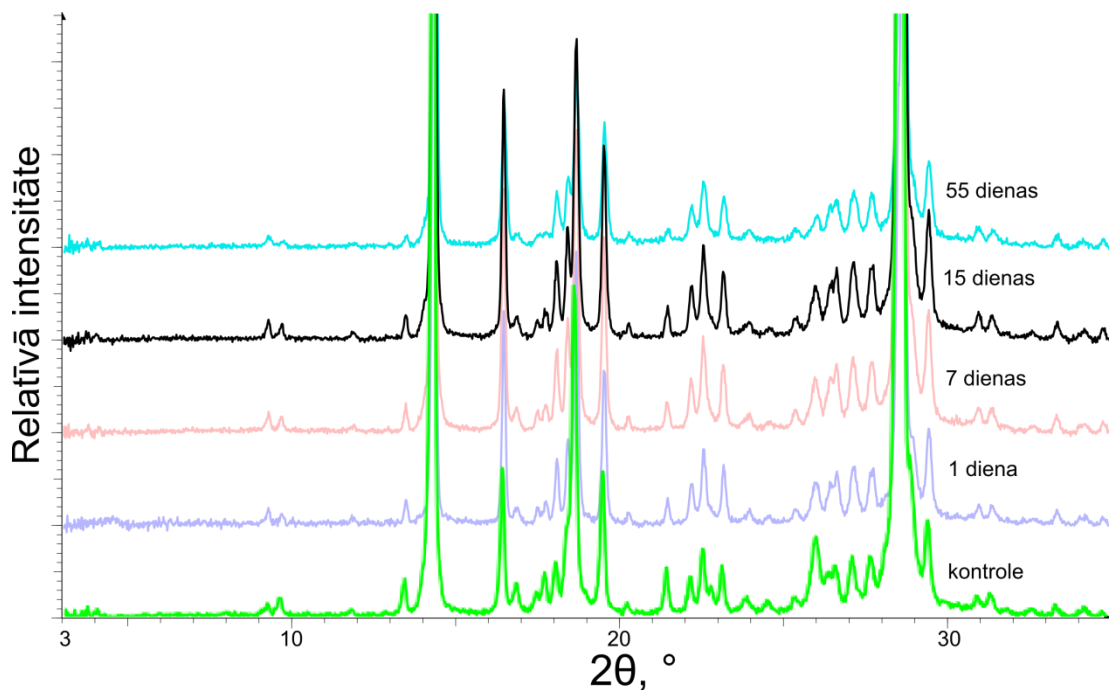
Nitrofurantoīna („Olainfarm”) suspendēšanas dažādos šķīdinātājos dažādās temperatūrās rezultāti

№	Šķīdinātājs	Laiks, h	Temperatūra, °C	Fāžu sastāvs
1.	Acetons	1	40	β -forma
2.	Etanols	1	22	β -forma+monohidrāts II
3.	Etanols	1	50	α + β formas
4.	Etanols	3	50	α + β formas
5.	Etanols	6	70	β -forma
6.	Abs. etanols	2	55	α + β formas
7.	Ūdens	1	22	monohidrāts II
8.	1,4-Dioksāns	2	45	α + β formas

Nitrofurantoīna β -formas un monohidrāta II maisījuma suspendēšana etanolā istabas temperatūrā (22 °C) 1 stundu neizraisīja fāžu pāreju un parauga fāžu sastāvs palika nemainīgs. Savukārt veicot suspendēšanu 50 °C temperatūrā 1 stundu, kā arī 3 stundas, monohidrāts II pārgāja par α un β -formas maisījumu. No tā var secināt, ka α un β -formas ir stabilas šajos apstākļos, vai vienas no polimorfajām formām pārvērtības kinētika ir ļoti lēna. Taču atkārtojot šo eksperimentu 70 °C temperatūrā un veicot suspendēšanu 6 stundas, iegūst tīru β -formu. Ņemot vērā, ka etanols sekmē vielas pilnu vai daļēju fāžu pāreju par α -formu, var piedāvāt sekojošu fāžu pārejas mehānismu. Iespējams monohidrāts II sākumā desolvatējas par α -formu un temperatūras ietekmē pārvēršas par β -formu.

3.3. Nitrofurantoīna α un β polimorfo formu stabilitāte

Lai noteiktu nitrofurantoīna α un β polimorfo formu stabilitāti paaugstinātā temperatūrā, tika pagatavoti abu formu maisījumi attiecībā 1:1 un izturēti dažādu laiku 70, 110 un 180 °C temperatūrās. Tika noteikts, ka izturot paraugu 55 dienas 70 un 110 °C temperatūrā fāžu pāreja nenotiek un α un β -formu maisījums šajos apstākļos ir stabils. Iespējams ka fāžu pārejas kinētika ir ļoti lēna, un to nevar novērot tik īsā laika posmā. Taču 180 °C temperatūrā α un β polimorfo formu maisījumā pēc 55 dienām varēja pamanīt izmaiņas salīdzinot, eksperimenta gaitā iegūtās difrakcijas ainas. Nitrofurantoīna α -formas refleksi samazinās, bet β -formas refleksi palielinās (3.15. att.).

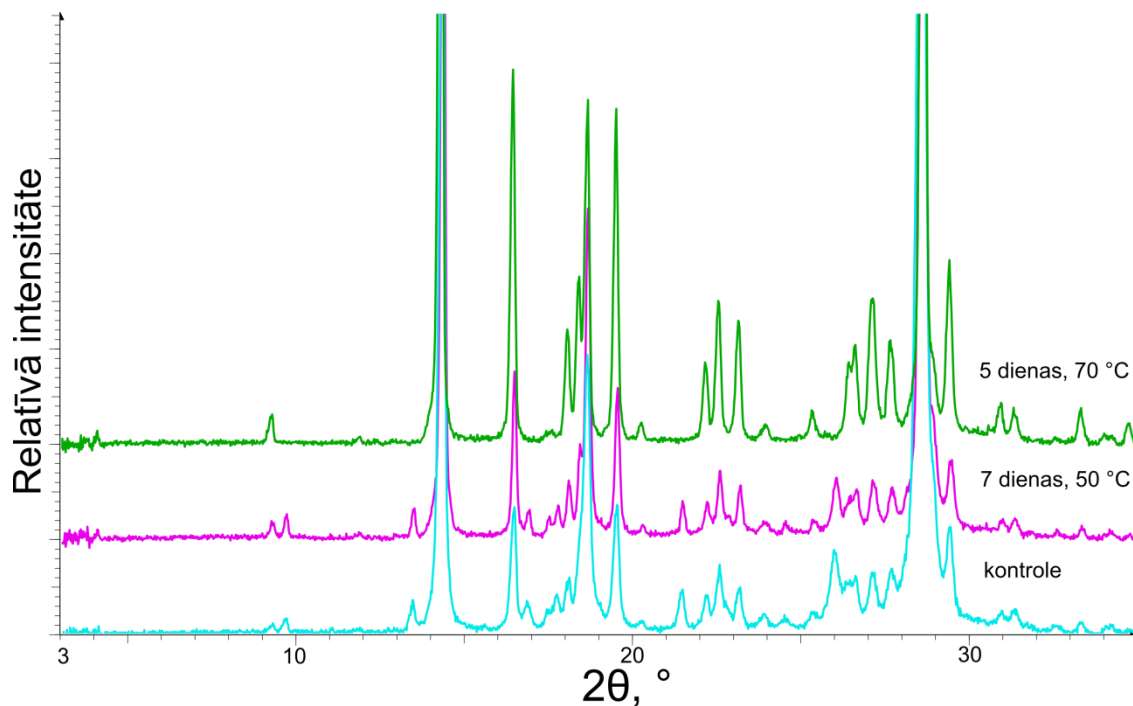


3.15. att. Rentgendifrakcijas aina nitrofurantoīna α un β formu maisījumam, kas izturēts dažādu laiku 180 °C temperatūrā

Tas nozīmē ka α -forma lēni pārvēršas par β -formu. No tā var secināt, ka 180 °C temperatūrā β -forma ir stabilāka par α -formu.

Tika noteikta α un β formu maisījuma stabilitāte etanola klātbūtnē 50, 70 un 180 °C temperatūrā. Kivetē iepresētu α un β formu maisījumu 30 min laikā ik pēc 2 min apstrādāja ar etanolu 180 °C temperatūrā. Fāžu pāreja netika novērota. Līdzīgi eksperimenti tika atkārtoti

ilgākā laika posmā, bet zemākās temperatūrās (50 un 70 °C), jo etanola $T_{\text{virš.}} = 78,37$ °C. Pēc 7 dienām 50 °C turētā maisījuma fāžu sastāvs nemainījās. Taču pēc 5 dienām 70 °C temperatūrā turētā tāda paša maisījuma sastāvā notika izmaiņas: α forma pilnībā pārgāja par β formu (3.16. att.).

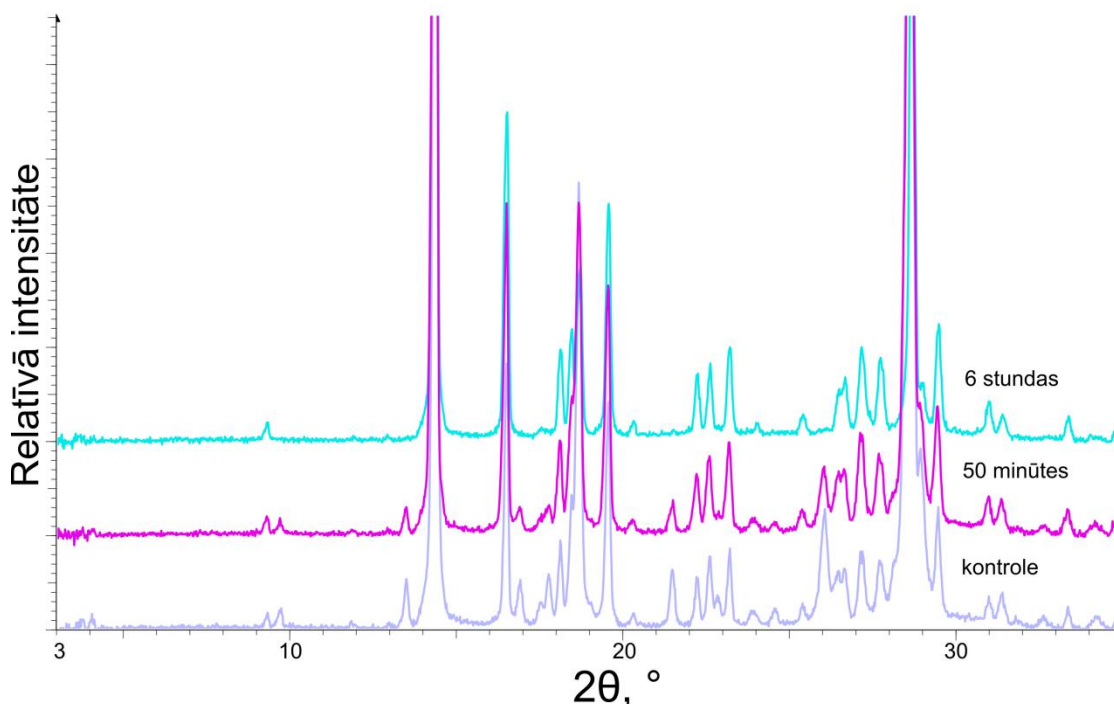


3.16. att. Rentgendifrakcijas aina nitrofurantoīna α un β formu maisījumam, kas izturēts 50 un 70 °C temperatūrā etanola klātbūtnē

Tas varētu nozīmēt, ka etanola klātbūtne atvieglo fāžu pārejas procesu, salīdzinot ar pāreju cietā vielā bez šķīdinātāja. Tāpēc 55 dienu laikā iepresētām kivetēm sausam abu formu maisījumam fāžu pāreja nenotika ne 70 ne 110 °C temperatūrā. Arī tas fakts ka 180 °C temperatūrā 55 dienu laikā tikai novērota α formas pāreja par β formu, liek domāt ka 70 °C veiktajā eksperimentā fāžu pāreju galvenokārt veicina temperatūra; pats etanols tikai izveido vidi, kur cietvielai fāžu pārejas enerģijas patēriņš ir mazāks. Salīdzinot ar pseidopolimorfo formu suspendēšanu, kur etanols sekmēja α -formas veidošanos, uz polimorfām formām šī sakarība neattiecas. Izskaidrojums tam, ka 50 °C temperatūrā α -formai nenotiek fāžu pāreja, varētu būt tas, ka iespējams tā ir metastabila sākot ar 70 °C, bet ir stabila zem šīs temperatūras. Taču, lai pilnībā apstiprinātu šo apgalvojumu, ir nepieciešami stabilitātes pētījumi ilgākā laika posmā.

Tāpat α un β formu maisījuma stabilitāte ir noteikta acetonitrila klātbūtnē 30 un 50 °C temperatūrā. Paraugam, kas atradās 50 °C temperatūrā fāžu pāreju konstatēja jau pēc 50 minūtēm. Rentgendifrakcijas ainā (3.17. att.) samazinājās α -formai raksturīgie refleksi (pie 2θ

leņķiem 9,7; 16,6; 18,9 un 26,2 °) un palielinājās β -formai raksturīgie refleksi (pie 2θ leņķiem 16,5 un 22,2 °). Pēc 6 stundām paraugs saturēja tikai β -formu.

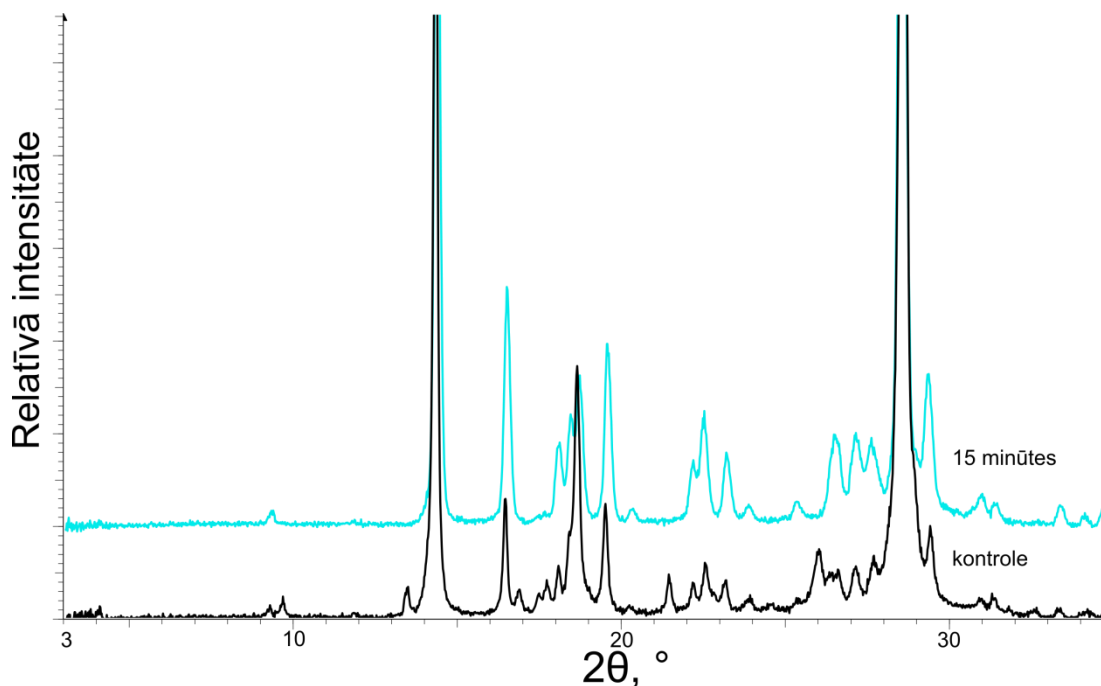


3.17. att. Rentgendifrakcijas aina nitrofurantoina α un β formu maisījumam, kas izturēts dažādu laiku 50 °C temperatūrā acetnitrila klātbūtnē

Izturot α un β formu maisījumu acetnitrila klātbūtnē 30 °C temperatūrā 50 minūtes, izmaiņas netika konstatētas. Taču pēc 6 stundu ilgas izturēšanas šajā temperatūrā novēroja α formas daudzuma samazināšanos. Pēc 48 stundām paraugs saturēja tikai β polimorfo formu. Acīmredzams, ka temperatūrai ir liela nozīme uz fāžu pārejas kinētiku.

Abu polimorfo formu maisījuma stabilitāte acetnitrila klātbūtnē tika pārbaudīta arī augstākās temperatūrās (70 un 180 °C). Kivetēs iepresētus α un β formu maisījumus ik pēc 2 minūtēm apstrādāja ar acetnitrilu. Abos paraugos notika α -formas pāreja par β -formu. Paraugam, kas atradās 70 °C temperatūrā fāžu pāreja notika pēc 150 minūtēm, bet tam, kas atradās 180 °C – pāreja notika jau pēc 15 minūtēm. α un β formu maisījuma stabilitāte acetnitrila klātbūtnē tika pārbaudīta arī pazeminātā temperatūrā (–5 °C) 30 dienu laikā. Noteikts, ka abu formu maisījums šajos apstākļos ir stabils.

Ja α un β formu maisījumu 180 °C temperatūrā apstrādā ar dejonizētu ūdeni ik pēc 2 min, 15 min laikā notiek α -formas pāreja par β -formu (3.18. att).



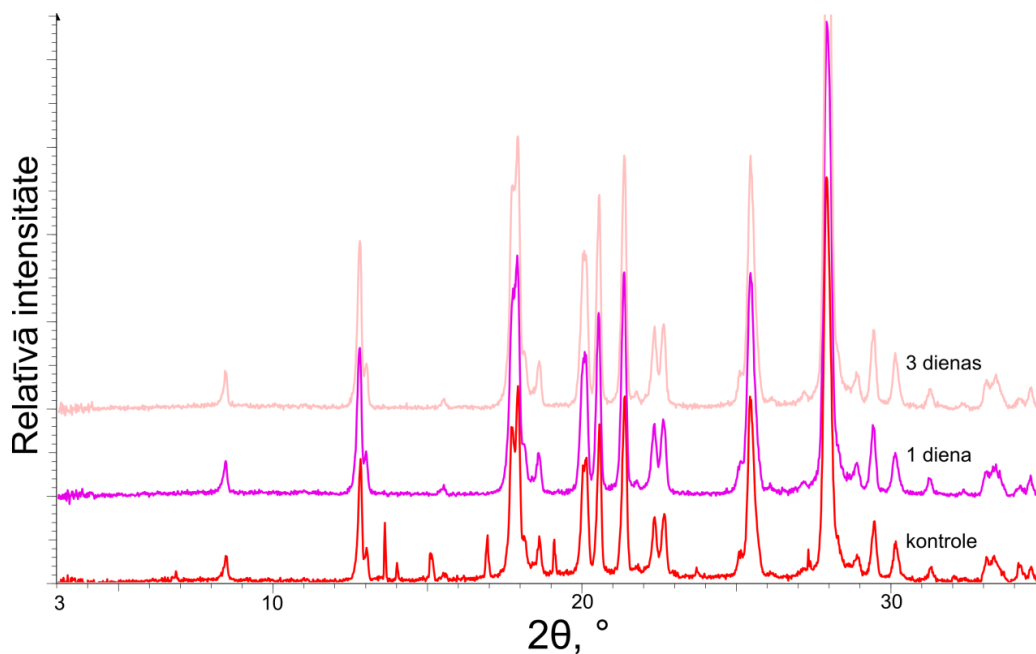
3.18. att. Rentgendifrakcijas aina nitrofurantoina α un β formu maisījumam, kas apstrādāts ar ūdeni 180 °C temperatūrā

Iespējamais fāžu pārejas mehānisms var būt sekojošais: α -forma pārvēršas par monohidrātu II, tad seko hidrāta dehidratācija par β -formu temperatūras ietekmē. Par to liecina tas, ka abas polimorfās formas viegli pāriet hidrāta formā kontaktā ar ūdeni un dehidratējoties veido β -formu.

3.4. Nitrofurantoina pseidopolimorfo formu stabilitāte

Stabilitāte tika noteikta sekojošām nitrofurantoina pseidopolimorfajām formām: DMSO solvātam, DMSO/H₂O solvātam, kā arī DMF I un II solvātiem.

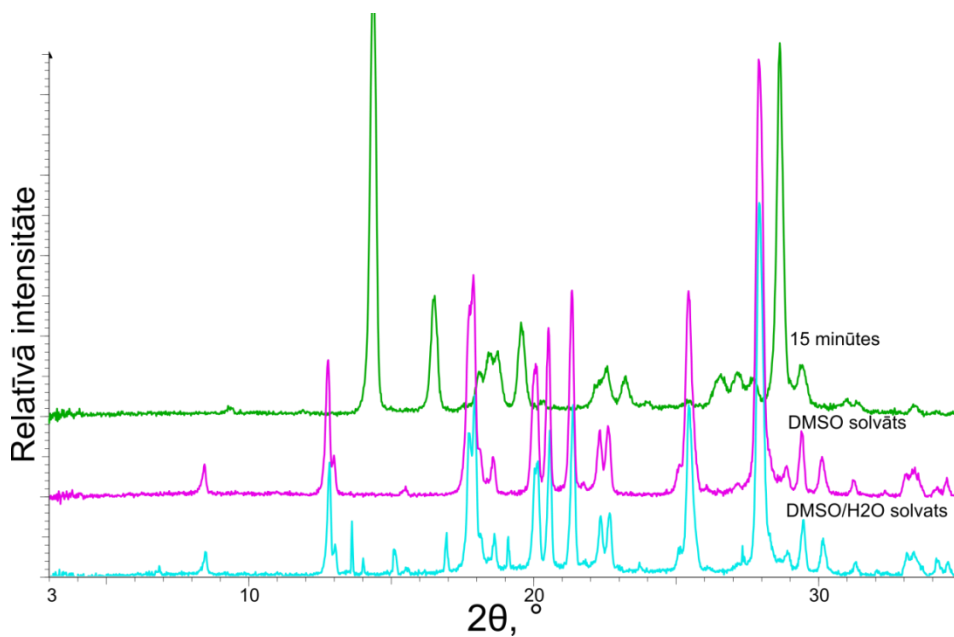
Izturot DMSO solvātu laboratorijas apstākļos (22 °C temperatūra, 30–35% relatīvais mitrums) 18 dienas, tas ir stabils un nekādas fāžu pārejas nenovēro. Tas nozīmē ka dotajos apstākļos tas nedesolvatējas, kā arī nesaista gaisā esošo ūdeni un neveido DMSO/H₂O solvātu. Stāvot laboratorijas apstākļos (30–35% relatīvais gaisa mitrums, 22 °C temperatūra) DMSO/H₂O solvāts nav stabils un zaudē ūdens molekulu (3.19. att.).



3.19. att. Rentgendifrakcijas aina nitrofurantoina DMSO/H₂O solvātā, kas izturēts 30-35% relatīvajā mitrumā 22 °C temperatūrā

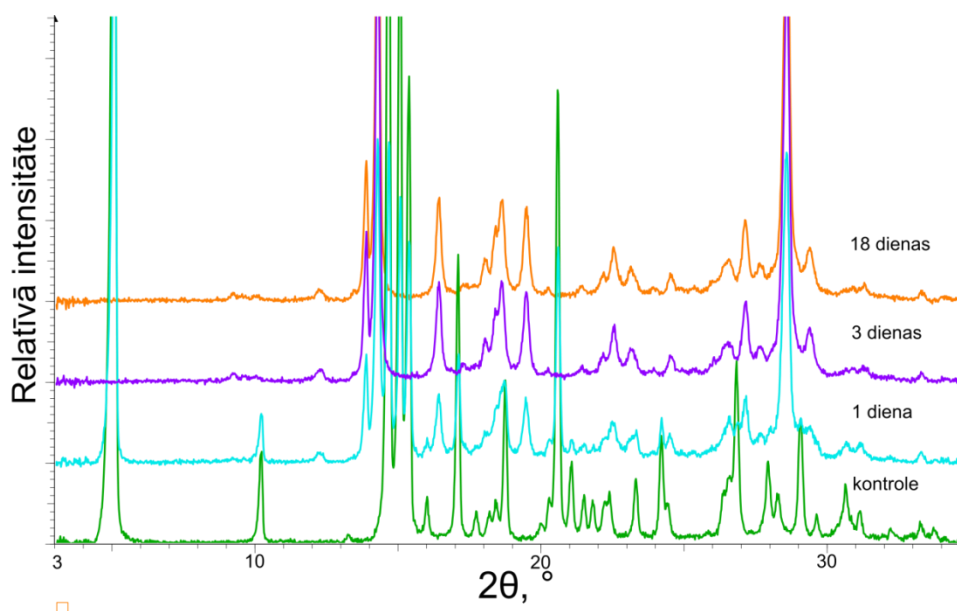
DMSO/H₂O solvāta dehidratācija notiek ļoti ātri – 1 dienas laikā. Tas nozīmē ka šīs formas stabilitāte ir atkarīga no gaisa relatīva mitruma.

Augstās temperatūrās gan DMSO solvāts, gan DMSO/H₂O solvāts desolvatējas un pārvēršas par β-formu (3.20. att.).



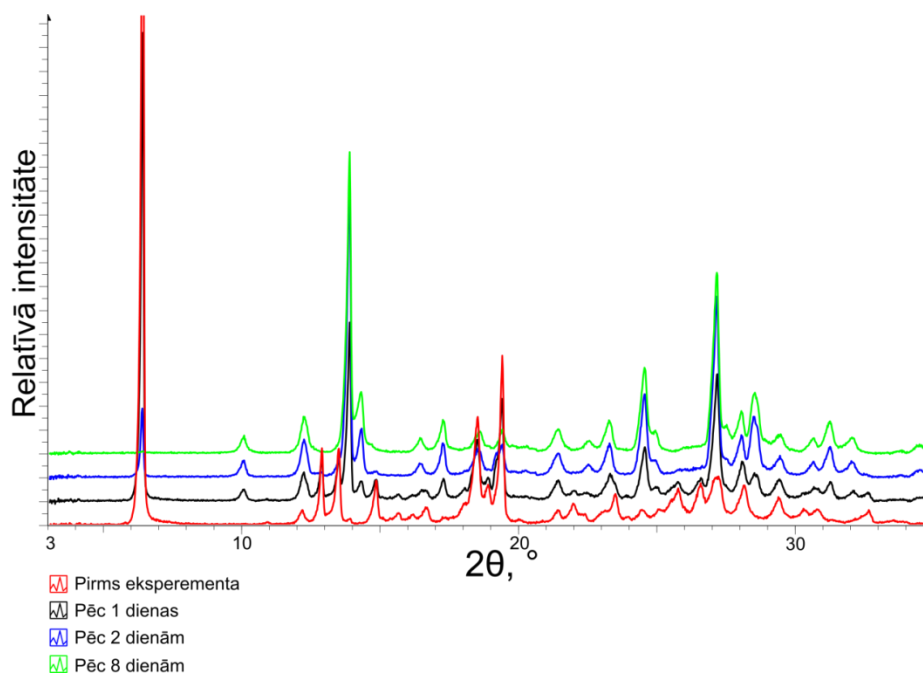
3.20. att. Rentgendifrakcijas aina nitrofurantoina DMSO (karsēts 200 °C) un DMSO/H₂O (karsēts 190 °C) solvātiem

Izturot DMF I solvātu laboratorijas apstākļos (43% relatīvais mitrums, 22 °C temperatūra), notiek tā desolvatācija, kā rezultātā veidojas α un β formu maisījums (3.21. att.).



3.21. att. Rentgendifrakcijas aina nitrofurantoina DMF I solvātam, kas izturēts 43% relatīvajā mitrumā 22 °C temperatūrā

DMF II solvāts arī ir nestabils laboratorijas apstākļos. Rentgendifrakcijas ainā (3.22. att.) ir redzams, ka vienas dienas laikā DMF II solvāts sāk pārvērsties par monohidrāta II formu.



3.22. att. Rentgendifrakcijas aina nitrofurantoina DMF II solvātam, kas izturēts 43% relatīvajā mitrumā 22 °C temperatūrā

Salīdzinot ar DMSO solvātu, abi DMF solvāti līdzīgos apstākļos ir mazāk stabilāki.

SECINĀJUMI

1. Tika iegūtas divas līdz šīm literatūrā neaprakstītās nitrofurantoīna kristāliskās formas: nitrofurantoīna DMSO/H₂O jauktais solvāts un nitrofurantoīna DMF I solvāts.
2. Nitrofurantoīna DMSO/H₂O solvāts veidojas pārkristalizācijā ar šķīdinātāja maiņas metodi. Laboratorijas apstākļos, tas viegli zaudē ūdens molekulu, pārvēršoties par DMSO solvātu.
3. Nitrofurantoīna DMSO solvāts ir stabils dažādos šķīdinātājos 48 stundu laikā (etilacetātā, toluolā, acetonā, acetonitrilā, nitrometānā), izņemot etanolu, kurā notiek tā dāļējā pārvēršanās par α formu.
4. Nitrofurantoīna DMF I solvātu iegūst, kristalizējot 22 °C temperatūrā no pārsātināta DMF šķīduma. Tas ir nestabils laboratorijas apstākļos; desolvatācijas rezultātā veidojas α un β polimorfo formu maisījums.
5. Nitrofurantoīna DMF I solvāts visos šķīdinātājos (etilacetāts, toluols, acetons, acetonitrils, nitrometāns, etanols) ir nestabils. Atkarībā no suspendēšanai izmantotā šķīdinātāja tas pāriet par α formu, β formu, vai abu polimorfo formu maisījumu.
6. Nitrofurantoīna α polimorfā forma masījumā ar β formu stabila līdz 180 °C, augstākās temperatūrās tā pāriet par nitrofurantoīna β formu. Fāžu pārejas kinētika ir ļoti lēna. Pievienojot šķīdinātāju polimorfo formu maisījumam fāžu pāreja paātrinās un tiek arī zemākās temperatūrās.
7. α un β polimorfās formas bez citu kristālisko formu klātbūtnes ir stabilas dažādos šķīdinātājos (etilacetāts, toluols, acetons, acetonitrils, nitrometāns, etanols) istabas temperatūrā.

IZMANTOTĀ LITERATŪRA UN AVOTI

1. **Aguiar, A., J., Krc, J., Kinkel, A., W., Samyn, J.,C.** Effect of polymorphism on the absorbtion of chloramphenicol from chloramphenicol palmitate. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1967, Vol. 56, p. 847-853.
2. **Almarsson, O., Zaworotko, M., J.** Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. Do pharmaceutical co-crystals represent a new path to improved medicines? *Chemical Communications*, 2004, Vol. 17, p. 1889-1896.
3. **Bains, A., Buna, D., Hoag, N., A.** A retrospective review assessing the efficacy and safety of nitrofurantoin in renal impairment. *Canadian pharmaceutical journal*, 2009, Vol. 142(5), p. 248-252.
4. **Bates, T., R., Fung, H., L., Lee, H., Denton, C.** Comparative bioavailability of anhydrous griseofulvin and its chloroform solvate in man. *Research communications in chemical pathology and pharmacology*, 1975, Vol. 11(2), p. 233-243
5. **Bauer, J., Spanton, S., Henry, R., Quick, J., Dziki, W., Porter, W., Morris, J.** Ritonavir: An extraordinary example of conformational polymorphism. *Pharmaceutical research*, 2001, Vol. 18(6), p. 859-866.
6. **Beaune, P.,H., Bourdi, M.** Autoantibodies against cytochromes P-450 in drug-induced autoimmune hepatitis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1993, Vol. 685, p. 641-645.
7. **Bennett, W., M.** Guide to drug dosage in renal failure. *Clinical Pharmacokinetics*, 1988, Vol. 15, p. 326-354
8. **Bernstein, J.** *Polymorphism in molecular crystals*. Clarendon, Oxford, 2002.
9. **Bjornsson, E., Talwalkar, J., Treeprasertsuk, S., Kamath, P., S., Takahashi, N., Sanderson, S., Neuhauser, M., Lindor., K.** Drug-Induced Autoimmune Hepatitis: Clinical Characteristics and Prognosis. *Hepatology*, 2010, Vol. 51(6), p. 2040-2048.
10. **Briggs, G., G., Freeman R., K., Yaffe, S., J.** *Drugs in pregnancy and lactation. 7th ed.* Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins, 2005. p. 74, 268, 1153.
11. **Bruel, H., Guillemant, V., Saladin-Thiron, C., Chabrolle, J. P., Lahary, A. and Poinso, J.** Hemolytic anemia in a newborn after maternal treatment with nitrofurantoin at the end of pregnancy. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine*, 2000, Vol. 7, p. 745.

12. **Byrn, S., R., Gray, G., Pfeiffer, R., R., Frye, J.** Analysis of solid-state Carbon-13 NMR spectra of polymorphs (benoxaprofen and nabilone) and pseudopolymorphs (cefazolin). *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1985, Vol. 74(5), p. 565-568.
13. **Caira, M., R., Pienaar, E., W., Lotter, A., P.** Polimorphism and pseudopolimorphism of the antibacterial nitrofurantoin. *Molecular Crystals and Liquid Crystals Science and Technology*, 1996, Vo. 279, p. 241-264.
14. **Chan, H., K., Doelker, E.** Polymorphic Transformation of Some Drugs Under Compression. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1985, vol. 11, p. 315-332.
15. Chem spider: NITROFURANTOIN [tiešsaite] [atsauce 20.03.2014] Pieejams: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5036498.html>
16. **Christensen, B.** Which antibiotics are appropriate for treating bacteriuria in pregnancy? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2000, vol. 46(1), p. 29-34.
17. *Clinical Liver Disease*, 2002, Vol. 6, p. 755-774.
18. **Cunha, B., A.** New uses for older antibiotics: nitrofurantoin, amikacin, colistin, polymixin B, doxycycline and minocycline revisited. *Medical Clinics of North America*, 2006, vol. 90, p. 1089-1107.
19. **Czeizel, A., E., Rockenbauer, M., Sorensen, H., T., Olsen, J.** Nitrofurantoin and genital abnormalities. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2001, Vol. 95(1), p. 119-126.
20. **Dwyer, P., L., O'Reilly M.** Recurrent urinary tract infection in the female. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 2002, vol. 14(5), p. 537-543.
21. **Fagrell, B., Strandberg, I., Wengle, B.** A nitrofurantoin-induced disorder simulating chronic active hepatitis: a case report. *Acta Medica Scandinavica Supplementum*, 1976, Vol. 199, p. 237-239.
22. **Gait, J. E.** Hemolytic reactions to nitrofurantoin in patients with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: theory and practice. *Drug interaction and clinical pharmacy*, 1990, Vol. 24, p. 1210.
23. **Garau, J.** Other antimicrobials of interest in the era of extended-spectrum β -lactamases: fosfomycin, nitrofurantoin and tigecycline. *Clinical Microbiology and Infection*, 2008, Vol. 14, suppl. 1, p. 198-202.

24. **Ghielmetti, G., Bruzesse, T., Bianchi, C., Recusami, F., J.** Relationship between acute toxicity in mice and polymorphic forms of polyene antibiotics. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1976, Vol. 65(6), p. 905-907.
25. **Gilmore, C., J.** X-ray diffraction. **In:** *Solid State Characterization of Pharmaceuticals*. Blackwell Publishing, Storey, R., A., Ymen, I. 2011, p. 35-69.
26. **Hailey, F., J., Fort, H., Williams, J., C., Hammers, B.** Foetal safety of nitrofurantoin macrocrystals therapy during pregnancy: a retrospective analysis. *Journal of International Medical Research*, 1983, vol. 11(6), p. 364-369.
27. **Haleblian, J., K.** Characterization of habits and crystalline modification of solids and their pharmaceutical applications. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1975, Vol. 64, p. 1269-1288.
28. **Holmberg, L., Boman, G.** Pulmonary reactions to nitrofurantoin. 447 cases reported to the Swedish Adverse Drug Reaction Committee 1966–1976. *European journal of respiratory diseases*, 1981, Vol. 62, p. 180.
29. **Holmberg, L., Boman, G., Bottiger, L., E., Eriksson, B., Spross, R., Wessling, A.** Adverse reactions to nitrofurantoin. *The American journal of medicine*, 1980, Vol. 69, p. 733-738.
30. **Hooper D.** Urinary tract agents: nitrofurantoin and methenamine. **In:** *Principles and practice of infectious diseases*, 6th ed., Philadelphia: Elsevier, **Mandell, G., L, Bennet, J.,E., Dolin, R.,** 2005; p. 473–478.
31. **Ivanisevic, I., McClurg, B., R., Schields, P., J.** Uses of X-Ray Powder Diffraction In the Pharmaceutical Industry **In:** *Pharmaceutical Sciences Encyclopedia: Drug Discovery, Development, and Manufacturing*. John Wiley & Sons, Inc., 2010, p. 1-42.
32. **Karpman, E., Kurzrock, A., E.** Adverse reactions of nitrofurantoin, trimethoprim and sulfamethoxazole in children. *The journal of urology*, 2004, Vol. 172, p. 448-453.
33. **Khalil, S., A., Moustafa, M., A., Ebian, A., R., Motawi, M., M.** GI absorption of two crystal forms of sulfameter in man. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1972, Vol 61(10), p. 1615-1617.
34. **Le, J., Briggs, G.,G., McKeown, A., Bustillo, G.** Urinary tract infections during pregnancy. *Annals of Pharmacotherapy*, 2004, vol. 38(10), p. 1692-1701.
35. **Lee, M., Bozzo, P., Einarson, A., Koren, G.** Urinary tract infections in pregnancy. *Canadian Family Physician*, 2008, Vol. 54, p. 853-854.
36. **Liu, Z.,X., Kaplowitz, N.** Immune-mediated drug-induced liver disease.

37. Macrochantin (Nitrofurantoin macrocrystals) [package insert]. Physicians' desk reference. 57th ed. Montvale (NJ): Thomson PDR; 2003:2828-9. 2003 gads Publisher: Thomson P D R; 57th edition (November 2002)
38. **Manns, M.,P., Obermayer-Straub, P.** Cytochromes P450 and uridine triphosphate-glucuronosyltransferases: model autoantigens to study drug-induced, virus-induced, and autoimmune liver disease. *Hepatology*, 1997, Vol. 26, p. 1054-1066.
39. **Martin, A.** *Physical pharmacy*. Lea & Febiger, Philadelphia, 4th ed., 1993, p. 331.
40. Medscape: nitrofurantoin (Rx), dosing & uses [tiešsaite] [atsauce 20.03.2014] Pieejams: <http://reference.medscape.com/drug/macrobid-macrochantin-nitrofurantoin-342567>
41. **Moustafa, M., A., Khalil, S., A., Ebian, A., R., Motawi, M., M.** Kinetics of interconversion of sulphamethoxydiazine crystal forms. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1972, Vol 24(12), p. 921-926.
42. **O'Neill, A., Edwards, H.** Spectroscopic Characterization. **In:** *Solid State Characterization of Pharmaceuticals*. Blackwell Publishing, Storey, R., A., Ymen, I. 2011, p. 71 – 130.
43. Olainfarm: Furadonīns, lietošanas instrukcija [tiešsaite] [atsauce 25.03.2014] Pieejams: http://olainfarm.lv/wp-content/uploads/2012/11/furadon%C4%ABns_lieto%C5%A1anas-instrukcija.pdf
44. **Paul, H., E., Kenyon, J., H., Paul, M., F., Borgmann, A., R.** Laboratory studies with nitrofurantoin. Relationship between crystal size, urinary excretion in the rat and man, and emesis in dogs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1967, Vol. 56, p. 882–885.
45. **Pienaar, E., W., Caira, M., R., Lotter, A., P.** Polymorphs of nitrofurantoin. Preparation and X-ray crystal-structures of 2 anhydrous forms of nitrofurantoin. *journal of crystallographic and spectroscopic research*, 1993, Vol.23, p. 785-790.
46. **Quiroga, M., I., Pegels, E.,I, Oviedo, P., I., Pereyra, E., II., Vergara, M.** Antibiotic susceptibility patterns and prevalence of group B Streptococcus isolated from pregnant women in Misiones, Argentina. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2008, Vol. 39(2), p. 245-250.
47. **Rama, B., R., Ramana, G., R., Avadhanulu, A., B.** Polymorphism in drugs and its significance in therapeutics. *Journal of scientific & industrial research*, 1987, Vol. 46, p. 450-455.

48. **Robin, M., A., Le Roy, M., Descatoire, V., Berson, A., Lebreton, F.,P., Maratrat, M.** Plasma membrane cytochromes P450 as neoantigens and autoimmune targets in drug-induced hepatitis. *Journal of Hepatology*, 1997, Vol. 26, Suppl. 1, p.23-30.
49. **Sachs, J., Geer, T., Noell, P., Kunin, C.,M.** Effect of renal function on urinary recovery of orally administered nitrofurantoin. *The New England Journal of Medicine*, 1968, Vol. 278, p. 1032-1035.
50. **Sandegren, L., Lindqvist, A., Kahlmeter, G., Andersson D., I.** Nitrofurantoin resistance mechanism and fitness cost in *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2008, Vol. 62, p. 495– 503.
51. **Saunders, M., Gabbott, P.** Thermal analysis – conventional techniques. **In:** *Solid State Characterization of Pharmaceuticals*. Blackwell Publishing, Storey, R., A., Ymen, I. 2011, p. 135-184.
52. **Sharp, J., R., Ishak, K., G., Zimmerman, H., J.** Chronic active hepatitis and severe hepatic necrosis associated with nitrofurantoin. *Annals of Internal Medicine*, 1980, Vol. 2, p. 14-19.
53. **Singhal, D., Curatolo, W.** Drug polymorphism and dosage form design: a practical prespective. *Advanced drug delivery reviews*, 2004, Vol. 56, p. 335-347.
54. **Stephenson, G., A.** Applications of X-ray powder diffraction in the pharmaceutical industry. *The rigaku journal*, 2005, Vol. 22(1), p. 2-15.
55. **Stricker, B., H., Blok, A.,P., Claas, F., H., Van Parys, G.,E., Desmet, V.,J.** Hepatic injury associated with the use of nitrofurans: a clinicopathological study of 52 reported cases. *Hepatology*, 1988, Vol. 8, p. 599-606.
56. **Uhari, M., Nuutinen, M., Turtinen, J.** Adverse reactions in children during long-term antimicrobial therapy. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 1996, Vol. 15, p. 404.
57. **Vangala, V., R., Chow, P., S., Tan, B., H., R.** Co-crystal hydrates of the antibiotic nitrofurantoin: structural studies and physiochemical properties. *Crystal Growth & Design*, 2012, Vol. 12, p. 5925-5938.
58. **Warren, J.,W., Abrutyn, E., Hebel, J.,R.** Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. *Clinical Infectious Diseases*, 1999, Vol. 29(4), p. 745-758.
59. Wikipedia: Bragg's law [tiešsaite] [atsauce 10.05.2014] Pieejams: http://en.wikipedia.org/wiki/Bragg's_law

Dokumentārā lapa

Maģistra darbs „Nitrofurantoīna kristālisko formu iegūšana un raksturošana” izstrādāts LU Ķīmijas fakultātē.

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

Autors: Jaroslavs Matvejevs

Paraksts:

Rekomendēju darbu aizstāvēšanai

Darba vadītāja: vadošā pētniece Dr. chem. Liāna Orola

Paraksts:

Recenzente: Mag. farm. Kaspars Jēkabsons

Paraksts:

Darbs iesniegts:

Darbu pieņēma:

/Juta Bārtule/