

Rozprawa doktorska

Badanie fizycznej stabilności
krystalicznej i amorficznej formy
karbamazepiny

Agnieszka Dołęga

Promotorzy: dr hab. Piotr M. Zieliński, prof. IFJ PAN
dr hab. Anna Krupa



Instytut Fizyki Jądrowej Polskiej Akademii Nauk

Zakład Badań Materii Miękkiej

Kraków 2021

Niniejsza rozprawa doktorska została wykonana w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój, nr projektu POWR.03.02.00-00-I004/16, współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej.

Pragnę złożyć serdeczne podziękowania:

Panu dr hab. Piotrowi M. Zielińskiemu za opiekę naukową, pomoc w przeprowadzeniu badań przy wykorzystaniu różnicowej kalorymetrii skaningowej i termograwimetrii opisanych w podrozdziałach 5.1 i 5.2 niniejszej rozprawy, jak również przeprowadzenie pomiarów opisanych w podrozdziałach 5.3-5.5. Za cierpliwość, wyrozumiałość, wszelkie dyskusje naukowe i życiowe, a nade wszystko za zgodę na bycie promotorem niniejszej rozprawy i umożliwienie mi łączenia pracy naukowej z macierzyństwem.

Pani dr hab. Annie Krupie z Wydziału Farmaceutycznego UJ za przeprowadzenie pomiarów przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej i modyfikację próbek opisaną w podrozdziale 5.2. Za opiekę merytoryczną, ciepłe słowa i nieustającą wiarę w moje plany.

Pani dr hab. Ewie Juszyńskiej-Gałęzce z IFJ PAN za pomoc w przeprowadzeniu badań przy wykorzystaniu spektroskopii w podczerwieni opisanych w podrozdziale 5.1, jak również przeprowadzenie pomiarów opisanych w podrozdziale 5.4. Za wszelkie wskazówki, dyskusje i motywowanie mnie do ciągłego rozwoju.

Pani dr Natalii Osieckiej-Drewniak z IFJ PAN za przygotowanie próbek przy wykorzystaniu stolika grzewczego badanych w podrozdziale 5.3, dyskusje naukowe i wszelkie wsparcie.

Pani dr Aleksandrze Deptuch z IFJ PAN, **Pani dr Teresie Jaworskiej-Gołąb** i **Panu dr hab. Stanisławowi Baranowi** z Instytutu Fizyki UJ za przeprowadzenie pomiarów rentgenowskich zaprezentowanych w podrozdziałach 5.1 i 5.4, ich analizę oraz wszelkie dyskusje naukowe.

Panom prof. dr hab. Piotrowi Kuśtrowskiemu i **dr Piotrowi Natkańskiemu** z Wydziału Chemii UJ za przeprowadzenie pomiarów termograwimetrycznych przedstawionych w podrozdziale 5.3 i ich analizę.

Wszystkim pracownikom i doktorantom IFJ PAN z którymi miałam styczność w czasie studiów doktoranckich za życzliwość, ciepłe słowo, czy uśmiech. Szczególne podziękowania składam tu na ręce **Pani prof. dr hab. Marii Massalskiej-Arodź**, **Pani dr Małgorzaty Jasiurkowskiej-Delaporte**, **Pana dr hab. Mirosława Gałązki**, **Pana dr hab. Wojciecha Zajęca**, **Pani Joanny Głąb**, **Pani Renaty Słabik**, **Pani Jowity Ciołek**, jak również **Agnieszki Wochnik**, **Karoliny Stelmach**, **Kingi Jeleń** i **Marcina Piwowarczyka**.

Doktorantom studiów FCB, a w szczególności **Agnieszce Treli**, **Pauli Kasprzyk** i **Karolinie Planecie** za wspólne zajęcia i miło spędzony czas.

Niniejsza praca nie mogłaby również powstać bez wsparcia:

mojego Męża – Kochanie, dziękuję, że cierpliwie pozwalasz mi się realizować, wspierasz mnie oraz bierzesz część obowiązków domowych i wychowawczych na siebie,

moich Rodziców i Teściów motywujących mnie do działania i pomagających w opiece nad Dziećmi,

Karoliny Pasieki-Mazur, która dbała o moje zdrowie psychiczne ☺

Rozprawę dedykuję moim Synkom – Matiemu i Rafiemu:

Chłopcy – nauczyliście mnie, że wszystko ma swój czas, że nie zawsze moje plany to te jedyne słuszne i że nawet jak pozornie życie stoi na głowie, to w dłuższej perspektywie ciężka praca i determinacja mają sens i przynoszą efekty.

Spis treści

Wykaz najważniejszych skrótów.....	9
Streszczenie	11
Abstract.....	12
1. Wprowadzenie i cel badań	13
2. Charakterystyka karbamazepiny	17
2.1. Struktura i mechanizm działania.....	17
2.2. Rozpuszczalność i wchłanianie.....	18
2.2.1. Formy polimorficzne	18
2.2.2. Formy amorficzne.....	20
3. Stan szklisty.....	22
3.1. Podział materii	22
3.2. Definicje fazy szklistej oraz sposoby jej otrzymywania.....	23
3.3. Temperatura przejścia szklistego	23
3.4. Zimna krystalizacja	25
4. Metody badawcze.....	27
4.1. Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC).....	27
4.2. Analiza termogravimetryczna (TGA)	31
4.3. Fourierowska spektroskopia w podczerwieni (FTIR).....	33
4.4. Dyfrakcja rentgenowska (XRD)	39
4.5. Wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC).....	42
5. Wyniki i dyskusja.....	44
5.1. Charakterystyka termicznej stabilności krystalicznej formy karbamazepiny.....	44
5.1.1. Wyniki analiz DSC i TGA.....	44
5.1.2. Wyniki analiz FTIR	55
5.1.3. Wyniki analiz XRD	74
5.2. Poszukiwanie metod poprawy stabilności termicznej krystalicznej formy karbamazepiny	77
5.2.1. Charakterystyka próbki referencyjnej.....	82
5.2.2. Procedura I – szybkie grzanie i chłodzenie próbki.....	83
5.2.3. Procedura II – hydratacja bezwodnej karbamazepiny	84
5.2.4. Procedura III – rekrytalizacja karbamazepiny bezwodnej przy użyciu rozpuszczalników organicznych.....	89

5.3. Ocena wpływu atmosfery i ciśnienia na proces termicznej degradacji krystalicznej formy karbamazepiny.....	92
5.3.1. Wyniki analiz TGA-IR.....	92
5.3.2. Wyniki analiz DSC i HPLC	96
5.4. Charakterystyka termicznej stabilności amorficznej formy karbamazepiny otrzymanej metodą szybkiego chłodzenia.....	103
5.4.1. Wyniki analiz XRD	103
5.4.2. Wyniki analiz DSC.....	107
5.4.3. Wyniki analiz FTIR.....	111
5.5. Kinetyka nieizotermicznej zimnej krystalizacji amorficznej formy karbamazepiny.....	120
5.5.1. Model Johnsona, Mehla i Avramiego	121
5.5.2. Model Kissingera	123
5.5.3. Model Augisa i Bennetta.....	127
5.5.4. Model Ozawy	128
5.5.5. Model Mo	129
5.5.6. Model Matusity	130
5.5.7. Dyskusja wyników otrzymanych dla różnych modeli kinetycznych	134
6. Podsumowanie i wnioski	137
Bibliografia.....	142

Wykaz najważniejszych skrótów

BCS – system klasyfikacji biofarmaceutycznej (ang. *biopharmaceutics classification system*)

CBZ – karbamazepina (ang. *carbamazepine*)

cz.d.a. – czysty do analizy

DAD – detektor z matrycą diodową (ang. *diode-array-detector*)

DSC – różnicowa kalorymetria skaningowa (ang. *differential scanning calorimetry*)

FTIR – fourierowska spektroskopia w podczerwieni (ang. *Fourier-transform infrared spectroscopy*)

FWHM – szerokość połówkowa (ang. *full width at half maximum*)

hf-DSC – przepływowy różnicowy kalorymetr skaningowy (ang. *heat-flux differential scanning calorimeter*)

HiRes-TGA – analiza termogravimetryczna z modułem wysokorozdzielczym (ang. *high-resolution thermogravimetric analysis*)

HPLC – wysokosprawna chromatografia cieczowa (ang. *high-performance liquid chromatography*)

IMB – iminostylben (ang. *iminostilbene*)

MDSC – różnicowa kalorymetria skaningowa z modulacją temperatury (ang. *temperature-modulated differential scanning calorimetry*)

Model AB – model Augisa-Bennetta

Model JMA – model Johnsona, Mehla i Avramiego

Model KS – model Kissingera

Model MO – model Mo

Model MS – model Matusity

Model OZ – model Ozawy

MTGA – analiza termogravimetryczna z modulacją temperatury (ang. *temperature-modulated thermogravimetric analysis*)

pc-DSC – kompensacyjny różnicowy kalorymetr skaningowy (ang. *power compensation differential scanning calorimeter*)

RT – temperatura pokojowa (ang. *room temperature*)

SD – niepewność standardowa (ang. *standard deviation*)

TGA – analiza termograwimetryczna (ang. *thermogravimetric analysis*)

UV – ultrafiolet (ang. ultraviolet)

XRD – dyfrakcja rentgenowska (ang. *X-ray diffraction*)

2DCA – dwuwymiarowa analiza korelacyjna (ang. *two-dimensional correlation analysis*)

2DMW – dwuwymiarowa analiza tzw. przesuwnego okna (ang. *two-dimensional moving-window analysis*)

Streszczenie

Jednym ze znaczących wyzwań z jakimi w dzisiejszych czasach boryka się przemysł farmaceutyczny jest poprawa rozpuszczalności substancji leczniczych podawanych doustnie pacjentom. Ograniczona rozpuszczalność w wodzie może mieć bowiem negatywny wpływ na ich biodostępność. Poza przekształceniem substancji leczniczej do lepiej rozpuszczalnej w wodzie formy przy zastosowaniu metod fizycznych, kluczowe jest również zagwarantowanie jej stabilności. Celem niniejszej rozprawy była amorfizacja karbamazepiny (CBZ) metodą stapiania i chłodzenia oraz charakterystyka jej fizycznej stabilności podczas tego procesu. CBZ to substancja czynna wykorzystywana m.in. w leczeniu epilepsji, czy różnego rodzaju neuralgii. W pierwszej fazie badań wykazano, że CBZ może ulegać degradacji poniżej temperatury topnienia, co uczyniło jej zeszklenie metodą szybkiego chłodzenia nietrywialnym. Na podstawie szczegółowych badań DSC, TGA-IR, XRD, FTIR i HPLC: (i) wykazano, że produktami degradacji CBZ są iminostylben (IMB) i kwas izocyjanowy, (ii) ustalono sekwencję fazową obserwowaną podczas ponownego ogrzewania zanieczyszczonej w różnym stopniu próbki, (iii) zidentyfikowano „markery” świadczące o obecności ww. zanieczyszczeń w próbce, (iv) ustalono, że nawet niewielka ilość IMB prowadzi do znacznego zwiększenia zdolności szkłotwórczych CBZ. W kolejnym kroku podjęto próby poprawy termicznej stabilności CBZ. Wykazano, że zarówno zwiększenie szybkości grzania i chłodzenia próbki, jak również jej hydratacja lub rekrytalizacja przy zastosowaniu rozpuszczalników organicznych umożliwia nawet ponad 40-krotne zmniejszenie ilości IMB w stopionej CBZ. W tym aspekcie hydratacja była metodą najbardziej efektywną, zaś rekrytalizacja najbardziej skomplikowaną i najmniej powtarzalną. Zbadano również wpływ rodzaju układu pomiarowego (otwarty lub zamknięty) oraz atmosfery (obojętna lub utleniająca) na degradację CBZ. Ustalono, że badana substancja czynna jest podatna na termiczną degradację poniżej temperatury topnienia jedynie w układach zamkniętych, niezależnie od rodzaju atmosfery. Było to związane z sublimacją CBZ, która wpływała zarówno na zmianę atmosfery pomiaru, jak i ciśnienia. Wreszcie zbadano fizyczną stabilność zeszkłonej CBZ oraz opisano jej izo- i nieizotermiczną zimną krystalizację. Amorficzna CBZ ulegała nukleacji po ~8 h od zeszklenia, niezależnie od tego czy przechowywano ją w temperaturze pokojowej (RT), czy w lodówce. Z kolei wzrost krystalitów dla próbki przechowywanej w lodówce był znacząco spowolniony w porównaniu do tej przechowywanej w RT. Podczas wolnego ogrzewania próbki krystalizacja przebiegała głównie powierzchniowo, zaś podczas szybkiego ogrzewania – objętościowo.

Abstract

One of the biggest challenges that pharmaceutical industry is facing nowadays is an improvement of low drugs water solubility administered to patients in tablets. This further aims at enhancing their bioavailability. Apart from the conversion of a drug to desired – better water soluble – form, ensuring an adequate physical stability is also essential. This dissertation aims at presenting the way of amorphisation and characterisation of the physical stability of carbamazepine (CBZ) – an active pharmaceutical ingredient used in the treatment of epilepsy and different neuralgias. In the first phase of the studies, CBZ was shown to degrade below melting point. That fact made amorphisation of an examined drug using quench-cooling method a non-trivial task. Detailed DSC, TGA-IR, XRD, FTIR and HPLC studies have shown the following: (i) they have enabled confirmation that iminostilbene (IMB) and isocyanic acid are the main products of CBZ degradation, (ii) they allowed establishing the phase transition sequence during re-heating of the contaminated in different extent CBZ sample after fusion, (iii) they enabled identification of the markers reflecting the presence in the sample of the products of the degradation, (iv) they allowed to comprehend that even marginal presence of IMB in the sample leads to the significant increase of the glass forming ability of CBZ. In the next step, the attempts were made to enhance the thermal stability of the examined drug. The increase of the heating and cooling rate as well as hydration or solvation of CBZ were shown to effectively decrease (even more than 40 times) the amount of IMB in fused CBZ sample. The hydration was found to be the most effective method, whereas the solvation – the most demanding one. Additionally, the impact of the type of the measuring system (open or closed one) and the atmosphere (inert or oxidative one) on the thermal degradation of CBZ was studied. Examined substance was found to be prone to degrade below melting point only when heated in the closed systems, regardless of the atmosphere. The described tendency was linked to the strong sublimation of CBZ, which influenced both the atmosphere of the measurement as well as the pressure when changing the system from the open to the closed one. Finally, the physical stability of quench-cooled CBZ under isothermal and non-isothermal conditions was studied. Glassy CBZ started to nucleate after 8 h from quench-cooling both when it was stored at the room temperature (RT) and the refrigerator. On the other hand, the growth of the crystallites was remarkably slowed down for the sample stored in the refrigerator when compared to the sample stored at RT. The amorphous CBZ was found to follow surface crystallization when heated at slow heating rate. When heated at fast heating rate, the volume crystallization was observed.

1. Wprowadzenie i cel badań

W obecnych czasach większość dostępnych komercyjnie produktów leczniczych występuje w postaci tabletek – stałych doustnych postaci leku, zawierających substancję leczniczą (mającą wywoływać pewien efekt terapeutyczny) oraz tzw. substancje pomocnicze (ułatwiający przygotowanie finalnej postaci leku). Tabletki cechuje szereg zalet, do których zaliczyć należy wygodę i bezpieczeństwo stosowania, łatwość wytwarzania oraz możliwość zwiększenia stabilności substancji leczniczej [1,2]. Substancja lecznicza może występować m.in. w postaci krystalicznej – wykazującej dalekozasięgowe uporządkowanie i odznaczającej się najniższą możliwą energią wewnętrzną, co stanowi o jej stabilności. Niestety dla wielu leków (około 40% zarejestrowanych i 75% w fazie rozwoju [3,4]) taka forma charakteryzuje się niską rozpuszczalnością w wodzie, a co za tym idzie niską biodostępnością. W związku z tym w ostatnich latach popularnością cieszą się badania dotyczące poprawy rozpuszczalności substancji leczniczych. Najczęściej skupiają się one na: syntezie różnych form krystalicznych danego leku (tzw. polimorfów), które mogą charakteryzować się różnymi własnościami fizykochemicznymi, tworzeniu stałych roztworów substancji czynnych np. z polimerami, formowaniu soli oraz wielu innych modyfikacjach – zarówno fizycznych, jak i chemicznych [3–16].

Badanym w niniejszej rozprawie sposobem poprawy rozpuszczalności substancji czynnej jest przekształcenie formy krystalicznej do postaci amorficznej – odznaczającej się jedynie krótkozasięgowym uporządkowaniem. Dzięki wyższej energii wewnętrznej oraz ruchliwości molekularnej możliwe jest zwiększenie rozpuszczalności i biodostępności substancji leczniczej. Niemniej jednak odbywa się to kosztem niższej stabilności [17–19]. Złotym środkiem wydaje się więc znalezienie takiej formy amorficznej danej substancji czynnej, której parametry farmakokinetyczne są lepsze od tych dla postaci krystalicznej, zaś czas po którym ulega ona przekształceniu do stabilniejszej postaci jest dłuższy od czasu przydatności do użytkowania [10]. Opisana sytuacja nie jest tylko wyidealizowanym przypadkiem – już dziś można znaleźć na rynku produkty lecznicze, zawierające substancję czynną w formie amorficznej [12].

Jedną z modelowych substancji czynnych w kontekście badania różnych form krystalicznych, postaci amorficznych, czy tworzonych przez nią roztworów z polimerami, jest karbamazepina [20]. Jest to związek słabo rozpuszczalny w wodzie, wykorzystywany

powszechnie w leczeniu padaczki oraz napadów maniakalnych [21]. Choć karbamazepina znana jest od przeszło 50 lat [22,23], i znane są jej postaci polimorficzne [20,23–31] oraz właściwości stałych rozproszeń [1,32–38], brakuje informacji o jej formach amorficznych, ich stabilności, kinetyce rekrytalizacji, czy rozpuszczalności. Zapewnienie tej luki było pobudką do podjęcia badań opisanych w niniejszej rozprawie.

Celem niniejszej pracy było zbadanie fizycznej stabilności krystalicznej i amorficznej formy karbamazepiny. Główne pytania, na które zdecydowano się znaleźć odpowiedź brzmiały następująco:

- 1) Czy metoda szybkiego chłodzenia stopionej karbamazepiny pozwala na uniknięcie jej krystalizacji i prowadzi do otrzymania fazy szklistej (tj. amorficznej)?
- 2) Jakimi własnościami odznacza się otrzymana faza szklista? Czy jest ona stabilna w temperaturze pokojowej lub podczas przechowywania w lodówce? Jak przebiega proces zimnej krystalizacji w warunkach izo- oraz nieizotermicznych?

Dodatkowo, na skutek wykazania niestabilności karbamazepiny w okolicach temperatury topnienia, podjęto działania mające na celu uzyskanie odpowiedzi na następujące pytania:

- 3) Jakie przemiany fazowe zachodzą podczas ochładzania stopionej karbamazepiny oraz ponownego jej ogrzewania?
- 4) Jakimi metodami można wykryć obecność produktów rozkładu termicznego karbamazepiny?
- 5) Czy hydratacja lub rekrytalizacja bezwodnej karbamazepiny przy zastosowaniu rozpuszczalników organicznych ma wpływ na jej stabilność termiczną?
- 6) Jaki wpływ na obserwowane zachowanie termiczne karbamazepiny ma procedura pomiarowa, tj. w szczególności atmosfera pomiaru i/lub rodzaj tygla (otwarty lub zamknięty)?
- 7) Jaka jest przyczyna rozbieżności w ocenie stabilności karbamazepiny w okolicach temperatury topnienia między różnymi grupami badawczymi [2,29,36,39–43]?

Temperaturowe badania niemodyfikowanej karbamazepiny, jej hydratu, form rekrytalizowanych z rozpuszczalników organicznych oraz szkła zostały przeprowadzone

przy wykorzystaniu szeregu metod komplementarnych, tj. różnicowej kalorymetrii skaningowej, termograwimetrii, fourierowskiej spektroskopii w podczerwieni oraz rentgenowskiej dyfraktometrii proszkowej. Wysokosprawna chromatografia cieczowa posłużyła do ilościowej analizy pozwalającej na oszacowanie procentowej zawartości iminostylbenu, będącego głównym produktem rozkładu karbamazepiny, w próbkach po stopieniu lub modyfikacjach.

Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono na następujących konferencjach o zasięgu krajowym i międzynarodowym oraz seminariach międzyuczelnianych:

- 1) XXI Ogólnopolska Konferencja Kryształy Molekularne 2018, Łódź (03-07.09.2018 r.) – „Charakterystyka polimorfizmu karbamazepiny przy wykorzystaniu metod analizy termicznej” (poster),
- 2) I Krakowsko-Poznańskie Seminarium Poświęcone Badaniom Farmaceutyków, Poznań (02.04.2019 r.) – „Nowe spojrzenie na termodynamiczną stabilność karbamazepiny” (komunikat ustny),
- 3) XVI Katowicko-Krakowskie Seminarium „Fizyka Fazy Skondensowanej”, Kraków (16.05.2019 r.) – „Polimorfizm karbamazepiny a dynamika molekularna – temperaturowe badania metodą spektroskopii w podczerwieni” (komunikat ustny),
- 4) Konferencja 2nd Journal of Thermal Analysis and Calorimetry Conference and 7th V4 Thermoanalytical Conference, Budapeszt (18-21.06.2019 r.) – “Physical stability evaluation of carbamazepine” (komunikat ustny),
- 5) Konferencja Multiscale Phenomena in Molecular Matter (MULTIS), Kraków (01-04.07.2019 r.) – “Temperature-modulated vibrational dynamics of carbamazepine” (komunikat ustny),
- 6) Konferencja *on-line* dla młodych naukowców Multiscale Phenomena in Molecular Matter (Young MULTIS), Kraków (05-07.07.2021 r.) – “Role of sublimation in degradation kinetics of carbamazepine” (komunikat ustny),
- 7) Konferencja *on-line* 17th International Congress on Thermal Analysis and Calorimetry (ICTAC), Kraków (29.08.-02.09.2021 r.) – “Non-isothermal cold-crystallization and physical stability of quench-cooled carbamazepine” (komunikat ustny).

Wyniki przedstawione w niniejszej pracy opublikowano w szeregu artykułów:

- 1) **A. Dołęga**, P. M. Zieliński, N. Osiecka-Drewniak, „New insight into thermodynamical stability of carbamazepine”, *J. Pharm. Sci.* 108 (2019) 2654–2660,

- 2) **A. Dołęga**, E. Juszyńska-Gałązka, A. Deptuch, T. Jaworska-Gołąb, P. M. Zieliński, „Vibrational dynamics of carbamazepine: studies based on two-dimensional correlation spectroscopy and X-ray diffraction”, *Appl. Spectr.* 74 (2020) 473-484,
- 3) **A. Dołęga**, A. Krupa, P. M. Zieliński, „Enhanced thermal stability of carbamazepine obtained by fast heating, hydration and re-crystallization from organic solvent solutions: A DSC and HPLC study”, *Thermochim. Acta* 690 (2020) 178691,
- 4) **A. Dołęga**, E. Juszyńska-Gałązka, A. Deptuch, T. Jaworska-Gołąb, P. M. Zieliński, “Thermoanalytical studies of a cytotoxic derivative of carbamazepine: iminostilbene”, *J. Therm. Anal. Calorim.*, 146 (2021) 2151–2160,
- 5) **A. Dołęga**, E. Juszyńska-Gałązka, N. Osiecka-Drewniak, P. Natkański, P. Kuśtrowski, A. Krupa, P. M. Zieliński, „Study on the thermal performance of carbamazepine at different temperatures, pressures and atmosphere conditions”, *Thermochim. Acta* 703 (2021) 178990,
- 6) **A. Dołęga**, P. M. Zieliński, “Kinetics of non-isothermal cold-crystallization of carbamazepine in the glassy state studied by DSC”, *J Non Cryst Solids* 575 (2022) 121198,
- 7) **A. Dołęga**, E. Juszyńska-Gałązka, A. Deptuch, S. Baran, P. M. Zieliński, „Cold-crystallization and physical stability of glassy carbamazepine”, *Thermochim. Acta* 707 (2022) 179100.

Autorka niniejszej rozprawy podjęła w czasie studiów doktoranckich również szereg działań popularyzujących naukę:

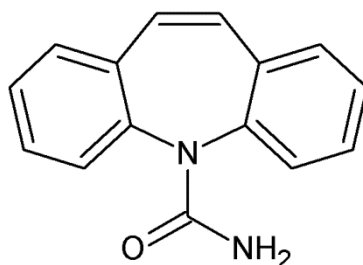
- wygłoszenie referatu pt. „Co ma fizyk do farmacji, czyli o badaniu polimorfizmu leków” na seminarium koła naukowego Fizyków Medycznych AGH, Kraków (14.11.2018 r.),
- nagranie dwóch filmików popularnonaukowych na Małopolską Noc Naukowców w IFJ PAN w 2020 r. („Praca naukowa oczami doktoranta”, „Zjawisko polimorfizmu”),
- udział w konkursie QuickPhysX2 organizowanym przez IFJ PAN w 2020 r. (wystąpienie pt. „Zobaczyć niewidoczne, czyli o mikroskopach słów kilka”),
- nauka fizyki w mediach społecznościowych (Instagram, Facebook) w ramach autorskiego profilu @fizyka_ktora_zrozumiesz oraz kanału na YouTube „Fizyka, którą zrozumiesz” (w tym przeprowadzenie wiosną 2021 r. cyklu darmowych transmisji na żywo pt. „Maturalne last minute”).

2. Charakterystyka karbamazepiny

2.1. Struktura i mechanizm działania

Karbamazepina (CBZ) to organiczny związek chemiczny będący karboksamidową pochodną iminostylbenu o wzorze sumarycznym $C_{15}H_{12}N_2O$ i masie molowej $236.27 \text{ g mol}^{-1}$. Jej wzór strukturalny został przedstawiony na Rys. 1. CBZ została po raz pierwszy zsyntezowana w 1953 r. przez Waltera Schindlera, zaś w połowie lat 60. została wprowadzona do leczenia [22,23]. Mechanizm działania CBZ polega na blokowaniu kanałów sodowych, a przez to stabilizacji nadmiernie pobudzonych błon komórkowych włókien nerwowych. Wtórnie zmniejszane jest również uwalnianie glutaminianu oraz przemiany katecholamin (dopaminy, noradrenaliny) w ośrodkowym układzie nerwowym [44].

CBZ jest stosowana w terapii padaczki oraz innych zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego np. w leczeniu bólów neuropatycznych, schizofrenii, w zapobieganiu nawrotom choroby afektywnej, jako lek stabilizujący nastrój w chorobie dwubiegunowej oraz w celu zapobiegania napadom w trakcie alkoholowego zespołu odstawiennego [23,45]. Jako lek przeciwpadaczkowy jest stosowana w postaci tabletek lub zawiesiny doustnej w dawce dobowej 800-1200 mg.



Rys. 1 Wzór strukturalny karbamazepiny – 5H-Dibenzo[b,f]azepino-5-karboksamidu.

W monografii szczegółowej CBZ zamieszczonej w Farmakopei Amerykańskiej (ang. *United States Pharmacopeia*, USP 38) opisano dwa zanieczyszczenia organiczne, tj. 10,11-dihydrokarbamazepinę oraz 5H-Dibenzo[b,f]azepinę (iminostylben – IMB). Dopuszczalny poziom każdego z tych związków nie powinien przekraczać 0.2%, podczas gdy całkowity udział zanieczyszczeń powinien być mniejszy niż 0.5%. Z kolei Farmakopea Europejska (ang. *European Pharmacopeia*, Ph. Eur. 10th ed.), poza zanieczyszczeniami wymienionymi w USP 38, dopuszcza obecność dodatkowych pięciu zanieczyszczeń organicznych.

2.2. Rozpuszczalność i wchłanianie

Zgodnie z Systemem Klasyfikacji Biofarmaceutycznej (BCS, ang. *biopharmaceutics classification system*), który dzieli substancje lecznicze na 4 klasy ze względu na ich rozpuszczalność w wodzie i szybkość wchłaniania, CBZ należy do klasy II [11]. Oznacza to, iż jest ona trudno rozpuszczalna ($\sim 120 \mu\text{g mL}^{-1}$ w temperaturze pokojowej) i bardzo dobrze przenika przez bariery biologiczne [33,38,46,47]. Rozpuszczalność CBZ nie zależy od pH [48]. Jej biodostępność wynosi 70-80%, a okres półtrwania we krwi wynosi 16-24 h [22].

Poprawa rozpuszczalności substancji leczniczych należących do klasy II BCS, w tym również CBZ, jest przedmiotem wielu badań. Istnieją trzy główne sposoby rozwiązywania tego problemu, które obejmują: (i) modyfikacje fizyczne, (ii) modyfikacje chemiczne (np. formowanie soli) oraz (iii) zastosowanie solubilizatorów [11].

Do najczęściej opisywanych modyfikacji fizycznych, mających prowadzić do poprawy rozpuszczalności CBZ, zaliczyć należy: (i) modyfikacje jej formy polimorficznej, (ii) formowanie postaci amorficznych oraz (iii) sporządzanie stałych rozprożeń (ang. *solid dispersion*).

2.2.1. Formy polimorficzne

Zdolność molekuł budujących dany związek chemiczny do tworzenia więcej niż jednej odmiany krystalograficznej znana jest jako polimorfizm (wielopostaciowość) [25]. Polimorfem nazywa się więc pewną fazę krystaliczną danego związku, który może istnieć w przynajmniej dwóch różnych uporządkowaniach krystalograficznych [21].

Znane są cztery postaci polimorficzne CBZ (I, II, III, IV) o zdefiniowanym rodzaju sieci Bravaisego, parametrach komórki elementarnej, położeniu refleksów dyfrakcyjnych, czy temperaturach przemian fazowych (patrz Tab. 1). W 2011 r. dowiedziono istnienia formy V [26], zaś przewidywania teoretyczne nie wykluczają istnienia jeszcze większej ilości odmian polimorficznych opisywanego związku.

Tab. 1 Najważniejsze parametry czterech dobrze poznanych odmian polimorficznych CBZ.

	Forma I	Forma II	Forma III	Forma IV
Rodzaj sieci Bravaisego [24]	układ trójskośny, centrowanie prymitywne (P)	układ trygonalny, centrowanie prymitywne (P)	układ jednoskośny, centrowanie prymitywne (P)	układ jednoskośny, centrowanie w podstawie (C)
Parametry komórki elementarnej	a=5.1705 Å b=20.574 Å c=22.245 Å α=84.12° β=88.01° γ=85.19° [24]	a=35.454 Å b=35.454 Å c=5.253 Å α=90.00° β=90.00° γ=120.00° [49]	a=7.529 Å b=11.148 Å c=15.470 Å α=90.00° β=116.17° γ=90.00° [49]	a=26.609 Å b=6.9269 Å c=13.957 Å α=90.00° β=109.70° γ=90.00° [50]
Wygląd i kształt kryształów	iglaste [51]	kolumnowe [27]	pryzmatyczne [39]	płytkowe [50]
Najważniejsze refleksy dyfrakcyjne (2θ) [24]	7.92° 9.37° 12.28° 19.99°	8.68° 13.26° 18.56° 24.54°	15.36° 19.56° 25.00° 27.47°	14.11° 17.89° 21.79° 33.11°
Temperatury przejść fazowych [24]	193.5°C – temperatura topnienia	140-160°C – temperatura rekrytalizacji do formy I	174.8°C – temperatura topnienia oraz rekrytalizacji do formy I	187.7°C – temperatura topnienia

Polimorfizm wpływa na wiele własności fizykochemicznych substancji, m.in. temperaturę topnienia, stabilność, twardość, sypkość, szybkość rozpuszczania, zwilżalność, czy biodostępność [20,27,52,53]. W temperaturze pokojowej najstabilniejszą formą CBZ jest forma III, następnie forma I, forma IV i forma II [23]. Z kolei powyżej ~71°C bardziej stabilna od formy III okazuje się być forma I [28]. Przejście fazowe pomiędzy tymi dwiema formami polimorficznymi, tj. formą III i formą I, ma charakter enancjotropowy, czyli odwracalny [29]. Pomimo faktu, że większą szybkość rozpuszczania wykazuje forma I CBZ niż forma III [30], to właśnie forma III używana jest we wszystkich dostępnych komercyjnie produktach leczniczych, ze względu na stabilność w temperaturze pokojowej oraz fakt, iż jako jedyna forma polimorficzna wykazuje pożądane własności terapeutyczne [23,54]. W niniejszej pracy badania prowadzono przy użyciu formy III.

Poza formami polimorficznymi, CBZ może występować również w postaci pseudopolimorficznej (uwodnionej), tj. dihydratu. Przejście do tej formy następuje w sposób spontaniczny i jest procesem niekorzystnym, ze względu na mniejszą aktywność biologiczną formy uwodnionej w stosunku do formy krystalicznej bezwodnej [20,29,55]. Badania rentgenowskie wykazały, że po 1 h od umieszczenia w wodzie, 95% bezwodnej CBZ przekształca się w dihydrat [31].

2.2.2. Formy amorficzne

Przedmiotem zainteresowania jest także charakterystyka amorficznych form CBZ. Postaci takie otrzymać można na drodze kriomielenia [42,43], gwałtownego chłodzenia po uprzednim stopieniu [39–42,56], dehydratacji formy uwodnionej [57], czy lewitacji akustycznej [58]. Z kolei mielenie w temperaturze pokojowej (przez 120 min) nie prowadzi do amorfizacji CBZ [40]. Jak wcześniej wspomniano, zaletą form amorficznych jest przede wszystkim większa rozpuszczalność w wodzie [42]. Do wad form amorficznych zaliczyć należy ich niestabilność termodynamiczną i tendencję do rekrytalizacji już na etapie procesu wytwarzania lub podczas przechowywania finalnej postaci leku [36,59]. Problem stanowi również uzyskanie powtarzalności w procesie sporządzania postaci amorficznych.

Pomimo faktu, że CBZ jest substancją modelową, literatura dotycząca charakterystyki jej postaci amorficznych, a w szczególności szkła otrzymywanego metodą szybkiego chłodzenia, jest dość uboga. Powszechnie przytaczana jest temperatura przejścia szklistego (T_g , tj. przejścia fazowego ze stanu szkła do cieczy przechłodzonej), która mieści się w zakresie 56-61°C, zarówno dla próbek amorfizowanych metodą szybkiego chłodzenia, jak i innymi technikami [2,39–43,56–58]. Brakuje natomiast szczegółowego opisu procesu izo- i nieizotermicznej rekrytalizacji przy wykorzystaniu technik komplementarnych, takich jak np. dyfrakcja rentgenowska, różnicowa kalorymetria skaningowa, spektroskopia w podczerwieni, czy wyznaczenia profili szybkości rozpuszczania.

Do tej pory opisano dokładnie termiczne zachowanie CBZ zeszkłonej metodą szybkiego chłodzenia podczas jej ogrzewania przy wykorzystaniu pulsacyjnej spektroskopii terahercowej [56] oraz spektroskopii Ramana [42]. W pierwszym przypadku zaobserwowano całkowitą rekrytalizację zeszkłonej CBZ do formy III, zaś w drugim – całkowitą rekrytalizację do formy I.

W przypadku zeszklenia CBZ na drodze kriomielenia, rekrytalizacja następowała do formy III, gdy kriomielona była forma III lub do mieszaniny formy III i IV, gdy kriomielona była form I [42]. Rekrytalizacja szkła otrzymanego na drodze dehydratacji uwodnionej CBZ prowadziła do otrzymania formy I.

Stabilność formy szklistej CBZ otrzymanej metodą szybkiego chłodzenia wyznaczono w pracy Pattersona *et al.* [40] dla różnych warunków przechowywania. Podczas przechowywania próbki w temperaturze pokojowej (RT) i wilgotności 10%, częściowa rekrytalizacja do formy III CBZ nastąpiła po upływie 1 tygodnia. Gdy wilgotność zwiększono do 75%, rekrytalizacja również miała miejsce już po upływie tygodnia, ale tym razem przebiegała w inny sposób – wykrytalizowana próbka była mieszaniną formy II i III CBZ oraz formy uwodnionej.

Szkło CBZ otrzymane metodą lewitacji akustycznej [58] także nie odznaczało się zadowalającą stabilnością. Relaksacja następowała po upływie 2-5 miesięcy, gdy próbki przechowywano w lodówce (temperatura 2°C), natomiast pozostawały one amorficzne po ich zamrożeniu (tj. w temperaturze -18°C).

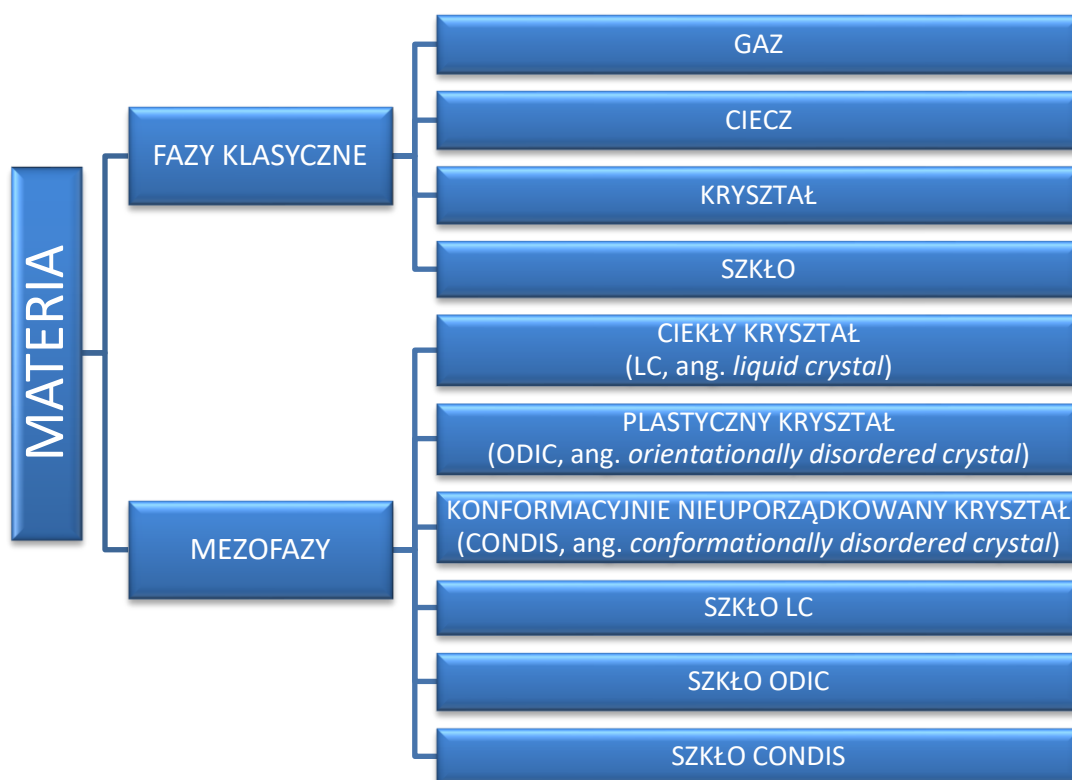
Wartość parametru T_g dla CBZ jest o ~30°C wyższa od temperatury pokojowej. Powszechnie uważa się, że stabilność formy zeszkłonej substancji leczniczej podczas przechowywania można zagwarantować w temperaturze przynajmniej o 50°C niższej od temperatury przejścia szklistego [4], co zgadza się z wynikami przedstawionymi przez Benmore *et al.* [58] dla szkła CBZ otrzymanego na drodze lewitacji akustycznej. Dokładniejsze badania dowodzą, że stabilność formy amorficznej można zagwarantować w temperaturze jedynie o 23°C niższej od T_g , gdy próbka jest przechowywana w temperaturze 25°C lub o 21°C niższej od T_g podczas jej przechowywania w temperaturze 5°C [60], co na podstawie przytoczonych wyżej wyników nie wydaje się jednak możliwe w przypadku zeszkłonej CBZ.

Przeprowadzone w niniejszej rozprawie badania zapewne nie pozwolą otrzymać stabilnej w temperaturze pokojowej lub temperaturze 2-8°C (przechowywanie w lodówce) zeszkłonej CBZ. Będą zatem miały charakter badań podstawowych, mających na celu opisanie procesu izo- i nieizotermicznej zimnej krystalizacji zeszkłonej CBZ oraz oszacowanie jej stabilności w różnych temperaturach. Opisane zależności ułatwią w przyszłości zaplanowanie dalszych badań skupionych wokół tematu poprawy rozpuszczalności i biodostępności CBZ, np. na drodze przygotowywania ko-kryształów, czy stałych rozproszeń.

3. Stan szklisty

3.1. Podział materii

Zgodnie z podziałem zaproponowanym przez Wunderlicha [61], materia może znajdować się, z punktu widzenia analizy termicznej, w jednej z dziesięciu faz, które wyróżnia się na podstawie struktury molekuł oraz rodzaju ruchu, który mogą one wykonywać. Fazy te można podzielić na klasyczne, tj. takie, dla których wszystkie ruchy o dużych amplitudach (translacje, rotacje oraz ruchy konformacyjne) są obecne (gaz i ciecz) lub nie (kryształ i szkło), oraz mezofazy, czyli fazy pośrednie o częściowo obecnych, a częściowo nieobecnych ww. ruchach. Do mezofaz należą: ciekłe kryształy (LC, ang. *liquid crystals*, posiadające uporządkowanie orientacyjne, zaś brak uporządkowania pozycyjnego i konformacyjnego), plastyczne kryształy (ODIC, ang. *orientationally disordered crystals*, odznaczające się uporządkowaniem pozycyjnym, ale brakiem uporządkowania orientacyjnego i konformacyjnego), konformacyjnie nieuporządkowane kryształy (CONDIS, ang. *conformationally disordered crystals*, cechujące się uporządkowaniem pozycyjnym i orientacyjnym, lecz brakiem uporządkowania konformacyjnego) oraz szkła tych mezofaz (szkło LC, szkło ODIC i szkło CONDIS) [61]. Schemat 1 ilustruje opisany podział.



Schemat 1 Podział materii wg Wunderlicha (opracowanie własne na podstawie [61]).

3.2. Definicje fazy szklistej oraz sposoby jej otrzymywania

Faza szklista doczekała się wielu definicji. Początkowo uznawano, że szkło jest zestaloną cieczą przechłodzoną, następnie uściślono, iż jest to ciecz z zamrożonymi niektórymi stopniami swobody. W 1988 r. Klinger w swojej pracy opisał szkło jako nieergodyczną fazę metastabilną o makroskopowym czasie życia [62]. Z kolei Zanotto i Mauro w 2017 r. po przeanalizowaniu dotychczasowych definicji zaproponowali, że szkło to nierównowagowa, niekryształiczna faza skondensowana, która w krótkiej skali czasowej zachowuje się jak ciało stałe, ale nieustannie relaksuje to stanu ciekłego [63]. Mikroskopowo szkło ma więc strukturę podobną do cieczy, jednakże makroskopowo odznacza się mechanicznymi własnościami ciała stałego.

Chociaż badania dotyczące fazy szklistej cieszą się niegasnącą popularnością od ponad wieku, to wciąż brakuje teorii fizycznej, która byłaby w stanie jednoznacznie i uniwersalnie opisać strukturę oraz dynamikę cieczy przechłodzonej, czy przejście ciecz – szkło [64–66]. Jest to związane z faktem, że skonstruowanie ścisłej teorii klasycznej czy kwantowej układu nieuporządkowanego jest bardzo złożone, a możliwość występowania dodatkowych procesów kolektywnych, takich jak dyfuzja czy relaksacja strukturalna, dodatkowo utrudniają ten opis. Z tego względu lepsze poznanie badanych układów ze strony eksperymentalnej może istotnie przyczynić się do rozwoju modeli teoretycznych.

Istnieje wiele sposobów otrzymywania fazy szklistej. Do najpopularniejszych należą: szybkie chłodzenie fazy ciekłej, kondensacja z fazy gazowej, odparowanie rozpuszczalnika, bombardowanie kryształu neutronami, jonami, czy falami dźwiękowymi, mielenie kryształów, szybkie chłodzenie przez zginięcie (ang. *splat quenching*) oraz polerowanie laserowe (ang. *laser glazing*). Uważa się, że każdy materiał można zeszklić, pod warunkiem zablokowania możliwości krystalizacji [67].

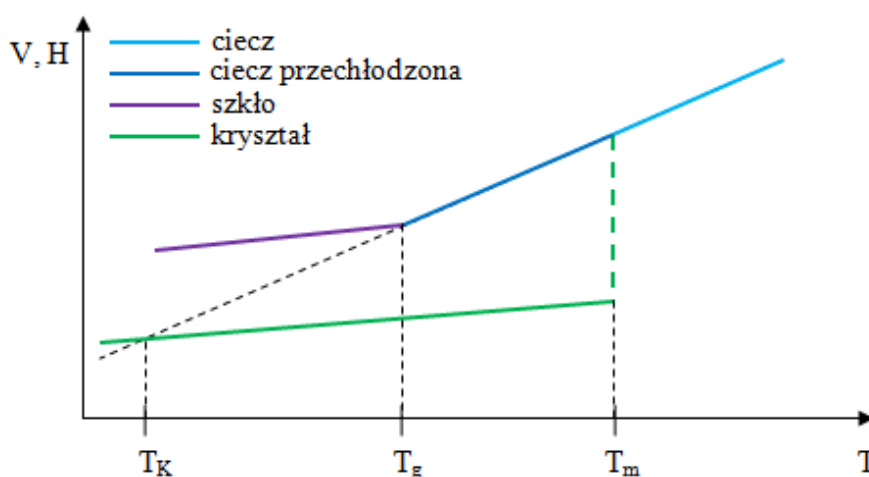
Substancje lecznicze wykazują zazwyczaj dobre właściwości szklotwórcze, co oznacza, że można je zeszklić stosunkowo łatwo, tj. przy niskiej szybkości chłodzenia – rzędu $5\text{--}20^\circ\text{C min}^{-1}$ [2].

3.3. Temperatura przejścia szklistego

Najważniejszym parametrem charakteryzującym fazę szklistą jest temperatura zeszklenia/odszklenia T_g (przejście do/z fazy szkła). W przeciwieństwie do kryształów,

posiadających ściśle określoną temperaturę krzepnięcia/topnienia, wartość T_g nie jest stała i zależy m.in. od historii termicznej próbki, szybkości chłodzenia, czy wyboru metody pomiarowej [63,65]. W ujęciu kinetycznym, za temperaturę T_g przyjmuje się tę wartość temperatury układu, którą osiąga on gdy średni czas relaksacji strukturalnej α (mierzonej przy pomocy pomiarów dielektrycznych) wynosi 100 s. Tak wyznaczona wartość T_g pokrywa się zazwyczaj z temperaturą wyznaczoną na drodze pomiarów mechanicznych, dla których T_g jest definiowana jako temperatura, w której lepkość dynamiczna (ang. *shear viscosity*) osiąga wartość 10^{12} Pa·s [66]. Ponieważ wartość T_g nie jest stała, to kinetyczny opis przejścia szklistego jest bardzo skomplikowany i wciąż nie do końca poznany. Wydaje się jednak, że ogólna teoria rozpatrywanego procesu powinna istnieć, gdyż w czasie jego zachodzenia niezależnie od rodzaju materiału (jego struktury molekularnej), w sposób jakościowo identyczny, zmieniają się takie parametry jak entalpia, moduł elastyczności czy współczynnik rozszerzalności cieplnej [68].

Możliwe jest również zdefiniowanie wartości T_g z punktu widzenia termodynamiki. W takim przypadku wykreślana jest zależność zmiany objętości i/lub entalpii od temperatury. W zakresie przejścia szklistego następuje zmiana charakteru zależności z liniowej na nieliniową (ale ciągłą). Rzut przecięcia przedłużeń linii prostych, odpowiadających zmianom zachodzącym w fazie szkła i fazie cieczy, na oś odciętych, jest szukaną wartością T_g (patrz Rys. 2) [65].



Rys. 2 Uproszczony wykres zależności objętości (V) i entalpii (H) (pierwszych pochodnych energii Gibbsa) od temperatury (T); gdzie: T_K – temperatura Kauzmana, T_g – temperatura przejścia szklistego, T_m – temperatura topnienia.

Jak już wcześniej wspomniano, zmiana szybkości chłodzenia materiału wpływa na wartość T_g – im wolniejsze chłodzenie, tym niższa wartość T_g . Istnieje jednak

temperatura T_K , tzw. temperatura Kauzmanna, poniżej której niemożliwe jest przechłodzenie cieczy. Wynika to z faktu, że dla niezerowej temperatury $T < T_K$ entropia nieuporządkowanej cieczy byłaby niższa od entropii uporządkowanego kryształu, a co za tym idzie w temperaturze $T=0$ K osiągnęłaby wartość ujemną, co jest niezgodne z trzecią zasadą termodynamiki. Sposób szacowania wartości T_K jest analogiczny do szacowania wartości T_g , z tą różnicą, że tym razem rzutowane jest przecięcie przedłużenia linii prostej odpowiadającej zmianom zachodzącym w fazie krystalicznej i fazie cieczy (patrz Rys. 2). Z kinetycznego punktu widzenia T_K to temperatura w której ruchy translacyjne i rotacyjne zanikają [65].

3.4. Zimna krystalizacja

Zgodnie z wcześniej przytoczoną definicją, faza szklista jest fazą nierównowagową, nieustannie relaksującą do stanu ciekłego. Na skutek tej relaksacji dochodzi do przejścia fazowego szkło – ciecz przechłodzona, a w dalszej kolejności do zimnej krystalizacji (gdyż ciecz przechłodzona to ciecz istniejąca między temperaturą odszklenia a temperaturą topnienia, będąca – podobnie jak szkło – fazą metastabilną).

Zimna krystalizacja to zjawisko, które może zachodzić np. podczas ogrzewania czy też anilacji w okolicach T_g szkłotwórczych substancji takich jak np. ciekłe kryształy, substancje czynne leków czy polimery [69–71]. W przypadku substancji czynnych leków opisywana przemiana fazowa jest niepożądana, ponieważ prowadzi do krystalizacji substancji, a w konsekwencji zmniejszenia jej rozpuszczalności.

Krystalizacja jest procesem złożonym, na który składa się nukleacja (tj. proces tworzenia zarodków) oraz wzrost krystalitów. Nukleacja może zachodzić w sposób spontaniczny – wówczas nazywana jest pierwszorzędową lub homogeniczną – albo w sposób wymuszony – wówczas nazywana jest drugorzędową lub heterogeniczną. W nukleacji heterogenicznej kluczową rolę odgrywają atomy substancji obcej (tj. różnej od substancji dla której rozważamy proces krystalizacji). Mogą to być np. zanieczyszczenia obecne w próbce, czy ścianki tygla pomiarowego. Po zakończeniu nukleacji (bądź jeszcze w trakcie jej trwania) dochodzi do wzrostu krystalitów do rozmiarów makroskopowych. [72]. Zazwyczaj maksymalna szybkość nukleacji jest obserwowana dla temperatur niewiele wyższych od T_g , podczas gdy maksymalna szybkość wzrostu krystalitów – dla temperatur o wiele wyższych niż te obserwowane dla maksymalnej szybkości nukleacji [73].

Metody analizy termicznej takie jak różnicowa kalorymetria skaningowa czy termiczna analiza różnicowa są często wykorzystywane by opisywać kinetykę izotermicznej czy też nieizotermicznej krystalizacji. W pierwszym przypadku, próbkę szybko ogrzewa się do pożądanej temperatury, a następnie mierzy ciepło wydzielone przez próbkę w czasie jej anilacji w funkcji czasu. W drugim przypadku, próbka jest ogrzewana z różnymi szybkościami, zaś mierzona jest entalpia w funkcji temperatury [71,72]. Model Johnsona, Mehla i Avramiego (model JMA) [74–76], wyprowadzony dla izotermicznej krystalizacji, jest najczęściej wykorzystywanym modelem do opisu rozważanego procesu. Jest on również niekiedy wykorzystywany do opisu nieizotermicznej krystalizacji, np. przy założeniu poprawki wprowadzonej przez Jeziornego [77]. Używanie modelu JMA do opisu nieizotermicznej krystalizacji jest jednak poprawne jedynie dla ściśle określonych przypadków. Stąd konieczne jest przeprowadzanie testów pozwalających sprawdzić, czy założenia modelu JMA są spełnione dla rozważanego przypadku krystalizacji [78]. Model Kissingera (model KS) [79,80] to jeden z najczęściej wykorzystywanych modeli do wyznaczania energii aktywacji nieizotermicznej krystalizacji. Niestety, jako że nie był on wyprowadzany dla procesu krystalizacji, lecz dla reakcji n -tego rzędu, również w tym przypadku niezbędne jest sprawdzenie założeń zanim uzna się otrzymane wyniki za sensowne fizycznie [81]. Inne modele opisujące nieizotermiczną krystalizację to m.in. model Augisa i Bennetta (model AB) [82], model Ozawy (model OZ) [83], model Mo (model MO) [70] i model Matusity (model MS) [73,84]. Do opisu procesu zimnej krystalizacji amorficznej CBZ zastosowano wszystkie powyższe modele, przedyskutowano ich ograniczenia i pokazano, który z nich daje fizycznie akceptowalne wyniki (patrz podrozdział 5.5 *Kinetyka nieizotermicznej zimnej krystalizacji amorficznej formy karbamazepiny*).

4. Metody badawcze

4.1. Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC)

Różnicowa kalorymetria skaningowa (ang. *differential scanning calorimetry*, DSC) to technika pomiarowa umożliwiająca monitorowanie zależności różnicy strumienia cieplnego (na podstawie pomiaru dostarczanej mocy do próbki i referencji) od czasu bądź temperatury podczas zaprogramowanego schematu zmian ich temperatury – najczęściej jednostajnego ogrzewania lub ochładzania [85]. Najprostszy opis fizycznych podstaw DSC obejmuje układ złożony z pieca, próbki i referencji o temperaturach odpowiednio T_F , T_S oraz T_R . Próbkę i referencję poddawane są zmianie temperatury ze stałą szybkością dT_F/dt . Zgodnie z prawem stygnięcia Newtona, przepływ ciepła między piecem a próbką dq_S/dt jest opisany wzorem:

$$\frac{dq_S}{dt} = \frac{1}{R_{FS}} (T_F - T_S) \quad (1)$$

gdzie:

dq_S/dt – szybkość przepływu ciepła (ang. *heat flow rate*) między piecem a próbką [$J s^{-1}$],

T_F – temperatura pieca [$^{\circ}C$],

T_S – temperatura próbki [$^{\circ}C$],

R_{FS} – oporność cieplna między piecem a próbką [$^{\circ}C s J^{-1}$].

Ponieważ ciepło dostarczane do próbki zostaje wykorzystane do ogrzania zarówno jej samej, jak i celi pomiarowej w której się znajduje, to prawdziwe jest także poniższe wyrażenie:

$$\frac{dq_S}{dt} = [C_{CS}(T) + C_S(T)] \frac{dT_F}{dt} \quad (2)$$

gdzie:

C_{CS} – pojemność cieplna celi, w której znajduje się próbka [$J ^{\circ}C^{-1}$],

C_S – pojemność cieplna próbki [$J ^{\circ}C^{-1}$].

Analogiczne równania można zapisać dla referencji:

$$\frac{dq_R}{dt} = \frac{1}{R_{FR}} (T_F - T_R) \quad (3)$$

$$\frac{dq_R}{dt} = [C_{CR}(T) + C_R(T)] \frac{dT_F}{dt} \quad (4)$$

gdzie:

dq_R/dt – szybkość przepływu ciepła między piecem a referencją [$J s^{-1}$],

R_{FR} – oporność cieplna między piecem a referencją [$^{\circ}C s J^{-1}$],

C_{CR} – pojemność cieplna celi, w której znajduje się referencja [$J ^{\circ}C^{-1}$],

C_R – pojemność cieplna referencji [$J ^{\circ}C^{-1}$].

Zakładając, że oporność cieplna między piecem a próbką jest równa oporności cieplnej między piecem a referencją ($R_{FS}=R_{FR}=R$) oraz że pojemność cieplna celi próbki jest równa pojemności cieplnej celi referencji ($C_{CS}(T)=C_{CR}(T)$), różnica przepływu ciepła między próbką a referencją wygląda następująco [86]:

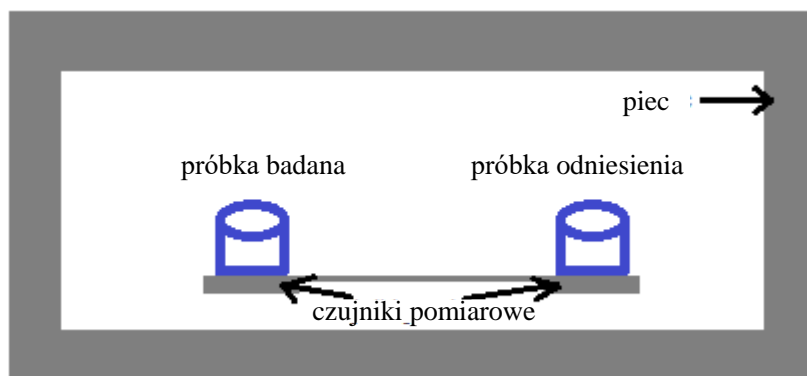
$$\frac{dq_S}{dt} - \frac{dq_R}{dt} = -\frac{1}{R}(T_S - T_R) = [C_S(T) - C_R(T)] \frac{dT_F}{dt} \quad (5)$$

Istnieją dwa podstawowe typy różnicowych kalorymetrów skaningowych – przepływowy (ang. *heat-flux DSC*, hf-DSC) i kompensacyjny (ang. *power compensation DSC*, pc-DSC). Różnią się one między sobą budową oraz rodzajem sygnału wyjściowego. W hf-DSC ogrzewanie próbki oraz referencji odbywa się we wspólnym piecu (patrz Rys. 3), zgodnie z założonym programem temperaturowym. Przepływ ciepła jest wyznaczany dzięki znajomości oporności cieplnej (R) oraz pomiarowi różnicy temperatur między próbką a referencją (T_S-T_R). Jeśli w próbce nie zachodzi żadna przemiana, to strumień ciepły dostarczany do próbki i referencji jest jednakowy, a różnica temperatur wynosi 0. Wytrącenie układu z równowagi, na skutek zajścia przemiany bądź wystąpienia asymetrii cieplnej spowodowanej różnicą pojemności cieplnej próbki i referencji, skutkuje niezerową wartością (T_S-T_R). Z kolei w pc-DSC wykorzystywane są dwa piece – jeden do ogrzewania próbki, zaś drugi do ogrzewania referencji (patrz Rys. 4). Moc dostarczana przez piece ma taką wartość, aby spełniony był założony program temperaturowy. Zerowa różnica mocy dostarczanej do próbki i referencji świadczy o symetrii cieplnej układu. Asymetria cieplna związana z zajściem przemiany bądź różnicą pojemności cieplnej próbki i referencji wywołuje różnicę temperatur między próbką a referencją, którą piec niweluje zwiększając lub zmniejszając dopływ mocy do danej celi pomiarowej [87]. W ten sposób powstaje mierzona różnica mocy. W tym przypadku sygnałem wyjściowym jest zależność napięcia od czasu. Do szeregu równości przedstawionych powyżej, dochodzi więc jeszcze jeden człon [86]:

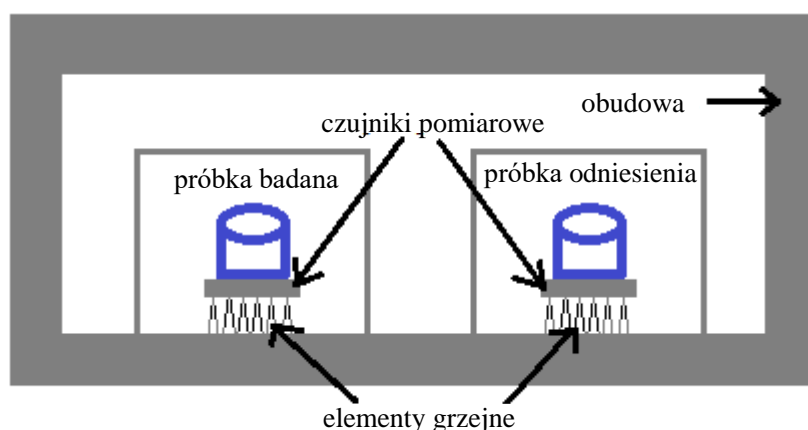
$$\begin{aligned} \frac{dq_S}{dt} - \frac{dq_R}{dt} &= K(T) \frac{d\Delta q_m}{dt} = -\frac{1}{R}(T_S - T_R) \\ &= [C_S(T) - C_R(T)] \frac{dT_F}{dt} \end{aligned} \quad (6)$$

gdzie:

$K(T)$ – współczynnik proporcjonalności zależny od temperatury [$J V^{-1}$],
 $d\Delta q_m/dt$ – mierzony sygnał [$V s^{-1}$].



Rys. 3 Różnicowy kalorymetr skaningowy typu przepływowego (hf-DSC).



Rys. 4 Różnicowy kalorymetr skaningowy typu kompensacyjnego (pc-DSC).

Różnicowa kalorymetria skaningowa umożliwia wyznaczenie takich parametrów jak temperatury przejść fazowych, ciepło przemiany, pojemność cieplna próbki. Pozwala również na określenie kinetyki reakcji czy czystości próbki. Niewątpliwą zaletą DSC jest możliwość przeprowadzenia pomiarów przy niewielkiej ilości badanej substancji – kilku miligramów.

DSC, jako technika służąca do pomiarów termodynamicznych, umożliwia również wyznaczanie podstawowych funkcji stanu takich jak energia wewnętrzna U , entalpia H , entropia S , energia swobodna Helmholtza F , entalpia swobodna G oraz pojemność cieplna przy stałej objętości C_V lub ciśnieniu C_p [87].

MDSC

W 1993 r. Reading poszerzył możliwości pomiarowe różnicowego kalorymetru skaningowego poprzez nałożenie na podstawowy profil temperaturowy niskoczęstotliwościowych perturbacji (najczęściej o charakterze sinusoidalnym lub

piłokształtnym). Technikę tę nazwano różnicową kalorymetrią skaningową z modulacją temperatury (ang. *temperature-modulated DSC*, MDSC) [88].

Do zalet MDSC należy niewątpliwie lepsza rozdzielczość i wyższa czułość w porównaniu do klasycznego DSC, jak również zdolność rozróżnienia nakładających się na siebie zjawisk. Ta ostatnia możliwość jest związana z podziałem sygnału, tj. całkowitego przepływu ciepła (ang. *total heat flow*), na dwie komponenty – odwracalną (ang. *reversing heat flow*) i nieodwracalną (ang. *non-reversing heat flow*). Odwracalna składowa przepływu ciepła uzyskiwana jest z amplitudy pierwszej harmonicznej rozłożonego przy wykorzystaniu transformaty Fouriera sygnału, zaś nieodwracalna składowa z różnicy między całkowitym przepływem ciepła a składową odwracalną.

Odwracalna komponenta całkowitego przepływu ciepła niesie informację o wartości pojemności cieplnej i jej zmianach oraz o topnieniu próbki, z kolei komponenta nieodwracalna mówi o procesach kinetycznych, jak np. krystalizacja, dekompozycja, parowanie, czy reakcje chemiczne [87].

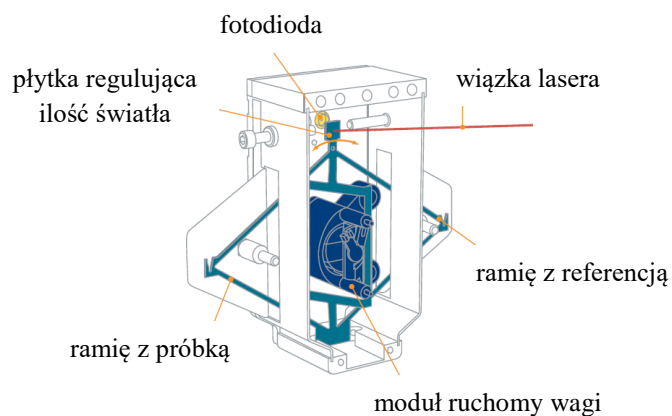
Opis DSC wykorzystywanego w pomiarach

Pomiary wykonane w ramach niniejszej pracy doktorskiej zostały przeprowadzone przy użyciu różnicowego kalorymetru skaningowego typu przepływowego DSC 2500 firmy TA Instruments, wykorzystującego system chłodzenia ciekłym azotem (pompa chłodząca LN2P). Pomiary były wykonywane w atmosferze azotu (czystość 5.0, szybkość przepływu 25 mL min⁻¹), przy wykorzystaniu tygli aluminiowych hermetycznie zamkniętych (podrozdziały 5.1 *Charakterystyka termicznej stabilności krystalicznej formy karbamazepiny*, 5.2 *Poszukiwanie metod poprawy stabilności termicznej krystalicznej formy karbamazepiny* i 5.3 *Ocena wpływu atmosfery i ciśnienia na proces termicznej degradacji krystalicznej formy karbamazepiny*) bądź otwartych (podrozdziały 5.3 *Ocena wpływu atmosfery i ciśnienia na proces termicznej degradacji krystalicznej formy karbamazepiny*, 5.4 *Charakterystyka termicznej stabilności amorficznej formy karbamazepiny otrzymanej metodą szybkiego chłodzenia* i 5.5 *Kinetyka nieizotermicznej zimnej krystalizacji amorficznej formy karbamazepiny*). Kalibracji temperatury i entalpii dokonano przy użyciu standardu indowego. Analiza temperatur oraz entalpii została przeprowadzona przy wykorzystaniu oprogramowania TRIOS firmy TA Instruments.

4.2. Analiza termograwimetryczna (TGA)

Analiza termograwimetryczna (ang. *thermogravimetric analysis*, TGA) to technika umożliwiająca pomiar masy substancji w funkcji temperatury lub czasu, podczas poddawania jej zaprogramowanemu schematowi zmiany temperatury, w ściśle określonej atmosferze. Gazem przepływającym przez komorę pomiarową może być zarówno gaz obojętny (np. azot, argon, hel), jak również utleniający (np. tlen, powietrze), bądź redukujący (np. odpowiednia mieszanina procentowa wodoru i azotu) [87]. Kluczowym elementem układu pomiarowego (nazywanego termowagą, ang. *thermobalance*) jest waga, która w zależności od producenta sprzętu jest albo wagą uchylną albo samozerującą się (ang. *null-point balance*). Ta druga w swym działaniu wykorzystuje pętlę sprzężenia zwrotnego – wytrącenie układu z równowagi skutkuje powstaniem niezerowego sygnału (w postaci np. prądu elektrycznego), który natychmiast jest niwelowany, tak aby przywrócić stan równowagi. Wielkość powstałego sygnału (a dokładniej związana z tym sygnałem siła) niesie informację o wielkości zmiany masy (ciężaru) próbki [89].

Waga umieszczona w instrumencie wykorzystywanym do pomiarów przedstawionych w niniejszej rozprawie, tj. TA Instruments TGA 5500, działa w oparciu o układ składający się z wiązki lasera, pary fotodiod oraz specjalnej płytki (ang. *flag*), przymocowanej do ramienia wagi (patrz Rys. 5). Płytkę reguluje ilość światła docierającego do fotodiod. Zmiana masy, skutkująca zaburzeniem równowagi układu, powoduje zmianę strumienia światła odbieraną przez fotodiody i w dalszej kolejności zmianę prądu przepływającego przez odpowiednią cewkę [90]. Poza wagą do kluczowych elementów układu termograwimetrycznego należą: piec, czujniki temperatury (termopary) oraz próbka referencyjna będąca pustą szalką [85].



Rys. 5 Schemat termowagi termograwimetru TGA 5500 firmy TA Instruments [90].

MTGA i HiRes-TGA

Podobnie jak w przypadku DSC, w pomiarach termogravimetrycznych można zastosować modulację temperatury (ang. *temperature-modulated TGA* – MTGA). Takie pomiary umożliwiają na podstawie pojedynczej krzywej (a nie jak w tradycyjnej metodzie kilku krzywych) wyznaczyć kinetyczne parametry reakcji takie jak m.in. energia aktywacji danej przemiany czy czynnik przedeksponencjalny [91].

Innym modulem pomiarowym dostępnym w termogravimetrze TGA 5500 firmy TA Instruments jest moduł wysokorozdzielczy (ang. *high-resolution TGA* – HiRes-TGA). Działa on w ten sposób, że szybkość grzania jest automatycznie zmieniana w zależności od obserwowanego spadku masy. W obszarach, w których masa próbki jest stała bądź zmienia się nieznacznie, próbka ogrzewana jest stosunkowo szybko. Jednakże gdy mierzony ubytek masy jest większy niż zadany limit, szybkość grzania jest natychmiast zmniejszana i pozostaje zredukowana aż do czasu, gdy masa próbki ponownie przestanie się zmieniać. Dzięki takiemu rozwiązaniu możliwe jest odseparowanie przemian/reakcji, zachodzących w wąskim zakresie temperatur (na skutek wolnego ogrzewania podczas zachodzenia przemiany/reakcji), przy jednoczesnym zaoszczędzeniu czasu (na skutek szybkiego ogrzewania podczas braku przemiany/reakcji).

Opis TGA wykorzystywanego w pomiarach

Pomiary termogravimetryczne prezentowane w podrozdziałach 5.1 *Charakterystyka termicznej stabilności krystalicznej formy karbamazepiny* i 5.2 *Poszukiwanie metod poprawy stabilności termicznej krystalicznej formy karbamazepiny* niniejszej pracy zostały przeprowadzone z wykorzystaniem termogravimetru TGA 5500 firmy TA Instruments, zarówno w konwencjonalnym trybie pracy, jak również przy wykorzystaniu modułów MTGA i HiRes-TGA. Pomiary wykonywano w atmosferze azotu (czystość 5.0, szybkość przepływu 25 mL min⁻¹). Próbki umieszczano na otwartej platynowej szalce. Kalibracja temperatury została przeprowadzona w oparciu o standard niklowy i alumelowy.

Z kolei pomiary termogravimetryczne przedstawione w podrozdziale 5.3 *Ocena wpływu atmosfery i ciśnienia na proces termicznej degradacji krystalicznej formy karbamazepiny* przeprowadzono przy wykorzystaniu termogravimetru TG-SDTA Q600 firmy TA Instruments z dedykowanym interfejsem TGA-IR (Thermo Scientific)

umożliwiającym analizę gazów emitowanych w trakcie rozkładu próbki w spektrometrze Nicolet™ 6700 FTIR (Thermo Scientific). Pomiary wykonywano w atmosferze azotu (czystość 2.2, szybkość przepływu 100 mL min⁻¹) i syntetycznego tlenu (czystość 2.2, szybkość przepływu 100 mL min⁻¹). Próbki umieszczano na otwartej aluminiowej szalce. Kalibracja temperatury została przeprowadzona w oparciu o standard indowy, cynowy, cynkowy i glinowy. Dwuwymiarowe mapy spektralne FTIR zostały zarejestrowane przy użyciu detektora MCT-A z rozdzielczością 4 cm⁻¹, 8 skanów na punkt pomiarowy.

Dane TGA, podobnie jak dane DSC, zostały przeanalizowane z wykorzystaniem oprogramowania TRIOS firmy TA Instruments.

4.3. Fourierowska spektroskopia w podczerwieni (FTIR)

Podczerwień to zakres spektralny rozciągający się między obszarem widzialnym a mikrofalowym, tj. między 14 300 cm⁻¹ a 200 cm⁻¹, przy czym dodatkowo podzielony jest on na trzy podobszary – podczerwień daleką (700-200 cm⁻¹), podczerwień właściwą (4000-700 cm⁻¹) oraz podczerwień bliską (14 300-4000 cm⁻¹). Absorpcja promieniowania podczerwonego prowadzi do wzbudzania molekuł i zachodzenia przejść oscylacyjnych, rotacyjnych, bądź oscylacyjno-rotacyjnych. Główny wkład do widm otrzymywanych w obszarze podczerwieni właściwej, szczególnie jeśli rozważamy widma ciał stałych lub cieczy, dają wzbudzenia oscylacyjne, ponieważ energia wzbudzeń rotacyjnych jest nawet o dwa rzędy wielkości mniejsza od energii wzbudzeń oscylacyjnych [92].

Rodzaje dozwolonych przejść absorpcyjnych bądź emisyjnych, które później są odzwierciedlane na otrzymywanym w wyniku pomiaru widmie, są określone przez tzw. reguły wyboru. Stanowią one, że [93]:

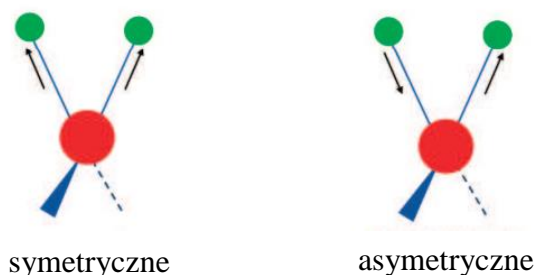
- I. Energia padającego fotonu musi być równa różnicy energii poziomów oscylacyjnych.
- II. W czasie absorpcji promieniowania musi dojść do zmiany momentu dipolowego cząsteczki.
- III. W czasie przejścia, oscylacyjna liczba kwantowa musi zmienić się o dowolną liczbę całkowitą (z wyłączeniem zera).

N-atomowa molekula posiada *3n* stopni swobody, z czego 3 stopnie przypadają na translacje, 3 na rotacje, zaś pozostałe *3n-6* (lub *3n-5* dla cząsteczek liniowych) na oscylacje. Chociaż molekuly wykonują złożone ruchy będące wypadkową wszystkich

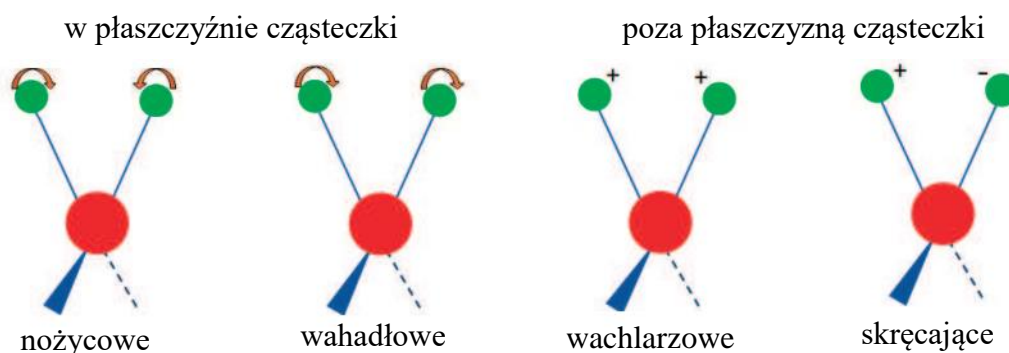
oscylacji, to można je rozłożyć na tzw. drgania normalne, tj. poszczególne pojedyncze oscylacje i związane z nimi pojedyncze oscylatory, z których każdy posiada charakterystyczną częstość i jest niezależny od pozostałych (co wynika z wzajemnej ortogonalności drgań) [92].

Drgania normalne można podzielić na te, w czasie których dochodzi do zmiany długości wiązania i te, w czasie których zmienia się kąt między nimi. Są to odpowiednio drgania rozciągające i zginające. Dodatkowo, drgania rozciągające można podzielić na symetryczne i asymetryczne, zaś drgania zginające na płaszczyznowe (nożycowe i wahadłowe) i pozapłaszczyznowe (wachlarzowe i skręcające). Graficzne przedstawienie różnych rodzajów drgań normalnych znajduje się na Rys. 6.

Drgania rozciągające



Drgania zginające

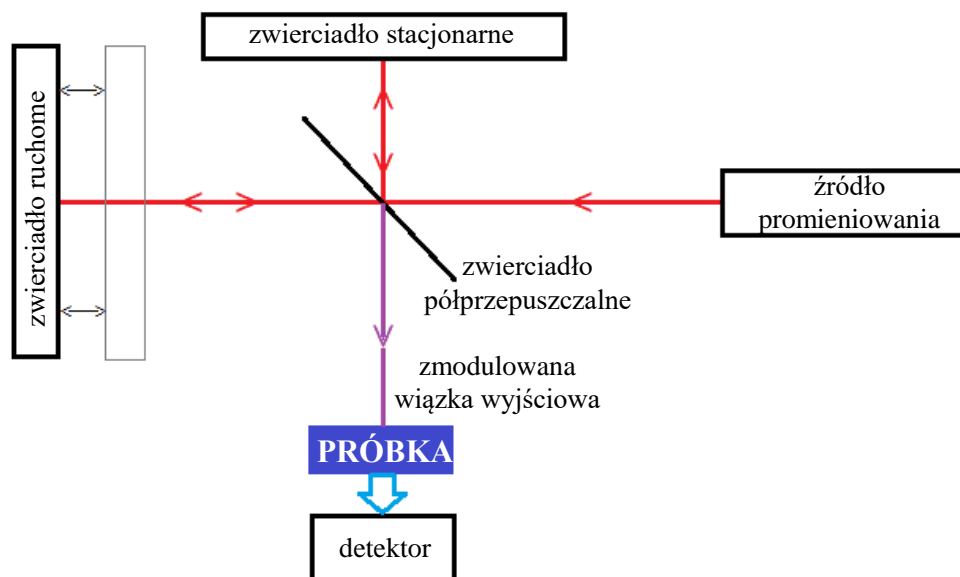


Rys. 6 Podział drgań normalnych (opracowanie własne na podstawie [94]).

Rejestracja widm w podczerwieni może odbywać się przy wykorzystaniu spektrofotometrów dyspersyjnych bądź spektrometrów fourierowskich. Ponieważ badania opisane w niniejszej rozprawie odbywały się przy użyciu spektrometru Fouriera, tylko ten rodzaj aparatury zostanie opisany w dalszej części tego podrozdziału.

W typowym spektrometrze Fouriera wyróżnić można dwa rodzaje komór – komorę, w której znajduje się próbka oraz komorę interferometru. Interferometr

Michelsona jest najważniejszym podzespołem opisywanego spektrometru. Składa się on z dwóch płaskich zwierciadeł, ustawionych względem siebie pod kątem 90° , z których jedno jest nieruchome, zaś drugie ruchome, oraz z rozdzielacza wiązki, ustawionego pod kątem 45° do każdego ze zwierciadeł (patrz Rys. 7).



Rys. 7 Schemat spektrometru Fouriera, ze szczególnym uwzględnieniem budowy interferometru Michelsona.

W czasie akwizycji widma, wiązka promieniowania ciągłego, emitowana np. przez pręt Nernsta, globar czy lampę rtęciową, przechodzi najpierw przez aperturę, a następnie kierowana jest do komory interferometru, gdzie zostaje rozdzielona na dwie wiązki o jednakowym natężeniu. Jedna z nich pada w dalszej kolejności na zwierciadło nieruchome, zaś druga na ruchome. Po odbiciu od zwierciadeł, wiązki ponownie przechodzą przez rozdzielacz i wspólnie wychodząc z komory interferometru nakładają się (tj. interferują). W dalszej kolejności tak zmodulowana wiązka pada na próbkę, gdzie zostaje osłabiona na skutek absorpcji promieniowania, bądź przechodzi przez pustą kuwetę i staje się wiązką odniesienia. Na koniec obie wiązki padają na detektor. Otrzymany sygnał jest analizowany i przetwarzany przez odpowiednie oprogramowanie z wykorzystaniem transformacji Fouriera, pozwalającej na przejście z domeny czasu (czy też różnicy dróg optycznych przebywanych przez rozdzielone wiązki w komorze interferometru) do domeny częstotliwości. W wyniku pomiaru otrzymywana jest zależność transmitancji (stosunku natężenia wiązki po przejściu przez próbkę do natężenia wiązki odniesienia) bądź absorbancji (ujemnego logarytmu dziesiętnego z transmitancji) w funkcji liczby falowej (odwrotności długości fali) [95].

Dwuwymiarowa analiza korelacyjna

Wiele technik badawczych, wśród nich również spektroskopia w podczerwieni, umożliwia prowadzenie badań w funkcji jakiegoś zewnętrznego zaburzenia. Może to być np. temperatura, ciśnienie, różnego rodzaju stymulacje mechaniczne, elektryczne, chemiczne, magnetyczne, optyczne, czy choćby wpływający czas. Tego typu pomiary są niezwykle bogate w informacje, ale jednocześnie ze względu na bardzo dużą liczbę danych do przeanalizowania ich opracowanie jest czasochłonne i uciążliwe. Dwuwymiarowa analiza korelacyjna (ang. *two-dimensional correlation analysis*, 2DCA) to pewien sposób analizy, który pozwala w sposób szybki i jednoznaczny opracować uzyskane dane. Technika ta początkowo została rozwinięta na potrzeby badań prowadzonych przy wykorzystaniu magnetycznego rezonansu jądrowego, ale aktualnie pozwala również na analizę złożonych wyników otrzymywanych różnymi metodami spektroskopowymi, chromatograficznymi, czy nawet mikroskopowymi. Podstawy wykorzystania 2DCA do analizy widm otrzymywanych metodą FTIR stworzył Isao Noda w latach 80-tych XX wieku i opisał w pracach [96–98].

2DCA opiera się na pewnych operacjach matematycznych mających na celu przekształcenie zbioru widm (A) otrzymanych w funkcji np. częstotliwości ν (w przypadku danych spektroskopowych) oraz zaburzenia (np. temperatury T) do tzw. map – synchronicznej i asynchronicznej. Pierwszym krokiem analizy jest uzyskanie tzw. widma dynamicznego, opisywanego funkcją [98]:

$$\tilde{A}_j(\nu) = A_j(\nu) - \bar{A}(\nu) \quad (7)$$

gdzie:

$\tilde{A}_j(\nu)$ – widmo dynamiczne otrzymane dla j -tego zaburzenia, np. j -tej temperatury, w której dokonywano pomiaru,

$A_j(\nu)$ – widmo pierwotne otrzymane dla j -tego zaburzenia,

$\bar{A}(\nu)$ – widmo referencyjne, np. uśrednione po wszystkich zaburzeniach (przykładowo średnia arytmetyczna wszystkich widm zebranych w różnych temperaturach).

Następnie, ze wszystkich zmierzonych częstotliwości tworzone są pary ν_1 i ν_2 , tak że otrzymywana jest macierz $[n \times n]$, gdzie n to liczba częstotliwości rejestrowanych w pojedynczym pomiarze. Każdemu elementowi macierzy przypisywana jest wartość synchronicznej (Φ) oraz asynchronicznej (Ψ) intensywności, które dane są odpowiednio wzorami:

$$\Phi(v_1, v_2) = \frac{1}{m-1} \sum_{j=1}^m \tilde{A}_j(v_1) \cdot \tilde{A}_j(v_2) \quad (8)$$

$$\Psi(v_1, v_2) = \frac{1}{m-1} \sum_{j=1}^m \tilde{A}_j(v_1) \cdot \sum_{k=1}^m N_{jk} \cdot \tilde{A}_j(v_2) \quad (9)$$

gdzie:

$\Phi(v_1, v_2)$ – intensywność na mapie synchronicznej odpowiadająca współrzędnej (v_1, v_2) ,
 $\Psi(v_1, v_2)$ – intensywność na mapie asynchronicznej odpowiadająca współrzędnej (v_1, v_2) ,

m – liczba zaburzeń, którym poddawano układ (przykładowo liczba punktów temperatury, w których zbierano widma),

N_{jk} – macierz dyskretnej transformacji Hilberta-Noda, opisywana wzorem:

$$N_{jk} = \begin{cases} 0, & \text{gdy } j = k \\ \frac{1}{\pi(k-j)}, & \text{gdy } j \neq k \end{cases} \quad (10)$$

gdzie:

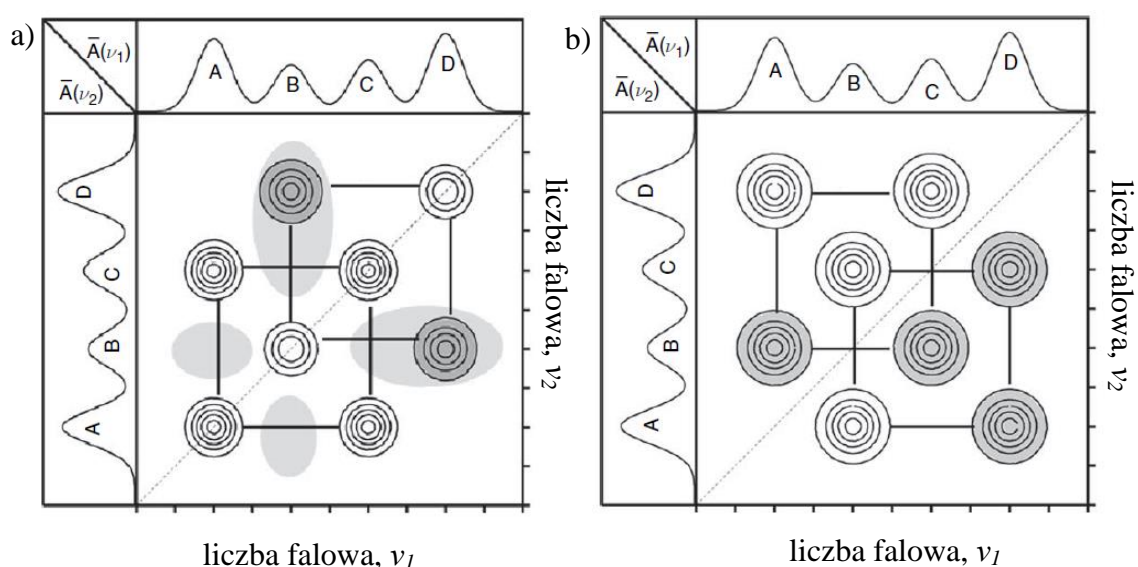
j – numer wiersza macierzy,

k – numer kolumny macierzy.

Na koniec wartości $\Phi(v_1, v_2)$ oraz $\Psi(v_1, v_2)$ przedstawiane są w postaci map – synchronicznej i asynchronicznej. Obszary na mapach, w których intensywności obliczonej funkcji (Φ lub Ψ) są największe, nazywane są pikami. W przypadku mapy synchronicznej wyróżnić można autopiki (ang. *autopeaks*), tj. piki położone na diagonalu (wówczas $v_1=v_2$) oraz tzw. piki krzyżowe (ang. *cross peaks*), znajdujące się poza diagonalą (patrz Rys. 8a). Z kolei na mapie asynchronicznej widoczne są jedynie piki krzyżowe (patrz Rys. 8b), co bezpośrednio wynika ze wzorów (9) i (10). Autopiki mają zawsze wartość dodatnią i niosą informację o tym, które liczby falowe, a co za tym idzie które drgania, najsilniej zmieniają swoją intensywność pod wpływem przyłożonego zaburzenia. Z kolei piki krzyżowe mogą mieć wartości zarówno dodatnie, jak i ujemne. Dodatnie piki krzyżowe na mapach synchronicznych informują o tym, że dane dwa pasma (v_1 i v_2) jednocześnie zmieniają swoją intensywność w tym samym kierunku (obydwa rosną lub obydwu maleją). Z kolei ujemne piki krzyżowe na mapie synchronicznej mówią o tym, że gdy intensywność jednego pasma (np. v_1) rośnie, to jednocześnie drugiego (np. v_2) maleje.

Interpretacja pików krzyżowych na mapie asynchronicznej jest bardziej złożona i wymaga porównania wartości intensywności konkretnego punktu (v_1, v_2) mapy

synchronicznej i asynchronicznej. Jeśli intensywność na mapie asynchronicznej w miejscu badanego pików krzyżowego ma taki sam znak jak intensywność na mapie synchronicznej dla tej współrzędnej (obie intensywności są ujemne albo obie dodatnie), to pasmo ν_1 zaczyna zmieniać swoją intensywność wcześniej niż pasmo ν_2 . Jeśli zaś porównywane intensywności mają przeciwny znak, to sytuacja jest odwrotna – pasmo ν_2 szybciej zmienia swoją intensywność (w odpowiedzi na działające zaburzenie) niż pasmo ν_1 . Zatem, dzięki analizie widma asynchronicznego, możliwe jest np. określenie który fragment molekuly jako pierwszy ulega reorganizacji na skutek zachodzenia procesu przemiany fazowej.



Rys. 8 Schematyczne przedstawienie map – synchronicznej (a) i asynchronicznej (b) – otrzymywanych w wyniku dwuwymiarowej analizy korelacyjnej. Szare obszary oznaczają ujemne wartości intensywności ([98]).

Dwuwymiarowa analiza tzw. przesuwnego okna

Poddanie materiału badawczego działaniu zewnętrznego zaburzenia często prowadzi do zachodzenia przemian fazowych. Wyznaczenie wartości zaburzenia (np. temperatury), w której ta przemiana zachodzi, jest kolejnym ważnym krokiem interpretacji wyników. Sama analiza korelacyjna nie pozwala na detekcję przejść fazowych, jednakże jej pewna modyfikacja, nosząca nazwę dwuwymiarowej analizy przesuwnego okna (ang. *two-dimensional moving window analysis*, 2DMW), umożliwia już uzyskanie tej informacji. U podstaw 2DMW, podobnie jak 2DCA, leży obliczenie wartości funkcji $\Phi(\nu_1, \nu_2)$, z tą różnicą, że tym razem analizie nie jest poddawany cały zestaw danych pomiarowych, a jedynie mniejsze „porcje”, tzw. okna. Zamiast całego zakresu zaburzeń (np. temperatur), funkcja $\Phi(\nu_1, \nu_2)$ obliczana jest jedynie dla kilku

wybranych, sąsiadujących ze sobą zaburzeń (np. trzech widm zebranych w kolejnych temperaturach). Następnie średniej wartości zaburzenia (np. średniej temperaturze) przypisywana jest wartość funkcji $\Phi(\nu_1, \nu_2)$, przy czym zamiast całej mapy wartości przypisywane są jedynie intensywności punktów leżących na diagonalu ($\nu_1 = \nu_2$). Tak więc z pojedynczej analizy uzyskuje się wartości intensywności przypisane całemu zakresowi liczb falowych i danej uśrednionej temperaturze. Kolejnym krokiem jest przesunięcie okna, tak by analizie poddać następny zestaw zaburzeń. Po przeanalizowaniu wszystkich wyników otrzymuje się zależność liczby falowej od uśrednionej temperatury, która podobnie jak widma otrzymywane z analizy 2DCA jest mapą intensywności [99]. Obszary, w których intensywność jest najwyższa, grupują się wokół pewnych temperatur, które to odpowiadają temperaturom przemian fazowych.

Opis spektrometru FTIR wykorzystywanego w pomiarach

Widma w podczerwieni prezentowane w niniejszej rozprawie zostały uzyskane przy użyciu spektrometru Excalibur FTS 3000 firmy Digilab. Pomiarów dokonywano w zakresie spektralnym $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ z rozdzielczością 0.25 cm^{-1} . Komora pomiarowa była stale przedmuchiwana azotem (czystość 5.0, szybkość przepływu 50 mL min^{-1}). Pomiaru temperatury były wykonywane dla próbki CBZ zmieszanej z KBr i sprasowanej pod naciskiem 8 ton do postaci pastylki. Dane były opracowywane z wykorzystaniem programów ResolutionsPro firmy Varian oraz Spectragryph [100].

Dwuwymiarowa analiza korelacyjna oraz dwuwymiarowa analiza przesuwne okna zostały przeprowadzone przy użyciu programu 2Dshige [101].

4.4. Dyfrakcja rentgenowska (XRD)

Rentgenografia jest obok neutronografii i elektronografii jedną z najczęściej stosowanych technik dyfrakcyjnych służących do badań strukturalnych ciał stałych. Jej podstawy fizyczne oparte są na zjawisku dyfrakcji promieni rentgenowskich na przestrzennie uporządkowanym układzie atomów. Substancje czynne leków są zazwyczaj próbkami polikrystalicznymi (nie zaś monokryształami), w związku z czym mikroskopowo stanowią zbiór wielu ziaren o statystycznej orientacji przestrzennej. Pomimo tego, wciąż możliwe jest znalezienie w obrębie próbki takich ziaren, dla których po naświetleniu promieniowaniem monochromatycznym spełniony jest warunek interferencyjny Bragga dla pewnej rodziny płaszczyzn krystalograficznych. Równanie Bragga opisuje sytuację, w której dochodzi do wzmocnienia interferujących ze sobą

wiązek rozproszonych na kolejnych warstwach atomowych. Ma ono następującą postać [102]:

$$n\lambda = 2d \sin\theta \quad (11)$$

gdzie:

n – rząd odbicia,

λ – długość fali padającego promieniowania,

d – odległość międzypłaszczyznowa,

θ – kąt pomiędzy wiązką pierwotną lub ugiętą a wybraną płaszczyzną atomową.

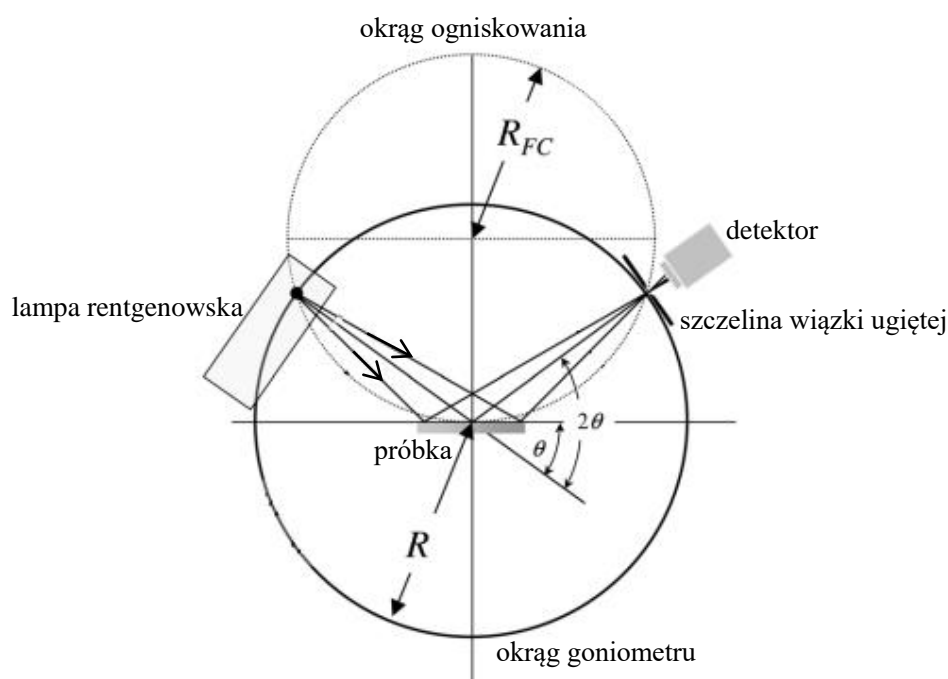
Jako że promienie ugięte na różnych rodzinach płaszczyzn tworzą stożki o różnym kącie rozwarcia, to w wyniku pojedynczego pomiaru próbki otrzymywany jest obraz w postaci wielu prążków (obraz dwuwymiarowy) lub wielu refleksów o różnej intensywności (dyfraktogram, tj. wykres zależności intensywności promieniowania rozproszonego od kąta odbicia 2θ lub odległości międzypłaszczyznowej d). Opisana sytuacja ma miejsce jedynie dla próbek krystalicznych, tj. posiadających periodyczność translacyjną. W przeciwnym przypadku, tj. dla próbek amorficznych, na obrazie dyfrakcyjnym brak jest prążków, zaś na dyfraktogramie zamiast refleksów pojawia się szerokie maksimum dyfuzyjne [19].

Otrzymywane w wyniku pomiarów dyfraktogramy są charakterystyczne dla danej struktury, co pozwala na jednoznaczną identyfikację różnych odmian polimorficznych. Dodatkowo pomiary rentgenowskie umożliwiają określenie stopnia krystaliczności próbki oraz mogą nieść informację o obecności zanieczyszczeń [103].

Urządzeniem służącym do uzyskiwania obrazów dyfrakcyjnych próbek jest dyfraktometr. Jego podstawowymi elementami są: źródło promieniowania w postaci lampy rentgenowskiej z monochromatorem, goniostat oraz detektor. Najczęściej części te ustawione są w konfiguracji takiej jak przedstawiono na Rys. 9 (tj. szczelina wejściowa, wyjściowa oraz środek powierzchni próbki leżą na obwodzie jednego okręgu) i noszą nazwę geometrii ogniskowania Bragg-Brentano. Dzięki takiemu ustawieniu elementów dyfraktometru warunek odbicia Bragga jest jednocześnie spełniony dla wszystkich promieni padających na próbkę, mimo tego, że ich kąty padania na powierzchnię są odmienne [104].

Na początku pomiaru polichromatyczne promieniowanie wytworzone na anodzie lampy rentgenowskiej pada na monochromator, który wybiera z wiązki ściśle określoną

długość fali (najczęściej linię K_{α} promieniowania charakterystycznego anody) oraz dodatkowo ogniskuje wiązkę na szczeliny wejściowej goniometru. W kolejnym kroku, już w obszarze goniometru, wiązka jest formowana poprzez szereg szczelin – ograniczana jest jej rozbieżność, a promieniowanie rozproszone eliminowane. Uformowana wiązka pada na próbkę, po czym po odbiciu od jej powierzchni i ponownym przejściu przez układ kolimujących i przeciwrozproszeniowych szczelin trafia na detektor. Dla danego położenia 2θ rejestrowane jest natężenie odbitego od próbki promieniowania. Na końcu próbka jest obracana o kąt θ , a układ rejestrujący o kąt 2θ i cała procedura pomiarowa jest ponownie powtarzana [104].



Rys. 9 Schemat budowy dyfraktometru w geometrii ogniskowania Bragg-Brentano na podstawie [104].
 R_{FC} – promień okręgu ogniskowania, R – promień okręgu goniometru, θ – kąt obrotu próbki.

Opis dyfraktometru wykorzystywanego w pomiarach

Dyfraktogramy prezentowane w niniejszej rozprawie zostały uzyskane przy użyciu dyfraktometru Empyrean 2 firmy PANalytical (promieniowanie Cu K_{α} , detektor PIXcel^{3D}) z systemem chłodzenia Cryostream 700 Plus firmy Oxford Cryosystems. Pomiar był prowadzony w geometrii Bragg-Brentano. Próbkę umieszczano w borokrzemowej kapilarze o zewnętrznej średnicy 0.3 mm i zamykano amorficznym węglem.

Uściślanie struktury metodą Rietvelda zostało wykonane z wykorzystaniem programu FullProof [105].

4.5. Wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC)

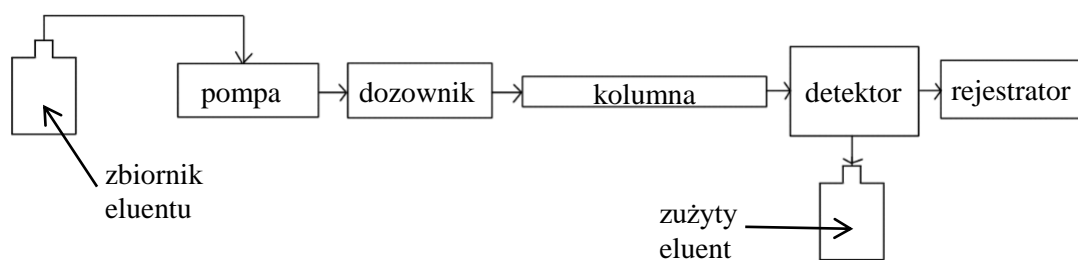
Chromatografia to technika analityczna, która umożliwia badanie składu dowolnych mieszanin związków chemicznych występujących w różnych ilościach obok siebie. Posługując się tą metodą, możliwe jest wykrycie poszczególnych składników, ich identyfikacja, jak również analiza ilościowa. Istota rozdziału chromatograficznego polega na podziale w niejednakowym stopniu poszczególnych składników próbki między dwie niemieszające się ze sobą fazy: stacjonarną (nieruchomą) i ruchomą (eluent). Biorąc pod uwagę rodzaj fazy ruchomej wyróżnia się chromatografię gazową, cieczową i nadkrytyczną, zaś ze względu na rodzaj fazy stacjonarnej wyróżniamy chromatografię adsorpcyjną, gdy fazą nieruchomą jest ciało stałe (tzw. adsorbent), i chromatografię podziałową, gdy fazą nieruchomą jest ciecz. Metody chromatograficzne można również podzielić biorąc pod uwagę kształt złoża. Wyróżnia się wówczas chromatografię kolumnową, gdy faza nieruchoma wypełnia kolumnę, i planarną, gdy faza nieruchoma jest umieszczona na płaszczyźnie [106].

Wysokosprawna chromatografia cieczowa (ang. *high-performance liquid chromatography*, HPLC) to odmiana kolumnowej chromatografii cieczowej, w której eluent jest wprowadzany na kolumnę pod wysokim ciśnieniem. Jest ona szeroko wykorzystywana m.in. w kontroli jakości produktów leczniczych. HPLC służy nie tylko do identyfikacji i oznaczania zawartości substancji czynnych, ale również ich zanieczyszczeń [107].

Schemat blokowy chromatografu HPLC przedstawiono na Rys. 10. Przed wykonaniem analizy, konieczne jest rozpuszczenie badanej próbki w składnikach fazy ruchomej lub w takim rozpuszczalniku, który miesza się z fazą ruchomą. Tak przygotowany roztwór nastrzykuje się na kolumnę, przemywaną w sposób ciągły fazą ruchomą, która jest pompowana pod wysokim ciśnieniem. Podczas przepływu przez kolumnę, badana próbka wchodzi w interakcje z fazą stacjonarną. Rodzaj i siła tych oddziaływań zależy m.in. od rodzaju analizowanego składnika, dlatego czas jego przepływu przez kolumnę, a co za tym idzie czas retencji t_R (tj. czas po którym analit pojawia się na wylocie kolumny), może być różny.

Identyfikacja jakościowa oraz ilościowa poszczególnych składników znajdujących się w badanej próbce jest możliwa dzięki zastosowaniu np. detektora spektrofotometrycznego UV/Vis (w tym detektora z matrycą diodową, ang. *diode-array*-

detector, DAD), spektrofotometru fluorescencyjnego, refraktometru różnicowego, detektora elektrochemicznego, detektora światła rozproszonego, czy spektrometrii mas.



Rys. 10 Schemat blokowy chromatografu HPLC.

Opis metody ilościowego oznaczania CBZ przy zastosowaniu techniki HPLC-DAD

Chromatogramy przedstawiane w niniejszej pracy zostały wykonane przy użyciu systemu HPLC Agilent 1260 Infinity (Walbronn, Niemcy) wyposażonego w detektor z matrycą diodową (DAD). Rozdział składników w badanych próbkach prowadzono w układzie faz odwróconych z elucją izokratyczną. W tym celu zastosowano kolumnę Kinetex C18 (100x4.6 mm; rozmiar cząstek 2.6 μm ; rozmiar porów 100 \AA , Phenomenex). Podczas analizy kolumnę termostatowano w temperaturze 25°C. Faza ruchoma złożona była z metanolu (A) i 0,1% (v/v) kwasu octowego (B) (Sigma Aldrich Co., Poznań, Polska) w stosunku 50:50 (v/v). Szybkość przepływu fazy ruchomej wynosiła 1 mL min^{-1} , natomiast objętość nastrzyku badanej próbki wynosiła 20 μL . Chromatogramy rozwijano przez 18 min. Krzywe kalibracyjne dla CBZ i IMB, przedstawiające zależność pola powierzchni pod pikiem chromatograficznym od stężenia badanej substancji, wyznaczono przy użyciu standardów analitycznych (Sigma Aldrich Co., Poznań, Polska) o czystości odpowiednio >99% oraz >98%. Czas retencji dla CBZ wynosił ~ 3.5 min, podczas gdy czas retencji dla IMB wynosił ~ 13 min. Obie substancje były oznaczane przy długości fali 260 nm. Krzywe kalibracyjne były liniowe w zakresie stężeń 50-500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($r^2=0.997$) dla CBZ i 2-40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($r^2=0.999$) dla IMB.

5. Wyniki i dyskusja

Niniejszy rozdział skupia się na przedstawieniu najważniejszych wyników pomiarów dotyczących: (i) niestabilności badanej substancji czynnej leku w okolicach temperatury topnienia, (ii) podjętych prób jej stabilizacji, (iii) oceny wpływu atmosfery i ciśnienia na jej zachowanie termiczne, (iv) charakterystyki otrzymanej postaci szklistej i (v) opisu kinetyki jej zimnej krystalizacji. Przedstawianiu wyników towarzyszy ich dogłębna analiza oraz dyskusja.

Prezentowane w tej części pracy wyniki badań zostały opublikowane w postaci siedmiu artykułów [108–114], w których autorka niniejszej rozprawy jest zarówno pierwszym autorem, jak i autorem korespondencyjnym.

Wszystkie badane próbki CBZ, będące standardami analitycznymi o czystości $\geq 99\%$, zakupiono w firmie Sigma Aldrich Co. i przechowywano zgodnie z zaleceniami producenta w temperaturze 5°C . Wyniki wskazujące na niestabilność CBZ w okolicach temperatury topnienia były wielokrotnie weryfikowane na próbkach pochodzących z różnych partii produkcyjnych.

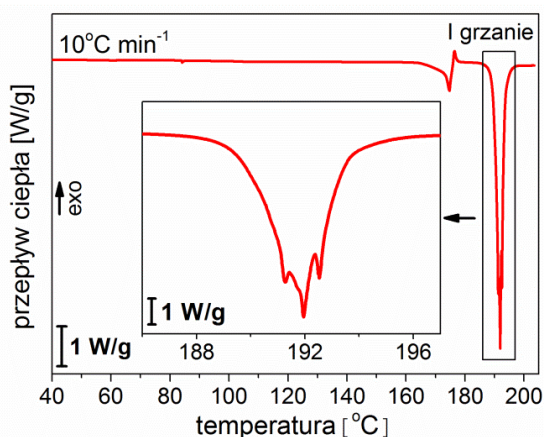
5.1. Charakterystyka termicznej stabilności krystalicznej formy karbamazepiny

Metoda szybkiego chłodzenia, jak już wspomniano we wstępie, jest stosunkowo prostą i popularną techniką otrzymywania amorficznych form leków. Polega ona na stopieniu substancji, a następnie dostatecznie szybkim jej schłodzeniu tak, aby zablokować proces krystalizacji i doprowadzić do otrzymania formy szklistej. Jako że wiele substancji czynnych leków ma dobre właściwości szkłotwórcze, uzyskanie zeszkłonej postaci nie jest trudne. Niemniej jednak w przypadku niektórych substancji problem może stanowić ich niestabilność w wyższych temperaturach, których osiągnięcie jest niezbędne do uzyskania fazy ciekłej. Okazuje się, że taka właśnie sytuacja ma miejsce w przypadku rozważanej w niniejszej rozprawie CBZ.

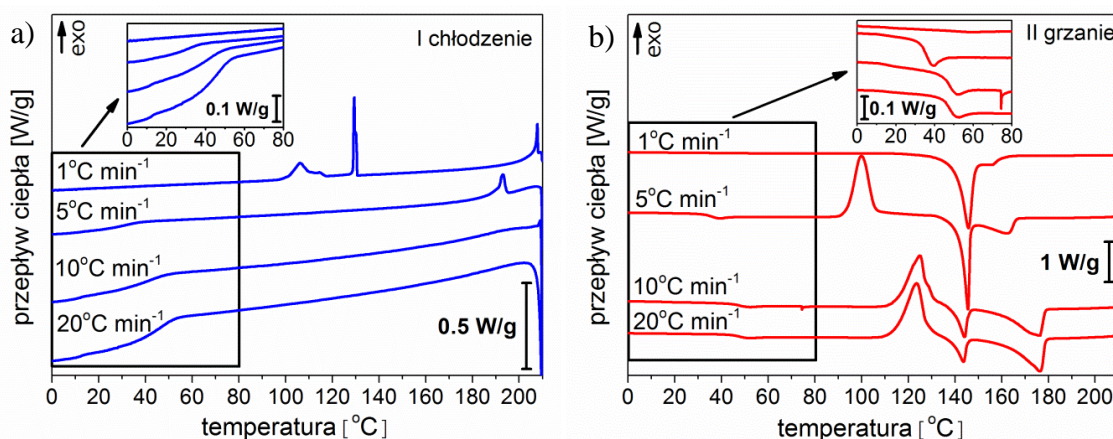
5.1.1. Wyniki analiz DSC i TGA

Szkło CBZ przygotowywano w aparacie DSC. Próbki o masie $\sim 2\text{--}5$ mg umieszczano w hermetycznie zamkniętych tyglach, a następnie stapiano i ochładzano z różnymi szybkościami. Ponieważ znana z literatury temperatura topnienia najwyższej topliwej odmiany polimorficznej CBZ wynosi $\sim 193.5^{\circ}\text{C}$ [24], zaś temperatura dekompozycji $\sim 225^{\circ}\text{C}$ [20,30,115], pomiary prowadzono w następującej sekwencji:

ogrzewanie próbki od temperatury pokojowej do 210°C z szybkością 10°C min⁻¹ – ochładzanie próbki z różnymi szybkościami (1, 5, 10 i 20°C min⁻¹) do -100°C – ponowne ogrzewanie próbki do 210°C z szybkością 10°C min⁻¹. Otrzymane w wyniku tych pomiarów termogramy przedstawiono na Rys. 11 i Rys. 12.



Rys. 11 Termogram otrzymany w czasie ogrzewania niemodyfikowanej próbki CBZ.



Rys. 12 Termogramy otrzymane podczas ochładzania niemodyfikowanej CBZ z różnymi szybkościami (1, 5, 10 i 20°C min⁻¹) po uprzednim ogrzewaniu do 210°C (a) oraz podczas ogrzewania CBZ ze stałą szybkością (10°C min⁻¹) po cyklu grzanie-ochładzanie (b); szybkości przedstawione na krzywych DSC na rys. (b) są szybkościami uprzedniego ochładzania próbki.

Sytuacja fazowa zaobserwowana podczas pierwszego ogrzewania próbki była zgodna z doniesieniami literaturowymi (np. Grzesiak *et al.* [24]). Pierwsza anomalia (pik endotermiczny o maksimum w 174.7°C) związana była z topnieniem formy III CBZ, tuż po niej występowała anomalia odzwierciedlająca rekrytalizację cieczy do formy I CBZ (pik egzotermiczny o maksimum w 176.4°C), zaś ostatnia anomalia dotyczyła topnienia formy I CBZ (pik endotermiczny o maksimum w 191.8°C i entalpii 114.21 J g⁻¹). Kształt ostatniej anomalii był złożony i składał się z kilku maksimów. Ponieważ pomiary HPLC

wykazały całkowitą czystość próbki (brak zanieczyszczeń), to obecność kilku maksimów wskazywała na obecności różnych uporządkowań krystalograficznych w obrębie próbki.

Sytuacja fazowa obserwowana podczas ochładzania próbki zależała od szybkości jej chłodzenia. Gdy była ona wystarczająco wysoka (20 lub $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$), wówczas na termogramie widoczna była tylko jedna anomalia w postaci schodkowej zmiany pojemności cieplnej, odzwierciedlająca zeszklenie próbki. Przy szybkości chłodzenia $5^{\circ}\text{C min}^{-1}$, przed zeszkleniem, w temperaturze 193.1°C , zaobserwowano anomalię o charakterze egzotermicznym, której pochodzenie nie było znane. Na pewno nie wynikała ona z krystalizacji CBZ, gdyż anomalia ta miała maksimum w temperaturze wyższej od temperatury topnienia badanej substancji wyznaczonej podczas I grzania. Przy najwolniejszej szybkości chłodzenia – $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$ – widocznych było jedynie kilka anomalii o charakterze egzotermicznym, przy czym pierwsza z nich miała maksimum w temperaturze 207.8°C i, analogicznie jak anomalia obserwowana dla szybkości chłodzenia $5^{\circ}\text{C min}^{-1}$, jej pochodzenie nie było znane. Pozostałe anomalie mogły być związane z krystalizacją CBZ i następującymi po niej przemianami fazowymi związanymi z transformacjami między różnymi odmianami polimorficznymi CBZ. Przy tak niskiej szybkości chłodzenia próbki, nie obserwowano anomalii wskazującej na zeszklenie substancji.

Sytuacja fazowa zaobserwowana podczas ochładzania nie była znana z literatury. Do tej pory pokazywano, że stopiona CBZ całkowicie krystalizuje w postaci formy I nawet przy szybkości chłodzenia $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$, a jej zeszklenie możliwe jest jedynie na drodze nierównowagowego szybkiego chłodzenia np. poprzez zanurzenie próbki w ciekłym azocie tuż po jej stopieniu [2]. Dodatkowo, obserwowany przy wolnym ochładzaniu proces krystalizacji winien mieć postać pojedynczej anomalii o charakterze egzotermicznym, zaś żadne inne przejścia fazowe nie powinny być obserwowane [29].

Termogramy otrzymane podczas ponownego ogrzewania CBZ miały charakter jeszcze bardziej złożony niż te uzyskane podczas ochładzania. Rodzaj obserwowanych anomalii korespondował ze zmianami zarejestrowanymi podczas ochładzania próbki. Jeżeli w czasie ochładzania obserwowana była chociaż częściowa witrifikacja, tj. przy chłodzeniu z szybkością 20 , 10 i $5^{\circ}\text{C min}^{-1}$, to w czasie ogrzewania widoczne były kolejno anomalie związane z mięknięciem szkła (schodkowa zmiana pojemności cieplnej), zimną krystalizacją (pik egzotermiczny) oraz dwiema przemianami fazowymi

o charakterze endotermicznym, których natura nie była znana. W przypadku ogrzewania próbki którą ochładzano z szybkością $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$, zaobserwowano jedynie obecność dwóch anomalii o charakterze endotermicznym, nakładających się na siebie, o nieznanym pochodzeniu. Temperatury przemian fazowych odzwierciedlanych przez dwie nieznane anomalie nie były charakterystyczne dla topnień ani innych przemian fazowych znanych dla którejkolwiek z odmian polimorficznych CBZ. Dodatkowo, w zależności od szybkości chłodzenia, entalpie obserwowanych anomalii zmieniały się. Temperatura pierwszej anomalii następującej po rekrystalizacji nie zależała od szybkości chłodzenia, podczas gdy temperatura drugiej anomalii zmieniała się wraz ze zmianą szybkości chłodzenia (patrz Tab. 2).

Tab. 2 Temperatury wybranych przemian fazowych obserwowanych podczas ochładzania niemodyfikowanej CBZ z różnymi szybkościami i ponownego ogrzewania jej, oraz entalpie tych przemian.

Szybkość chłodzenia [$^{\circ}\text{C min}^{-1}$]	T_g [$^{\circ}\text{C}$] (chłodzenie)	T_g [$^{\circ}\text{C}$] (grzanie)	$T_{cold\ cryst}$ [$^{\circ}\text{C}$]	T_{mI} [$^{\circ}\text{C}$]	T_{mII} [$^{\circ}\text{C}$]	ΔH_{cryst} [J g^{-1}]	$\Delta H_{cold\ cryst}$ [J g^{-1}]	ΔH_m [J g^{-1}]
20	47.75	47.96	123.69	143.90	176.35	–	76.12	76.12
10	42.26	48.33	125.00	144.07	176.33	–	75.51	75.51
5	30.19	34.76	100.00	145.54	162.70	4.73	78.52	83.25
1	–	–	–	144.69	160.03	89.27	–	90.70

T_g – temperatura przejścia szklistego, wyznaczona jako punkt przegięcia krzywej DSC

T_{mI} – temperatura maksimum pierwszej anomalii o charakterze endotermicznym (obserwowanej tuż po anomalii o charakterze egzotermicznym, podczas ogrzewania CBZ)

T_{mII} – temperatura maksimum drugiej anomalii o charakterze endotermicznym (obserwowanej podczas ogrzewania CBZ)

ΔH_{cryst} – suma entalpii wszystkich anomalii egzotermicznych obserwowanych podczas ochładzania CBZ

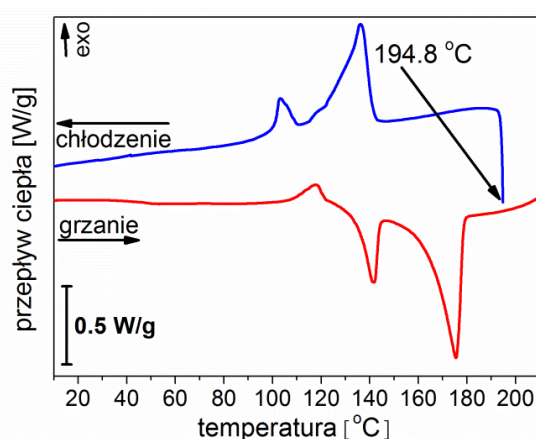
$\Delta H_{cold\ cryst}$ – entalpia anomalii o charakterze egzotermicznym (zimnej krystalizacji) obserwowanej podczas ponownego ogrzewania CBZ

ΔH_m – suma entalpii wszystkich anomalii endotermicznych obserwowanych podczas ponownego ogrzewania CBZ

Ponownie otrzymane wyniki stały w sprzeczności z doniesieniami literaturowymi, które pokazywały, że jeśli w czasie ochładzania dochodzi do krystalizacji próbki, to w czasie ponownego ogrzewania ma miejsce jej topnienie w temperaturze charakterystycznej dla topnienia formy I CBZ [29]. Z kolei zeszklenie próbki w czasie ochładzania, prowadzi do zaobserwowania w czasie ponownego ogrzewania zachodzenia przemian mięknięcia szkła, zimnej krystalizacji i pojedynczego topnienia w temperaturze charakterystycznej dla topnienia formy I CBZ [39,41].

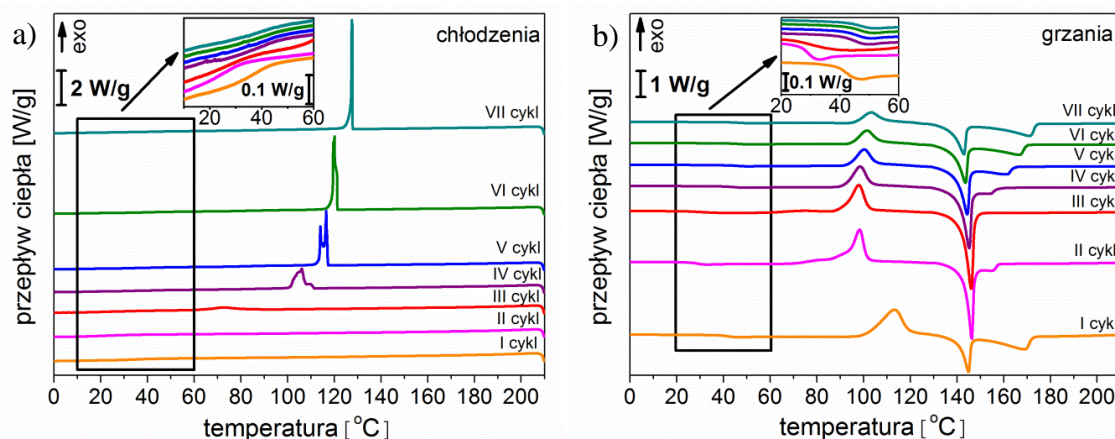
Ponieważ w publikacjach opisujących cykl grzanie-chłodzenie-grzanie nie podawano dokładnie temperatury do której próbka była ogrzewana, a jedynie lakonicznie mówiono, że była to temperatura tuż powyżej temperatury topnienia, w niniejszej pracy

spróbowano powtórzyć pomiar w ten sposób, by zacząć ochładzać próbkę tuż po zaobserwowaniu jej całkowitego stopienia, a nie po osiągnięciu przez nią temperatury 210°C jak to miało miejsce w poprzednich pomiarach. Doświadczenie wykonano z szybkością grzania i chłodzenia równą 10°C min⁻¹. Jak widać na Rys. 13, uzyskane termogramy różniły się od tych otrzymanych wcześniej dla tej samej szybkości chłodzenia (Rys. 12). Tym razem w czasie ochładzania widoczne były dwie wyraźne anomalie związane z krystalizacją próbki, zaś w czasie ogrzewania anomalia odzwierciedlająca zimną krystalizację miała zdecydowanie niższą entalpię. Nie zmieniło to jednak faktu, że po ogrzaniu próbki tuż powyżej temperatury topnienia (do 194.8°C) wciąż widoczna była w czasie chłodzenia anomalia związana z witrifikacją próbki, zaś w czasie grzania dwie anomalie o charakterze endotermicznym nieznanne z literatury.



Rys. 13 Termogramy otrzymane podczas ochładzania niemodyfikowanej CBZ od temperatury 194.8°C (tj. tuż powyżej temperatury topnienia) do 5°C i podczas ponownego ogrzewania próbki do 210°C dla szybkości grzania i chłodzenia 10°C min⁻¹.

W celu zrozumienia i wyjaśnienia obserwowanych przejść fazowych powtórzono pomiary w ten sposób, że wielokrotnie (25 cykli) ogrzewano i ochładzano próbkę z szybkością 10°C min⁻¹ w zakresie temperatur (-100)-210°C. Wyniki pierwszych siedmiu cykli (nie licząc pierwszego ogrzewania próbki) przedstawiono na Rys. 14.

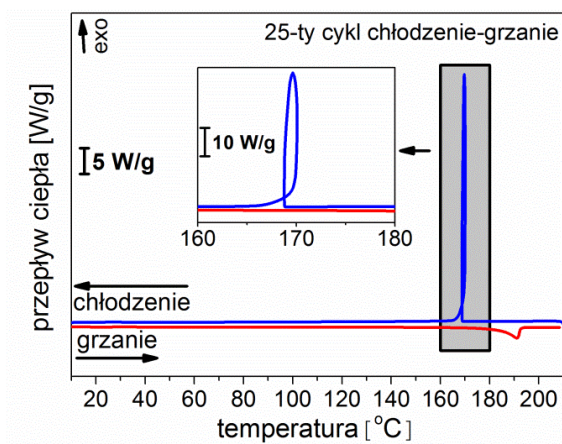


Rys. 14 Termogramy otrzymane podczas siedmiu kolejnych cykli ochładzania (po uprzednim stopieniu) (a) oraz ogrzewania (b) niemodyfikowanej CBZ; pomiary prowadzone były w zakresie temperatur (-100)-210°C.

Podczas ochładzania, w czasie dwóch pierwszych cykli widoczna była tylko jedna anomalia, związana z witrifikacją próbki. Od trzeciego cyklu dodatkowo obserwowano anomalię o charakterze egzotermicznym, której temperatura maksimum przesuwała się w stronę wyższych temperatur wraz z kolejnymi cyklami. Od siódmego cyklu anomalia ta nie miała kształtu piku, ale pętli, która to związana była z zachodzeniem procesu samoogrzewania się próbki podczas ochładzania na skutek wydzielania dużej ilości energii w czasie procesu krystalizacji. Wartość entalpii związanej z opisywaną anomalią rosła wraz z kolejnymi cyklami (patrz Tab. 3). Po 25 cyklach, w czasie ochładzania widoczna była tylko jedna anomalia w postaci pętli o maksimum w temperaturze 169.7°C i entalpii równej 93.94 J g⁻¹, którą można było przypisać krystalizacji jakiejś nieznannej substancji (patrz Rys. 15).

Tab. 3 Temperatury wybranych przemian fazowych obserwowanych podczas siedmiu pierwszych cykli ochładzania i ogrzewania niemodyfikowanej CBZ (liczonych po pierwszym stopieniu próbki) i cyklu ostatniego (25.) oraz entalpie tych przemian. (Oznaczenia jak w Tab. 2.)

Numer cyklu	T_g [°C] (chłodzenie)	T_g [°C] (grzanie)	$T_{cold\ cryst}$ [°C]	T_{mI} [°C]	T_{mII} [°C]	ΔH_{cryst} [J g ⁻¹]	$\Delta H_{cold\ cryst}$ [J g ⁻¹]	ΔH_m [J g ⁻¹]
1	35.65	42.78	112.93	144.89	168.99	–	77.85	77.84
2	22.84	29.52	98.22	146.32	155.63	–	81.58	81.58
3	25.77	29.99	97.92	146.05	–	12.07	68.72	80.78
4	41.39	45.98	98.29	145.22	154.33	35.88	45.04	80.92
5	34.35	46.22	100.32	144.32	161.35	45.09	36.20	81.29
6	32.37	46.88	101.26	143.56	166.75	51.41	31.27	82.69
7	36.85	47.52	103.39	142.93	171.05	54.96	27.73	82.68
...								
25	–	–	–	–	191.10	93.94	–	102.98

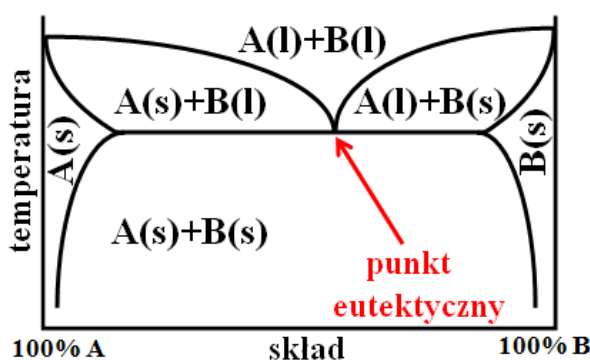


Rys. 15 Termogram otrzymany podczas ostatniego, 25-ego cyklu chłodzenie-grzanie niemodyfikowanej CBZ.

W czasie ogrzewania, niemal podczas wszystkich cykli, zaobserwować można było cztery anomalie – mięknięcie szkła, zimną krystalizację i dwa przejścia fazowe o charakterze endotermicznym. Podczas dwóch pierwszych cykli temperatura mięknięcia szkła przesuwiała się w stronę niższych temperatur, zaś od trzeciego cyklu w stronę wyższych temperatur. Podobnie działo się z temperaturą zimnej krystalizacji. Temperatura pierwszej anomalii obserwowanej po zimnej krystalizacji była niemal stała w kolejnych cyklach, zaś temperatura drugiej anomalii początkowo malała, w czasie trzeciego cyklu anomalii tej w ogóle nie zaobserwowano, po czym od czwartego cyklu ponownie się pojawiała, a jej maksimum przesuwowało się w stronę wyższych temperatur. Z kolei wartość entalpii zmieniała się dla obydwóch anomalii występujących po zimnej krystalizacji – dla pierwszej z nich rosła do trzeciego cyklu a następnie malała, zaś dla drugiej przeciwnie – do trzeciego cyklu malała, a później rosła (patrz Tab. 3). Po 25. cyklach, w czasie ogrzewania widoczna była tylko jedna anomalia o charakterze endotermicznym, maksimum w temperaturze 191.1°C i entalpii 102.98 J g⁻¹ (patrz Rys. 15).

Chociaż temperatura topnienia zaobserwowana podczas 25. cyklu była zgodna z temperaturą topnienia formy I CBZ, to wydaje się, że zarejestrowany termogram dotyczył innej substancji, ponieważ charakter anomalii obserwowanej podczas ochładzania (pętla) nie był spotykany w przypadku badań dotyczących CBZ. Zmieniła się również wartość entalpii obserwowanej w czasie ogrzewania anomalii (z malała ona o ~12 J g⁻¹ w porównaniu do wartości wyznaczonej dla anomalii obserwowanej podczas stapiania CBZ) oraz kolor próbki (z białego na żółty).

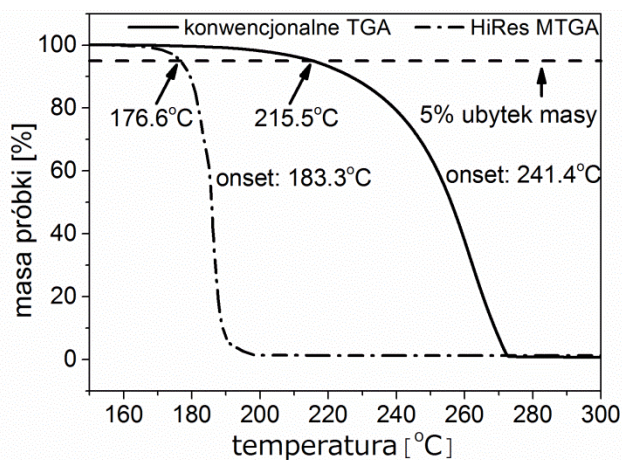
Przyjmując, że końcowy produkt opisanych pomiarów był różny od substancji początkowej, można było zaobserwowaną podczas kolejnych cykli chłodzenie-grzanie sytuację fazową dobrze wytłumaczyć w oparciu o prosty diagram fazowy układu dwuskładnikowego (patrz Rys. 16). Z diagramu tego wynika, że jeśli układ jest mieszaniną dwóch substancji, to w zależności od ich wzajemnego udziału obserwowane są różne temperatury przejść fazowych. Początkowo, gdy w układzie jest przewaga pewnej substancji A nad B, to w czasie ogrzewania takiego układu obserwowane jest najpierw topnienie substancji B w pewnej stałej temperaturze niezależnej od składu oraz topnienie substancji A w temperaturze wyższej niż miało miejsce topnienie substancji B i zależącej od składu mieszaniny. Przy pewnym udziale procentowym, obserwowana jest tylko jedna temperatura topnienia, w której to równocześnie dochodzi do topnienia substancji A i B. Mieszanina o takim składzie procentowym nazywana jest mieszaniną eutektyczną. Gdy jeszcze bardziej zwiększy się udział substancji B, dochodzi do zmian w obserwowanych zjawiskach – w takiej sytuacji substancja A topi się w niższej, niezależnej od składu temperaturze, zaś substancja B w temperaturze wyższej i zależnej od składu.



Rys. 16 Uproszczony diagram fazowy układu dwuskładnikowego; gdzie: s – ciało stałe, l – ciecz, A i B – dwie różne substancje.

Przy takim wytłumaczeniu obserwowanych anomalii naturalne było pytanie o drugi składnik mieszaniny. Zaproponowano, że skoro ilość formy I CBZ (substancji A) malała w czasie kolejnych cykli, zaś ilość drugiego składnika (substancji B) rosła, to składnikiem tym była albo inna postać polimorficzna CBZ, albo jakiś produkt jej rozkładu. Jako że pod wpływem przeprowadzanych cykli ochładzania i ogrzewania próbka zmieniała kolor z białego na żółty, bardziej prawdopodobna wydawała się być hipoteza o termicznej degradacji CBZ. W związku z tym, kolejnym krokiem analizy było przeprowadzenie pomiarów TGA i porównanie uzyskanych wyników z danymi

dostępny w literaturze. Otrzymane w wyniku przeprowadzonych doświadczeń krzywe przedstawiono na Rys. 17.



Rys. 17 Termograny otrzymane podczas ogrzewania niemodyfikowanej CBZ z szybkością $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ od temperatury pokojowej do 500°C ; krzywa oznaczona jako konwencjonalne TGA została otrzymana podczas ogrzewania próbki ze stałą szybkością, zaś krzywa oznaczona jako HiRes MTGA pochodzi z pomiaru wysokorozdzielczego z modulacją temperatury.

Przy użyciu termogravimetru przeprowadzono dwa pomiary w atmosferze N_2 . Pierwszy z nich odbywał się w sposób tradycyjny, tj. próbka była ogrzewana ze stałą szybkością wynoszącą $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$. W czasie drugiego pomiaru (na nowej próbce) szybkość ogrzewania również wynosiła $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, ale tym razem miała miejsce dodatkowo modulacja temperatury oraz zastosowany został tryb wysokorozdzielczy, pozwalający na automatyczne zwolnienie szybkości wzrostu temperatury w momencie gdy obserwowany ubytek masy był wystarczająco wysoki. W przypadku obu pomiarów, 100-procentowy ubytek masy miał miejsce w postaci jednego ciągłego procesu. Początek zachodzenia przemiany (ang. *onset*) został wyznaczony przy pomocy programu TRIOS i wyniósł odpowiednio 241.4°C dla pomiaru tradycyjnego oraz 183.3°C dla pomiaru wysokorozdzielczego z modulacją temperatury. Z kolei 5-procentowy ubytek masy był obserwowany w temperaturach odpowiednio 215.5°C oraz 176.6°C .

Z przeprowadzonych badań wywnioskowano, że temperatura dekompozycji wyznaczona w tej pracy na podstawie konwencjonalnych pomiarów TGA była zgodna z temperaturą dekompozycji znaną z literatury. Z kolei temperatura dekompozycji wyznaczona na podstawie pomiarów wysokorozdzielczych zasugerowała, że znaczący ubytek masy może mieć miejsce nawet poniżej temperatury topnienia CBZ, jeśli próbkę pozostawi się w takiej temperaturze przez odpowiednio długi czas. Pomiary TGA nie wykluczyły więc tezy o degradacji CBZ w temperaturze niższej niż do tej pory sądzono

(~225°C [20,30,115]), ale równocześnie jednoznacznie jej nie potwierdziły, ponieważ obserwowany ubytek masy mógł być związany również z sublimacją próbki, nie zaś z jej dekompozycją (szczególnie w przypadku pomiaru HiRes-TGA, wskazującego na znaczący ubytek masy kilkanaście stopni poniżej temperatury topnienia najwyższej topliwej formy CBZ). Skłonność CBZ do sublimacji jest bowiem zjawiskiem powszechnie znanym i wykorzystywanym niekiedy do hodowania jej kryształów [27,116–119].

Chociaż same pomiary DSC i TGA nie pozwoliły na jednoznaczne wyjaśnienie przemian zachodzących dla próbki CBZ w czasie cykli ochładzania i ogrzewania, i potrzebne były pomiary wykorzystujące inne techniki komplementarne, by w pełni zrozumieć obserwowaną sytuację fazową (np. spektroskopia w podczerwieni czy rentgenografia strukturalna – patrz kolejne podrozdziały), to istniały pewne przesłanki świadczące o tym, że CBZ w okolicach temperatury topnienia ulegała degradacji (nie zaś przebudowie do nieznannej dotąd odmiany polimorficznej).

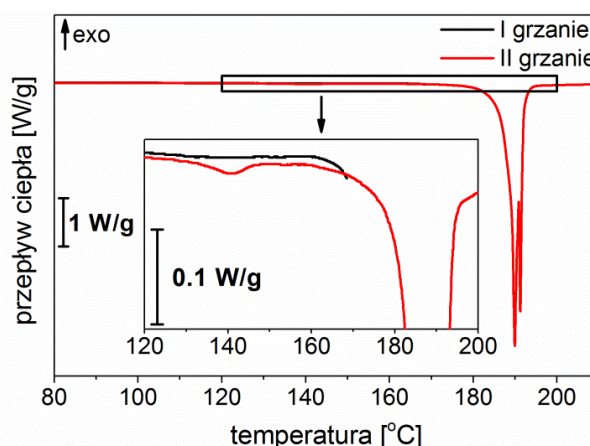
Pierwszą z przesłanek była wspomniana wcześniej zmiana koloru próbki zachodząca pod wpływem wyższych temperatur, drugą zaś występowanie zjawiska samoogrzewania się próbki podczas zachodzenia procesu krystalizacji. Zarówno żółty kolor, jak i obserwowana w czasie ochładzania próbki anomalia na krzywej DSC (w postaci pętli zamiast piku) są charakterystyczne dla IMB [111] – sugerowanego m.in. w pracach Naima *et al.* [39] oraz Pinto *et al.* [29] jednego z produktów termicznej degradacji CBZ. Dodatkowo, jako że temperatura topnienia IMB jest wyższa od temperatury topnienia CBZ, niewyjaśnione anomalie o charakterze egzotermicznym obserwowane podczas ochładzania próbki z szybkością 5 czy 1°C min⁻¹ (patrz Rys. 12a) mogłyby być przypisane krystalizacji IMB.

Przy takiej interpretacji wyników jedyną niewiadomą pozostawała kwestia pozostałych produktów termicznej degradacji CBZ, bowiem wszystkie anomalie obserwowane na krzywych DSC były związane albo z CBZ, albo z IMB. Oczywistym był jednak fakt, że poza IMB musiały w układzie istnieć jeszcze inne produkty termicznej degradacji CBZ. Najbardziej prawdopodobnym z nich i potwierdzonym w pracy Pinto *et al.* [29] był kwas izocyjanowy. Związek ten skrapla się w temperaturze 23.5°C, a jego krystalizacja zachodzi w okolicach -86°C. Teoretycznie, powinny więc być widoczne pewne anomalie na krzywych DSC związane z jego istnieniem w układzie, tym bardziej że do pomiarów użyto hermetycznie zamkniętych tygli. W temperaturach poniżej

0°C na niektórych krzywych DSC były obserwowane w czasie ochładzania pojedyncze anomalie o charakterze egzotermicznym. Ich temperatury jednak nie były powtarzalne. W czasie ogrzewania nie obserwowano zaś żadnych niezwiązanych z CBZ lub IMB anomalii. Stwierdzono więc, że albo entalpie przemian związanych z kwasem izocyjanowym były na tyle małe, że nie zostały zarejestrowane, albo temperatury przemian fazowych charakterystycznych dla rozważanego związku uległy przesunięciu na skutek wzrostu ciśnienia w tyglu. Możliwe również, że pod wpływem wydzielającego się gazu doszło do rozszczelnienia tygla, a przez to do uwolnienia z układu rozważanego produktu rozkładu. Ostatnia hipoteza była najbardziej prawdopodobna, ponieważ po zakończeniu pomiarów pokrywki tygli DSC były mocno wypukłe, podczas gdy na początku pomiarów, tuż po zamknięciu przy użyciu dedykowanej prasy, były one wklęsłe.

Wyniki pomiarów TGA stanowiły pobudkę do przeprowadzenia jeszcze jednego pomiaru DSC. Mianowicie, jako że typowym sposobem otrzymywania formy I CBZ z formy III jest anilacja próbki przez określony czas w pewnej podwyższonej temperaturze (zazwyczaj wybierane warunki to anilacja przez 2 h w 170°C [28,30,31,49,120], niemniej jednak znane są również prace, w których anilacja przeprowadzana była w temperaturze 180°C [23] lub wyższej [29]), postanowiono sprawdzić czy takie zabiegi również prowadzą do pojawienia się w układzie postulowanego produktu degradacji.

Przeprowadzony pomiar wyglądał następująco – próbkę CBZ ogrzewano do temperatury 170°C (1.2% ubytek masy wyznaczony z pomiarów HiRes-TGA), a następnie po upływie 2 h izotermicznej anilacji w tej temperaturze ochładzano ją do 5°C i ponownie ogrzewano. Wyniki tego pomiaru pokazane są na Rys. 18.



Rys. 18 Termogram otrzymany w czasie ogrzewania niemodyfikowanej CBZ do 170°C (I grzanie) oraz podczas ponownego ogrzewania jej po wcześniejszej izotermicznej dwugodzinnej anilacji w 170°C oraz schłodzeniu do 5°C (II grzanie); szybkość grzania i chłodzenia wynosiła 10°C min⁻¹.

Z przeprowadzonego pomiaru wynikało, że najczęściej stosowana procedura uzyskiwania formy I CBZ z formy III prowadziła do niewielkiej, ale zauważalnej, degradacji próbki. Wartość entalpii niżej-temperaturowej anomalii wynosiła ~1% wartości entalpii wyżej-temperaturowej anomalii. Otrzymane wyniki jeszcze mocniej uwidoczniły potrzebę dokładniejszego przyjrzenia się zjawiskom zachodzącym w czasie ogrzewania CBZ, jako że nie tylko powyżej, ale również poniżej temperatury topnienia substancja ta ulegała nieopisywanym wcześniej w literaturze przemianom. Dlatego też dwa kolejne podrozdziały przedstawiają wyniki pomiarów uzyskanych metodami FTIR i XRD, i uzupełniają obraz termicznego zachowania krystalicznej CBZ.

5.1.2. Wyniki analiz FTIR

Spektroskopia w podczerwieni jest techniką wykorzystywaną w badaniach substancji czynnych leków – czy to pod kątem polimorfizmu, czy też interakcji z innymi substancjami. W przypadku CBZ znaleźć można przynajmniej kilka prac charakteryzujących widma jej różnych odmian polimorficznych [23,24,27] oraz wiele artykułów pokazujących wzajemne oddziaływanie CBZ i polimerów [1,32–34,37,38,46,59]. Nie brak także teoretycznych symulacji widm w środkowej podczerwieni zarówno dla pojedynczej molekuley CBZ [23,121,122], jak również dla dimerów [23,121]. Wydaje się jednak, że w bogatej literaturze traktującej o CBZ brak jest badań temperaturowych z wykorzystaniem spektroskopii FTIR. Autorce niniejszej rozprawy znana jest tylko jedna praca [27] skupiająca się na badaniu zmian dynamiki molekularnej CBZ podczas jej ogrzewania. Poza przedstawieniem zmiany wyglądu widm FTIR podczas przemiany fazowej CBZ III – CBZ I, artykuł ten również przedstawia

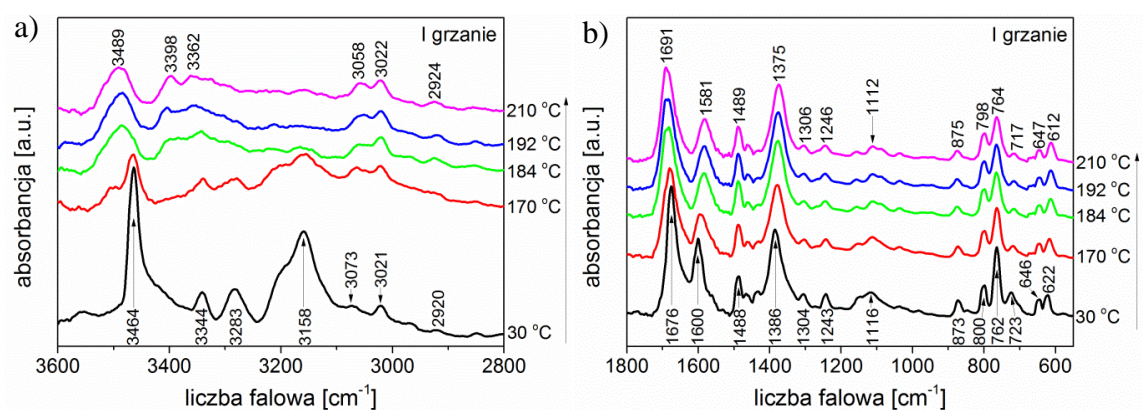
widmo uzyskane w 185°C po wcześniejszym stopieniu i ochłodzeniu próbki. Widmo to niczym nie różni się od widma uzyskanego w tej samej temperaturze w czasie pierwszego ogrzewania próbki, niezależnie od zastosowanej szybkości chłodzenia.

Celem badań przedstawionych w niniejszym podrozdziale było dokładne przeanalizowanie cyklu grzanie-chłodzenie-grzanie, analogicznego do cyklu obserwowanego przy pomocy DSC. Pomiary prowadzono dla próbki CBZ zmieszanej z KBr, w celu uzyskania pastylki. Zakres temperatur wynosił 5-210°C, zaś średnia szybkość ogrzewania i chłodzenia była równa $\sim 3^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

Analizę uzyskanych wyników prowadzono w kilku kolejnych krokach: (i) przeanalizowano zmiany położenia i intensywności najbardziej intensywnych pasm, przy czym dla zakresu liczb falowych $820\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ przeprowadzono dekonwolucję z wykorzystaniem krzywych Lorentza i dodatkowo przeanalizowano zmiany szerokości połówkowej FWHM oraz pola powierzchni pod krzywą, (ii) przeprowadzono dwuwymiarową analizę korelacyjną (2DCA) i na jej podstawie zdefiniowano, które fragmenty molekuly jako pierwsze zmieniają swoją dynamikę na skutek zmiany temperatury i zachodzenia przemian fazowych, (iii) wykonano analizę przesuwnego okna (2DMW) i w ten sposób uwidoczniono temperatury, w których dynamika molekularna zmienia się najbardziej znacząco i które mogą być utożsamiane z temperaturami przemian fazowych.

Na wstępie warto wyjaśnić w jaki sposób na podstawie kierunku przesuwania się danego pasma wnioskowano o tworzeniu i wzmacnianiu, bądź też zrywaniu i osłabianiu zewnątrz-molekularnych wiązań wodorowych. Pasmami mogącymi nieść informacje o zachowaniu wiązań wodorowych były głównie pasma związane z drganiami atomów, które bezpośrednio uczestniczą w tworzeniu tych wiązań, tj. w przypadku molekuł CBZ ugrupowania C=O lub N-H (wiązanie wodorowe tworzy się pomiędzy atomem tlenu jednej molekuly CBZ, a atomem wodoru drugiej molekuly CBZ). W przypadku drgań rozciągających przesunięcie pasma w stronę niższych liczb falowych niosło informację o tworzeniu i wzmacnianiu wiązań wodorowych, zaś przesunięcie w stronę wyższych liczb falowych informację o zrywaniu i osłabianiu tych wiązań. Z kolei w przypadku drgań zginających sytuacja była odwrotna – przesunięcie pasma ku czerwieni niosło informację o zrywaniu i osłabianiu wiązań wodorowych, zaś przesunięcie ku fioletowi informację o tworzeniu i wzmacnianiu tych wiązań.

Na Rys. 19 przedstawiono widma CBZ otrzymane podczas pierwszego ogrzewania. Na podstawie danych dostępnych w literaturze przypisano zaobserwowane w temperaturze pokojowej pasma odpowiednim drganiom, a zebrane informacje umieszczono w Tab. 4. Uzyskane w temperaturze pokojowej widmo było charakterystyczne dla formy III CBZ i zgodne z wynikami przedstawionymi w pracy Czernicki *et al.* [23] oraz Grzesiak *et al.* [24].



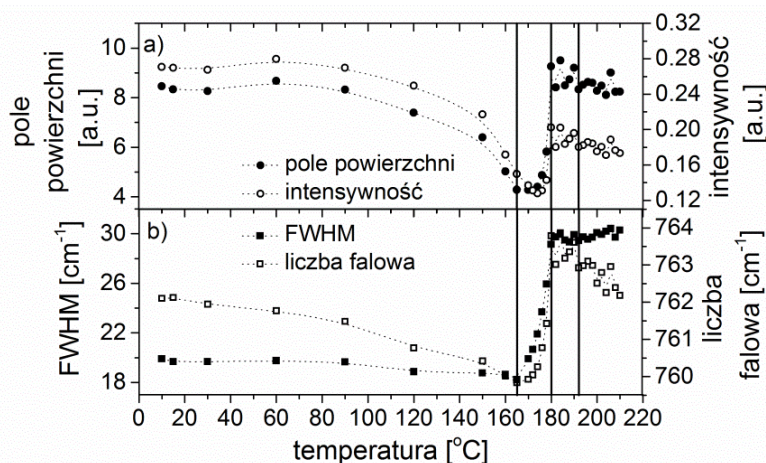
Rys. 19 Widma FTIR otrzymane podczas I grzania niemodyfikowanej CBZ w zakresach liczb falowych 3600-2800 cm^{-1} (a) oraz 1800-500 cm^{-1} (b).

Tab. 4 Drgania cząsteczki CBZ w RT i odpowiadające im pasma na widmach FTIR.

Liczba falowa [cm^{-1}] (RT)	Rodzaj drgań (ν – drgania rozciągające, β – drgania zginające w płaszczyźnie, τ – drgania zginające pozapłaszczyznowe, C_{ar} – atom węgla w pierścieniu aromatycznym)
3464	ν (N–H) (asymetryczne) [23]
3344, 3283	ν (N–H) (symetryczne) [123]
3158	ν (C_{ar} –H) [23]
1676	ν (C=O) [37]
1600	ν ($C_{\text{ar}}=C_{\text{ar}}-C_{\text{ar}}$), β (N–H) [37]
1488	ν ($C_{\text{ar}}=C_{\text{ar}}-C_{\text{ar}}$), β (C_{ar} –H) [23]
1386	β (C–N), β (N–H), β (C–H) [23,59]
1243, 1180-950	β (C_{ar} –H) [124]
873, 800, 762, 723	τ (C_{ar} –H) [124]
646, 622	τ (N–H) [123]

W czasie pierwszego grzania próbki zaobserwowano szereg zmian pól powierzchni, intensywności, szerokości połówek oraz położenia najbardziej intensywnych pasm. Dokładny przebieg zmian niniejszych parametrów dla pasma

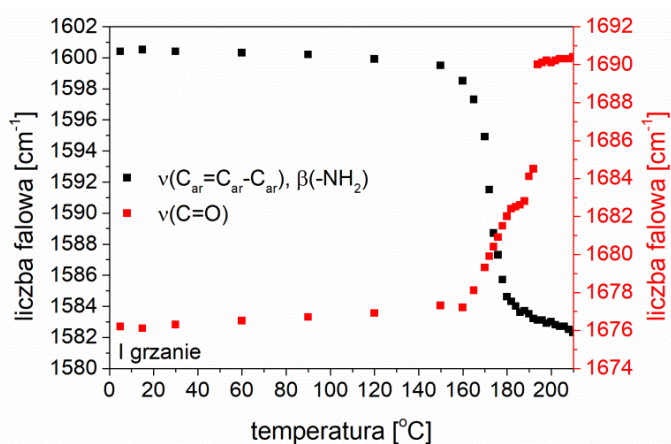
762 cm^{-1} , związanego z drganiami pozapłaszczyznowymi $\text{C}_{\text{ar}}\text{-H}$ (gdzie C_{ar} – węgiel w pierścieniu aromatycznym), przedstawiono na Rys. 20. Zauważono, że FWHM opisywanego pasma była stała do 165 $^{\circ}\text{C}$, zaś w zakresie temperatur 165-180 $^{\circ}\text{C}$ gwałtownie wzrastała. W tym samym zakresie temperatur wzrastało również pole powierzchni pików oraz jego intensywność. Dodatkowo pasmo to przesunęło się $\sim 4 \text{ cm}^{-1}$ w stronę wyższych liczb falowych. Wszystkie opisane zmiany odzwierciedlały zachodzenie przemiany fazowej CBZ III – CBZ I. Dalszy wzrost temperatury nie powodował znaczących zmian wartości opisywanych parametrów. W temperaturze $\sim 192^{\circ}\text{C}$ miało miejsce niewielkie przesunięcie pasma w stronę niższych liczb falowych (o $\sim 1 \text{ cm}^{-1}$) i był to sygnał świadczący o stopieniu się próbki.



Rys. 20 Zależność temperaturowa pola powierzchni i intensywności (a) oraz FWHM i liczby falowej (b) dla pasma o maksimum $\sim 762 \text{ cm}^{-1}$, związanego z drganiami pozapłaszczyznowymi $\text{C}_{\text{ar}}\text{-H}$, podczas I grzania niemodyfikowanej CBZ.

Zmiana dynamiki molekularnej odzwierciedlana przez zmiany wartości parametrów innych pasm widocznych na widmach w podczerwieni również sygnalizowała o zajściu opisywanych powyżej przemian fazowych. Przykładowo pasmo położone $\sim 1676 \text{ cm}^{-1}$ w temperaturze pokojowej, przesunęło się w zakresie temperatur 160-194 $^{\circ}\text{C}$ o $\sim 13 \text{ cm}^{-1}$ w stronę wyższych liczb falowych (patrz Rys. 21). Zmiana położenia związana była m.in. z rozdwojeniem pasma – w 160 $^{\circ}\text{C}$ pojawiło się dodatkowe pasmo po stronie wyższych liczb falowych, którego intensywność rosła wraz ze wzrostem temperatury. Jednocześnie intensywność pasma występującego po stronie niższych liczb falowych malała. Opisywany region widma związany jest z drganiami rozciągającymi $\text{C}=\text{O}$. Rozdwojenie pasma świadczyło więc o tym, że grupy karbonylowe cząsteczek CBZ były w różnym stopniu zaangażowane w tworzenie wiązań wodorowych. Wzrost intensywności pasma po stronie wyższych liczb falowych i jednoczesny spadek

intensywności pasma po stronie niższych liczb falowych dowodził, że zewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe między cząsteczkami CBZ słabły podczas ogrzewania próbki. Najsilniejsze wiązania wodorowe stabilizowały więc formę III CBZ. Wraz ze wzrostem temperatury i przejściem fazowym CBZ III – CBZ I wiązania te ulegały osłabieniu. W czasie topnienia substancji dochodziło do dalszego zrywania wiązań wodorowych. Podobne wnioski zostały wyciągnięte podczas analizy zmiany położenia pasma związanego z drganiami rozciągającymi asymetrycznymi N–H (pasma o maksimum $\sim 3464\text{ cm}^{-1}$). Wspomniane pasmo przesunęło się w zakresie temperatur $150\text{--}178^\circ\text{C}$ aż o $\sim 21\text{ cm}^{-1}$ w kierunku wyższych liczb falowych, co ponownie świadczyło o słabnięciu wiązań wodorowych utworzonych między molekułami CBZ. Również pasmo o maksimum $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ w temperaturze pokojowej, związane z drganiami rozciągającymi $\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}}-\text{C}_{\text{ar}}$ oraz drganiami nożycowymi N–H, przesunęło się znacząco ($\sim 15\text{ cm}^{-1}$) w zakresie temperatur $150\text{--}180^\circ\text{C}$ w kierunku niższych liczb falowych oraz nieznacznie ($\sim 1.5\text{ cm}^{-1}$) w zakresie temperatur $180\text{--}192^\circ\text{C}$, co również świadczyło o osłabianiu wiązań wodorowych. Stabilność parametrów pasma powyżej 192°C wskazywała na to, że w obszarze tym istniała termodynamicznie stabilna faza (ciecz).

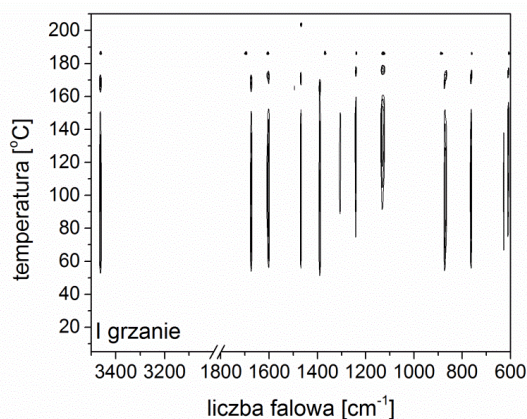


Rys. 21 Zależność liczby falowej od temperatury podczas I grzania niemodyfikowanej CBZ dla pasm o maksimach $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ (drgania rozciągające $\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}}-\text{C}_{\text{ar}}$ i drganiami nożycowymi N–H) i $\sim 1676\text{ cm}^{-1}$ (drgania rozciągające C=O).

Podsumowując analizę zmian parametrów pasm można było powiedzieć, że przemiana fazowa CBZ III – CBZ I, jak również przejście CBZ I – ciecz były wyraźnie odzwierciedlane w zmianach dynamiki molekularnej.

Przeprowadzenie analizy przesuwnego okna potwierdziło gwałtowne zmiany dynamiki molekularnej w okolicach 172°C (patrz Rys. 22). Przemiana fazowa CBZ III – CBZ I była widoczna dla pasm 3463, 1675, 1602, 1495, 1468, 1304, 1241, 869

i 763 cm^{-1} . Dodatkowo znacząca modulacja intensywności pasm widoczna była w zakresie temperatur $50\text{-}170^\circ\text{C}$, co świadczyło o tym, że drgania cząsteczek CBZ zmieniały się wraz ze wzrostem temperatury nawet w obrębie, z punktu widzenia krystalografii, pojedynczej fazy. Analiza 2DMW wyraźnie wskazała również na zachodzenie zauważalnych zmian dynamiki molekularnej w czasie topnienia CBZ.



Rys. 22 Wynik analizy przesuwnej okna dla I grzania niemodyfikowanej CBZ.

Zgodnie z informacjami zebranymi na podstawie pomiarów DSC i FTIR, obszar temperaturowy, w którym przeprowadzono dwuwymiarową analizę korelacyjną, podzielono na dwa zakresy: (i) $160\text{-}180^\circ\text{C}$ (związany z przejściem fazowym CBZ III – CBZ I) oraz (ii) $180\text{-}210^\circ\text{C}$ (związany z przejściem fazowym CBZ I – ciecz). Wyniki 2DCA przedstawiono w Tab. 5.

Tab. 5 Wyniki dwuwymiarowej analizy korelacyjnej przeprowadzonej dla I grzania niemodyfikowanej CBZ.

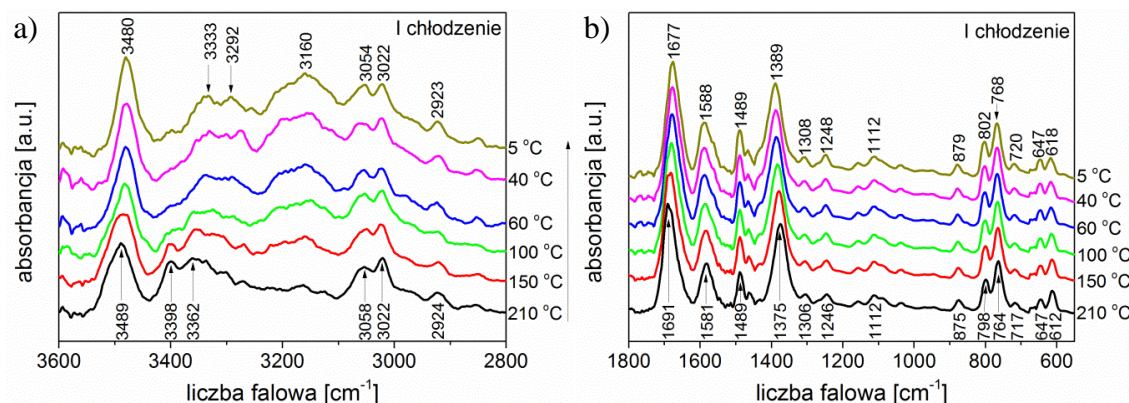
Cykl	Analizowany zakres temperatur	Typ mapy	Uzyskana informacja	Liczba falowa [cm^{-1}]
I grzanie	$160\text{-}180^\circ\text{C}$ (CBZ III – CBZ I)	mapa synchroniczna	autopiki	1601, 1674, 1697, 3464
			piki, których intensywność maleje	764, 1389, 1601, 1674, 1697, 3464
			piki których intensywność rośnie	–
		mapa asynchroniczna	sekwencja zmian intensywności drgań	760 -> 1695 -> 1601 -> 3464 -> 1674 -> 1391
	$180\text{-}210^\circ\text{C}$ (CBZ I – ciecz)	mapa synchroniczna	autopiki	1605, 1693, 3462
			piki, których intensywność maleje	760, 1368, 1605, 1693, 3462
			piki których intensywność rośnie	–
		mapa asynchroniczna	sekwencja zmian intensywności drgań	1369 -> 1693 -> 3462 -> 1605 -> 760

Obydwie przemiany fazowe zachodzące podczas ogrzewania CBZ były odzwierciedlone w zmianach intensywności pasm $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ (pasmo związane z drganiami rozciągającymi $C_{ar}=C_{ar}-C_{ar}$ oraz drganiami nożycowymi N–H), $\sim 1674\text{ cm}^{-1}$ (pasmo związane z drganiami rozciągającymi C=O zaangażowanymi w tworzenie silniejszych wiązań wodorowych), $\sim 1693\text{ cm}^{-1}$ (pasmo związane z drganiami rozciągającymi C=O zaangażowanymi w tworzenie słabszych wiązań wodorowych) i $\sim 3464\text{ cm}^{-1}$ (pasmo związane z asymetrycznymi drganiami rozciągającymi N–H). Wszystkie piki krzyżowe na mapach synchronicznych były dodatnie, co oznacza że wszystkie pasma w sposób jakościowo podobny zmieniały swoją intensywność (zmniejszały). Z najbardziej intensywnych pasm jedynie pasmo $\sim 1488\text{ cm}^{-1}$ (związane z drganiami rozciągającymi $C_{ar}=C_{ar}-C_{ar}$ oraz drganiami wahadłowymi $C_{ar}-H$) nie zmieniało swojej intensywności na skutek zmian temperatury i zachodzenia przemian fazowych.

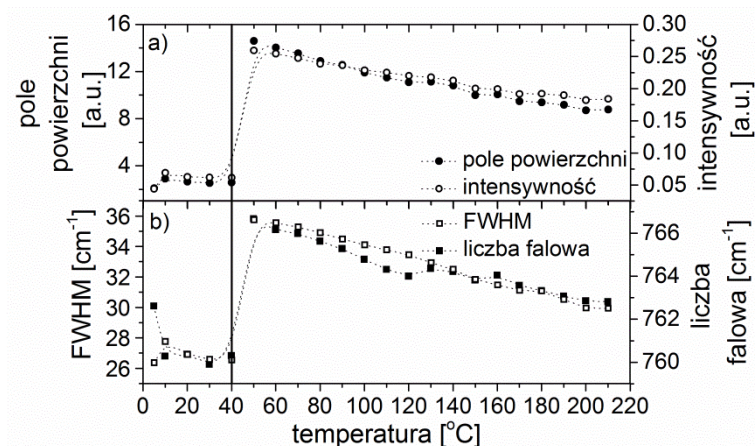
Analiza map asynchronicznych pozwoliła na ustalenie sekwencji zmian intensywności drgań poszczególnych fragmentów molekuł. I tak przejście fazowe CBZ III – CBZ I rozpoczynało się od zmian dynamiki molekularnej związanej z pozapłaszczyznowymi drganiami $C_{ar}-H$ (pasmo $\sim 760\text{ cm}^{-1}$), podczas gdy przemiana fazowa CBZ I – ciecz od zmian dynamiki molekularnej związanej z drganiami wahadłowymi N–H i C–N (pasmo $\sim 1369\text{ cm}^{-1}$).

Rys. 23 przedstawia widma CBZ zebrane podczas ochładzania próbki po jej uprzednim stopieniu, podczas gdy Rys. 24 – zmiany wartości parametrów pasma o maksimum $\sim 763\text{ cm}^{-1}$ uzyskane z dopasowania do niego krzywej Lorentza. Zmiana dynamiki molekularnej dla drgań pozapłaszczyznowych $C_{ar}-H$ obserwowana była w zakresie temperatur $50-40^\circ\text{C}$ i na podstawie pomiarów DSC została przypisana zachodzeniu procesu zeszklenia próbki. Podczas chłodzenia asymetryczne pasmo $\sim 1582\text{ cm}^{-1}$ ulegało zwężeniu i jednoczesnemu przesunięciu w stronę wyższych liczb falowych (o $\sim 6\text{ cm}^{-1}$), z kolei dla pasma o maksimum $\sim 1690\text{ cm}^{-1}$ zanikało ramię po stronie wyższych liczb falowych, na skutek czego pasmo to ulegało przesunięciu o $\sim 13\text{ cm}^{-1}$ w stronę niższych liczb falowych (patrz Rys. 25). Wreszcie pasmo o maksimum $\sim 3489\text{ cm}^{-1}$ przesuwało się o $\sim 9\text{ cm}^{-1}$ w stronę niższych liczb falowych. Wszystkie te zachowania świadczyły o tworzeniu i wzmacnianiu wiązań wodorowych między molekułami CBZ. Jako że parametry większości pasm przestawały się zmieniać

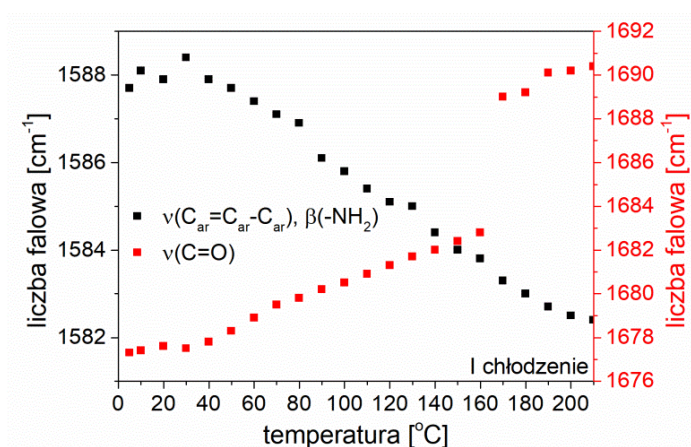
w temperaturze poniżej 40°C uznano, że w zakresie tym istniała termodynamicznie stabilna faza, tj. szkło.



Rys. 23 Widma FTIR otrzymane podczas I chłodzenia niemodyfikowanej CBZ w zakresach liczb falowych 3600-2800 cm^{-1} (a) oraz 1800-500 cm^{-1} (b).

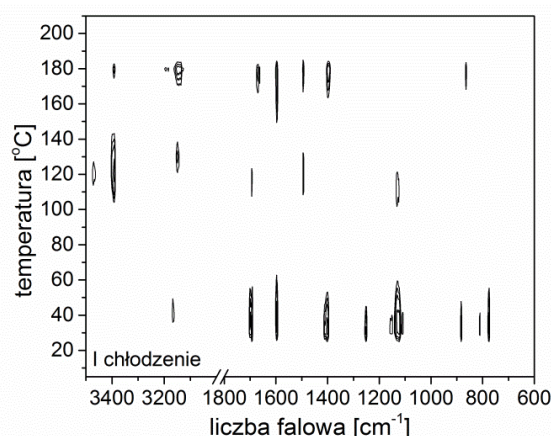


Rys. 24 Zależność temperaturowa pola powierzchni i intensywności (a) oraz FWHM i liczby falowej (b) dla pasma o maksimum $\sim 762 \text{ cm}^{-1}$, związanego z drganiami pozapłaszczyznowymi $\text{C}_{\text{ar}}-\text{H}$, podczas I chłodzenia niemodyfikowanej CBZ.



Rys. 25 Zależność liczby falowej od temperatury podczas I chłodzenia niemodyfikowanej CBZ dla pasm o maksimach $\sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ (drżania rozciągające $\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}}-\text{C}_{\text{ar}}$ i drżania nożycowe $\text{N}-\text{H}$) i $\sim 1676 \text{ cm}^{-1}$ (drżania rozciągające $\text{C}=\text{O}$).

Analiza przesuwnego okna (patrz Rys. 26) pokazała, że poza znaczącą zmianą intensywności pasm w okolicach temperatury 35°C (obserwowaną dla pasm 3165, 1700, 1693, 1596, 1402, 1251, 1127, 883, 811 i 776 cm⁻¹), związaną z witrifikacją próbki, podczas ochładzania CBZ dochodziło do dwóch innych przemian fazowych w okolicach 180°C (pasma 3392, 3145, 1671, 1597, 1494, 1397 i 864 cm⁻¹) i 120°C (pasma 3392, 3145, 1693, 1494 i 1130 cm⁻¹). Przemiany te prawdopodobnie były związane z zachodzeniem procesu częściowej krystalizacji próbki. Wydaje się, że proces ten mógł być dodatkowo faworyzowany (w porównaniu do sytuacji obserwowanej w DSC) przez obecność ziaren KBr, które mogły być centrami nukleacji na których zachodził wzrost krystalitów. W temperaturze 5°C współistniała więc faza szkła (amorficzna) oraz jedna lub dwie fazy krystaliczne CBZ.



Rys. 26 Wynik analizy przesuwnego okna dla I chłodzenia niemodyfikowanej CBZ.

Do przeprowadzenia dwuwymiarowej analizy korelacyjnej wyników otrzymanych podczas ochładzania próbki podzielono cały zakres temperatur na trzy obszary: (i) 210-160°C, (ii) 160-60°C i (iii) 60-5°C. Były one odpowiednio związane z dwoma obszarami krystalizacji próbki oraz zakresem zachodzenia procesu zeszklenia. Wyniki 2DCA zamieszczono w Tab. 6. Podczas wszystkich przejść fazowych najbardziej zmieniały się intensywności pasm ~1370 cm⁻¹ (związanego z drganiami wahadłowymi N-H i C-N), ~1670 cm⁻¹ (związanego z drganiami rozciągającymi C=O zaangażowanymi w tworzenie silniejszych wiązań wodorowych) oraz ~3144 cm⁻¹ (związanego z drganiami rozciągającymi C_{ar}-H). Nie zaobserwowano z kolei znaczących zmian intensywności pasm o maksimach ~1488 cm⁻¹ (związanego z drganiami rozciągającymi C_{ar}=C_{ar}-C_{ar} i drganiami wahadłowymi C_{ar}-H) oraz ~1600 cm⁻¹ (związanego z drganiami rozciągającymi C_{ar}=C_{ar}-C_{ar} i drganiami nożycowymi N-H). Podczas zachodzenia procesu

wyżej-temperaturowej krystalizacji oraz procesu witrifikacji na mapach synchronicznych zaobserwowano jedynie pozytywne piki krzyżowe (intensywność wszystkich pasm rosła podczas zachodzenia przemiany fazowej), podczas gdy w czasie zachodzenia procesu niżej-temperaturowej krystalizacji były widoczne zarówno dodatnie jak i ujemne piki krzyżowe. Sekwencja zmian intensywności drgań była w czasie kolejnych przemian fazowych różna, a jej dokładny przebieg został szczegółowo opisany w Tab. 6.

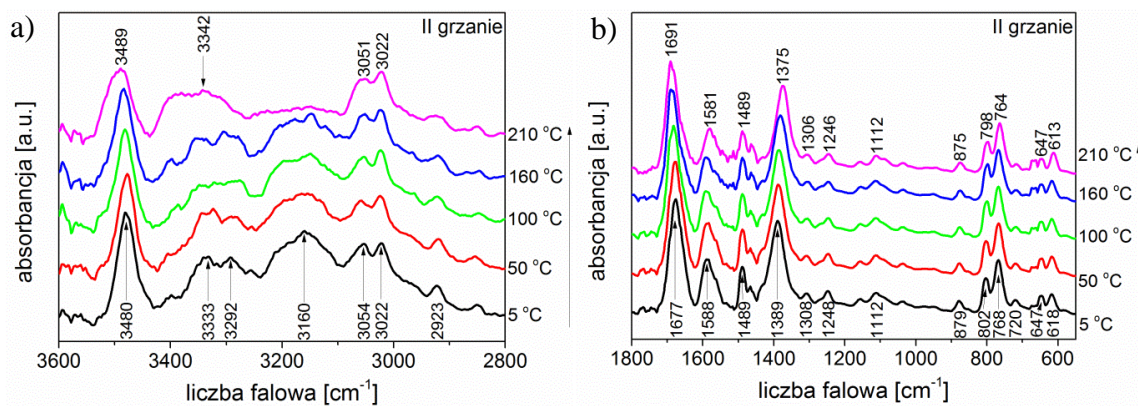
Tab. 6 Wyniki dwuwymiarowej analizy korelacyjnej przeprowadzonej dla I chłodzenia niemodyfikowanej CBZ.

Cykl	Analizowany zakres temperatur	Typ mapy	Uzyskana informacja	Liczba falowa [cm ⁻¹]
I chłodzenie	210-160°C (wyżej-temperaturowa krystalizacja)	mapa synchroniczna	autopiki	773, 1364, 1396, 1670, 1701, 3144
			piki, których intensywność maleje	–
			piki których intensywność rośnie	625, 654, 773, 810, 1364, 1396, 1670, 1701, 3144
		mapa asynchroniczna	sekwencja zmian intensywności drgań	773 -> 1670 -> 1396 -> 3144
	160-60°C (niżej-temperaturowa krystalizacja)	mapa synchroniczna	autopiki	1358, 1373, 1389, 1412, 1674, 1693, 3148, 3470
			piki, których intensywność maleje	777, 1373, 1412, 1693, 3470
			piki których intensywność rośnie	1358, 1389, 1653, 1674, 1701, 3148
		mapa asynchroniczna	sekwencja zmian intensywności drgań	1674 -> 1389 -> 777 -> 3470 -> 3148
	60-5°C (witrifikacja)	mapa synchroniczna	autopiki	1369, 1402, 1412, 1663, 1693, 1701, 3163
			piki, których intensywność maleje	–
			piki których intensywność rośnie	775, 1369, 1402, 1412, 1663, 1693, 3163
		mapa asynchroniczna	sekwencja zmian intensywności drgań	1402 -> 1693 -> 777 -> 1663 -> 1369 -> 3163

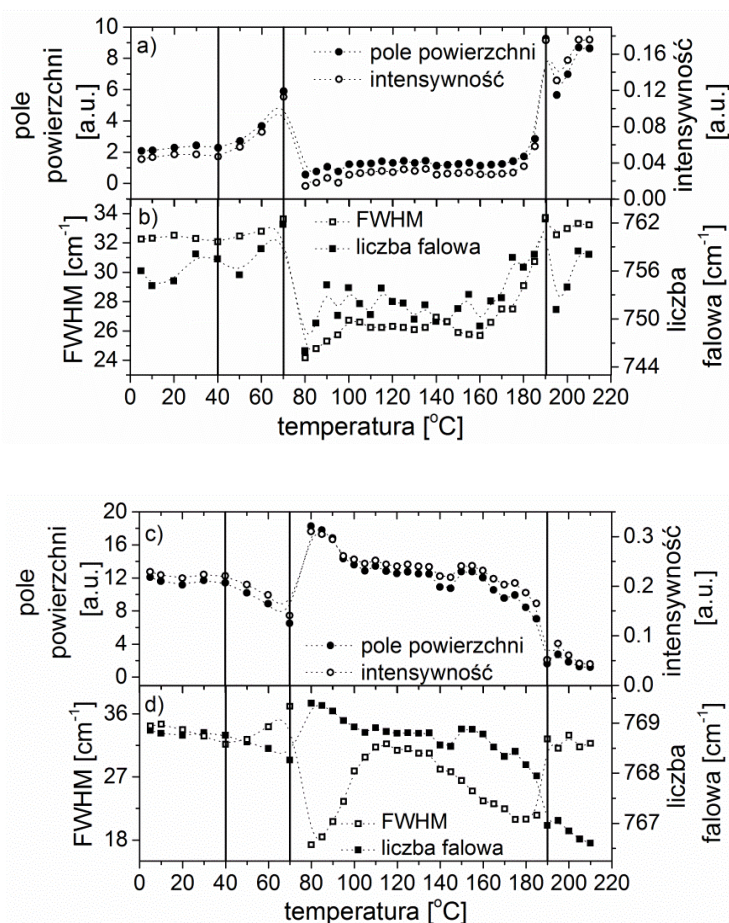
Obecność fazy szklistej po schłodzeniu próbki mogła wskazywać na to, że w czasie jej uprzedniego ogrzewania i stopienia doszło do pojawienia się pewnej ilości produktu termicznej degradacji CBZ. Bowiem, jak już wcześniej wspomniano, zgodnie z doniesieniami Baird *et al.* [2] oraz Pinto *et al.* [29], czysta CBZ nie ulega zeszkleniu nawet podczas ochładzania jej z szybkością 20°C min⁻¹, a w czasie przeprowadzanych pomiarów FTIR szybkość chłodzenia wynosiła średnio ~3°C min⁻¹. Z pomiarów DSC prezentowanych w niniejszej pracy wynika zaś jasno, że obecność nawet marginalnej

ilości składnika różnego od formy I CBZ prowadzi do znacznego ułatwienia zachodzenia procesu witrifikacji. Z drugiej strony, na widmach FTIR otrzymanych po schłodzeniu próbki brak było znaczących zmian w porównaniu do widm charakterystycznych dla formy I CBZ. Zasugerowano więc, że obecność KBr znacząco spowolniła zachodzenie procesu degradacji próbki.

Ostatnim etapem pomiarów FTIR było ponowne ogrzewanie próbki CBZ, po jej uprzednim stopieniu i ochłodzeniu. Widma otrzymane podczas II grzania przedstawiono na Rys. 27, zaś dokładną analizę parametrów pasm związanych z drganiami pozapłaszczyznowymi $C_{ar}-H$ na Rys. 28. Tym razem poza pasmem o maksimum $\sim 761\text{ cm}^{-1}$ przedstawiono również parametry pochodzące z dekonwolucji pasma o maksimum $\sim 769\text{ cm}^{-1}$. Do 40°C parametry obydwóch opisywanych pasm były stałe. W zakresie temperatur $40-70^\circ\text{C}$ dochodziło do wzrostu pola powierzchni oraz intensywności pasma $\sim 761\text{ cm}^{-1}$ oraz spadku tych samych parametrów dla pasma $\sim 769\text{ cm}^{-1}$. Obydwa pasma przesuwają się w stronę wyższych liczb falowych. Zmiany dynamiki molekularnej widoczne w opisywanym zakresie temperatur były związane z zachodzeniem procesu mięknięcia szkła. Następnie, między 70 a 80°C , miała miejsce gwałtowna zmiana wartości wszystkich dyskutowanych parametrów. Obydwa pasma przesuwają się w stronę niższych liczb falowych. W obszarze tym dochodziło do rekrytalizacji próbki. Kolejne znaczące zmiany dynamiki molekularnej miały miejsce w zakresie temperatur $180-190^\circ\text{C}$. Dochodziło tu do przysuwania pasm w stronę wyższych liczb falowych. Dodatkowo pasmo $\sim 761\text{ cm}^{-1}$ znacząco zwiększało, zaś pasmo $\sim 769\text{ cm}^{-1}$ zmniejszało, swoją intensywność, pole powierzchni oraz FWHM. Wszystkie te zmiany skorelowano z zachodzeniem procesu topnienia próbki. Zwrócono również uwagę na nieznaczną zmianę wartości pola powierzchni, intensywności oraz FWHM pasma o maksimum $\sim 769\text{ cm}^{-1}$ w zakresie temperatur $135-150^\circ\text{C}$. Z pomiarów DSC wynikało bowiem, że w tym obszarze dochodzi do topnienia jednego ze składników mieszaniny CBZ – produkt degradacji. Stwierdzono więc, że zaobserwowana modulacja parametrów pasma związanego z drganiami pozapłaszczyznowymi $C_{ar}-H$ mogła odzwierciedlać właśnie tę przemianę fazową. Taka interpretacja byłaby zgodna z postulatami przedstawionymi powyżej, że jeśli obserwowana była faza szklista CBZ uzyskana przy szybkości chłodzenia $\sim 3^\circ\text{C min}^{-1}$, to układ musiał być dwuskładnikowy.



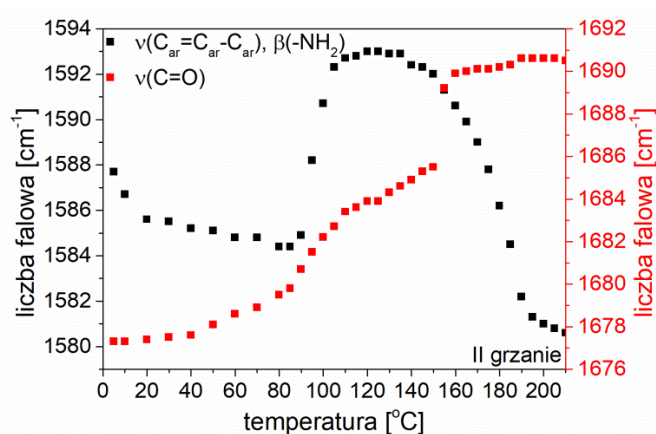
Rys. 27 Widma FTIR otrzymane podczas II grzania niemodyfikowanej CBZ w zakresach liczb falowych 3600-2800 cm^{-1} (a) oraz 1800-500 cm^{-1} (b).



Rys. 28 Zależność temperaturowa pola powierzchni i intensywności (a) oraz FWHM i liczby falowej (b) dla pasma o maksimum $\sim 762 \text{ cm}^{-1}$, związanego z drganiami pozapłaszczyznowymi $\text{C}_{\text{ar}}-\text{H}$ podczas II grzania niemodyfikowanej CBZ oraz analogicznych parametrów dla pasma o maksimum $\sim 769 \text{ cm}^{-1}$ (c) i (d), również związanego z drganiami pozapłaszczyznowymi $\text{C}_{\text{ar}}-\text{H}$.

Analiza zmian położenia pasm związanych z drganiami atomów zaangażowanych w tworzenie wiązań wodorowych niosła ważne informacje dopełniające obraz zachodzących w czasie II grzania przemian fazowych. I tak pasmo $\sim 1586 \text{ cm}^{-1}$ nie zmieniało swojego położenia w zakresie temperatur 5-85 $^{\circ}\text{C}$, 105-135 $^{\circ}\text{C}$ oraz powyżej

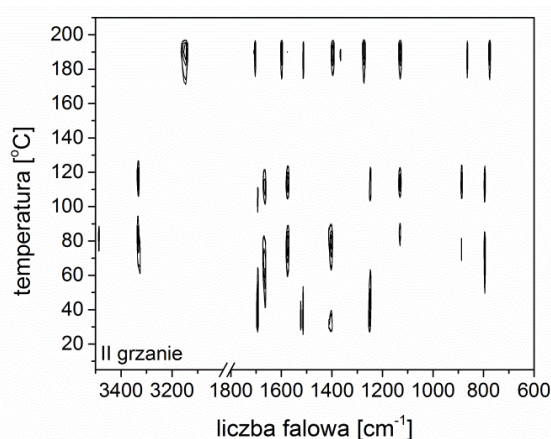
195°C (patrz Rys. 29), co oznaczało, że proces mięknięcia szkła, mający miejsce ~40°C, nie wpływał znacząco na charakter wiązań wodorowych utworzonych między molekułami CBZ. Przesuwanie opisywanego pasma w kierunku wyższych liczb falowych w zakresie temperatur 85-105°C oraz w stronę niższych liczb falowych w zakresie temperatur 135-195°C odzwierciedlał kolejno tworzenie i wzmacnianie wiązań wodorowych podczas zachodzenia procesu zimnej krystalizacji oraz zrywania i osłabiania wiązań wodorowych w czasie topnienia próbki. Analiza zmian położenia pasma ~1677 cm⁻¹ nie nosła już tak klarownych informacji, ponieważ pasmo to było złożone i ciężko było je właściwie przeanalizować bez przeprowadzania dekonwolucji. Położenie jego maksimum przesunęło się w stronę wyższych liczb falowych wraz ze wzrostem temperatury, podobnie jak położenie maksimum pasma ~3480 cm⁻¹. Takie zachowanie wskazywało na zrywanie i osłabianie wiązań wodorowych w czasie zachodzenia wszystkich przemian fazowych obserwowanych podczas ogrzewania próbki. Wnioski dotyczące zachowania wiązania wodorowego były więc spójne dla analizowanych pasm w obszarze w którym dochodziło do topnienia próbki (wiązania wodorowe były zrywane i ulegały osłabieniu), natomiast nie były zgodne w obszarze zachodzenia procesu zimnej krystalizacji. Przyjęto jednak, że to wniosek o tworzeniu wiązań wodorowych podczas zachodzenia procesu rekrystalizacji jest tym słusznym, ponieważ forma krystaliczna jest stabilniejsza od formy ciekłej właśnie dzięki istnieniu większej ilości wiązań i większej ich sile.



Rys. 29 Zależność liczby falowej od temperatury podczas II grzania niemodyfikowanej CBZ dla pasm o maksimach ~1600 cm⁻¹ (drżania rozciągające C_{ar}=C_{ar}-C_{ar} i drżania nożycowe N-H) i ~1676 cm⁻¹ (drżania rozciągające C=O).

Podobnie jak w przypadku chłodzenia próbki, analiza przesuwnego okna ujawniła zachodzenie w czasie II grzania większej ilości przemian fazowych niż zaobserwowano

na podstawie analizy zmian parametrów pasm (patrz Rys. 30). Przejścia fazowe zostały ujawnione w temperaturach: (i) 40°C (odszklenie), (ii) 80°C (niżej-temperaturowa rekrytalizacja), (iii) 115°C (wyżej-temperaturowa rekrytalizacja) oraz (iv) 190°C (topnienie) dla drgań odpowiednio: (i) 1694, 1523, 1514, 1405 i 1250 cm⁻¹, (ii) 3486, 3333, 1665, 1575, 1403, 1131, 887 i 795 cm⁻¹, (iii) 3332, 1693, 1666, 1575, 1247, 1131, 887 i 795 cm⁻¹, (iv) 3148, 1704, 1599, 1513, 1397, 1366, 1273, 1129, 864 i 776 cm⁻¹. Zachodzenie procesu dwuetapowej zimnej krystalizacji było obserwowane w pewnych warunkach (odpowiednio dobrana maksymalna temperatura, do której grzano próbkę oraz szybkości chłodzenia i grzania) również w pomiarach DSC. Wydaje się więc, że analiza 2DMW mogła ujawnić właśnie taką przemianę fazową. Warto również zwrócić uwagę na fakt, że analiza ta nie potwierdziła zachodzenia przejścia fazowego ~145°C, charakterystycznego dla topnienia jednego ze składników układu dwuskładnikowego. Związane było to zapewne z faktem, że ilość produktu degradacji, powstałego na skutek ogrzewania i topienia próbki, była znikoma, gdyż jak już wcześniej zaznaczano, obecność KBr hamowała proces powstawania drugiego składnika mieszaniny.



Rys. 30 Wynik analizy przesuwnej okna dla II grzania niemodyfikowanej CBZ.

Na podstawie wyników analizy 2DMW postanowiono przeprowadzić analizę korelacyjną w czterech zakresach temperatur (patrz Tab. 7): (i) 5-60°C (mięknienie szkła), (ii) 60-100°C (niżej-temperaturowa rekrytalizacja), (iii) 100-140°C (wyżej-temperaturowa rekrytalizacja), (iv) 140-210°C (topnienie). Podobnie do obserwacji poczynionych podczas ochładzania próbki zaobserwowano, że w czasie II grzania najbardziej zmieniały się intensywności pasm: ~1370 cm⁻¹ (drgania wahadłowe N–H i C–N) i ~1670 cm⁻¹ (drgania rozciągające C=O zaangażowane w tworzenie silniejszych wiązań wodorowych). Dodatkowo, znaczące zmiany intensywności zaobserwowano

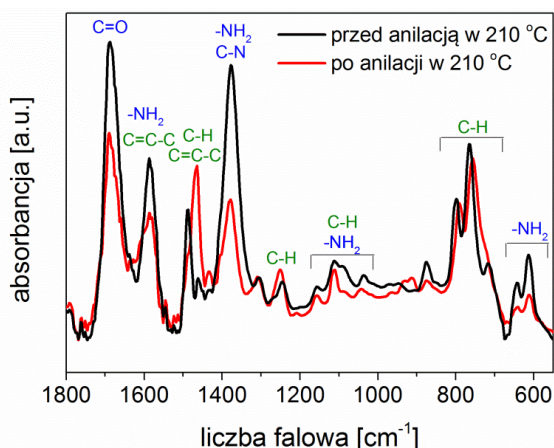
również dla pasma $\sim 1574 \text{ cm}^{-1}$ (drżania rozciągające $\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}}-\text{C}_{\text{ar}}$ i nożycowe N-H). Podobnie jak we wszystkich poprzednich etapach – intensywność pasma $\sim 1488 \text{ cm}^{-1}$ (drżania rozciągające $\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}}-\text{C}_{\text{ar}}$ i wahadłowe $\text{C}_{\text{ar}}-\text{H}$) nie była temperaturowo zależna. Zarówno podczas zachodzenia przemiany mięknięcia szkła, jak i topnienia na mapach synchronicznych obecne były jedynie dodatnie piki krzyżowe. Z kolei w czasie obydwóch rekrytalizacji część pasm zwiększała swoją intensywność, zaś część zmniejszała, co objawiało się obecnością zarówno dodatnich, jak i ujemnych pików krzyżowych na mapach synchronicznych. Analiza map asynchronicznych pozwoliła na ustalenie sekwencji zmian intensywności drżań podczas poszczególnych przejść fazowych, a jej wyniki szczegółowo przedstawiono w Tab. 7.

Tab. 7 Wyniki dwuwymiarowej analizy korelacyjnej przeprowadzonej dla II grzania niemodyfikowanej CBZ.

Cykl	Analizowany zakres temperatur	Typ mapy	Uzyskana informacja	Liczba falowa [cm^{-1}]
II grzanie	5-60°C (mięknięcie szkła)	mapa synchroniczna	autopiki	1369, 1402, 1665, 1693
			piki, których intensywność maleje	–
			piki których intensywność rośnie	775, 812, 1369, 1402, 1593, 1665, 1693
		mapa asynchroniczna	sekwencja zmian intensywności drżań	1663 -> 1693 -> 1371 -> 1406 -> 777
	60-100°C (niżej-temperaturowa rekrytalizacja)	mapa synchroniczna	autopiki	1369, 1402, 1574, 1670, 1701
			piki, których intensywność maleje	1369, 1402, 1593, 1701
			piki których intensywność rośnie	760, 1574, 1670
		mapa asynchroniczna	sekwencja zmian intensywności drżań	1701 -> 760 -> 1369, 1402, 1572, 1595 -> 1665
	100-140°C (wyżej-temperaturowa rekrytalizacja)	mapa synchroniczna	autopiki	1576, 1665, 1692
			piki, których intensywność maleje	1368, 1400
			piki których intensywność rośnie	760, 1576, 1665, 1692
		mapa asynchroniczna	sekwencja zmian intensywności drżań	1576, 1665, 1692 -> 1368 -> 760
	140-210°C (topnienie)	mapa synchroniczna	autopiki	775, 1366, 1396, 1576, 1599, 1703, 3148
			piki, których intensywność maleje	–
			piki których intensywność rośnie	775, 1366, 1396, 1576, 1599, 1703, 3148
mapa asynchroniczna		sekwencja zmian intensywności drżań	3148 -> 775 -> 1576, 1599 -> 1703 -> 1692 -> 1369, 1391 -> 1684	

Widma w podczerwieni zebrane w 210°C po pierwszym i drugim grzaniu próbki były niemal identyczne. Na podstawie tej obserwacji stwierdzono, że jeżeli w trakcie trwania cyklu grzanie-chłodzenie-grzanie doszło do powstania produktu degradacji, to jego ilość była niezwykle mała. Mimo to uznano, że końcowy układ był dwuskładnikowy – świadczyło o tym pojawienie się fazy szkła po ochłodzeniu próbki oraz nieznaczna modulacja wartości parametrów pasma $\sim 769\text{ cm}^{-1}$ w zakresie temperatur 135-150°C.

Aby jednoznacznie stwierdzić, co dzieje się z próbką CBZ powyżej temperatury topnienia przeprowadzono jeszcze jeden pomiar – nowo przygotowaną pastylkę ogrzano do temperatury 210°C, a następnie poddano ją procesowi anilacji w tej temperaturze przez okres 2 h. Porównanie widm uzyskanych tuż po osiągnięciu przez próbkę 210°C i po upływie 2 h przedstawiono na Rys. 31.



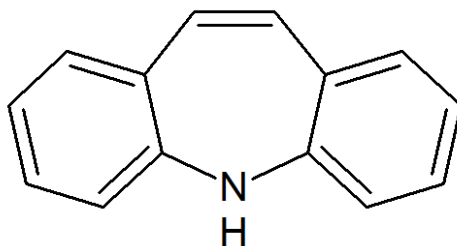
Rys. 31 Porównanie widm FTIR otrzymanych dla niemodyfikowanej CBZ w temperaturze 210°C przed i po dwugodzinnej anilacji. Ugrupowania atomów zaznaczone na zielono wchodzą w skład pierścienia środkowego CBZ, z kolei ugrupowania atomów zaznaczone na niebiesko wchodzą w skład grupy karboksamidowej.

Z przeprowadzonych badań jednoznacznie wynikało, że pod wpływem wysokotemperaturowej anilacji CBZ uległa jakiejś przemianie. Widma zebrane przed i po wygrzewaniu znacząco się od siebie różniły. Najbardziej zauważalne różnice były widoczne dla pasma $\sim 1690\text{ cm}^{-1}$, związanego z drganiami rozciągającymi C=O oraz zakresu liczb falowych $1500\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$, związanego z drganiami zachodzącymi w obrębie pierścieni aromatycznych.

W przypadku pasma związanego z drganiami rozciągającymi C=O doszło do znaczącego spadku jego intensywności oraz zmniejszenia FWHM. Dodatkowo, kształt tego pasma stał się bardziej złożony po stronie niższych liczb falowych, co mogło wskazywać na pojawienie się bądź wzrost intensywności pewnych pasm. Na tej

podstawie stwierdzono, że wysokotemperaturowa anilacja doprowadziła z jednej strony do osłabienia siły oraz zmniejszenia ilości wiązań wodorowych, z drugiej zaś do zwiększenia różnorodności istniejących wiązań. Takie wnioski sugerują, iż podczas wygrzewania CBZ częściowo rozkładała się, a nowo powstałe molekuly produktu termicznej degradacji tworzyły wiązania wodorowe z molekułami CBZ.

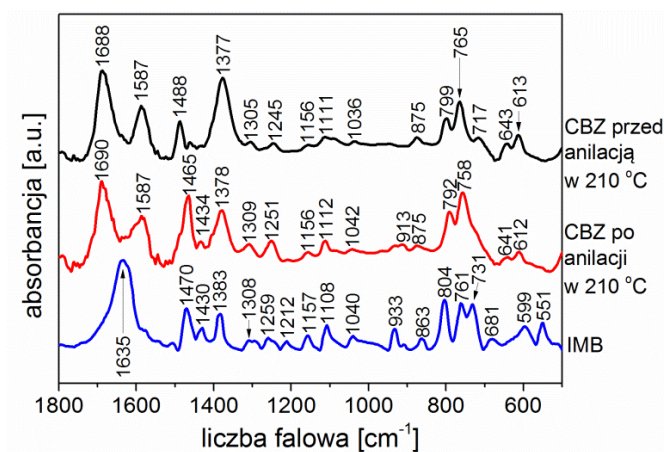
Również obserwacje poczynione dla obszaru liczb falowych związanych z drganiami zachodzącymi w obrębie pierścieni aromatycznych potwierdziły tezę o rozkładzie CBZ. Mianowicie, w zakresie tym można znaleźć kilka pasm, które różnią się między sobą udziałem drgań pochodzących od atomów węgla i wodoru, obecnych w środkowym pierścieniu CBZ oraz w pierścieniach bocznych. Przykładowo, z teoretycznych symulacji przedstawionych w pracy Strachan *et al.* [121] wynika, że dla pasma o maksimum $\sim 1492\text{ cm}^{-1}$ udział drgań atomów obecnych w pierścieniach bocznych stanowi aż 78% wkładu do obserwowanej intensywności, zaś drgań atomów obecnych w pierścieniu środkowym jedynie 21%. Z kolei dla pasma o maksimum $\sim 1463\text{ cm}^{-1}$ opisywany udział wynosi już 60:40. Przed rozpoczęciem procesu anilacji najbardziej intensywnym pasmem w rozważanym obszarze liczb falowych było pasmo o maksimum $\sim 1488\text{ cm}^{-1}$. Wraz z upływem czasu pasmo to nieznacznie zmniejszało swoją intensywność. Jednocześnie położone w obrębie niższych liczb falowych pasmo $\sim 1462\text{ cm}^{-1}$ gwałtownie zwiększało swoją intensywność. W efekcie, po upływie 2 h pomiaru, pasmo po stronie niższych liczb falowych dominowało w rozważanym obszarze, zaś pasmo po stronie wyższych liczb falowych było jedynie nieznacznie zaznaczone na tle zbocza pasma o maksimum $\sim 1464\text{ cm}^{-1}$. Na podstawie obliczeń wykonanych w pracy [121] wywnioskowano, że proces wygrzewania doprowadził do wzmocnienia drgań pochodzących od atomów obecnych w środkowym pierścieniu CBZ. W molekułe CBZ do środkowego pierścienia dołączona jest ciężka grupa karboksamidowa. W postulowanym przez Pinto *et al.* [29] oraz Naima *et al.* [39] produkcie dekompozycji CBZ – IMB – jedynie lekki atom wodoru (patrz Rys. 32 i porównaj z Rys. 1). Wywnioskowano zatem, że dla molekuly IMB udział drgań atomów obecnych w pierścieniu środkowym powinien być większy niż dla molekuly CBZ, a więc najbardziej intensywne pasmo w rozważanym rejonie liczb falowych powinno być niżej położone dla cząsteczki IMB niż CBZ. W związku z tym przesunięcie najbardziej intensywnego pasma w obszarze liczb falowych $1500\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ w kierunku niższych liczb falowych potwierdzało tezę o dekompozycji.



Rys. 32 Wzór strukturalny iminostylbenu – 5*H*-Dibenzo[*b,f*]azepiny.

Ostatnią przesłanką przemawiającą za tym, że w czasie izotermicznego wygrzewania CBZ dochodziło do jej degradacji, zaś jednym z produktów rozkładu był IMB, był fakt, że w czasie anilacji malała intensywność drgań związanych z atomami obecnymi w grupie karboksamidowej (obecnej w molekuie CBZ, zaś nieobecnej w molekuie IMB), zaś nie zmieniała się, bądź też rosła intensywność drgań związanych z atomami obecnymi w pierścieniu środkowym (patrz Rys. 31).

Ostatnim zabiegiem mającym na celu poparcie tezy mówiącej o rozkładzie CBZ do IMB podczas izotermicznego wygrzewania było zebranie widma FTIR dla IMB. Widmo to porównano na Rys. 33 z widmami uzyskanymi dla CBZ przed i po procesie anilacji.



Rys. 33 Widma FTIR uzyskane dla niemodyfikowanego IMB w RT oraz dla niemodyfikowanej CBZ w temperaturze 210°C na początku i końcu trwania procesu anilacji.

Uzyskane wyniki nie rozstrzygnęły jednoznacznie czy jednym z produktów dekompozycji CBZ był IMB. Stwierdzono natomiast, że widmo CBZ wraz z upływem czasu anilacji upodabniało się do widma IMB. Poza obszarem 1500-1400 cm⁻¹ szeroko dyskutowanym w poprzednim akapicie, można było znaleźć inne rejony, w których widma IMB i CBZ po upływie okresu anilacji były podobne. Przykładowo na widmie

FTIR dla CBZ przed anilacją widoczne były dwa szerokie pasma w zakresie liczb falowych 1140-1050 cm^{-1} , podczas gdy po anilacji oraz dla IMB widoczne było jedno ostre pasmo. Z kolei w zakresie 950-900 cm^{-1} dla CBZ przed anilacją brak było jakichkolwiek pasm, podczas gdy po upływie 2 h anilacji oraz dla IMB widoczne były dwa pasma.

Analiza przesuwnego okna (przeprowadzona tym razem w funkcji czasu a nie temperatury) wykazała, że znaczące zmiany intensywności pasm miały miejsce po upływie ~30 min od rozpoczęcia anilacji. Było to zgodne z wcześniej postawioną tezą, że obecność KBr spowalnia proces rozkładu CBZ.

Dwuwymiarowa analiza korelacyjna, której wyniki umieszczono w Tab. 8, ujawniła, że podczas anilacji najmocniej swoją intensywność zmieniały pasma: 748 cm^{-1} (związane z pozapłaszczyznowymi drganiami $\text{C}_{\text{ar}}\text{-H}$), 1373 cm^{-1} (związane z drganiami wahadłowymi N-H i C-N), 1468 cm^{-1} (związane z drganiami rozciągającymi $\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}}-\text{C}_{\text{ar}}$ i drganiami wahadłowymi $\text{C}_{\text{ar}}\text{-H}$) oraz 1686 cm^{-1} (związane z drganiami rozciągającymi C=O). Na mapie synchronicznej widoczne były zarówno dodatnie jak i ujemne piki krzyżowe. Z ich analizy wywnioskowano, że podczas wygrzewania pasma związane z drganiami obejmującymi atomy obecne w bocznych pierścieniach aromatycznych (770, 1489 i 1589 cm^{-1}) oraz grupie karboksamidowej (1373 cm^{-1} i 1686 cm^{-1}) zmniejszały swoją intensywność, podczas gdy pasma związane z drganiami atomów obecnych w środkowym pierścieniu aromatycznym (748, 787 i 1468 cm^{-1}) zwiększały swoją intensywność. Na podstawie analizy mapy asynchronicznej stwierdzono, że proces obserwowany w 210°C rozpoczął się od zmian dynamiki molekularnej obejmującej drgania atomów węgla obecnych w pierścieniach bocznych (pasmo 1576 cm^{-1}). Następnie aktywowane były zmiany dynamiki molekularnej drgań związanych z atomami węgla obecnymi w pierścieniach bocznych (pasmo ~770 cm^{-1}), jak również z atomami obecnymi w grupie karboksamidowej (pasmo ~1688 cm^{-1}). Na końcu zmianom ulegały intensywności pasm związanych z drganiami atomów obecnych w środkowym pierścieniu aromatycznym (pasma ~748, 787 i 1468 cm^{-1}).

Tab. 8 Wyniki dwuwymiarowej analizy korelacyjnej dla anilacji niemodyfikowanej CBZ przez 2 h w 210°C.

Cykl	Analizowany zakres temperatur	Typ mapy	Uzyskana informacja	Liczba falowa [cm ⁻¹]
Izotermiczna anilacja przez 2 h w 210°C	210°C	mapa synchroniczna	autopiki	748, 1373, 1468, 1686
			piki, których intensywność maleje	770, 1373, 1489, 1589, 1686
			piki których intensywność rośnie	748, 787, 1468
		mapa asynchroniczna	sekwencja zmian intensywności drgań	1576 -> 770 -> 1688 -> 748, 787, 1468

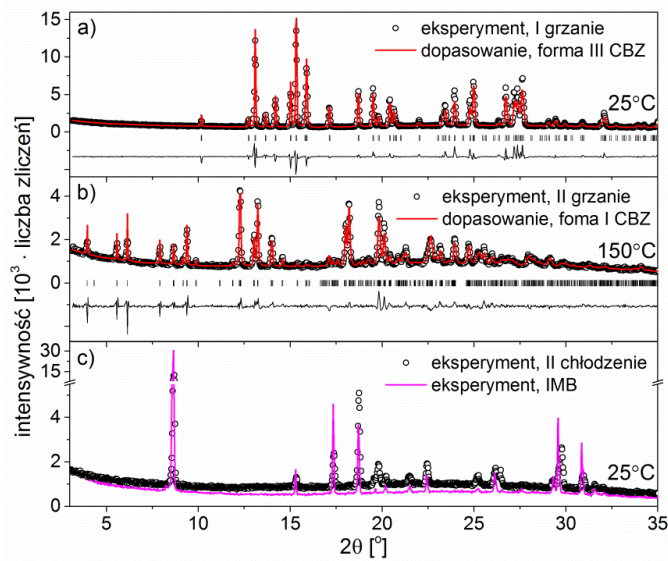
Chociaż pomiary w środkowej podczerwieni dostarczyły wielu cennych informacji o zmianach dynamiki molekularnej, mających miejsce podczas zachodzenia przemian fazowych w trakcie ogrzewania i ochładzania CBZ, nie dały one odpowiedzi na wszystkie pytania, które pojawiły się podczas przeprowadzania pomiarów przy wykorzystaniu technik DSC i TGA. Dopełnieniem pełnego obrazu polimorfizmu temperaturowego CBZ były więc badania rentgenowskie, których wyniki zamieszczono w kolejnym podrozdziale.

5.1.3. Wyniki analiz XRD

Celem badań przedstawionych w niniejszym podrozdziale, podobnie jak miało to miejsce w przypadku badań FTIR, było dokładne przeanalizowanie cyklu grzanie-chłodzenie-grzanie, analogicznego do cyklu obserwowanego przy pomocy DSC. Pomiary prowadzono dla niemodyfikowanej próbki CBZ umieszczonej w szklanej kapilarze borokrzemowej o zewnętrznej średnicy 0.3 mm. Zakres temperatur wynosił 5-210°C, zaś szybkość ogrzewania i chłodzenia była równa 5°C min⁻¹.

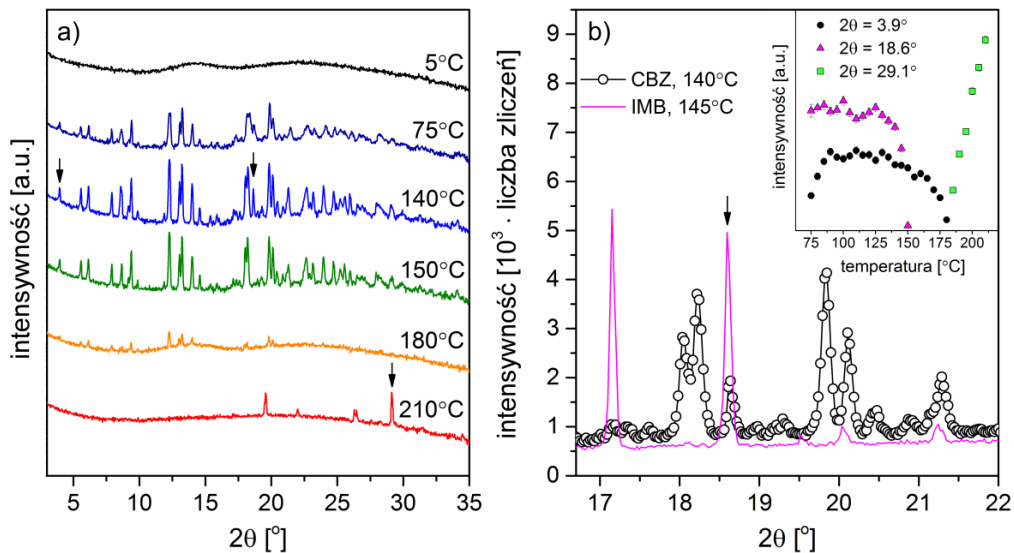
Pierwszy dyfraktogram został zebrany dla świeżo nałożonej próbki w temperaturze pokojowej. Następnie etapy I grzania i I chłodzenia zostały przeprowadzone bez rejestracji dyfraktogramów, ponieważ chciano dokładnie odtworzyć program temperaturowy zadany w pomiarach DSC. (Jako że czas potrzebny na zebranie pojedynczego rentgenogramu wynosił ~30 min, nie było możliwe jednoczesne rejestrowanie przebiegu I grzania i I chłodzenia oraz zachowanie historii termicznej analogicznej do pomiarów DSC.) W czasie II grzania dyfraktogramy były zbierane co 5°C.

Na Rys. 34a przedstawiono dyfraktogram CBZ zebrany w temperaturze pokojowej.



Rys. 34 Eksperymentalny rentgenogram niemodyfikowanej CBZ wraz z dopasowaniem w RT przed I grzaniem (a) i w temperaturze 150°C podczas II grzania (b) oraz eksperymentalne rentgenogramy otrzymane dla CBZ po II chłodzeniu i dla IMB po I chłodzeniu (c).

Uściślanie struktury metodą Rietwelda potwierdziło, że niemodyfikowana CBZ znajdowała się w formie III, tj. układzie jednoskośnym, grupa przestrzenna $P2_1/c$ [125]. Wybrane rentgenogramy otrzymane podczas II grzania ukazano na Rys. 35a.



Rys. 35 Wybrane rentgenogramy zebrane podczas II grzania niemodyfikowanej CBZ (a) oraz zestawienie rentgenogramu otrzymanego w czasie II grzania CBZ w temperaturze 140°C z rentgenogramem otrzymanym w czasie II grzania IMB w temperaturze 145°C (b); na rysunku (a) dodatkowo zaznaczono strzałkami refleksy, dla których temperaturowa zależność intensywności jest przedstawiona we wstawce rysunku (b). Refleks położony $\sim 3.9^\circ$ jest charakterystyczny dla niezanieczyszczonej formy I CBZ, refleks położony $\sim 29.1^\circ$ – dla IMB, zaś refleks położony $\sim 18.6^\circ$ – dla IMB oraz zanieczyszczonej przez IMB CBZ.

Dyfraktogram zebrany w temperaturze 5°C, tuż po zakończeniu cyklu I grzania i I chłodzenia miał postać dwóch szerokich maksimów dyfuzyjnych i informował o tym, że próbka znajdowała się w fazie cieczy przechłodzonej, bądź też postaci amorficznej/szklistej. Wąskie refleksy, będące oznaką istnienia dalekozasięgowego uporządkowania, zaczęły pojawiać się podczas ogrzewania próbki w ~75°C i świadczyły o zachodzeniu procesu zimnej krystalizacji. Uzyskany wzór dyfrakcyjny był podobny do wzoru znanego dla formy I CBZ (układ trójskośny, grupa przestrzenna $P\bar{1}$ [24]). Istniał jednak jeden refleks, położony $\sim 18.6^\circ$, który nie był charakterystyczny dla tej formy. Refleks ten całkowicie zanikał w zakresie temperatur 140-150°C (patrz dopasowanie na Rys. 34b i wstawka na Rys. 35b), a więc w obszarze temperatur, w którym w pomiarach DSC rejestrowano niżej-temperaturową anomalię endotermiczną. Porównanie dyfraktogramu CBZ zebranego w 140°C w czasie II grzania próbki oraz dyfraktogramu IMB zebranego w 145°C również podczas II grzania próbki (patrz Rys. 35b) pozwoliło stwierdzić, że rozważany refleks (18.6°) był charakterystyczny dla stopionego IMB. Jako że dotychczasowe pomiary XRD prowadzone dla próbki IMB nie dały jednoznacznej odpowiedzi, czy związek ten podobnie jak CBZ ulega dekompozycji po stopieniu go, czy jedynie przekształceniu do innej odmiany polimorficznej [111], to nie wiadomo, czy widoczny podczas II grzania CBZ „obcy” refleks pochodził od IMB, czy od jego produktu rozkładu. Niemniej jednak pojawienie się tego refleksu na dyfraktogramie wykrytym w czasie II grzania CBZ i jego zanik w temperaturze $\sim 150^\circ\text{C}$ potwierdził ostatecznie tezę o degradacji CBZ.

Dalsze ogrzewanie próbki prowadziło do jej stopienia $\sim 180^\circ\text{C}$, o czym świadczył zanik wąskich refleksów na obserwowanych dyfraktogramach (patrz Rys. 35a i zachowanie refleksu 3.9° we wstawce Rys. 35b). Dalsze ogrzewanie próbki prowadziło do ponownego pojawienia się w wyższych temperaturach refleksów (patrz Rys. 35a i zachowanie refleksu 29.1° we wstawce Rys. 35b), które jednak nie były charakterystyczne dla żadnej znanej odmiany polimorficznej CBZ. Rentgenogram zebrany w temperaturze pokojowej po II chłodzeniu próbki został przedstawiony na Rys. 34c. Był on zgodny z rentgenogramem otrzymanym dla próbki IMB poddanej cyklowi grzania do 210°C i chłodzenia. Pomiary rentgenowskie potwierdziły więc zarówno fakt szklenia się próbki CBZ przy tak niskiej szybkości chłodzenia jak 5°C min^{-1} , jak również tezę o współistnieniu CBZ i jej produktu degradacji po cyklu grzania i chłodzenia.

Krótko podsumowując wyniki uzyskane z wszystkich wykorzystanych metod komplementarnych, tj. DSC, TGA, FTIR i XRD, można stwierdzić, że niemodyfikowana CBZ jest niestabilna w okolicach temperatury topnienia. Degradacja CBZ po stopieniu przebiega szybko, a produktami rozkładu są IMB i kwas izocyjanowy, bądź też dalsze produkty rozkładu tych substancji. Nawet niewielka ilość IMB całkowicie zmienia temperaturowe zachowanie CBZ – próbka z substancji skłonnej do krystalizacji (nawet przy szybkości chłodzenia tak wysokiej jak $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$ [2,29]), staje się substancją łatwo dającą się zeszklić (już przy tak niskiej szybkości chłodzenia jak $5^{\circ}\text{C min}^{-1}$).

W świetle otrzymanych wyników uzyskanie niezanieczyszczonego produktami termicznej degradacji szkła CBZ metodą szybkiego chłodzenia staje się kwestią nietrywialną. Wydaje się jednak, że otrzymanie czystej formy amorficznej CBZ powinno być możliwe, ponieważ istnieją prace traktujące o szkle CBZ otrzymanym metodą szybkiego chłodzenia [2,39,41]. Dlatego też w dalszej części niniejszej rozprawy przedstawione zostały próby ustabilizowania CBZ, których celem było opracowanie metody modyfikacji CBZ pozwalającej na jej bezpieczne (tj. nie prowadzące do degradacji) stopienie.

5.2. Poszukiwanie metod poprawy stabilności termicznej krystalicznej formy karbamazepiny

Punktem wyjścia do zaproponowania metod, mających na celu poprawę stabilności termicznej krystalicznej CBZ, było dokładne przeanalizowanie dostępnej literatury traktującej o badanej substancji czynnej. Pierwszą procedurą, którą postanowiono zweryfikować, było szybkie ogrzewanie i ochładzanie próbki. Sposób ten został częściowo zaproponowany przez Naima *et al.* [39]. Autorzy cytowanej pracy otrzymali zanieczyszczone szkło CBZ na drodze stopienia substancji (ogrzewano próbkę do temperatury 210°C), a następnie powolnego jej ochładzania. W celu wyeliminowania rozkładu próbki, powtórzyli oni procedurę znacząco zwiększając szybkość chłodzenia. Dzięki temu zabiegowi udało im się całkowicie wyeliminować IMB z próbki i otrzymać czystą, zeszkloną CBZ. Ponieważ ilość pojawiającego się w próbce produktu termicznej degradacji zależy zarówno od maksymalnej temperatury, jak i od czasu przebywania próbki w tej temperaturze, w badaniach własnych zwiększano nie tylko szybkość chłodzenia próbki, ale również szybkość jej ogrzewania.

Drugim weryfikowanym sposobem poprawy stabilności termicznej CBZ była jej hydratacja. W pracy Pinto *et al.* [29] badano próbkę CBZ, która została wcześniej uwodniona na drodze absorpcji pary wodnej z powietrza – substancję leczniczą pozostawiono na rok w warunkach otoczenia (temperaturze 18-25°C i wilgotności względnej 40-80%). Po tym czasie przeprowadzono cykl grzanie-chłodzenie-grzanie (ogrzewano próbkę do temperatury 194°C). Otrzymane wyniki ujawniły pojedynczą krystalizację CBZ w czasie chłodzenia oraz pojedyncze topnienie w temperaturze charakterystycznej dla formy I CBZ podczas ponownego ogrzewania. Mimo standardowej, niskiej szybkości grzania i chłodzenia (10°C min⁻¹), nie stwierdzono obecności produktów degradacji. Analogiczne pomiary dla bezwodnej CBZ przeprowadzone w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej wskazywały na zauważalną dekompozycję próbki (patrz Rys. 13).

Ostatnim analizowanym sposobem stabilizacji CBZ była jej rekrystalizacja na drodze odparowania rozpuszczalnika organicznego. Metoda ta, nie była do tej pory wykorzystywana w celu uniknięcia termicznej degradacji CBZ, ale jest znanym sposobem otrzymywania pożądanej odmiany polimorficznej tej substancji [24,27,34,39,52, 126–128]. Proponowany sposób polega na rozpuszczeniu substancji na ciepło w danym rozpuszczalniku organicznym, a następnie chłodzeniu próbki z odpowiednio dobraną szybkością, wpływającą na krystalograficzne uporządkowanie molekuł.

Weryfikacja obecności IMB w modyfikowanych próbkach została przeprowadzona przy użyciu DSC oraz HPLC, ponieważ obie te metody są stosowane do oceny stabilności i czystości leków [129–137]. Pomiary zostały podzielone na dwie fazy – pierwszą było ustalenie historii termicznej próbki (DSC), zaś drugą identyfikacja modelowego zanieczyszczenia (DSC) oraz oszacowanie jego ilości (HPLC).

Ustalenie historii termicznej próbki w aparacie DSC polegało na ogrzaniu próbki do 195°C, a następnie schłodzeniu jej do 5°C (jeśli w kolejnym etapie przeprowadzano analizę przy pomocy DSC) lub 20°C (jeśli w kolejnym etapie przeprowadzano analizę przy pomocy HPLC). Niemodyfikowane próbki były przygotowywane z trzema różnymi szybkościami grzania i chłodzenia – 10, 30 i 50 min⁻¹, podczas gdy próbki uwodnione oraz te po rekrystalizacji z rozpuszczalników organicznych jedynie z szybkością 10°C min⁻¹. Dodatkowo, w przypadku niemodyfikowanych próbek, zrezygnowano z jednodominowej anilacji w maksymalnej temperaturze stosowanej po ogrzaniu, a przed

chłodzeniem próbki. Anilacja ta była zaś stosowana w przypadku próbek modyfikowanych i miała na celu zapewnienie całkowitego stopienia substancji. Wszystkie próbki znajdowały się w hermetycznie zamkniętych aluminiowych tyglach, o ile nie zaznaczono inaczej. Masa próbki w każdym pomiarze była porównywalna ($\pm 10\%$) i wynosiła ~ 2 mg. Szczegółowy opis pomiarów przeprowadzonych dla każdej z próbek przedstawiono w Tab. 9.

Tab. 9 Szczegółowy opis badanych próbek wraz z zastosowaną procedurą pomiarową.

Nazwa próbki	Opis próbki	Procedura pomiarowa – DSC	Procedura pomiarowa – HPLC	Czas anilacji w T_{max} [min]	Szybkość grzania i chłodzenia [$^{\circ}\text{C min}^{-1}$]	Rodzaj tygla DSC		
CBZ_ref	niemodyfikowana CBZ	$35^{\circ}\text{C} - 195^{\circ}\text{C} - 5^{\circ}\text{C} - 195^{\circ}\text{C} - 35^{\circ}\text{C}$	$35^{\circ}\text{C} - 195^{\circ}\text{C} - 20^{\circ}\text{C}$	1	10	hc*		
CBZ_ref_pl				1	10	hcpl**		
CBZ_10				0	10	hc*		
CBZ_30				0	30	hc*		
CBZ_50				0	50	hc*		
HCBZ	uwodniona CBZ			1	10	hc*		
HCBZ_pl				1	10	hcpl**		
HCBZ_an***				1	10	hc*		
CBZ_ET	CBZ rekrytalizowana z roztworu etanolu					1	10	hc*
CBZ_AC	CBZ rekrytalizowana z roztworu acetonu					1	10	hc*
CBZ_DCM	CBZ rekrytalizowana z roztworu dichlorometanu			1	10	hc*		

* hermetycznie zamknięty

** hermetycznie zamknięty z otworem w pokrywce

*** próbka wygrzewana przez 10 min w 80°C w otwartym tyglu DSC przed zastosowaniem procedury pomiarowej

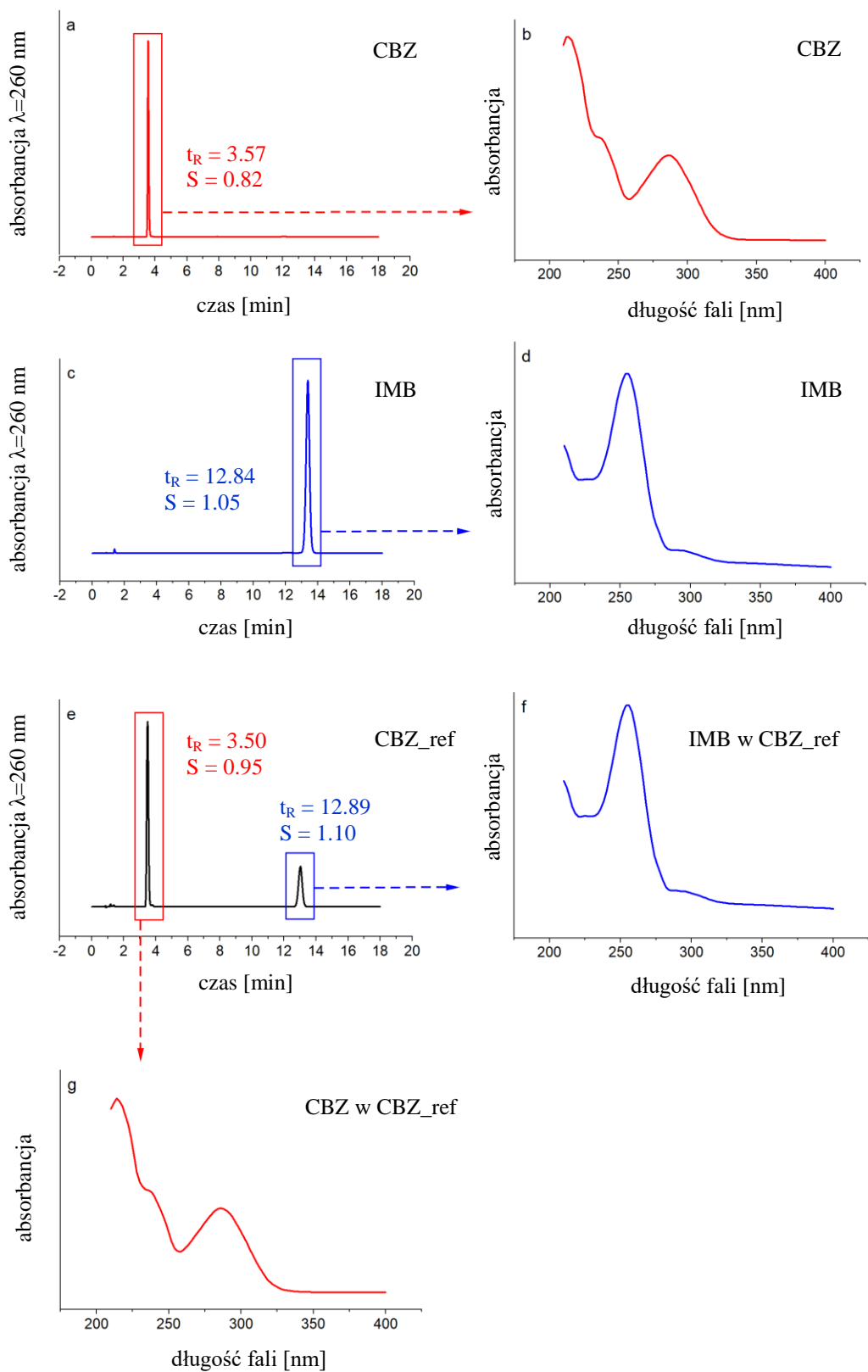
T_{max} – maksymalna temperatura, do której ogrzewano próbkę

Identyfikacja obecności produktów rozkładu w próbce odbywała się przy wykorzystaniu metody DSC. Próbka, bez wyjmowania z aparatu po ustaleniu jej historii termicznej, była ponownie ogrzewana do 195°C , każdorazowo z szybkością $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$. Pojawienie się anomalii endotermicznej w zakresie temperatur $140-145^{\circ}\text{C}$ było uznawane za potwierdzenie degradacji CBZ. Ilościowe oznaczenie zawartości IMB w próbce na podstawie pomiarów DSC nie było możliwe, ponieważ rozważana anomalia miała niewielką entalpię i nieznaczna zmiana początku (ang. *onset*) lub końca (ang. *endset*) anomalii czy dobór linii bazowej (ang. *baseline*), znacząco wpływały na uzyskane wartości. W związku z tym pomiary DSC zostały użyte jedynie do szybkiej analizy

jakościowej. Analiza ilościowa została przeprowadzona z wykorzystaniem techniki HPLC.

Jak już wcześniej zaznaczono, historia termiczna próbek poddanych analizom chromatograficznym była wcześniej ustalana metodą DSC. Po wyjęciu z aparatu DSC, tygłe z próbkami były przechowywane w temperaturze pokojowej aż do przeprowadzenia pomiarów HPLC. W tym celu bezpośrednio przed wykonaniem oznaczeń metodą HPLC, tygłe otwierano i umieszczano w szklanych fiolkach, do których odmierzano 5 mL metanolu (cz.d.a., Avantor Performance Materials, Gliwice, Polska). Próbki wytrząsano przez 20 min z prędkością 250 obr./min (Heidolph Unimax 1010, Schwabach, Niemcy). Roztwory filtrowano przez nylonowe filtry strzykawkowe ($\varnothing=0.45\ \mu\text{m}$, Biosens, Warszawa, Polska) i rozcieńczano fazą ruchomą o składzie opisanym w podrozdziale 4.5 *Wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC)*, a następnie analizowano chromatograficznie. Każdy pomiar powtarzano trzykrotnie. Wyznaczono wartość średnią oraz obliczono niepewności standardowe (SD). Dzięki dużej różnicy w czasie retencji między CBZ (~3.5 min) a IMB (~13 min) możliwe było selektywne oszacowanie ilości każdej z rozważanych substancji. Dodatkowo, porównanie widm UV zbieranych podczas pomiarów modyfikowanych próbek z widmami referencyjnymi pozwoliło na jednoznaczne potwierdzenie, że to właśnie IMB był produktem rozkładu obecnym w próbkach CBZ po ich stopieniu (patrz Rys. 36).

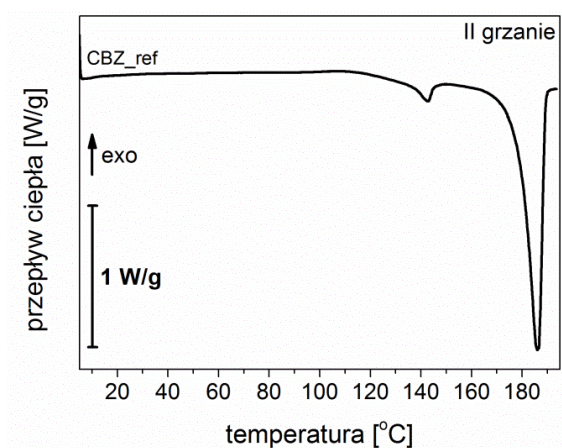
Poza pomiarami DSC i HPLC dla modyfikowanych próbek, przeprowadzono również pomiary TGA, mające na celu określenie stopnia ich hydratacji lub identyfikację pozostałości rozpuszczalników organicznych po procesie rekrytalizacji. Pomiary te wykonano na otwartych szalkach platynowych. Ogrzewanie prowadzono od temperatury pokojowej do 500°C (szybkość grzania 10°C min⁻¹) w atmosferze N₂ (szybkość przepływu 25 mL min⁻¹).



Rys. 36 Chromatogram wzorca CBZ zarejestrowany przy $\lambda=260$ nm (a); widmo UV wzorca CBZ (b); chromatogram IMB zarejestrowany przy $\lambda=260$ nm (c); widmo UV wzorca IMB (d); chromatogram próbki CBZ_ref zarejestrowany przy $\lambda=260$ nm (e); widmo UV pików chromatograficznych o $t_R = 12.89$ min (f); widmo UV pików o $t_R = 3.50$ min (g). λ – analityczna długość fali; t_R – czas retencji; S – symetria pików.

5.2.1. Charakterystyka próbki referencyjnej

Aby móc określić czy zaproponowane metody poprawy stabilności termicznej CBZ są skuteczne, zdefiniowano próbkę odniesienia CBZ_ref. Próbka ta była czystą, niemodyfikowaną substancją, umieszczoną w hermetycznie zamkniętym tyglu DSC, którą zagrzano do 195°C, poddano jednoczynowej anilacji w tej temperaturze, a następnie schłodzono do 5°C. Termogram uzyskany w czasie drugiego grzania (patrz Rys. 37) ujawnił obecność niewielkiej anomalii endotermicznej o maksimum w temperaturze 142.7°C, przypisywanej topnieniu IMB, oraz znaczącej anomalii endotermicznej o maksimum w temperaturze 186.0°C, przypisywanej topnieniu CBZ.



Rys. 37 Termogram otrzymany podczas II grzania niemodyfikowanej CBZ, będącej próbką odniesienia.

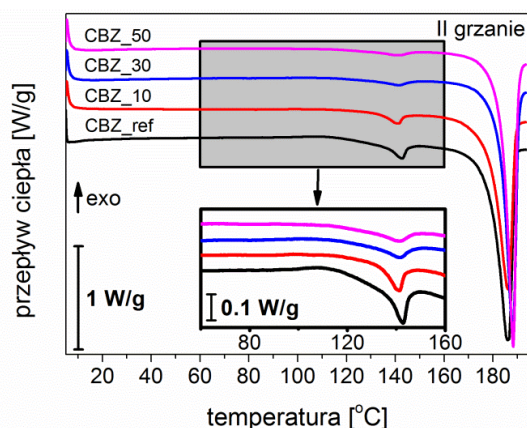
Przy użyciu metody HPLC-DAD wyznaczono chromatogramy dla wzorca CBZ i IMB oraz zarejestrowano odpowiadające im widma absorbancji w zakresie UV (Rys. 36 a-d). Chromatogram uzyskany dla próbki CBZ po poddaniu jej procedurze grzania i chłodzenia (próbka CBZ_ref) został przedstawiony na Rys. 36e, a widma UV dla widocznych pików na Rys. 36f i Rys. 36g. Oszacowanie pól powierzchni pod pikami pozwoliło na ilościowe określenie zawartości IMB w badanej próbce – wynosiła ona 6.31% (patrz Tab. 10).

Tab. 10 Procentowy udział IMB w badanych próbkach

Nazwa próbki	Ilość IMB [%]	SD [%]
CBZ_ref	6.31	0.02
CBZ_ref_pl	0.31	0.00
CBZ_10	3.34	0.05
CBZ_30	1.37	0.01
CBZ_50	1.05	0.01
HCZBZ	0.20	0.00
HCZBZ_pl	0.15	0.00
HCZBZ_an	0.32	0.01
CBZ_ET	0.49	0.01
CBZ_AC	0.19	0.01
CBZ_DCM	1.12	0.02

5.2.2. Procedura I – szybkie grzanie i chłodzenie próbki

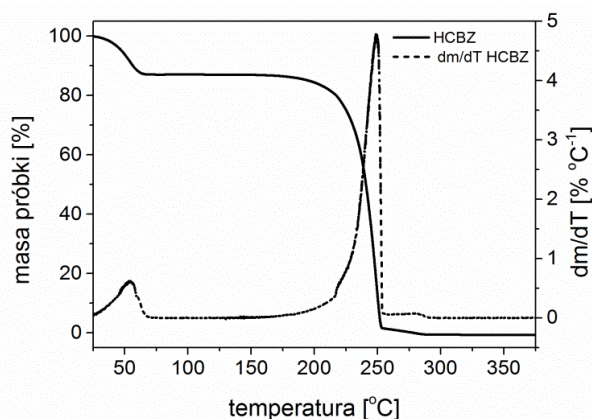
Pierwszą analizowaną procedurą, mającą na celu zmniejszenie ilości IMB w próbce CBZ, było zwiększenie szybkości grzania i chłodzenia próbki. Dla próbki CBZ_10 wyeliminowano jedynie jednoczynową anilację w maksymalnej temperaturze w porównaniu do procedury zastosowanej dla próbki CBZ_ref. Z kolei dla próbek CBZ_30 i CBZ_50 dodatkowo zwiększono szybkość grzania i chłodzenia z $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ do odpowiednio 30 i $50^{\circ}\text{C min}^{-1}$. Krzywe DSC otrzymane w czasie II grzania, przedstawione na Rys. 38, wskazują na to, że zarówno wyeliminowanie etapu anilacji, jak i zwiększenie szybkości grzania i chłodzenia wpłynęły na zmniejszenie entalpii niżej-temperaturowej anomalii endotermicznej związanej z topnieniem IMB przy jednoczesnym zwiększeniu entalpii anomalii wyżej-temperaturowej związanej z topnieniem CBZ. Wynika to z faktu, iż obydwie modyfikacje procedury pomiarowej spowodowały skrócenie czasu, przez który wysoka temperatura oddziaływała na próbkę, co w konsekwencji prowadziło do jej degradacji. Dodatkowo zaobserwowano, że podczas zwiększania szybkości grzania i chłodzenia maksimum pików związanego z topnieniem CBZ przesuwało się w stronę wyższych temperatur, co było zgodne z proponowanym w podrozdziale 5.1 *Charakterystyka termicznej stabilności krystalicznej formy karbamazepiny* prostym diagramem fazowym układu dwuskładnikowego i wynikało ze zmniejszania się udziału IMB w badanym układzie. Pomiarzy HPLC potwierdziły wyniki DSC – ilość IMB zmniejszała się w kolejnych próbkach dla których zmodyfikowano procedurę pomiarową, jednakże nawet dla próbki która najkrócej przebywała w wyższych temperaturach (tj. CBZ_50) zawartość IMB przekraczała 1% (patrz Tab. 10).



Rys. 38 Termogramy otrzymane podczas II grzania niemodyfikowanych próbek CBZ.

5.2.3. Procedura II – hydratacja bezwodnej karbamazepiny

Drugim weryfikowanym sposobem stabilizacji CBZ w okolicach temperatury topnienia było uwodnienie próbki. CBZ była przechowywana przez 7 dni w wilgotności względnej 100% w temperaturze pokojowej, a następnie została umieszczona w szczelnie zamkniętym tyglu. Pomiar HPLC wykazały, że proces uwadniania próbki nie powodował degradacji CBZ. Krzywa TG uwodnionej próbki została przedstawiona na Rys. 39, a dane liczbowe pochodzące z jej analizy w Tab. 11. Pierwszy ubytek masy mający miejsce w $T_{\text{onset}}=40.9^{\circ}\text{C}$ wynosił 13.01% i był związany z dehydratacją próbki. Wartość ta była bliska teoretycznie wyliczonej wartości (13.2%) charakterystycznej dla dwuwodnej CBZ [31]. Drugi, największy ubytek masy zaobserwowano dla $T_{\text{onset}}=234.5^{\circ}\text{C}$. Wynosił on 85.17%, co wynikało z termicznej degradacji bezwodnej CBZ. Ostatni ubytek masy wynoszący 2.36% z $T_{\text{onset}}=252.2^{\circ}\text{C}$ związany był z rozkładem reszkowych związków węglowych [29].

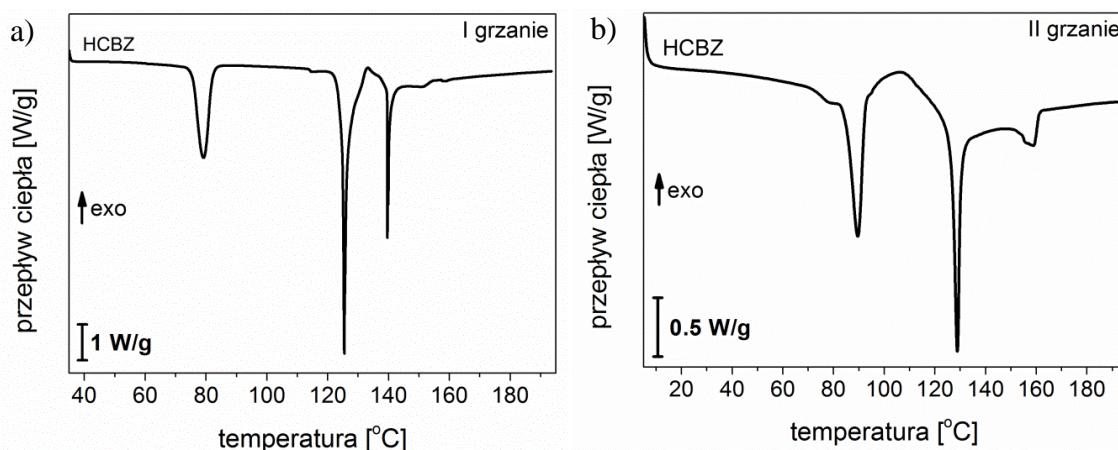


Rys. 39 Termogram otrzymany podczas ogrzewania uwodnionej CBZ (HCBZ) z szybkością $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ od temperatury pokojowej do 500°C (linia ciągła) oraz pierwsza pochodna uzyskanej krzywej (linia przerywana).

Tab. 11 Wyniki pomiarów TG dla próbki uwodnionej oraz dla próbek rekrytalizowanych.

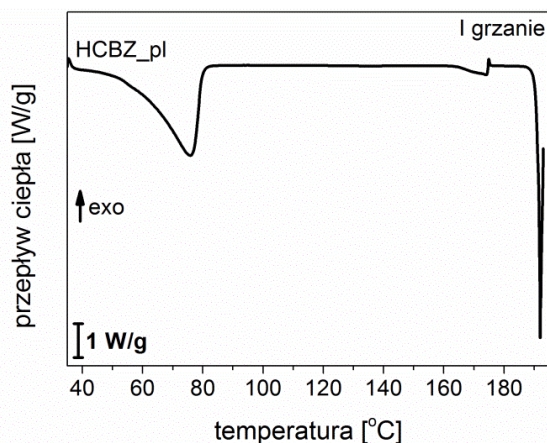
Nazwa próbki	T_{onset} [°C]	Ubytek masy [%]
HCBZ	40.9	13.01
	234.5	85.17
	252.2	2.36
CBZ_ET	138.7	0.64
	223.3	99.03
CBZ_AC	135.8	0.67
	237.9	95.33
	257.8	5.02
CBZ_DCM	209.3	99.75

Historia termiczna uwodnionej CBZ była analogiczna jak ta opisana dla próbki CBZ_ref. Próbka HCBZ była przygotowywana (I grzanie i chłodzenie) oraz analizowana (II grzanie) w hermetycznie zamkniętym tyglu, podczas gdy próbka HCBZ_pl – w hermetycznie zamkniętym tyglu z otworem w pokrywce. Krzywe DSC otrzymane dla tych dwóch próbek znacząco się od siebie różniły. Na termogramach, otrzymanych zarówno podczas I, jak i II grzania próbki HCBZ, widocznych było po kilka anomalii endotermicznych, których nie potrafiono jednoznacznie zinterpretować (patrz Rys. 40). W czasie I grzania nie zaobserwowano typowych dla CBZ przejść fazowych (tj. topnienia formy III CBZ, rekrytalizacji do formy I CBZ i topnienia formy I CBZ). Pierwsza anomalia endotermiczna związana była prawdopodobnie z dehydracją CBZ. Pozostałe anomalie były nieznanego pochodzenia. Termogram zarejestrowany podczas II grzania również znacząco odbiegał od termogramów rejestrowanych dla innych próbek. Nie potrafiono zinterpretować żadnej z anomalii ani też przypisać żadnego z pików do ewentualnego topnienia IMB. Nietypowość otrzymanych termogramów była związana z faktem, iż w hermetycznie zamkniętym tyglu woda obecna w próbce pozostawała w układzie w trakcie pomiaru. W konsekwencji ciśnienie w tyglu zwiększało się, co mogło wpłynąć na kinetykę, czy nawet mechanizm degradacji CBZ. Obecność molekuł wody w czasie chłodzenia próbki wpłynęła również na proces jej rekrytalizacji, a w konsekwencji na przemiany fazowe mające miejsce podczas ponownego ogrzewania próbki. Dla porównania oceniono zachowanie termiczne próbki uwodnionej, którą ogrzewano w układzie otwartym w taki sposób, aby możliwe było usunięcie pary wodnej z układu podczas ogrzewania (tygiel hermetycznie zamknięty z otworem w pokrywce). Próbkę oznaczono symbolem HCBZ_pl.



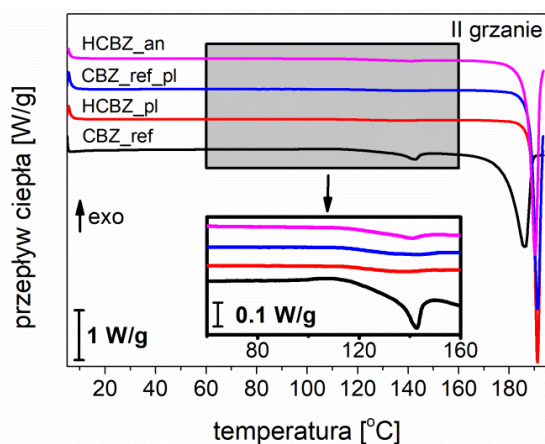
Rys. 40 Termogramy otrzymane podczas I (a) i II (b) grzania uwodnionej próbki CBZ umieszczonej w hermetycznie zamkniętym tyglu (HCBZ).

Termogram próbki HCBZ_pl otrzymany podczas I ogrzewania (patrz Rys. 41) ujawnił zachodzenie dehydratacji próbki (szeroka anomalia endotermiczna o maksimum w 75.9°C) oraz przejścia fazowe charakterystyczne dla niewodnionej CBZ (topnienie formy III CBZ, rekrystalizację do formy I CBZ i topnienie formy I CBZ). Uzyskana krzywa DSC była zgodna z termogramem przedstawionym w pracy Pinto *et al.* [29] typowym dla uwodnionej próbki.



Rys. 41 Termogram otrzymany podczas I grzania uwodnionej próbki CBZ umieszczonej w hermetycznie zamkniętym tyglu z otworem w wieczku (HCBZ_pl).

W czasie II grzania próbki HCBZ_pl anomalia związana z topnieniem IMB, pojawiająca się w okolicach $140\text{--}145^{\circ}\text{C}$ na krzywej DSC, nie była widoczna (patrz Rys. 42). Jedyna zaobserwowana anomalia miała charakter endotermiczny, jej maksimum miało wartość 191.2°C i była ona związana z topnieniem formy I CBZ.



Rys. 42 Termogramy otrzymane podczas II grzania uwodnionych próbek CBZ.

Z przedstawionych w tym podpunkcie wyników wydawać by się mogło, że uwodnienie CBZ prowadzi do zatrzymania jej dekompozycji w okolicach temperatury topnienia. Niemniej jednak, w tym miejscu warto zadać sobie pytanie czy rzeczywiście IMB jest nieobecny w stopionej CBZ, czy jedynie jest on niewidoczny. Wysokorozdzielcze pomiary TGA dla IMB pokazują bowiem, że substancja ta jest skłonna do sublimacji w temperaturach o kilkadziesiąt stopni Celsjusza niższych niż temperatura topnienia (wynosząca $\sim 200^{\circ}\text{C}$) [111]. W związku z tym, nieobecność anomalii związanej z topnieniem IMB na krzywej DSC otrzymanej podczas II ogrzewania próbki HCBZ_pl może być związana z otwarciem tygla z próbką i tym samym możliwością odparowania IMB z układu. Wówczas nie byłoby możliwości stwierdzenia obecności IMB w próbce metodą DSC.

Przeprowadzono zatem ponownie analizę DSC niemodyfikowanej CBZ, tym razem używając hermetycznie zamkniętego tygla z otworem w pokrywce (CBZ_ref_pl). Anomalie zaobserwowane podczas I ogrzewania nie różniły się od tych obserwowanych dla próbki umieszczonej w hermetycznie zamkniętym tyglu bez otworu. Z kolei krzywa DSC otrzymana podczas II grzania dla próbki CBZ_ref_pl nie ujawniła obecności anomalii związanej z topnieniem IMB, która ewidentnie była widoczna dla próbki CBZ_ref (patrz Rys. 42). Podobnie jak miało to miejsce w przypadku próbki HCBZ_pl nie jest jasne czy dla próbki CBZ_ref_pl degradacja nie zachodziła, czy IMB powstawał, ale ulatniał się z układu.

Powyższe dwa pomiary (próbki HCBZ_pl i CBZ_ref_pl) wskazywały na to, że analiza DSC próbek CBZ umieszczonych w hermetycznie zamkniętych tyglach z otworem w pokrywkach nie dała jednoznacznych dowodów na termiczną degradację

CBZ, bądź jej brak. Zauważono też, że otwarcie tygla DSC prowadziło zarówno do zmiany atmosfery wewnątrz tygla (powietrze zamknięte w tyglu podczas przygotowywania próbki zostało zastąpione przez azot przepływający przez celę pomiarową), jak i ciśnienia (w hermetycznie zamkniętym tyglu gazy uwalniane podczas ogrzewania, jak choćby kwas izocyjanowy, będący obok IMB drugim produktem rozkładu CBZ, pozostawały w układzie). Z kolei owe zmiany mogły wpływać zarówno na stopień, kinetykę, jak i sam mechanizm procesu degradacji. W związku z tym, w dalszej części badań zawartych w podrozdziale 5.2 *Poszukiwanie metod poprawy stabilności termicznej krystalicznej formy karbamazepiny*, do analiz DSC używano tylko hermetycznie zamkniętych tygli. Wszystkie wyniki i konkluzje dotyczą więc procesu degradacji CBZ, zachodzącego w ściśle określonych warunkach pomiarowych, tj. w powietrzu i przy podwyższonym ciśnieniu.

W celu jednoznacznego określenia czy uwodnienie CBZ prowadziło do poprawy jej stabilności termicznej w okolicach temperatury topnienia, czy nie, przeprowadzono jeszcze jeden pomiar (próbka HCBZ_an). Uwodniona CBZ, umieszczona w otwartym tyglu DSC, była izotermicznie ogrzewana na stoliku grzewczym w temperaturze 80°C przez 10 min, aby zainicjować jej dehydratację. Zastosowana temperatura anilacji była niższa niż temperatura sublimacji bądź dekompozycji zarówno CBZ, jak i IMB, znana z wysokorozdzielczych pomiarów termogravimetrycznych [108,111]. Tak przygotowaną próbkę hermetycznie zamknięto i zastosowano standardową procedurę pomiarową (analogiczną jak dla próbki CBZ_ref, patrz Tab. 9). Termogram otrzymany podczas I grzania potwierdził, że woda została całkowicie usunięta z badanej próbki – krzywa DSC dla próbki HCBZ_an była identyczna do krzywej DSC dla próbki CBZ_ref. Z kolei termogram otrzymany podczas II grzania próbki HCBZ_an ujawnił, że próbka ta uległa degradacji podczas ogrzewania, jednakże jej stopień był dużo mniejszy niż dla niemodyfikowanej próbki CBZ_ref (patrz Rys. 42).

Wyniki analizy ilościowej, wykonanej metodą HPLC (patrz Tab. 10), wykazały redukcję ilości IMB (<0.5%) we wszystkich uwodnionych próbkach poddawanych cyklicznemu ogrzewaniu i chłodzeniu. Dodatkowo, potwierdziły one tezę o sublimacji bądź też nieobecności IMB w próbkach badanych w hermetycznie zamkniętych tyglach z otworem w pokrywce.

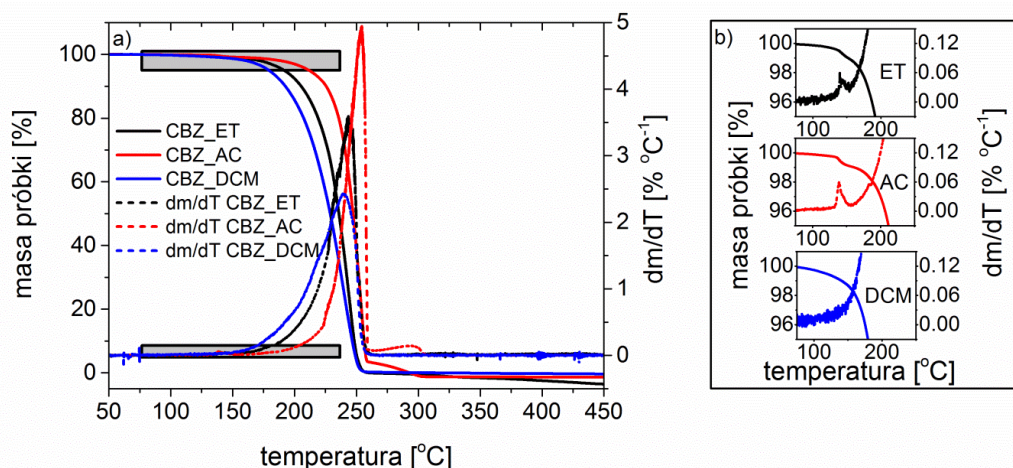
5.2.4. Procedura III – rekrytalizacja karbamazepiny bezwodnej przy użyciu rozpuszczalników organicznych

Ostatnim zabiegiem, który przeprowadzono w celu zmniejszenia bądź też zapobiegnięcia termicznej degradacji CBZ była jej rekrytalizacja na drodze odparowania rozpuszczalnika organicznego. Zbadano próbki CBZ rekrytalizowane z 96% (v/v) etanolu (CBZ_ET), acetonu (CBZ_AC) i dichlorometanu (CBZ_DCM). Rozpuszczalniki te są stosowane w przemyśle farmaceutycznym np. do wytwarzania amorficznych stałych rozproszon [5]. Wszystkie rozpuszczalniki (cz.d.a.) pochodziły z firmy Avantor Performance Materials (Gliwice, Polska).

Próbki badane w niniejszym podrozdziale były przygotowywane w następujący sposób – na początku 30 mg CBZ rozpuszczano w 2 mL odpowiedniego rozpuszczalnika (etanolu o temperaturze wrzenia $T_b=78.4^{\circ}\text{C}$, acetonu o $T_b=56.0^{\circ}\text{C}$ lub dichlorometanu o $T_b=39.6^{\circ}\text{C}$). Następnie próbki ogrzewano do temperatury wyższej od temperatury wrzenia rozpuszczalnika (tj. $85-90^{\circ}\text{C}$ dla etanolu, 70°C dla acetonu i 50°C dla dichlorometanu) i pozostawiano je w tej temperaturze aż do jego odparowania (~20 min). Próbki przechowywano w naczynkach wagowych w temperaturze pokojowej. Chromatogramy nie wykazały obecności IMB w próbkach rekrytalizowanej CBZ.

W celu identyfikacji pozostałości rozpuszczalników organicznych w próbkach po rekrytalizacji, przeprowadzono pomiary termogravimetryczne. Dla próbek rekrytalizowanych z etanolu i acetonu widoczny był niewielki ubytek masy (poniżej 1%) w zakresie temperatur $130-160^{\circ}\text{C}$, który mógł być związany z odparowaniem pozostałości rozpuszczalnika. Jedynie w przypadku próbki rekrytalizowanej z dichlorometanu, ubytku masy nie zaobserwowano (patrz Rys. 43 i Tab. 11).

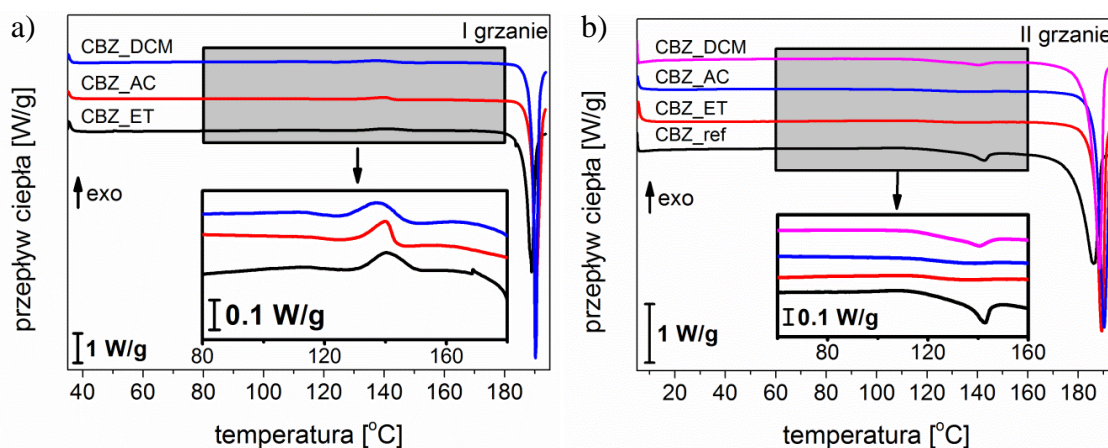
Największe ubytki masy zostały zaobserwowane w temperaturach 223.3°C , 237.9°C oraz 209.3°C odpowiednio dla próbek CBZ_ET, CBZ_AC i CBZ_DCM. Były one związane z termicznym rozkładem CBZ. Dodatkowo, dla próbki CBZ_AC zaobserwowano jeszcze jeden ubytek masy o $T_{onset}=257.8^{\circ}\text{C}$. Był on podobny do ubytku zaobserwowanego dla próbki HCBZ i zapewne również był związany z rozkładem resztkowych związków węglowych.



Rys. 43 Termogramy otrzymane podczas ogrzewania rekrytalizowanych z etanolu (linia czarna), acetonu (linia czerwona) i dichlorometanu (linia niebieska) próbek CBZ z szybkością $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ od RT do 500°C (linie ciągłe) oraz pierwsze pochodne uzyskanych krzywych (linie przerywane) (a); powiększenie zaznaczonych na szaro obszarów widocznych na rys. a (b).

Dla każdej z rekrytalizowanych próbek zastosowano standardową procedurę grzania i chłodzenia, analogiczną jak dla próbki CBZ_ref (patrz Tab. 9). I grzanie ujawniło, że wszystkie badane próbki były w postaci formy II CBZ. Świadczyła o tym obecność na termogramach egzotermicznej anomalii w zakresie temperatur $125\text{-}150^{\circ}\text{C}$ [24], związanej z przejściem fazowym CBZ II – CBZ I (patrz Rys. 44a). Anomalia endotermiczna o maksimum $\sim 190^{\circ}\text{C}$ była związana z topnieniem formy I CBZ. Z drugiej strony, na zarejestrowanych termogramach nie zaobserwowano żadnych anomalii, które mogłyby wskazywać na obecność rozpuszczalników w badanych próbkach. Praca Cruz-Cabeza *et al.* [127], traktująca o wpływie przyłączenia cząsteczek rozpuszczalnika (toluenu i n-tridekanu) do formy II CBZ, sugeruje, że odparowanie badanych rozpuszczalników może mieć miejsce w tych samych temperaturach co przemiana fazowa CBZ II – CBZ I. W związku z tym możliwe, że egzotermiczne anomalie widoczne na Rys. 44a, związane z przemianą polimorficzną CBZ, nakładały się z oczekiwanymi anomaliami endotermicznymi związanymi z odparowaniem rozpuszczalnika.

Termogramy otrzymane w czasie II grzania próbek rekrytalizowanych z rozpuszczalników organicznych zostały przedstawione na Rys. 44b. Dla próbek CBZ_ET i CBZ_AC nie zaobserwowano endotermicznej anomalii w zakresie temperatur $140\text{-}145^{\circ}\text{C}$ wskazującej na obecność IMB. Anomalia ta była zaś obserwowana dla próbki CBZ_DCM.



Rys. 44 Termogramy otrzymane podczas I (a) i II (b) grzania rekrytalizowanych próbek CBZ.

Pomiary HPLC wykazały, że obecność IMB w próbkach rekrytalizowanych z etanolu lub acetonu była mniejsza niż 0.5%, podczas gdy dla próbki rekrytalizowanej z dichlorometanu przekraczała 1% (szczegóły w Tab. 10). Sugerowana w pomiarach TGA obecność pozostałości rozpuszczalnika w próbkach CBZ_ET i CBZ_AC mogła być czynnikiem wpływającym, ograniczającym rozkład CBZ. Większa redukcja zawartości IMB w próbce CBZ_AC niż w próbce CBZ_ET mogła wynikać z faktu, że aceton tworzył z molekułami CBZ silniejsze wiązanie wodorowe niż etanol. Było to konsekwencją przewagi ilości grup donorowych nad grupami akceptorowymi – w cząsteczce CBZ obecne są dwa atomy wodoru i jeden atom tlenu, będący akceptorem tych wiązań. Najniższa zawartość IMB w próbce CBZ_AC korespondowała z największym ubytkiem masy w zakresie temperatur 130-160°C na krzywej TG spośród wszystkich rekrytalizowanych próbek oraz z najwyższą temperaturą T_{onset} procesu związanego z termiczną dekompozycją próbki (patrz Tab. 11).

Uzyskane wyniki sugerowały, że krystalizacja CBZ z etanolu i acetonu prowadziła niemal do całkowitego zahamowania termicznej dekompozycji CBZ w okolicach temperatury topnienia, podczas gdy krystalizacja z dichlorometanu zmniejszała jedynie stopień tego zjawiska. W tym miejscu warto jednak nadmienić, że rekrytalizacja CBZ z rozpuszczalników organicznych jest procesem wymagającym szczegółowej kontroli, ponieważ wiele zmiennych (jak np. temperatura odparowania rozpuszczalnika, szybkość mieszania, szybkość chłodzenia, czy stężenie roztworu) wpływa na morfologię oraz uporządkowanie krystalograficzne otrzymanych próbek [138–141]. W konsekwencji, własności fizykochemiczne próbek mogą różnić się między sobą. Taką sytuację zaobserwowano również w przypadku próbek przytaczanych

w niniejszym podrozdziale. Mianowicie, gdy po raz drugi przygotowano rekrytalizowane próbki CBZ, to różniły się one morfologią od próbek przygotowanych za pierwszym razem. W przypadku próbki CBZ_DCM zmiana morfologii wpłynęła na zmianę termicznej stabilności – zawartość IMB po procesie grzania i chłodzenia zmniejszyła się z 1.12% dla pierwszej próbki do 0.39% dla drugiej próbki. W przypadku próbek CBZ_ET i CBZ_AC zmiana morfologii nie wpłynęła na stabilność termiczną. Prawdopodobną przyczyną braku powtarzalności uzyskanych wyników był brak kontroli szybkości chłodzenia próbki po odparowaniu rozpuszczalnika.

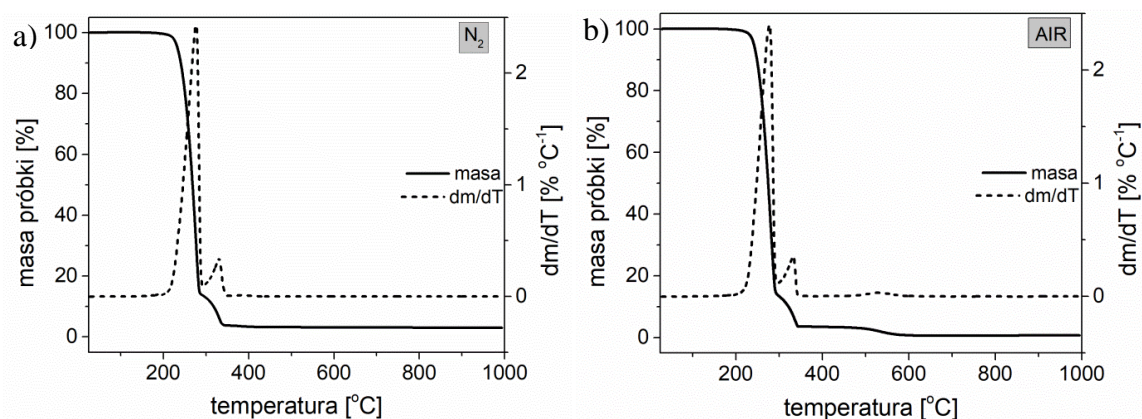
5.3. Ocena wpływu atmosfery i ciśnienia na proces termicznej degradacji krystalicznej formy karbamazepiny

Jak zauważono w podrozdziale 5.2 *Poszukiwanie metod poprawy stabilności termicznej krystalicznej formy karbamazepiny*, istotny wpływ na ilość obserwowanego w próbce IMB ma dobór tygła pomiarowego. Dla nieuwodnionej próbki, która była stapiana a następnie chłodzona w hermetycznie zamkniętym tyglu (CBZ_ref), ilość produktu degradacji wynosiła powyżej 6%, podczas gdy dla identycznie ogrzewanej i chłodzonej próbki w tyglu z otworem w pokrywce (CBZ_ref_pl) – zaledwie 0.3%. W związku z tym pojawiło się pytanie, czy otwarcie tygła powoduje zmniejszenie degradacji IMB, czy jedynie umożliwia ulotnienie powstających produktów degradacji (jako że IMB może sublimować).

W przytoczonym podrozdziale zauważono również, że dobór tygła pomiarowego wywiera wpływ zarówno na ciśnienie panujące w układzie, jak i atmosferę, w której dokonuje się pomiaru. Dlatego też kolejną serię badań poświęcono zagadnieniu wpływu układu pomiarowego, a co za tym idzie ciśnienia i atmosfery na stabilność termiczną krystalicznej formy CBZ.

5.3.1. Wyniki analiz TGA-IR

Pomiary TGA-IR przeprowadzone zostały jedynie dla próbek znajdujących się w układzie otwartym, tj. pod ciśnieniem atmosferycznym. Pomiary te przeprowadzono zarówno w atmosferze azotu, jak i tlenu. Krzywe TG otrzymane podczas ogrzewania próbek z szybkością $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ w zakresie temperatur 25-1000°C przedstawiono na Rys. 45, zaś zakresy temperatur i odpowiadające im procentowe ubytki masy – w Tab. 12.



Rys. 45 Termogramy otrzymane podczas ogrzewania niemodyfikowanej CBZ z szybkością $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ od temperatury pokojowej do 1000°C (linia ciągła) oraz pierwsza pochodna uzyskanej krzywej (linia przerywana) w atmosferze azotu (N_2) (a) i tlenu (AIR) (b).

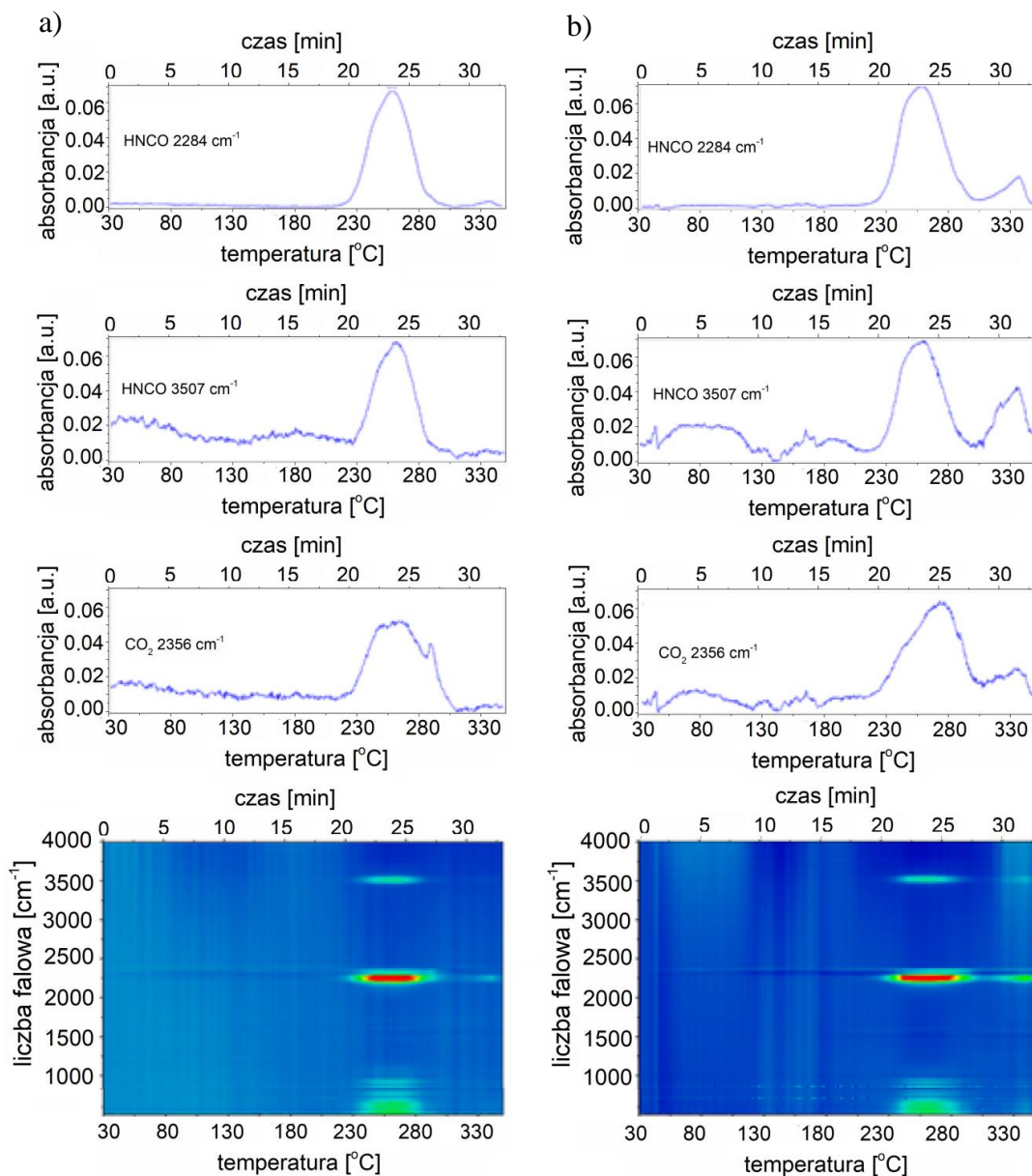
Tab. 12 Wyniki pomiarów TG dla próbek ogrzewanych w szerokim zakresie temperatur w atmosferze azotu i tlenu.

Atmosfera	Zakres temperatur [$^{\circ}\text{C}$]	Ubytek masy [%]
azot	190-294	86.6
	294-347	11.1
tlen	196-297	88.4
	297-347	10.0

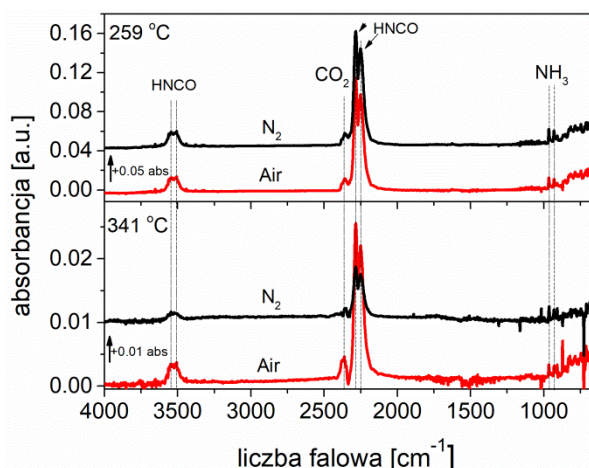
Do około 380°C nie było różnic między krzywymi TG otrzymanymi dla dwóch próbek badanych w różnych atmosferach. Pierwszy, największy ubytek masy pojawiający się powyżej 190°C dla obu próbek był związany z ich sublimacją i/lub dekompozycją. Od około 300°C obserwowany był drugi znaczący ubytek masy, który przypisano degradacji substancji. Powyżej 380°C , w przypadku próbki ogrzewanej w atmosferze tlenowej, dodatkowo widoczny był trzeci spadek masy, który przypisano rozkładowi resztkowych związków węglowych [29]. Dla próbki ogrzewanej w atmosferze azotowej trzeci ubytek masy nie był widoczny.

Pomiarów produktów gazowych dokonano w zakresie temperatur $25\text{-}380^{\circ}\text{C}$ przy użyciu spektrometru FTIR sprzężonego z termogravimetrem. Otrzymane profile czasowo-temperaturowe produktów gazowych (tj. HNCO i CO_2) oraz dwuwymiarowe mapy FTIR przedstawiono na Rys. 46, podczas gdy widma FTIR zarejestrowane odpowiednio w 259 i 341°C – na Rys. 47. Uzyskane wyniki potwierdziły, że kwas izocyjanowy jest drugim produktem termicznej degradacji CBZ (obok IMB). Pasma pochodzące od tego związku były widoczne przy 3544 , 3507 , 2284 i 2251 cm^{-1} . Obserwacje te były zgodne z badaniami przeprowadzonymi przez Pinto *et al.* [29]. Dodatkowo, obecność pasm 962 i 930 cm^{-1} wskazywała na możliwość istnienia wśród

ulatniających się z próbki produktów gazowych niewielkich ilości amoniaku, zaś obecność pasma 2356 cm^{-1} – na istnienie dwutlenku węgla.

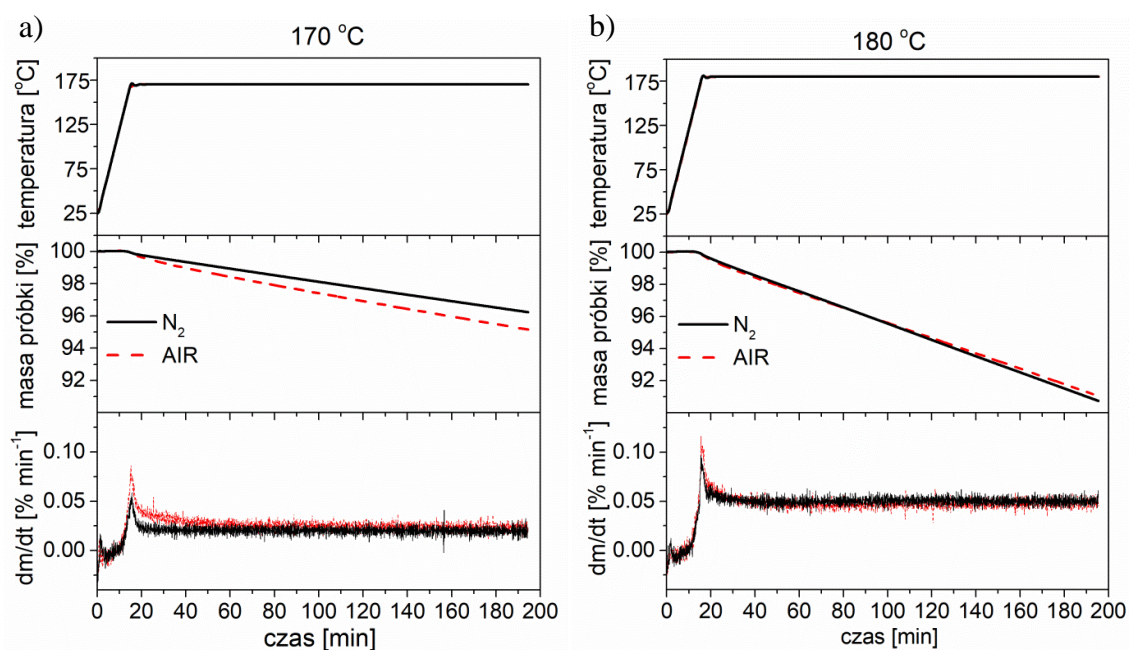


Rys. 46 Profile czasowo-temperaturowe gazowych produktów (tj. HNCO i CO_2) oraz dwuwymiarowe mapy FTIR dla CBZ ogrzewanej w atmosferze azotu (a) i tlenu (b).



Rys. 47 Widma FTIR produktów gazowych zarejestrowane w 259°C (panel górny) i 341°C (panel dolny).

Jako że otrzymywanie jednej z form polimorficznych CBZ wymaga wysokotemperaturowej anilacji poniżej temperatury topnienia (jak to opisano przy okazji pomiarów TGA w podrozdziale 5.1 *Charakterystyka termicznej stabilności krystalicznej formy karbamazepiny*), sprawdzono również stabilność CBZ w 170 i 180°C podczas wygrzewania jej przez 3 h w różnych atmosferach. Uzyskane wyniki przedstawiono na Rys. 48.



Rys. 48 Wykresy zależności temperatury (górny panel), masy próbki (środkowy panel) i pochodnej masy po czasie (dolny panel) od czasu dla próbki anilowanej przez 3 h w 170°C (a) lub 180°C (b) w atmosferze azotu (czarne krzywe) lub tlenu (czerwone krzywe).

Zarówno w 170, jak i 180°C dało się zaobserwować spadek masy próbki wraz z upływem czasu anilacji. Utrata masy podczas anilacji w niższej temperaturze była

mniejsza niż podczas anilacji próbki w wyższej temperaturze. Różnice wynikające z doboru atmosfery pomiarowej były znikome. Jako że ilości uwalnianych z próbek produktów gazowych były zbyt małe by udało się je zidentyfikować przy pomocy spektrometru FTIR sprzężonego z TGA, nie było możliwe bezpośrednie stwierdzenie, czy obserwowany ubytek masy był związany z sublimacją, czy degradacją próbki. Niemniej jednak, na podstawie pracy Elder *et al.* [142], zasugerowano, że podczas anilacji zachodziła jedynie sublimacja próbki, gdyż spadek masy był liniowy w czasie.

5.3.2. Wyniki analiz DSC i HPLC

Pomiary TGA-IR wykazały, że w układzie otwartym, tj. pod ciśnieniem atmosferycznym, zarówno w atmosferze azotu, jak i tlenu poniżej temperatury topnienia dochodziło jedynie do sublimacji próbki, natomiast nie miała miejsca jej degradacja. Wciąż pozostawało jednak pytanie co się dzieje z badaną substancją, gdy jest ona ogrzewana w układzie zamkniętym. Aby móc odseparować wpływ atmosfery i ciśnienia, przygotowano cztery zestawy próbek, które następnie poddano dwóm ściśle określonym cyklom ogrzewania i chłodzenia – nazywanym dalej „historią termiczną” (patrz Tab. 13 i Tab. 14). W kolejnym kroku przy pomocy DSC identyfikowano obecność produktów degradacji, zaś przy pomocy HPLC określano ich ilość.

Tab. 13 Nazwy próbek wraz ze sposobem ich przygotowania.

Nazwa próbki	Atmosfera podczas przygotowywania próbki	Urządzenie służące do ustalenia historii termicznej	Rodzaj tygla DSC	Atmosfera celi DSC (tj. gaz przepływający przez celę)	Atmosfera podczas cyklu grzanie-chłodzenie*
CBZ_op_N ₂	powietrze atmosferyczne	DSC	otwarty	azot	azot ^a
CBZ_op_AIR	powietrze atmosferyczne	stolik grzewczy	otwarty	–	powietrze ^b
CBZ_hp_N ₂	azot	DSC	hermetycznie zamknięty	azot	azot ^c
CBZ_hp_AIR	powietrze atmosferyczne	DSC	hermetycznie zamknięty	azot	powietrze ^d

* atmosfera wynikająca z (i) atmosfery w której przygotowano próbkę, (ii) atmosfery ustanowionej przez gaz przepływający przez celę DSC oraz (iii) doboru tygla pomiarowego

^aatmosfera azotu – cęła DSC przepłukiwana przez azot, który wyparł powietrze znajdujące się nad próbką, po jej przygotowaniu w atmosferze powietrznej; tygiel DSC był otwarty i następowała swobodna wymiana gazów między tygłem a celą

^batmosfera powietrza – przygotowanie jak i ustalanie historii termicznej zachodziło w atmosferze powietrznej, stolik grzewczy nie był przepłukiwany żadnym gazem; tygiel DSC był otwarty

^catmosfera azotu – próbka przygotowana i hermetycznie zamykana w komorze z przepływającym azotem – w tyglu został uwięziony azot; tygiel był hermetycznie zamknięty, więc nie było wymiany gazów między celą DSC a tygłem

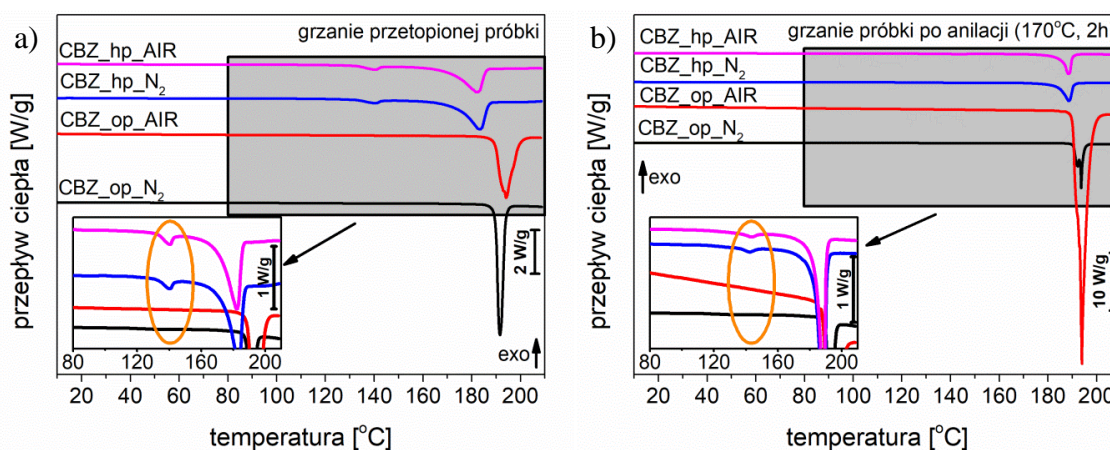
^datmosfera powietrza – próbka przygotowana i hermetycznie zamykana w powietrzu atmosferycznym – w tyglu zostało uwięzione powietrze; tygiel był hermetycznie zamknięty, więc nie było wymiany gazów między celą DSC a tygłem

Tab. 14 Historia termiczna próbek.

Historia termiczna
35°C – 195°C (10 s) – 5°C (cykl stopienie-chłodzenie)
35°C – 170°C (2 h) – 5°C (cykl anilacja-chłodzenie)

Przygotowane próbki to: (i) CBZ_op_N₂ – próbka umieszczona w otwartym tyglu pomiarowym, dla której historia termiczna była ustalana w atmosferze azotowej, (ii) CBZ_op_AIR – próbka umieszczona w otwartym tyglu pomiarowym, dla której historia termiczna była ustalana w atmosferze powietrza, (iii) CBZ_hp_N₂ – próbka umieszczona w hermetycznie zamkniętym tyglu pomiarowym, dla której historia termiczna była ustalana w atmosferze azotowej, (iv) CBZ_hp_AIR – próbka umieszczona w hermetycznie zamkniętym tyglu pomiarowym, dla której historia termiczna była ustalana w atmosferze powietrza.

Rys. 49a przedstawia termogramy otrzymane podczas ogrzewania próbek poddanych wcześniej cyklowi stopienie-chłodzenie. Największa anomalia endotermiczna, odzwierciedlająca topnienie formy I CBZ, obserwowana była ~192°C dla próbek przygotowywanych w tyglach otwartych, zaś ~183°C – dla próbek przygotowywanych w tyglach hermetycznie zamkniętych. Dodatkowo, dla próbek przygotowywanych w hermetycznie zamkniętych tyglach obserwowana była niewielka anomalia endotermiczna ~141°C, związana z obecnością IMB (patrz Tab. 15). Obniżenie temperatury topnienia CBZ wraz z pojawieniem się IMB było zgodne z teorią przedstawianą w podrozdziale 5.1 *Charakterystyka termicznej stabilności krystalicznej formy karbamazepiny*, podczas opisywania prostego diagramu fazowego układu dwuskładnikowego.



Rys. 49 Termogramy otrzymane podczas grzania próbek poddanych wcześniej stopieniu (a) lub anilacji (b).

Tab. 15 Temperatry przemian fazowych próbek podczas ogrzewania (po ustaleniu odpowiedniej historii termicznej).

Nazwa próbki	Historia termiczna	$T_{m\text{IMB}}$ [°C]	$T_{m\text{CBZ}}$ [°C]
CBZ_op_N ₂	35°C – 195°C (10 s) – 5°C (cykl stopienie-chłodzenie)	–	191.6
CBZ_op_AIR		–	189.9, 194.1
CBZ_hp_N ₂		140.8	183.4
CBZ_hp_AIR		140.7	182.4
CBZ_op_N ₂	35°C – 170°C (2 h) – 5°C (cykl anilacja-chłodzenie)	–	191.8, 192.3, 193.8
CBZ_op_AIR		–	193.0, 194.1
CBZ_hp_N ₂		144.0	188.4
CBZ_hp_AIR		142.5	188.6

$T_{m\text{IMB}}$ – temperatura topnienia IMB

$T_{m\text{CBZ}}$ – temperatura topnienia CBZ

Dla próbki CBZ_op_N₂ temperatura topnienia (191.6°C) była zgodna z wartością literaturową [24,29], zaś pik topnienia był wąski, symetryczny i pojedynczy. Dla próbki CBZ_op_AIR sytuacja wyglądała odmiennie – temperatura topnienia przesunięta była o ~2°C w stronę wyższych temperatur. Dodatkowo pik topnienia był asymetryczny i miał dwa maksima. Zaistniała sytuacja mogła wskazywać na to, że przed stopieniem próbka istniała w więcej niż jednej odmianie polimorficznej. Jednakże wyłącznie na podstawie badań DSC nie można było tych przypuszczeń potwierdzić. W przypadku próbek przygotowywanych w hermetycznie zamkniętych tyglach, termogramy otrzymane podczas ponownego ogrzewania próbki w różnych atmosferach nie różniły się między sobą, co pozwoliło przypuszczać, że atmosfera pomiaru nie miała znaczącego wpływu na mechanizm degradacji.

Podobne wnioski do tych wyciągniętych dla próbek poddanych cyklowi topienie-chłodzenie wyciągnięto dla próbek poddanych cyklowi anilacja-chłodzenie (Rys. 49b). Po dwugodzinnej anilacji w 170°C jedynie w próbkach umieszczonych w hermetycznie zamkniętych tyglach obecny był IMB (o czym świadczyła obecność anomalii endotermicznych ~143°C oraz obniżenie temperatury topnienia CBZ do ~189°C). Niższa temperatura topnienia CBZ dla próbek poddanych cyklowi stopienie-chłodzenie (183°C) od temperatury obserwowanej dla próbek poddanych cyklowi anilacja-chłodzenie (189°C) świadczyła o większej zawartości IMB w pierwszych próbkach. Jako że pik topnienia dla próbki CBZ_op_N₂ miał trzy maksima, zaś dla próbki CBZ_op_AIR dwa maksima oraz entalpie topnień między tymi dwiema próbkami znacząco się różniły, ponownie można było wnioskować, że w próbkach obecna była mieszanina odmian polimorficznych CBZ, przy czym rodzaj mieszaniny i/lub procentowa zawartość różnych odmian polimorficznych była w obu próbkach odmienna. Dane literaturowe wskazują, że

dwugodzinna anilacja CBZ w 170°C powinna prowadzić do całkowitej przemiany fazowej między formą III CBZ a formą I [28,31,120]. Niemniej jednak w przytaczanych pracach atmosfera w której prowadzone były pomiary nie jest podana, w związku z czym ciężko jednoznacznie porównać otrzymane wyniki i ich rozbieżności.

Wyniki pomiarów HPLC, mające na celu określenie procentowej zawartości IMB w próbkach po poddaniu ich cyklowi stopienie-chłodzenie lub anilacja-chłodzenie, przedstawiono w Tab. 16. Pomiary te potwierdziły, że degradacja CBZ nie zachodziła w próbkach ogrzewanych w układzie otwartym (wyjątek stanowiła próbka stopiona w atmosferze powietrznej, niemniej jednak zawartość IMB była poniżej 0.5%). Z kolei dla próbek ogrzewanych w układzie zamkniętym, zawartość IMB wynosiła ponad 1.5% w przypadku próbek poddanych anilacji i ponad 4.5% dla próbek poddanych stopieniu.

Tab. 16 Zawartość IMB w próbach poddanych cyklowi topienie-chłodzenie lub anilacja-chłodzenie

Nazwa próbki	Historia termiczna	Zawartość IMB [%]	SD [%]
CBZ_op_N ₂	35 °C – 195 °C (10 s) – 5°C (cykl stopienie- chłodzenie)	0.00	0.00
CBZ_op_AIR		0.30	0.01
CBZ_hp_N ₂		5.38	0.01
CBZ_hp_AIR		4.56	0.02
CBZ_op_N ₂	35 °C – 170 °C (2 h) – 5°C (cykl anilacja- chłodzenie)	0.00	0.00
CBZ_op_AIR		0.00	0.00
CBZ_hp_N ₂		1.59	0.00
CBZ_hp_AIR		1.72	0.01

Z przeprowadzonych pomiarów DSC i HPLC jasno wynikało, że w przypadku układu otwartego, w którym gazowe produkty mogły swobodnie ulatywać, degradacja CBZ aż do temperatury topnienia nie była obserwowana i istniała możliwość otrzymania niezanieczyszczonej przez IMB CBZ w stanie ciekłym. Natomiast atmosfera w której prowadzone było ochładzanie miała wpływ na krystalizację CBZ. Z kolei w przypadku układu zamkniętego, degradacja CBZ była obserwowana nawet poniżej temperatury topnienia. W tym przypadku atmosfera w której prowadzone było ogrzewanie lub ochładzanie substancji nie miała wpływu na mechanizm obserwowanej degradacji.

Degradacja CBZ mająca miejsce w układzie zamkniętym związana była z jej silną sublimacją. Powstające produkty gazowe, nie mogąc się ulotnić z układu, zmieniały zarówno ciśnienie w nim panujące, jak również atmosferę. Chociaż ciężko było oszacować wzrost ciśnienia w układzie, stwierdzono, że był on znaczący. Świadczył o tym fakt, że początkowo płaska pokrywka tygla DSC po cyklu stopienie-chłodzenie czy anilacja-chłodzenie była silnie wybrzuszona. Niemniej jednak istniały również inne

czynniki poza podwyższonym ciśnieniem, które mogły przyczyniać się do degradacji CBZ. Chociażby sama obecność CBZ w formie gazowej mogła prowadzić do tego, że substancja ta była bardziej skłonna do degradacji niż gdy była w fazie stałej. Byłoby to związane m.in. ze zwiększeniem ilości stopni swobody molekuly podczas zmiany stanu skupienia ze stałego na gazowy. Dodatkowo niewykluczone było zachodzenie pewnych reakcji chemicznych między gazowymi produktami degradacji CBZ (tj. IMB czy kwasu izocyjanowego) a samą CBZ [81], co również mogłoby wpływać na przyspieszenie kinetyki degradacji, która obserwowana była w układzie zamkniętym w porównaniu do układu otwartego.

Chociaż pomiary DSC i HPLC nie były wystarczające by szczegółowo wnioskować o mechanizmie degradacji CBZ, spróbowano zasugerować czy degradacja CBZ obserwowana w układzie zamkniętym była związana jedynie z CBZ obecną w fazie gazowej, czy również CBZ w fazie stałej. Aby to zrobić, dokładnie przeanalizowano krzywe DSC otrzymane podczas ochładzania próbek umieszczonych w hermetycznie zamkniętych tyglach DSC po ich uprzedniej anilacji. W tych próbkach po dwugodzinnym wygrzewaniu obecny był IMB oraz CBZ, prawdopodobnie w formie I (wnioskowano o tym na podstawie badań XRD przedstawionych w podrozdziale 5.1 *Charakterystyka termicznej stabilności krystalicznej formy karbamazepiny*, gdzie jedynie obecność formy I CBZ była obserwowana obok IMB). W związku z tym po zakończeniu anilacji, podczas ochładzania próbki, żadne anomalie związane z przejściami fazowymi charakterystycznymi dla CBZ nie powinny być obserwowane na krzywych DSC. (Ponieważ forma I CBZ jest skłonna do rekrytalizacji do formy III w temperaturze pokojowej dopiero po wielu godzinach, czy nawet dniach przechowywania.) Jednak na termogramach zarówno dla próbki CBZ_hp_N₂ jak i CBZ_hp_AIR zaobserwować można było niewielką anomalię egzotermiczną ~90°C. Anomalia ta była również obserwowana dla próbek stapianych i chłodzonych w hermetycznie zamkniętych tyglach. Nie była ona zaś obserwowana dla próbek anilowanych czy też stapianych w tyglach otwartych. W związku z tym anomalię tę powiązano z procesem resublimacji gazowych produktów dekompozycji CBZ. Jeśli założymy, że CBZ w fazie gazowej całkowicie degradowała do gazowego IMB (i kwasu izocyjanowego), to entalpia związana z procesem resublimacji IMB (obserwowanym podczas ochładzania próbki) powinna być większa niż entalpia związana z topnieniem IMB (obserwowanym podczas ponownego ogrzewania próbki). W przeprowadzonych doświadczeniach było jednak odmiennie – entalpia anomalii

egzotermicznej obserwowanej podczas ochładzania próbki była około 3x mniejsza niż entalpia anomalii endotermicznej obserwowanej podczas ogrzewania próbki. W związku z tym wywnioskowano, że CBZ w fazie stałej również musiała ulegać degradacji.

Przedstawione w niniejszym podrozdziale wyniki są niezwykle istotne w kontekście badania termicznego zachowania substancji czynnych leków. Pokazują one dobitnie, że nawet w przypadku „suchych” związków (tj. nie występujących w postaci hydratów czy solwatów) bardzo istotny wpływ na otrzymane wyniki ma właściwy dobór układu pomiarowego. Szczególnie jeśli dana substancja, podobnie jak CBZ, jest skłonna do sublimacji. Nawet jeśli termogramy otrzymane w czasie pierwszego ogrzewania próbek nie różnią się między sobą dla próbki umieszczonej w otwartym i zamkniętym tyglu, to termogramy otrzymane podczas ochładzania i ponownego ogrzewania już mogą się różnić. Dlatego też wydaje się, że dobrą praktyką powinno być sprawdzenie w cyklu grzanie-chłodzenie-grzanie ewentualnego wpływu rodzaju układu pomiarowego (zamkniętego/otwartego) na uzyskane krzywe DSC.

W świetle wyników doświadczalnych zamieszczonych w niniejszym podrozdziale zaproponowano również możliwe wyjaśnienia różnic w termicznym zachowaniu CBZ obserwowanym przez rozmaite grupy badaczy. Termiczna degradacja CBZ opisywana w tej dysertacji wynikała z użycia hermetycznie zamkniętych tygli DSC i wzrostu ciśnienia wewnątrz układu na skutek sublimacji badanej próbki. Tymczasem rozkład obserwowany przez Naima *et al.* [39] był prawdopodobnie spowodowany zbyt wolnym chłodzeniem (a w konsekwencji zbyt długim czasem przebywania w wysokich temperaturach) stopionej CBZ grzanej wcześniej do 210°C w tyglu z otworem w pokrywce. W pracach Trasi *et al.*, Zeitler *et al.* oraz Patterson *et al.* [43,56,137] termiczna degradacja nie była obserwowana, ponieważ CBZ była stapiana na stoliku grzewczym (tj. w układzie otwartym). Podobnie brak produktów rozkładu można wytłumaczyć w pracy Guinet *et al.* [42], w której próbkę ogrzewano w otwartym tyglu.

Z kolei w pracy Moneghini *et al.* [41], w której CBZ była stapiana w hermetycznie zamkniętym tyglu z otworem w pokrywce, obecność IMB nie była obserwowana. Możliwe jednak, że została przeoczona. Świadczyłby o tym fakt, że dla niemodyfikowanej próbki raportowana temperatura topnienia wynosiła 189.2°C, podczas gdy dla próbki zeszkłonej – 186°C. Przesunięcie temperatury topnienia CBZ w kierunku niższych temperatur jest jednym z markerów wskazujących na obecność IMB w próbce.

Autorzy przytoczonej publikacji mogli więc przeoczyć degradację próbki, ponieważ była ona nieznaczna (co można wnioskować po obniżeniu temperatury topnienia o zaledwie 3°C), zaś ich uwaga skupiała się na badaniu roztworów CBZ z polimerami, nie zaś na niemodyfikowanej CBZ.

Podobnie wydaje się, że obecność IMB w próbce mogła zostać przeoczona w przypadku szkła CBZ otrzymanego na drodze lewitacji akustycznej [58]. Pewną wątpliwość budzi bowiem przytoczana wartość T_g , wynosząca 48°C, znacząco niższa od temperatur raportowanych w pozostałych pracach (56-61°C), a podobna do wartości wyznaczonej w niniejszej dysertacji dla próbki zanieczyszczonej przez IMB, chłodzonej z tempem 10 lub 20 °C min⁻¹ i ponownie ogrzewanej (patrz Tab. 2).

W tym miejscu warto ponadto wspomnieć, że dobór układu pomiarowego jest istotny nie tylko w pomiarach DSC. Również w przypadku innych technik pomiarowych ta kwestia może być nietrywialna. W przypadku badań polimorfizmu substancji często obok pomiarów DSC przeprowadza się pomiary FTIR czy XRD (jak chociażby ma to miejsce w niniejszej rozprawie doktorskiej). W obu tych technikach warunki pomiaru mogą się znacząco od siebie różnić. Przykładowo, w pomiarach przedstawionych w podrozdziale 5.1 *Charakterystyka termicznej stabilności krystalicznej formy karbamazepiny* opisano pomiary FTIR przeprowadzone dla CBZ zmieszanej z KBr i uformowanej w postaci pastylki. Taka próbka może być w pewnym sensie przykładem układu zamkniętego, gdyż molekuly CBZ są uwięzione w matrycy tworzonej przez KBr. Z drugiej strony ten układ jest jednak zupełnie różny od hermetycznie zamkniętego układu uzyskiwanego w tyglu DSC, gdyż ziarna KBr w pewnym stopniu izolują molekuly CBZ od siebie, co może osłabiać ich wzajemne interakcje. W przypadku próbki umieszczanej w tyglu DSC takiej izolacji nie ma. Pomiary XRD przedstawiane we wspomnianym wcześniej podrozdziale przeprowadzono w zamkniętej szklanej kapilarze. I ponownie – choć mamy do czynienia z układem zamkniętym jest on w pewnym stopniu różny od układu obecnego w hermetycznie zamkniętym tyglu DSC, chociażby dlatego, że geometria kapilary i tygla jest różna. Niemniej jednak można oczekiwać, że wyniki pomiarów XRD uzyskane dla próbki umieszczonej w zamkniętej szklanej kapilarze powinny lepiej korelować z wynikami pomiarów DSC dokonanymi dla próbek umieszczonych w hermetycznie zamkniętych tyglach niż np. wyniki pomiarów XRD wykonane dla próbki umieszczonej w otwartej kuwecie.

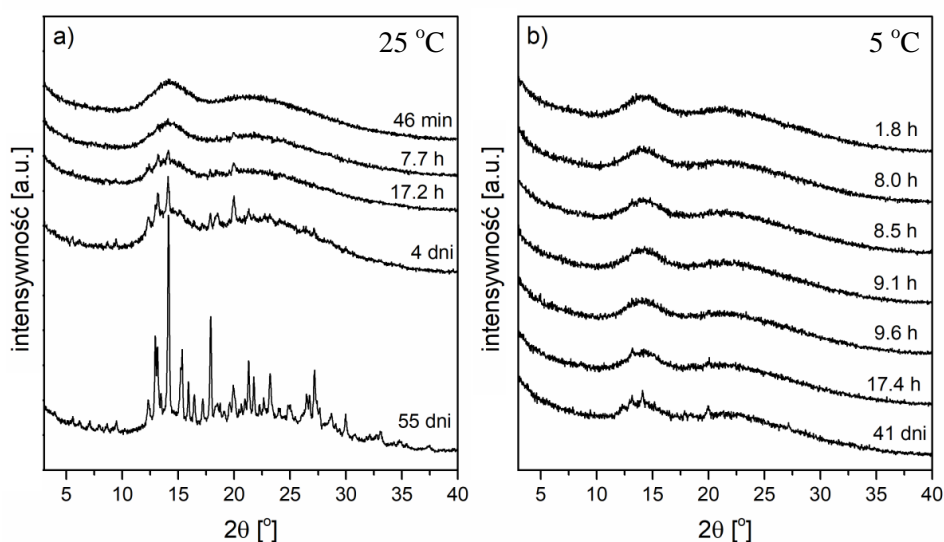
5.4. Charakterystyka termicznej stabilności amorficznej formy karbamazepiny otrzymanej metodą szybkiego chłodzenia

Badania przedstawione w poprzednim podrozdziale pokazały, że możliwe jest stopienie CBZ bez jej degradacji. Warunkiem jest przeprowadzenie tego procesu w układzie otwartym. W związku z tym, niniejszy podrozdział dotyczy charakterystyki szkła CBZ otrzymanego metodą szybkiego chłodzenia. Dokładny opis procesu otrzymywania szkła jest przedstawiony przy każdej metodzie pomiarowej.

5.4.1. Wyniki analiz XRD

Szkło CBZ na potrzeby pomiarów XRD otrzymano w następujący sposób – krystaliczna CBZ została umieszczona na stoliku grzewczym o temperaturze 200°C. Po stopieniu (tj. po upływie kilku sekund) próbka została zassana do szklanej kapilary przy wykorzystaniu efektu kapilarnego, a następnie schłodzona w ciekłym azocie.

W celu zbadania izotermicznej krystalizacji przygotowano dwie próbki – pierwsza z nich (próbka A) była przechowywana w RT, zaś druga (próbka B) w lodówce (temperatura 5°C). Próbka B była wyciągana jedynie na czas trwania pomiaru (zebranie jednego dyfraktogramu zajmowało ~40 min i odbywało się w RT). Pierwsze dyfraktogramy zeszklnych próbek zebrano po zamontowaniu ich w goniometrze, tj. po upływie ~1 h od zeszklenia. Potwierdziły one, że szybkie chłodzenie doprowadziło do całkowitego zamorfizowania próbek – na dyfraktogramach obecne były jedynie dwa szerokie maksima dyfuzyjne (Rys. 50).



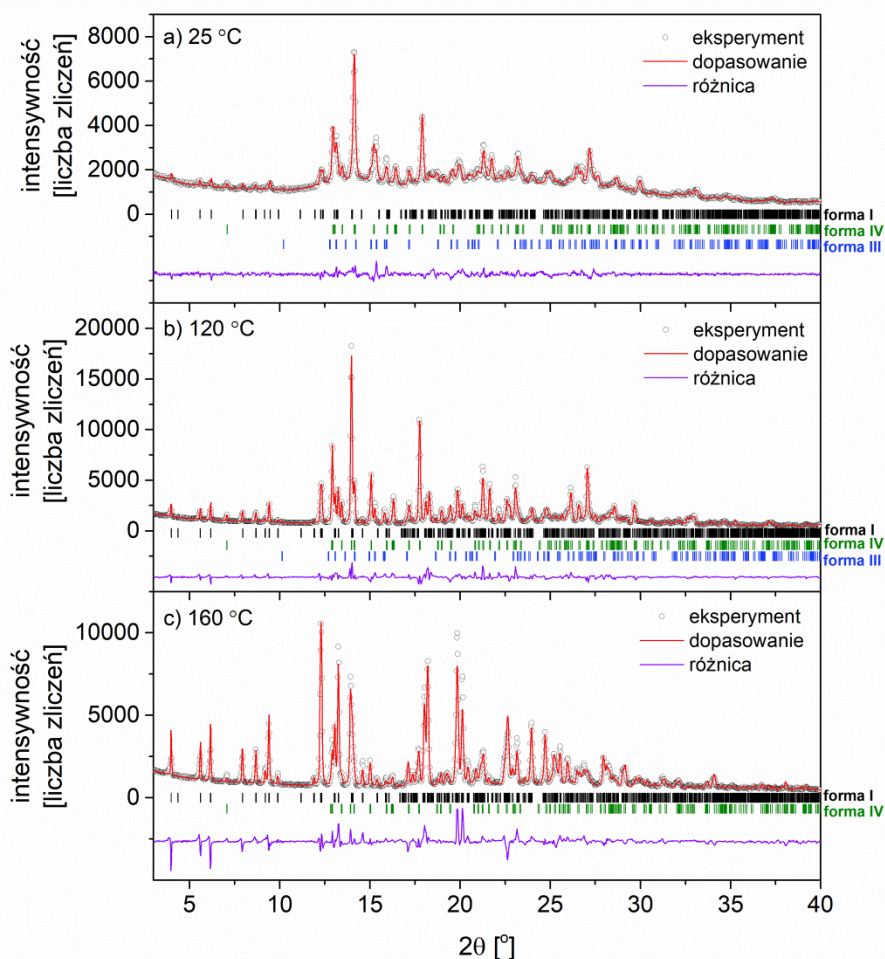
Rys. 50 Czasowa ewolucja dyfraktogramów zbieranych dla próbki A przechowywanej w RT (a) i próbki B przechowywanej w lodówce (b).

Dla próbki przechowywanej w RT ostre refleksy na dyfraktogramie zaczęły być widoczne po upływie ~ 7.7 h od zeszklenia. Wraz z upływem czasu intensywność obserwowanych refleksów rosła, co świadczyło o postępie procesu krystalizacji. Po upływie 55 dni próbka była już w znaczącym stopniu krystaliczna. Uzgodnienie struktury przy pomocy metody Rietvelda pokazało, że na skutek izotermicznej krystalizacji próbka była mieszaniną trzech form CBZ: formy I (trójskośna, grupa przestrzenna $P\bar{1}$ [24]), formy III (jednoskośna, grupa przestrzenna $P2_1/c$ [125]) i formy IV (jednoskośna, grupa przestrzenna $C2/c$ [50]), przy czym przeważała forma IV (Tab. 17). Po zakończeniu badań izotermicznych, próbkę ogrzewano i zbierano dyfraktogramy w 120 i 160°C (Rys. 51). Procentowy udział formy IV w próbce w temperaturze 120°C był porównywalny z jej procentowym udziałem w RT, podczas gdy zawartość formy III spadła kosztem wzrostu udziału formy I. W 160°C w próbce znajdowała się jedynie mieszanina dwóch form CBZ: formy I i formy IV, przy czym przeważała pierwsza z nich. Co najważniejsze, w żadnej temperaturze nie zaobserwowano refleksów pochodzących od IMB. Wynikało to zarówno z faktu, iż próbkę stopiono w układzie otwartym, jak również z krótkiego czasu przebywania próbki w wysokich temperaturach.

Tab. 17 Procentowy udział trzech form CBZ obecnych w próbkach poddanych izotermicznej krystalizacji w RT (próbka A) i lodówce (próbka B), po upływie odpowiednio 55 i 41 dni.

T [°C]	forma I ($P\bar{1}$) [%]	forma III ($P2_1/c$) [%]	forma IV ($C2/c$) [%]
Próbka A			
25	19 ± 2	25 ± 2	56 ± 2
120	29 ± 2	12 ± 2	59 ± 2
160	63 ± 6	–	37 ± 8
Próbka B			
120	71 ± 3	–	29 ± 2
160	95 ± 3	–	5 ± 1

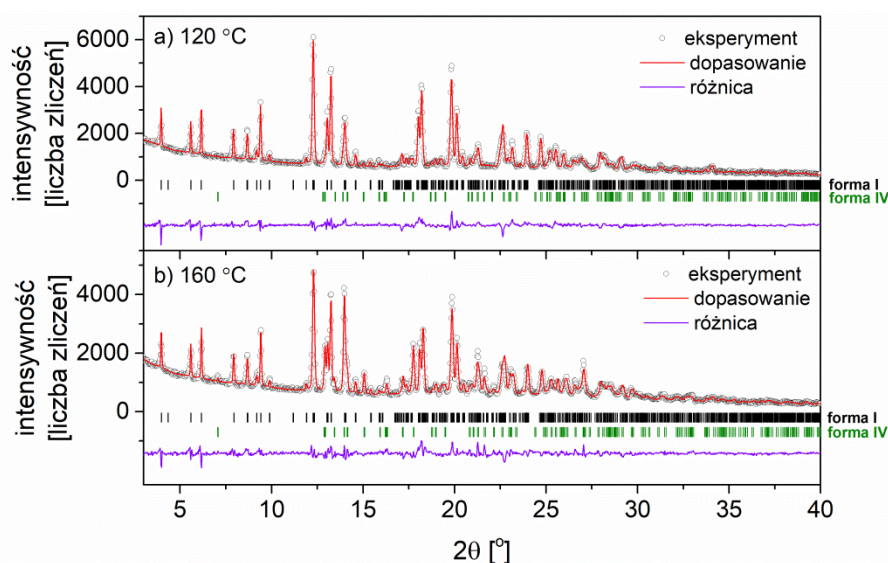
T – temperatura, w której zbierano dyfraktogram



Rys. 51 Uzgodnienie struktury metodą Rietvelda dla dyfraktogramów zebranych w 25°C (a), 120°C (b) i 160°C (c) dla próbki A (wcześniej przechowywanej w RT).

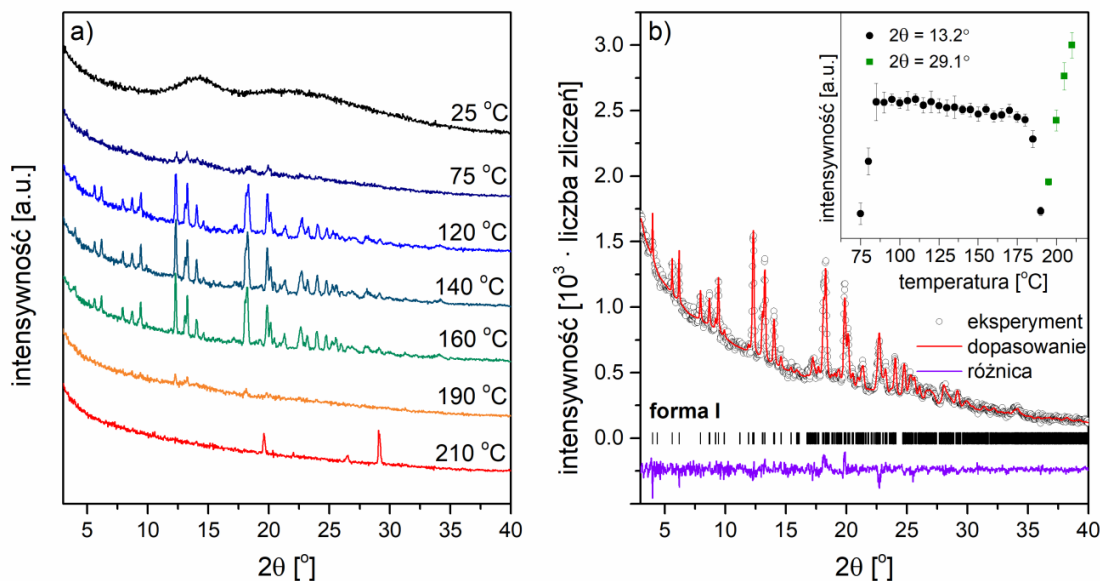
Dla próbki przechowywanej w lodówce krystalizacja przebiegała wolniej niż dla próbki przechowywanej w RT. Na dyfraktogramie zebrany po 41 dniach (Rys. 50b) widać, że po upływie tego czasu większość próbki była wciąż w fazie amorficznej. Ponieważ intensywność refleksów pochodzących od fazy krystalicznej była niewielka, ciężko było jednoznacznie określić moment, w którym rozpoczęła się krystalizacja próbki. Po przeprowadzeniu wnikliwych analiz kolejnych dyfraktogramów stwierdzono, że nastąpiło to po upływie ~ 8.5 h od zeszklenia próbki (± 1 h). Wynioskowano więc, że zarówno dla próbki przechowywanej w RT jak i tej przechowywanej w lodówce proces nukleacji rozpoczął się w podobnym momencie (nie później niż ~ 8 h po zeszkleniu próbki). Z kolei proces wzrostu krystalitów był znacząco zahamowany dla próbki przechowywanej w niższej temperaturze w porównaniu do próbki przechowywanej w wyższej temperaturze.

Ze względu na niską intensywność refleksów nie było możliwe przeprowadzenie uzgadniania struktury przy pomocy metody Rietvelda dla próbki przechowywanej przez 41 dni w lodówce. Uzgadnianie to przeprowadzono dla dyfraktogramów zebranych w 120 i 160°C podczas ogrzewania tej próbki po zakończeniu izotermicznych obserwacji (Rys. 52). W 120°C próbka była mieszaniną dwóch form CBZ: formy I i formy IV, z przewagą tej pierwszej. W 160°C procentowy udział formy I zwiększył się kosztem formy IV. Ponownie na żadnym z zebranych dyfraktogramów nie zauważono refleksów pochodzących od IMB.



Rys. 52 Uzgodnienie struktury metodą Rietvelda dla dyfraktogramów zebranych w 120°C (a) i 160°C (b) dla próbki B (wcześniej przechowywanej w lodówce).

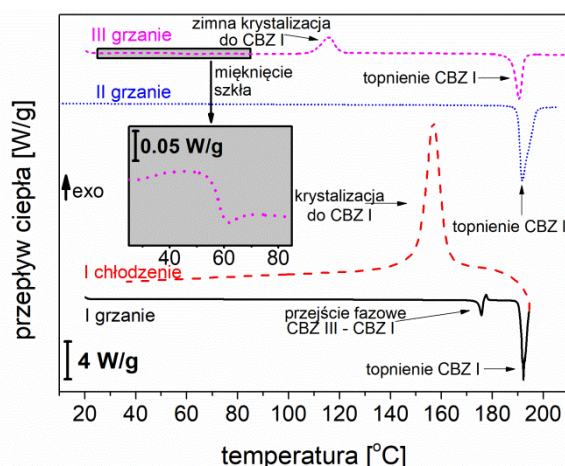
Aby całkowicie wykluczyć obecność IMB w badanych szklach, przygotowano trzecią próbkę (próbkę C). Proces topienia i chłodzenia był analogiczny jak dla próbek A i B. Próbki C jednak nie trzymano izotermicznie w żadnej temperaturze, a jedynie od razu po schłodzeniu poddano pomiarom nieizotermicznym z szybkością 5°C min⁻¹. Pomiarzy te były więc analogiczne do pomiarów przedstawionych w podrozdziale 5.1 *Charakterystyka termicznej stabilności krystalicznej formy karbamazepiny*. Różnica polegała jedynie na sposobie przygotowania próbki. Wyniki przedstawiono na Rys. 53. Z przeprowadzonych pomiarów jednoznacznie wynikało, że nieizotermiczne ogrzewanie zeszlonej CBZ tuż po jej otrzymaniu prowadziło do zimnej krystalizacji, przy czym próbka całkowicie krystalizowała do formy I. Nie była więc mieszaniną kilku odmian polimorficznych jak to miało miejsce w przypadku próbek poddanych izotermicznej anilacji w 25 lub 5°C. Nie była również zanieczyszczona IMB, jak to miało miejsce dla próbki opisywanej we wspomnianym wcześniej podrozdziale.



Rys. 53 Wybrane dyfraktogramy zebrane podczas grzania zeszkłonej CBZ (próbki C) (a) oraz uzgodnienie struktury metodą Rietvelda dla dyfraktogramu zebranego w 120°C wraz ze wstawką pokazującą zmiany intensywności refleksów związanych z formą I CBZ ($2\theta=13.2^\circ$) oraz IMB ($2\theta=29.1^\circ$) (b).

5.4.2. Wyniki analiz DSC

Szkło CBZ charakteryzowane przy pomocy DSC było otrzymywane *in-situ*. Substancja była umieszczana w otwartym tyglu DSC, a ten w celi przepłukiwanej azotem. Próbkę była poddawana cyklowi grzanie-chłodzenie-grzanie w celu pozbycia się jakiegokolwiek historii termicznej oraz sprawdzenia czy nie dochodzi do pojawienia się w próbce IMB. Pierwsze grzanie było przeprowadzane z szybkością $10^\circ\text{C min}^{-1}$ w zakresie temperatur 35-195°C. Następnie próbka była chłodzona ze średnią szybkością $80^\circ\text{C min}^{-1}$ do 5°C i ponownie grzana z szybkością $20^\circ\text{C min}^{-1}$ do 210°C. Ponieważ maksymalna rzeczywista szybkość chłodzenia uzyskiwana w sposób kontrolowany w DSC nie pozwalała na otrzymanie szkła CBZ (a jedynie na krystalizację), w celu zasymulowania szybkiego chłodzenia pozwalano próbce schłodzić się od temperatury 210°C do 5°C w sposób nierównowagowy. Jak obliczono, podczas tego procesu średnia szybkość chłodzenia wyniosła $\sim 100^\circ\text{C min}^{-1}$ i była wystarczająca do zeszklenia CBZ. Proces ten okazał się być również powtarzalny (w przeciwieństwie do prób zeszklenia CBZ poza DSC – przy pomocy stolika grzewczego i ciekłego azotu). Po zeszkleniu, próbkę ogrzewano do 210°C z różnymi szybkościami – 1, 2, 3, 5, 7.5, 10, 15 i $20^\circ\text{C min}^{-1}$. Pomiaru były wykonywane dwukrotnie, a dla skrajnych szybkości – trzykrotnie, zgodnie z zaleceniami ICTAC [81]. Za każdym razem przygotowywano nową próbkę. Przykładowe termogramy przedstawiono na Rys. 54.



Rys. 54 Przykładowe termogramy otrzymane dla CBZ podczas kolejnych cykli grzania i chłodzenia.

Zaobserwowane w czasie I grzania przemiany fazowe odzwierciedlały przejście polimorficzne między formą III i I oraz topnienie formy I. W czasie I chłodzenia widoczna była pojedyncza anomalia egzotermiczna $\sim 160^{\circ}\text{C}$, którą przypisano krystalizacji do formy I CBZ, zaś w czasie II grzania – pojedyncza anomalia endotermiczna $\sim 192^{\circ}\text{C}$, którą utożsamiono z topnieniem formy I CBZ. Uzyskane wyniki były zgodne z doniesieniami literaturowymi [29] i potwierdziły, że CBZ jest trudno szklącą się substancją, bo nawet tak wysoka średnia szybkość chłodzenia jak $\sim 80^{\circ}\text{C min}^{-1}$ jest niewystarczająca, by ją zeszklić. Otrzymanie fazy krystalicznej CBZ jednoznacznie potwierdziło, że IMB był nieobecny w badanych próbkach (bo jak pokazano we wcześniejszych badaniach, nawet minimalna ilość IMB powoduje, że CBZ staje się skłonna do szklenia się). II chłodzenie CBZ przebiegało nierównowagowo i nie było rejestrowane przy pomocy DSC. Na termogramie otrzymanym podczas III grzania zaobserwowano trzy anomalie na krzywej DSC – skokową zmianę pojemności cieplnej $\sim 56^{\circ}\text{C}$, anomalię egzotermiczną o maksimum w $\sim 116^{\circ}\text{C}$ i anomalię endotermiczną o maksimum w $\sim 190^{\circ}\text{C}$. Anomalie te utożsamiono z trzema przemianami fazowymi – kolejno: z mięknięciem szkła, zimną krystalizacją i topnieniem formy I CBZ. Przemiany te były zgodne z doniesieniami literaturowymi dotyczącymi termicznego zachowania niezanieczyszczonego szkła CBZ [36,41–43,137].

Wykorzystując termogramy otrzymane dzięki pomiarom DSC, spróbowano oszacować stabilność szkła CBZ poniżej temperatury odszklenia przy użyciu rozszerzonego na stan szklisty modelu Adama i Gibbsa [143]. Zgodnie z nim, opis temperaturowej zależności czasów relaksacji strukturalnej może być przedstawiony w następujący sposób:

$$\tau = \tau_0 \exp\left(\frac{DT_0}{T\left(1 - \frac{T_0}{T_f}\right)}\right) \quad (12)$$

gdzie τ to czas relaksacji strukturalnej, τ_0 to stała równa częstotliwości drgań własnych atomów (10^{-14} s), D to parametr pozwalający sklasyfikować szkło pod względem jego kruchości (ang. *strength parameter*), T_0 to temperatura przejścia szklistego, dla której czas relaksacji strukturalnej dąży do nieskończoności, T_f to temperatura, w której wybrana nierównowagowa własność (np. objętość właściwa, czy entalpia), ekstrapolowana wzdłuż linii szkła, przecina się z linią równowagi cieczy (tzw. hipotetyczna temperatura przejścia szklistego, ang. *fictive temperature*), T to temperatura, dla której wyznaczana jest wartość τ .

Aby obliczyć T_f niezbędne jest wyznaczenie wartości pojemności cieplnych form krystalicznej C_p^x i amorficznych (szkła C_p^g i cieczy przechłodzonej C_p^l). W tym celu przeprowadza się pomiary MDSC (patrz wstawka na Rys. 55), a następnie uzyskane wartości pojemności cieplnej wykorzystuje w następujący sposób [144]:

$$\frac{1}{T_f} = \frac{\gamma C_p}{T_g} + \frac{1 - \gamma C_p}{T} \quad (13)$$

$$\gamma C_p = \frac{C_p^l - C_p^g}{C_p^l - C_p^x} \quad (14)$$

gdzie T_g to temperatura przejścia szklistego. Wartości D i T_0 oblicza się korzystając z następujących wzorów [145]:

$$D = \frac{\ln 10 * m_{min}^2}{m - m_{min}} \quad (15)$$

$$T_0 = T_g \left(1 - \frac{m_{min}}{m}\right) \quad (16)$$

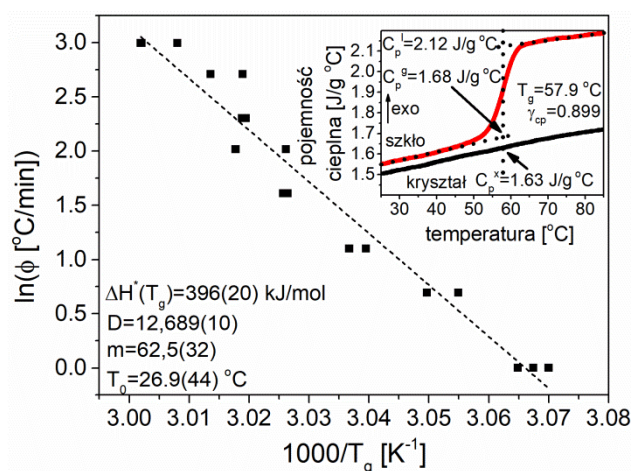
gdzie m to parametr określający kruchość szkła (ang. *fragility parameter*), zaś m_{min} to najmniejsza możliwa wartość tego parametru równa 16. Parametr m można obliczyć z równania [145]:

$$m = \left. \frac{d \log(\tau)}{d(T_g/T)} \right|_{T=T_g} = \frac{\Delta H^*(T_g)}{(\ln 10)RT_g} \quad (17)$$

gdzie R to stała gazowa, zaś $\Delta H^*(T_g)$ to tzw. pozorna entalpia aktywacji (ang. *apparent activation energy*), którą można wyznaczyć na podstawie pomiarów DSC z zależności szybkości grzania Φ od temperatury T_g :

$$\frac{\Delta H^*(T_g)}{R} = \frac{d \ln \Phi}{d(1/T_g)} \quad (18)$$

Uzyskana zależność $\ln(\Phi)$ od $1/T_g$ przedstawiona jest na Rys. 55, zaś obliczone wartości poszczególnych parametrów – w Tab. 18.



Rys. 55 Wykres zależności $\ln(\Phi)$ od $1000/T_g$ na podstawie pomiarów DSC zeszkłonej CBZ z różnymi szybkościami grzania; we wstawce zależność pojemności cieplnej od temperatury otrzymana z pomiarów MDSC z szybkością 1°C min^{-1} (amplituda modulacji 1°C min^{-1} , okres modulacji 40 s) dla krystalicznej i amorficznej CBZ.

Tab. 18 Parametry obliczone na podstawie równań (12)-(18).

T_g [°C]	T_f [°C]	T_0 [°C]	C_p^x [J g ⁻¹ °C ⁻¹]	C_p^l [J g ⁻¹ °C ⁻¹]	C_p^g [J g ⁻¹ °C ⁻¹]	γ_{cp}	$\Delta H^*(T_g)$ [kJ mol ⁻¹]	m	D	τ [dni]
58	54 (dla $T=25^\circ\text{C}$) 52 (dla $T=5^\circ\text{C}$)	-27	1.63	2.12	1.68	0.899	396	62.5	12.7	0.27 (dla $T=25^\circ\text{C}$) 17.6 (dla $T=5^\circ\text{C}$)

T_g – temperatura przejścia szklistego, wyznaczona jako punkt przegięcia krzywej DSC

T_f – hipotetyczna temperatura przejścia szklistego

T_0 – temperatura przejścia szklistego, dla której czas relaksacji strukturalnej dąży do nieskończoności

C_p^x – pojemność cieplna formy krystalicznej

C_p^l – pojemność cieplna cieczy przechłodzonej

C_p^g – pojemność cieplna szkła

γ_{cp} – parametr związany z pojemnościami cieplnymi, obliczony zgodnie z równaniem (14)

$\Delta H^*(T_g)$ – pozorna entalpia aktywacji

m, D – parametry umożliwiające określenie kruchości szkła

τ – czas relaksacji strukturalnej

Na podstawie równania (12) i odpowiednich parametrów wyznaczonych z równań (13)-(18) oszacowano stabilność zeszkłonej CBZ w RT (25°C) i lodówce (5°C). W pierwszym przypadku czas relaksacji był równy 0.27 dnia, czyli ~ 6.5 h. Wynik ten był w przybliżeniu zgodny z wynikiem uzyskanym podczas izotermicznych pomiarów XRD (pierwsze refleksy widoczne po upływie ~ 7.7 h). W drugim przypadku oszacowany czas

relaksacji był równy 17.6 dni, podczas gdy na podstawie pomiarów XRD ustalono, że pierwsze refleksy od fazy krystalicznej widoczne są już po upływie ~ 8.5 h, natomiast wzrost krystalitów jest znacząco spowolniony nawet przez ponad 40 dni. Jak pokazano w pracy Graeser *et al.* [146], chociaż czas relaksacji strukturalnej jest niewątpliwie ważnym parametrem wpływającym na stabilność substancji amorficznej, nie jest on jedynym czynnikiem determinującym tę stabilność. Dlatego też wyniki uzyskane na podstawie izotermicznych pomiarów XRD dają lepszy opis rzeczywistej stabilności amorficznej CBZ niż wyniki uzyskane z szacowania na podstawie nieizotermicznych pomiarów DSC.

Obliczone w niniejszej pracy wartości parametrów m i T_0 dla szkła CBZ otrzymanego metodą szybkiego chłodzenia (równe odpowiednio 62.5 oraz -27°C) porównano z wartościami uzyskanymi w pracy Li *et al.* [57] dla szkła CBZ otrzymanego na drodze dehydratacji uwodnionej CBZ (odpowiednio 35 oraz -104°C). Na tej podstawie stwierdzono, że szkło CBZ otrzymane metodą szybkiego chłodzenia jest bardziej kruche i mniej stabilne niż szkło otrzymane na drodze dehydratacji uwodnionej CBZ.

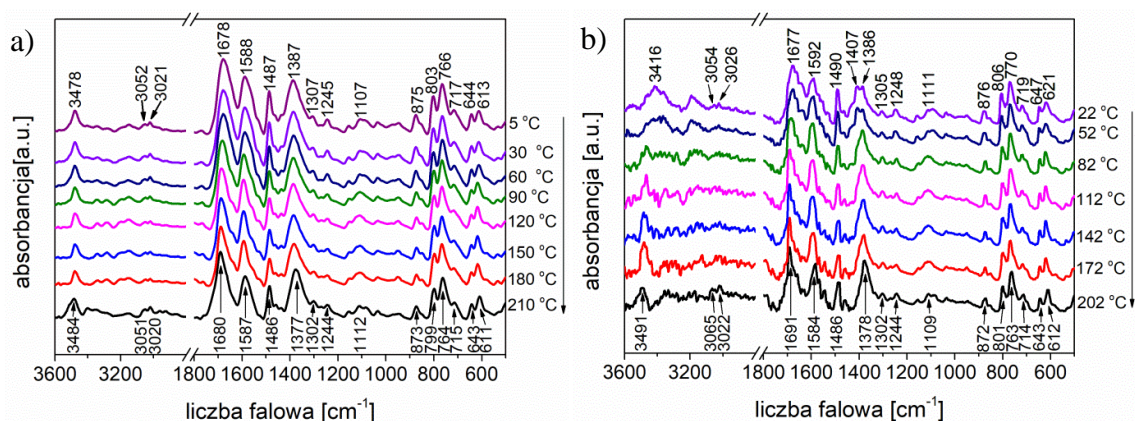
5.4.3. Wyniki analiz FTIR

Szkło CBZ na potrzeby temperaturowych pomiarów w podczerwieni (nazywane dalej próbką A) przygotowano w analogiczny sposób, jak na potrzeby pomiarów DSC, tj. w aparacie DSC. Tuż po schłodzeniu próbki, została ona wyjęta z celi pomiarowej. Zeszkłona CBZ została wydrapana z tygła DSC, zmieszana z KBr i sprasowana w celu utworzenia pastylki. Pomiary przeprowadzono w zakresie temperatur $5\text{-}210^\circ\text{C}$ ze średnią szybkością grzania 5°C min^{-1} , widma zbierano co 3°C . Dodatkowo przygotowano drugą próbkę, która w znaczącym stopniu (dużo większym niż próbka opisana w podrozdziale 5.1 *Charakterystyka termicznej stabilności krystalicznej formy karbamazepiny*) była zanieczyszczona IMB (próbkę tę nazwano próbką B, zaś próbkę ze wspomnianego wcześniej podrozdziału, tj. tę w niewielkim stopniu zanieczyszczoną IMB, nazwano próbką C). Próbkę B przygotowano jak następuje – krystaliczna CBZ została umieszczona na stoliku grzewczym o temperaturze 200°C . Po stopieniu próbki i zaobserwowaniu zmiany jej koloru na żółty (co świadczyło o znaczącym stopniu degradacji) próbka została przeniesiona wraz z tygłem, w którym się znajdowała, na metalową płytkę schłodzoną do temperatury ciekłego azotu. Następnie próbkę wydrapano

z tygła, zmieszano z KBr, uformowano pastylkę i umieszczono ją w komorze pomiarowej spektrometru. Pomiary przeprowadzono w zakresie temperatur 22-202°C ze średnią szybkością grzania 5°C min⁻¹, widma zbierano co 3°C.

Analizę uzyskanych wyników (dla próbek A i B) prowadzono w kilku kolejnych krokach: (i) przeanalizowano zmiany położenia najbardziej intensywnych pasm, (ii) przeprowadzono dwuwymiarową analizę korelacyjną (2DCA) i na jej podstawie zdefiniowano, które fragmenty molekuly jako pierwsze zmieniają swoją dynamikę na skutek zmiany temperatury, (iii) wykonano analizę przesuwnego okna (2DMW) i w ten sposób uwidoczniło temperatury, w których dynamika molekularna zmieniała się najbardziej znacząco, i które mogły być skorelowane z temperaturami przemian fazowych.

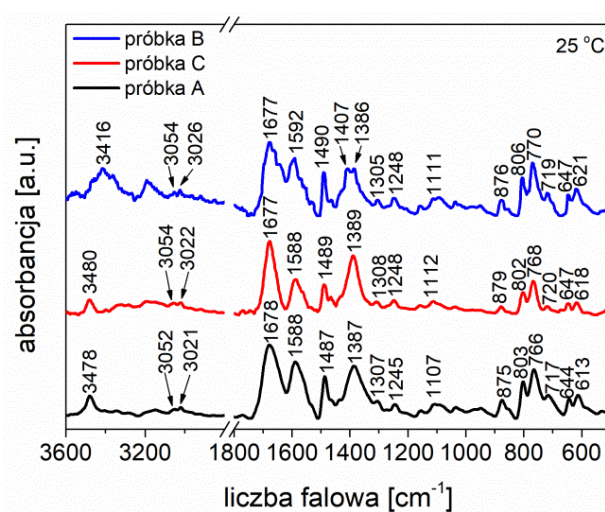
Na Rys. 56a przedstawiono przykładowe widma FTIR uzyskane podczas ogrzewania próbki A. W temperaturze pokojowej największą intensywność miały pasma: ~3478 cm⁻¹ (asymetryczne drgania rozciągające N-H), 1678 cm⁻¹ (drgania rozciągające C=O), 1588 cm⁻¹ (drgania rozciągające C=C oraz drgania nożycowe N-H), 1487 cm⁻¹ (drgania rozciągające C=C oraz drgania wahadłowe C_{ar}-H), 1387 cm⁻¹ (drgania wahadłowe C-N oraz N-H), 875, 803, 766 i 717 cm⁻¹ (pozapłaszczyznowe drgania zginające C_{ar}-H), 644 i 613 cm⁻¹ (pozapłaszczyznowe drgania zginające N-H) [23,109].



Rys. 56 Widma FTIR otrzymane podczas ogrzewania zeszlonej CBZ, tj. próbki A (a) oraz widma FTIR otrzymane podczas ogrzewania zeszlonej mieszaniny CBZ i IMB, tj. próbki B (b).

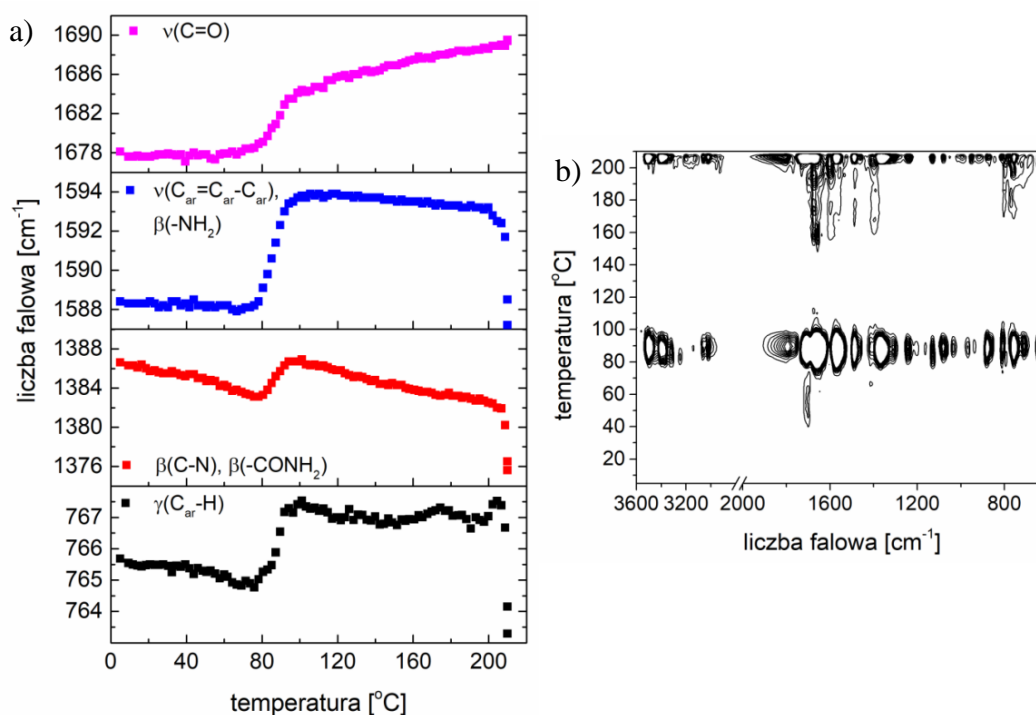
Porównując widmo FTIR otrzymane w RT dla próbki A z widmem FTIR krystalicznej formy I CBZ (szczegółowo opisanym np. w [23,24,27,121]) stwierdzono, że najbardziej znaczące różnice między widmami były widoczne w zakresie liczb falowych ~1590 cm⁻¹ oraz ~1690 cm⁻¹. Dla próbki krystalicznej pasmo związane z drganiami

rozciągającymi C=C oraz drganiami nożycowymi N–H było położone $\sim 1593\text{ cm}^{-1}$, podczas gdy dla próbki A było przesunięte o $\sim 5\text{ cm}^{-1}$ w stronę niższych liczb falowych. Podobnie pasmo obserwowane dla próbki krystalicznej $\sim 1688\text{ cm}^{-1}$, związane z drganiami rozciągającymi C=O, było przesunięte o $\sim 10\text{ cm}^{-1}$ w stronę niższych liczb falowych. Z drugiej strony, po porównaniu widma próbki A (zeszklonej CBZ, niezanieczyszczonej IMB) z widmem próbki C (zeszklonej CBZ, nieznacznie zanieczyszczonej IMB), okazało się, że widma te nie różniły się między sobą w sposób znaczący (patrz Rys. 57). Różny natomiast był obraz zmian dynamiki molekularnej podczas ogrzewania tych dwóch próbek, co pokazano w dalszej części tej pracy.



Rys. 57 Porównanie widm FTIR otrzymanych w RT dla próbki A (szkło CBZ niezanieczyszczone IMB), próbki B (szkło CBZ zanieczyszczone znaczną ilością IMB) i próbki C (szkło CBZ zanieczyszczone niewielką ilością IMB).

Analizując zmiany położenia poszczególnych pasm z temperaturą stwierdzono, że większość z nich znacząco przesuwiała się w zakresie temperatur 60-100°C (zmiana położenia o kilka, a nawet kilkanaście cm^{-1} – patrz Rys. 58a). Zmiany położenia pasm odzwierciedlały zmiany zachodzące w dynamice molekularnej następujące na skutek zachodzenia procesu zimnej krystalizacji CBZ. Na podstawie analizy 2DMW (patrz Rys. 58b) stwierdzono, że drgania wszystkich typów (tj. rozciągające, zginające w płaszczyźnie oraz poza płaszczyzną) były czułe na opisywane przejście fazowe. Przesunięcie pasma $\sim 1588\text{ cm}^{-1}$, związanego z drganiami nożycowymi N–H zaangażowanymi w tworzenie wiązania wodorowego, w stronę wyższych liczb falowych (o $\sim 6\text{ cm}^{-1}$) wskazywało na wzmacnianie i/lub tworzenie wiązań wodorowych w próbce podczas zachodzenia rozważanego procesu.



Rys. 58 Zależność położenia najbardziej intensywnych pasm na widmach FTIR od temperatury (a) oraz wyniki analizy przesuwnej okna (b) dla ogrzewania próbki A (zeszklonej CBZ niezanieczyszczonej IMB).

Wraz ze wzrostem temperatury aż do $\sim 200^{\circ}\text{C}$ nie było widać znaczących zmian położenia pasm. Powyżej tej temperatury najbardziej intensywne pasma mocno się przesunęły, co było związane ze zmianami w dynamice molekularnej odzwierciedlającymi topnienie próbki. Znacząco zmieniała się również intensywność pasm, co widać na Rys. 58b. Pasm $\sim 1593 \text{ cm}^{-1}$ przesunęło się w stronę niższych liczb falowych, co świadczyło o osłabianiu i zrywaniu wiązań wodorowych podczas omawianego przejścia fazowego.

Z powyższych rozważań wynika, że znaczące zmiany położenia pasm towarzyszyły dwóm przejściom fazowym – zimnej krystalizacji i topnieniu. Jednakże analiza 2DMW wskazywała na to, że znaczące zmiany intensywności pasm grupowały się wokół czterech temperatur: $\sim 56^{\circ}\text{C}$, $\sim 90^{\circ}\text{C}$, $\sim 175^{\circ}\text{C}$ i $\sim 207^{\circ}\text{C}$. Sugerowało to zachodzenie aż czterech przemian fazowych podczas ogrzewania próbki. Na podstawie pomiarów DSC ustalono, że zmiany dynamiki zachodzące $\sim 56^{\circ}\text{C}$ towarzyszyły mięknięciu szkła, $\sim 90^{\circ}\text{C}$ – zimnej krystalizację, zaś $\sim 207^{\circ}\text{C}$ – topnieniu próbki. Zmiany dynamiki $\sim 175^{\circ}\text{C}$ mogły zaś towarzyszyć przejściu fazowemu CBZ III – CBZ I. Przemiana ta nie była widoczna ani w pomiarach DSC ani XRD dla szklistej CBZ. Obecność fazy III CBZ w próbce badanej przy pomocy FTIR mogła być jednak łatwo wytłumaczona – jak pokazano w pracy Patterson *et al.* [40] mielenie CBZ prowadzi do

konwersji próbki CBZ do fazy III, niezależnie od fazy początkowej. Na potrzeby pomiarów FTIR niezbędne było zmieszanie szkła CBZ z KBr i to właśnie podczas tego procesu mogło dojść do częściowej konwersji.

Zaobserwowane dla próbki A zmiany dynamiki molekularnej podczas jej ogrzewania znacząco różniły się od zmian zaobserwowanych dla próbki C. Chociaż próbka C również ulegała czterem przemianom fazowym, to miały one miejsce w innych temperaturach ($\sim 40^{\circ}\text{C}$, $\sim 80^{\circ}\text{C}$, $\sim 115^{\circ}\text{C}$ i $\sim 190^{\circ}\text{C}$) i towarzyszyły częściowo innym przemianom fazowym (mięknieniu szkła, dwustopniowej zimnej krystalizacji, topnieniu). Obserwowane były też subtelne zmiany dynamiki między 135 a 150°C , związane z topieniem niewielkich ilości IMB (patrz Rys. 30 i Rys. 28).

W celu przeprowadzenia dwuwymiarowej analizy korelacyjnej wyników otrzymanych podczas ogrzewania próbki A, podzielono cały zakres temperatur na cztery obszary: (i) $5-69^{\circ}\text{C}$, (ii) $69-140^{\circ}\text{C}$, (iii) $140-188^{\circ}\text{C}$ i (iv) $188-210^{\circ}\text{C}$. Były one związane odpowiednio z: mięknieniem szkła, zimną krystalizacją, przejściem polimorficznym CBZ III – CBZ I i topnieniem. Wyniki 2DCA zebrano w Tab. 19.

Podczas wszystkich przemian fazowych, poza mięknieniem szkła, zaobserwowano znaczące zmiany intensywności większości charakterystycznych dla CBZ pasm. Obecność jedynie dodatnich pików krzyżowych na mapach synchronicznych świadczyła o tym, że wszystkie pasma podczas tych trzech przemian fazowych zmniejszały swoją intensywność (podczas zimnej krystalizacji i przejścia CBZ III – CBZ I) lub zwiększały (podczas topnienia). W przypadku mięknienia szkła obserwowane były znaczące zmiany intensywności dwóch pasm: 1417 i 1703 cm^{-1} , nie zaobserwowano zaś zmian intensywności najbardziej znaczących pasm. Na podstawie analizy map asynchronicznych ustalono sekwencję zmian intensywności drgań podczas kolejnych przemian fazowych (Tab. 19). Sekwencja ta była różna dla przejścia fazowego CBZ III – CBZ I obserwowanego podczas I grzania próbki C (patrz Tab. 5) i grzania próbki A (Tab. 19). Te rozbieżności mogły wynikać z faktu, że w pierwszym przypadku w próbce była obecna jedynie forma III CBZ, zaś w drugim mieszanina formy III i I, najprawdopodobniej ze znaczącą przewagą formy I.

Podsumowując pomiary spektroskopowe dla próbki A i C stwierdzono, że sama rejestracja widma tuż po zeszkleniu CBZ jest niewystarczająca do tego, aby twierdzić o czystości bądź zanieczyszczeniu niewielką ilością IMB otrzymanego szkła. Jedynie

pomiary temperaturowe (i ich dogłębna analiza) są w stanie te dwie próbki rozróżnić. Wydaje się, że najszybszym sposobem na odróżnienie takich próbek, wykorzystując spektroskopię FTIR, jest przeprowadzenie analizy 2DMW dla wyników uzyskanych w czasie ogrzewania substancji. Bowiernie temperatury mięknięcia szkła, dla próbki niezanieczyszczonej i nieznacznie zanieczyszczonej przez IMB, są drastycznie różne (odpowiednio ~56 °C i ~40 °C).

Tab. 19 Wyniki dwuwymiarowej analizy korelacyjnej przeprowadzonej dla ogrzewania próbki A (zeszklonej CBZ niezanieczyszczonej IMB).

Cykl	Analizowany zakres temperatur	Typ mapy	Uzyskana informacja	Liczba falowa [cm ⁻¹]
Grzanie	5-69°C (mięknięcie szkła)	mapa synchroniczna	autopiki	1417, 1703
			piki, których intensywność rośnie	1703
			piki których intensywność maleje	1417
		mapa asynchroniczna	sekwencja zmian intensywności drgań	1703 -> 1417
	69-140°C (zimna krystalizacja)	mapa synchroniczna	autopiki	759, 1568, 1657, 3501
			piki, których intensywność rośnie	-
			piki których intensywność maleje	759, 1369, 1568, 1657, 3501
		mapa asynchroniczna	sekwencja zmian intensywności drgań	3501 -> 1568 - 759 -> 1657 -> 1369
	140-188°C (CBZ III – CBZ I)	mapa synchroniczna	autopiki	1674
			piki, których intensywność rośnie	-
			piki których intensywność maleje	764, 1396, 1598, 1674
		mapa asynchroniczna	sekwencja zmian intensywności drgań	764 -> 1396 -> 1674 -> 1598
	188-210°C (topnienie)	mapa synchroniczna	autopiki	756, 1366, 1571, 1711, 3398, 3504
			piki, których intensywność rośnie	756, 1366, 1571, 1711, 3398, 3504
			piki których intensywność maleje	-
mapa asynchroniczna		sekwencja zmian intensywności drgań	756 -> 1366 -> 1571 -> 3398 -> 3504 -> 1711	

Inaczej ma się sytuacja w przypadku próbki, w której ilość IMB jest znacząca (powyżej kilku procent), tj. próbki B. W tej sytuacji widma próbki A i próbki B znacząco się różnią (patrz Rys. 57). Porównując widmo FTIR otrzymane w RT dla próbki B

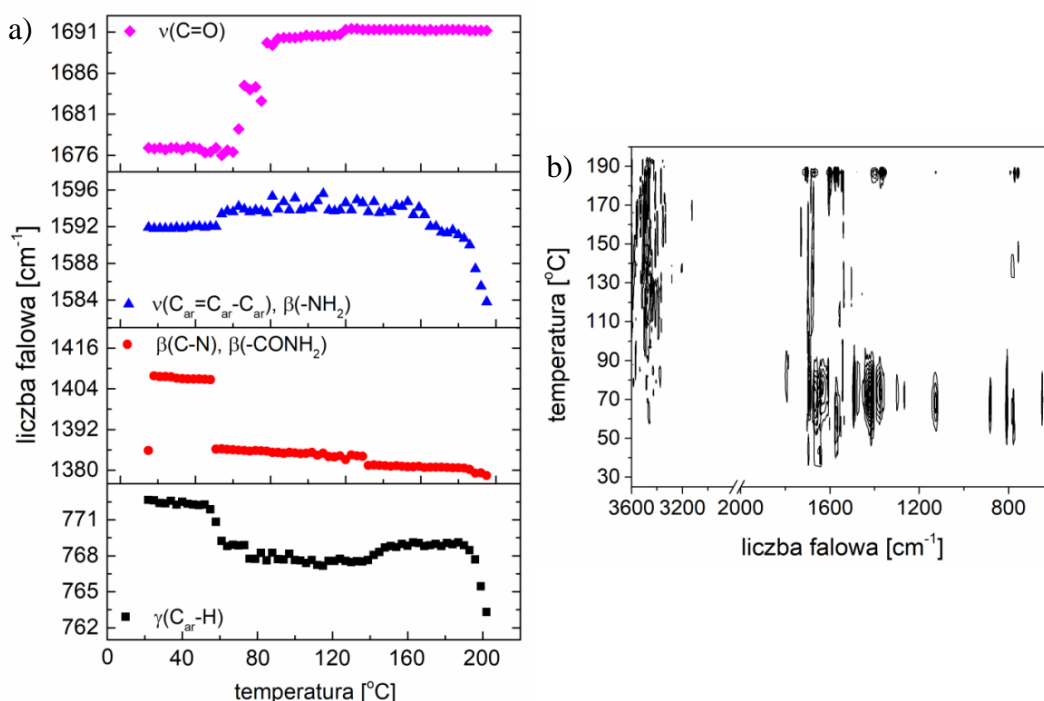
z widmem FTIR krystalicznej formy I CBZ (szczegółowo opisanym np. w [23,24,27,121]) stwierdzono, że najbardziej znaczące różnice między widmami były obserwowane w zakresie liczb falowych $\sim 3500\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$ oraz $\sim 1400\text{ cm}^{-1}$. Dla próbki krystalicznej pasmo związane z asymetrycznymi drganiami rozciągającymi N–H było położone $\sim 3485\text{ cm}^{-1}$, podczas gdy dla próbki B było przesunięte o $\sim 70\text{ cm}^{-1}$ w stronę niższych liczb falowych. Z kolei pasmo obserwowane dla próbki krystalicznej $\sim 1392\text{ cm}^{-1}$, związane z drganiami wahadłowymi N–H, O–H i C–N, było rozdwojone w przypadku próbki B – na widmie widoczne były dwa pasma $\sim 1408\text{ cm}^{-1}$ i $\sim 1386\text{ cm}^{-1}$ o zbliżonych intensywnościach. Te same obszary liczb falowych pozwalały odróżnić w RT widma zeszlonych próbek A i C od widma próbki B.

Również przejścia fazowe obserwowane dla próbki B podczas jej ogrzewania były różne od tych rejestrowanych dla próbek A i C. Analizując zmiany położenia poszczególnych pasm z temperaturą dla próbki B stwierdzono, że większość z nich znacząco przesuwała się w zakresie temperatur $50\text{-}90^\circ\text{C}$ (zmiana położenia o kilka, a nawet kilkanaście czy kilkadziesiąt cm^{-1} – patrz Rys. 59a). Zmiany położenia pasm odzwierciedlały zmiany zachodzące w dynamice molekularnej, następujące na skutek zimnej krystalizacji CBZ. Jak wynikało z analizy 2DMW (patrz Rys. 59b) drgania wszystkich typów (tj. rozciągające, zginające w płaszczyźnie oraz poza płaszczyzną) były czułe na opisywane przejście fazowe. Pasmo $\sim 1592\text{ cm}^{-1}$ nieznacznie przesuwało się wraz z temperaturą w stronę wyższych liczb falowych, co świadczyło o niewielkich zmianach w sile wiązania wodorowego.

Wraz ze wzrostem temperatury do $\sim 140^\circ\text{C}$ nie było widocznych zmian w widmach FTIR, co wskazywało na istnienie w tym rejonie fazy stabilnej termodynamicznie. Powyżej 140°C niewielkie zmiany w położeniu pasm na widmach FTIR były obserwowane i zostały skorelowane z zachodzeniem procesu topnienia IMB. Zmiany dynamiki molekularnej odzwierciedlały to przejście fazowe, niemniej jednak było ono mniej wyraźne niż proces zimnej krystalizacji. Wyniki analizy 2DMW sugerowały, że najbardziej czułe na zachodzenie procesu topnienia IMB były pasma położone w zakresie $\sim 1600\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$, tj. te związane z różnymi płaszczyznowymi drganiami zginającymi i rozciągającymi C=C i C=O.

Ostatnie widoczne zmiany na widmach FTIR były obserwowane $\sim 190^\circ\text{C}$ i zostały skorelowane z zachodzeniem procesu topnienia. Jak wynikało z analizy 2DMW

większość pasm zmieniała swoją intensywność w zakresie tego przejścia fazowego. Analizując zachowanie pasma $\sim 1596\text{ cm}^{-1}$ stwierdzono, że procesowi temu towarzyszyły znaczne zmiany w sile wiązania wodorowego (wiązanie było osłabiane i zrywane).



Rys. 59 Zależność położenia najbardziej intensywnych pasm na widmach FTIR od temperatury (a) oraz wyniki analizy przesuwającego okna (b) dla ogrzewania próbki B (zeszklonej CBZ zanieczyszczonej w znaczącym stopniu IMB).

Podobnie jak w przypadku próbki A, analiza 2DMW ujawniła zachodzenie procesu mięknięcia szkła. Dla próbki B zachodził on w temperaturze $\sim 41^{\circ}\text{C}$, czyli zdecydowanie niższej niż dla niezanieczyszczonej przez IMB próbki A ($\sim 56^{\circ}\text{C}$), ale podobnej do temperatury zaobserwowanej dla próbki C zanieczyszczonej w niewielkim stopniu przez IMB ($\sim 40^{\circ}\text{C}$). Dodatkowo, analiza ta pozwalała przypuszczać, że w próbce, po ustaniu zimnej krystalizacji, poza formą I obecne były również inne odmiany polimorficzne (np. forma III), ponieważ pewne zmiany intensywności pasm były widoczne ~ 157 i $\sim 175^{\circ}\text{C}$. Różne od formy I odmiany polimorficzne pojawiły się w próbce zapewne na skutek ucierania jej z KBr.

W celu przeprowadzenia dwuwymiarowej analizy korelacyjnej wyników otrzymanych podczas ogrzewania próbki B, podzielono cały zakres temperatur na cztery obszary: (i) $22\text{-}55^{\circ}\text{C}$, (ii) $55\text{-}100^{\circ}\text{C}$, (iii) $100\text{-}148^{\circ}\text{C}$ i (iv) $178\text{-}202^{\circ}\text{C}$. Były one odpowiednio związane z mięknięciem szkła, zimną krystalizacją, topnieniem IMB oraz topnieniem CBZ. Wyniki 2DCA zebrano w Tab. 20.

Tab. 20 Wyniki dwuwymiarowej analizy korelacyjnej przeprowadzonej dla ogrzewania próbki B (zeszklonej CBZ zanieczyszczonej w znaczącym stopniu IMB).

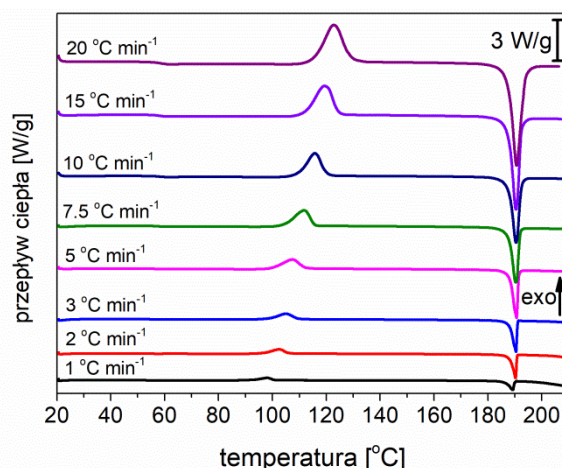
Cykl	Analizowany zakres temperatur	Typ mapy	Uzyskana informacja	Liczba falowa [cm ⁻¹]
Grzanie	22-55°C (mięknienie szkła)	mapa synchroniczna	autopiki	1645, 1662, 1698
			piki, których intensywność rośnie	1698
			piki których intensywność maleje	778, 1574, 1645, 1662
		mapa asynchroniczna	sekwencja zmian intensywności drgań	1698 -> 1574 -> 778 -> 1662 -> 1645
	55-100°C (zimna krystalizacja)	mapa synchroniczna	autopiki	809, 1381, 1414, 1490, 1692, 3483
			piki, których intensywność rośnie	1126, 1381, 1692, 3483
			piki których intensywność maleje	809, 1414, 1490, 1572
		mapa asynchroniczna	sekwencja zmian intensywności drgań	1692 -> 1490 -> 1572 -> 1381 -> 1414 -> 1126 -> 3483 -> 809
	100-148°C (topnienie IMB)	mapa synchroniczna	autopiki	780, 1377, 1555, 1680, 3477
			piki, których intensywność rośnie	780, 1377, 3477
			piki których intensywność maleje	1555, 1680
		mapa asynchroniczna	sekwencja zmian intensywności drgań	1680 -> 780 -> 1555 -> 1377 -> 3477
	178-202°C (topnienie CBZ)	mapa synchroniczna	autopiki	608, 624, 759, 774, 1365, 1404, 1573, 1602, 1701, 3462
			piki, których intensywność rośnie	608, 759, 1365, 1576, 1701
			piki których intensywność maleje	624, 774, 1404, 1602, 3462
mapa asynchroniczna		sekwencja zmian intensywności drgań	759 -> 1701 -> 608 -> 1365 -> 774 -> 1404 -> 1576 -> 1602 i 624 -> 3462	

Podczas wszystkich przemian fazowych, poza mięknieniem szkła, zaobserwowano znaczące zmiany intensywności większości charakterystycznych dla CBZ pasm, podobnie jak to miało miejsce dla próbki A. Obecność zarówno dodatnich, jak i ujemnych pików krzyżowych na mapach synchronicznych świadczyła o tym, że część pasm podczas przemian fazowych zwiększała swoją intensywność, zaś część zmniejszała. W przypadku zimnej krystalizacji na szczególną uwagę zasługiwał ujemny pik krzyżowy (1381, 1414) – odzwierciedlał on zauważoną już wcześniej obecność dwóch pasm w rejonie 1400 cm⁻¹. Zgodnie z teorią, jedno z tych pasm powinno zwiększać swoją intensywność wraz z zachodzeniem przemiany fazowej, zaś drugie – zmniejszać (gdyż rozważany pik na

mapie synchronicznej był ujemny). Faktycznie – podczas zimnej krystalizacji zaobserwowano zanikanie pasma $\sim 1414\text{ cm}^{-1}$ i wzrost intensywności pasma $\sim 1381\text{ cm}^{-1}$. W przypadku topnienia IMB intensywności pików na mapach – synchronicznej i asynchronicznej – były niższe niż dla procesu zimnej krystalizacji czy topnienia IMB. Niemniej jednak ta przemiana była dobrze widoczna. Synchroniczna mapa uzyskana dla obszaru topnienia CBZ wskazywała na to, że podczas omawianej przemiany fazowej doszło do intensywnego przesuwania niektórych pasm – stąd na mapie obecne były autopiki leżące stosunkowo blisko siebie, jak np. 608 i 624, 759 i 774, 1365 i 1404 czy 1573 i 1602. Podane liczby falowe parami (np. (608, 624)) tworzyły ujemne piki krzyżowe, co było zrozumiałe – podczas przesuwania się pasma intensywność odpowiadająca jednej liczbie falowej malała, zaś drugiej – rosła. Na podstawie analizy map asynchronicznych ustalono sekwencję zmian intensywności drgań podczas kolejnych przemian fazowych (patrz Tab. 20). Sekwencja ta była różna od tej obserwowanej dla próbki A czy C, co było zrozumiałe, gdyż próbki te znacząco różniły się między sobą składem.

5.5. Kinetyka nieizotermicznej zimnej krystalizacji amorficznej formy karbamazepiny

Nieizotermiczne pomiary DSC umożliwiły analizę kinetyki zimnej krystalizacji. Na Rys. 60 przedstawiono przykładowe termogramy uzyskane podczas ogrzewania amorficznej CBZ z różnymi szybkościami.



Rys. 60 Przykładowe termogramy uzyskane podczas ogrzewania amorficznej CBZ z różnymi szybkościami.

Dla wszystkich szybkości na termogramach widoczne były trzy przemiany fazowe – mięknięcie szkła, zimna krystalizacja i topnienie. Temperatura przejścia szklistego T_g ,

jak również temperatury związane z pikiem zimnej krystalizacji (T_o – temperatura związana z początkiem zachodzenia przemiany, ang. *onset temperature* oraz T_p – temperatura, w której pik osiąga maksimum) przesuwały się w stronę wyższych temperatur wraz ze wzrostem szybkości grzania. W tym samym czasie, entalpia zimnej krystalizacji ($\Delta H_{cold\ cryst}$) rosła. Wartości T_g , T_o i T_p , jak również $\Delta H_{cold\ cryst}$ dla kolejnych szybkości grzania zebrano w Tab. 21.

Tab. 21 Temperatury wybranych przemian fazowych obserwowanych podczas ogrzewania zeszkłonej CBZ z różnymi szybkościami oraz wartości entalpii zimnej krystalizacji.

Szybkość grzania [$^{\circ}\text{C min}^{-1}$]	T_g [$^{\circ}\text{C}$]	T_o [$^{\circ}\text{C}$]	T_p [$^{\circ}\text{C}$]	$\Delta H_{cold\ cryst}$ [J g^{-1}]
1	52.58	93.67	98.67	64.023
1	52.85	92.55	98.03	63.015
1	53.13	91.83	97.68	58.356
2	54.75	96.44	102.59	63.173
2	54.19	96.01	102.54	62.965
3	56.15	98.57	105.10	61.844
3	55.85	98.56	104.76	66.250
5	57.27	99.62	107.49	66.370
5	57.35	101.88	108.29	66.810
7.5	58.22	104.49	111.56	67.946
7.5	57.30	105.11	111.54	71.030
10	58.10	109.62	115.74	70.607
10	58.03	109.91	115.62	75.597
15	58.09	112.61	119.82	70.711
15	58.68	112.11	119.19	71.517
20	59.29	115.36	122.07	69.178
20	59.97	115.32	122.64	74.437
20	59.95	116.11	123.35	79.168

T_g – temperatura przejścia szklistego, wyznaczona jako punkt przegięcia krzywej DSC

T_o – temperatura początku zimnej krystalizacji (tzw. onset)

T_p – temperatura maksimum zimnej krystalizacji

$\Delta H_{cold\ cryst}$ – entalpia zimnej krystalizacji

5.5.1. Model Johnsona, Mehla i Avramiego

W pierwszej kolejności wyników pomiarów DSC użyto do opisu procesu zimnej krystalizacji amorficznej CBZ przy wykorzystaniu modelu JMA, który można zapisać w następujący sposób [74–76]:

$$\alpha = 1 - \exp[-(kt)^n] \quad (19)$$

gdzie α to ułamek wykrystalizowanej substancji, n to bezwymiarowy wykładnik eksponenty, nazywany często stałą mechanizmu (ang. *mechanism constant*), którego wartość zależy zarówno od parametrów opisujących proces nukleacji jak i wzrost

krystalitów, k to niezależna od czasu t stała, która ma wymiar szybkości reakcji i może być opisana w sposób podany przez Arrheniusa [82]:

$$k = A \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (20)$$

gdzie A to czynnik przedeksponencjalny, E_a to wartość energii aktywacji, R to stała gazowa, T to temperatura absolutna. Jako że model JMA został pierwotnie wyprowadzony dla izotermicznej krystalizacji, niezbędne jest określenie relacji między czasem krystalizacji t a temperaturą T , która ulega zmianie podczas pomiarów nieizotermicznych. Relacja ta wygląda następująco [70]:

$$t = \frac{|T_0 - T|}{\Phi} \quad (21)$$

gdzie T to temperatura w chwili t , T_0 to temperatura w której krystalizacja rozpoczyna się, zaś Φ to szybkość grzania. Po przekształceniach równanie (19) może być napisane w następującej formie:

$$\log[-\ln(1 - \alpha)] = n \log t + n \log k \quad (22)$$

Z kolei ułamek wykrystalizowanej substancji dla każdej szybkości grzania może być zdefiniowany jako następująca funkcja temperatury [147]:

$$\alpha(T) = \frac{\int_{T_0}^T (dH_c/dT) dT}{\int_{T_0}^{T_{end}} (dH_c/dT) dT} \quad (23)$$

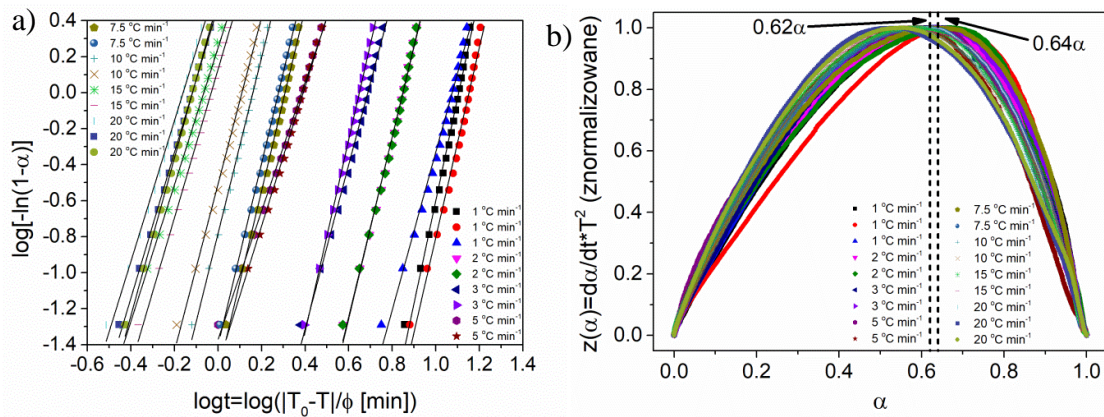
gdzie T_{end} to temperatura w której krystalizacja kończy się, zaś dH_c/dT to wartość przepływu ciepła w temperaturze T .

Rys. 61a przedstawia zależność $\log[-\ln(1 - \alpha)]$ vs $\log t$. Na podstawie dopasowania linii prostej do otrzymanych punktów eksperymentalnych i równania (22) można oszacować wartości parametrów n i k . Wcześniej jednak istotne jest sprawdzenie, czy warunki modelu JMA są spełnione. Poza założeniem, że (i) krystalizacja zachodzi w warunkach izotermicznych, dodatkowo (ii) nukleacja powinna być homogeniczna lub heterogeniczna, ale z przypadkowym rozkładem cząstek fazy obcej oraz (iii) szybkość wzrostu nowej fazy powinna być kontrolowana przez temperaturę i niezależna od czasu [78]. W przypadku badań przedstawionych w niniejszej pracy, pierwsze założenie, tj. o izotermicznej krystalizacji, nie było spełnione, ale jak skomentowane przez Avramiego

[74] i opisywane przez Jeziernego [77] – w niektórych przypadkach model JMA może być z powodzeniem używany również do opisu krystalizacji nieizotermicznej. Malek w swojej pracy [78] zaproponował kilka prostych testów na sprawdzenie poprawności użycia modelu JMA do opisu krystalizacji nieizotermicznej. Jeden z nich polega na obliczeniu funkcji $z(\alpha)$, która dana jest następującym wzorem:

$$z(\alpha) = \frac{d\alpha}{dt} T^2 \quad (24)$$

i może być obliczona na podstawie danych eksperymentalnych. Aby uznać założenia modelu JMA za spełnione, maksimum otrzymanej funkcji powinno zawierać się w przedziale 0.62α do 0.64α . Test Maleka przeprowadzony dla wyników pomiarów DSC przedstawionych w niniejszej pracy pokazał, że model JMA nie może być wykorzystany do poprawnego opisu kinetyki zimnej krystalizacji zeszkłonej CBZ, ponieważ maksimum funkcji $z(\alpha)$ było zawarte w przedziale 0.5α - 0.66α (patrz Rys. 61b).



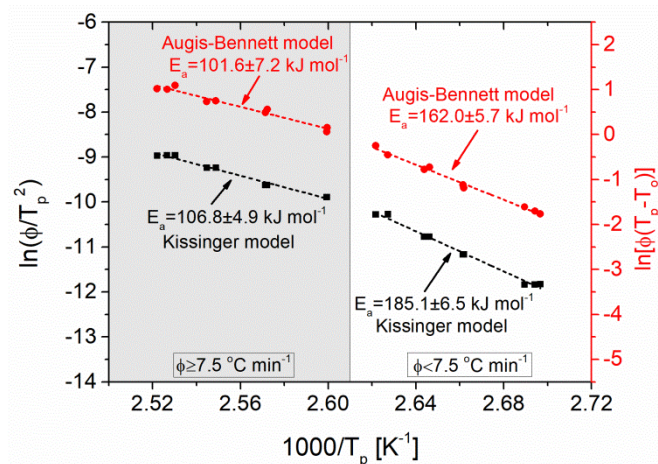
Rys. 61 Wykres zależności $\log[-\ln(1-\alpha)]$ vs $\log t$ (model JMA) (a) oraz wykres zależności $z(\alpha)$ vs α (test Maleka poprawności modelu JMA) (b). Linie na wykresie (a) oznaczają dopasowanie do punktów doświadczalnych równania (22).

5.5.2. Model Kissingera

W kolejnym kroku przyjrzano się modelowi Kissingera [79,80], który jest często stosowany do wyznaczania energii aktywacji zimnej krystalizacji dla pomiarów nieizotermicznych [57,147,148]. Wartość E_a może być oszacowana na podstawie zmienności temperatury maksimum piku krystalizacji T_p z szybkością grzania Φ :

$$\ln \frac{\Phi}{T_p^2} = C_{KS} - \frac{E_a}{RT_p} \quad (25)$$

gdzie C_{KS} to parametr dopasowania. Dopasowanie prostej opisanej równaniem (25) do danych eksperymentalnych przedstawiono na Rys. 62. Okazało się, że aby prawidłowo dopasować proste należało podzielić dane eksperymentalne na dwa obszary – punkty dla niskich szybkości grzania ($\Phi < 7.5^\circ\text{C min}^{-1}$) i wysokich szybkości grzania ($\Phi \geq 7.5^\circ\text{C min}^{-1}$). Fakt ten oznaczał, że istniały dwa różne mechanizmy zimnej krystalizacji – dla niskich i wysokich szybkości grzania. Energia aktywacji dla niższych szybkości grzania wynosiła 185 kJ mol^{-1} , podczas gdy dla wyższych 107 kJ mol^{-1} .



Rys. 62 Wykresy zależności $\ln(\Phi/T_p^2)$ vs $1000/T_p$ (czarne kwadraty, model KS) i $\ln(\Phi/(T_p-T_o))$ vs $1000/T_p$ (czerwone kółka, model AB) dla procesu zimnej krystalizacji zeszkłonej CBZ. Przerywane linie oznaczają dopasowanie równania (25) (czarne linie) i (27) (czerwone linie) do danych eksperymentalnych.

Model KS był stosowany wcześniej do badań nieizotermicznej zimnej krystalizacji mieszaniny CBZ z nikotynamidem (NCT) [148]. W cytowanej pracy do danych eksperymentalnych również dopasowano dwie proste. Zmiana nachylenia następowała dla szybkości $9.7^\circ\text{C min}^{-1}$. Istnienie dwóch różnych regionów było wyjaśnione jako następstwo dwóch różnych mechanizmów krystalizacji: jednym z nich była osobna krystalizacja komponent układu (tj. CBZ lub NCT), zaś drugim – krystalizacja mieszaniny CBZ–NCT. Wartość energii aktywacji wynosiła 37.6 kJ mol^{-1} dla wyższych szybkości grzania i krystalizacji mieszaniny oraz 83.4 kJ mol^{-1} dla niższych szybkości grzania i krystalizacji pojedynczych składników mieszaniny.

Model KS został również zastosowany do wyznaczenia energii aktywacji zimnej krystalizacji amorficznej CBZ otrzymanej na drodze dehydratacji uwodnionej próbki ([57]). Do danych eksperymentalnych dopasowano jedną prostą i wyznaczono energię aktywacji równą 157 kJ mol^{-1} . Patrząc na wyniki przedstawione w cytowanej pracy wydaje się jednak, że dopasowanie dwóch prostych – dla niższych i wyższych szybkości

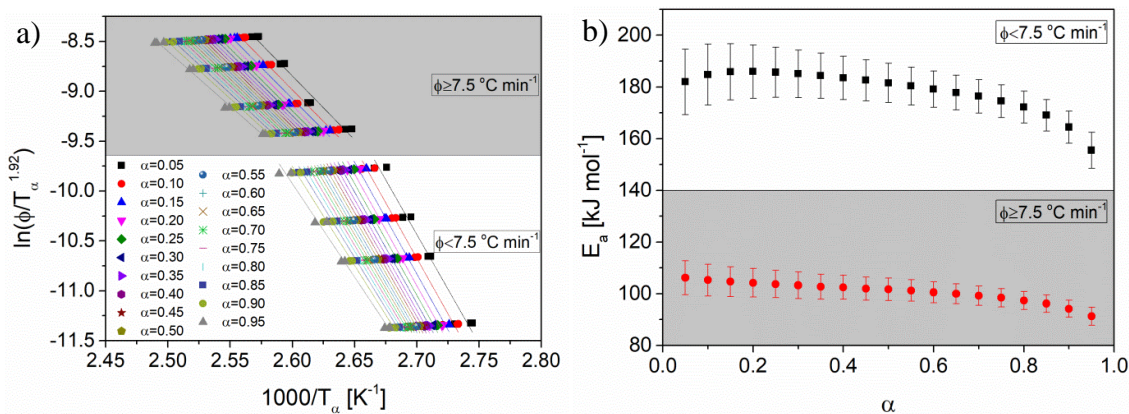
grzania – mogłoby zwiększyć dokładność dopasowania i lepiej opisywałoby rozważany proces.

Niezależnie od kwestii dopasowania, istotne wydaje się pytanie, czy jakiegokolwiek wykorzystanie modelu KS do danych otrzymanych dla procesu zimnej krystalizacji może nieść sensowne fizycznie informacje, ponieważ jak już wcześniej wspomniano model ten został wyprowadzony dla reakcji pierwszego [79], a następnie n -tego rzędu [80], nie zaś procesu krystalizacji obejmującego nukleację i wzrost krystalitów. Model KS zakłada m.in. (i) liniową szybkość grzania, (ii) jednostopniową kinetykę, czy (iii) niezależność modelu kinetycznego od szybkości grzania [81]. W związku z tym również w przypadku tego modelu niezbędne były testy pozwalające ocenić czy proces zimnej krystalizacji amorficznej CBZ spełnia te założenia. O ile pierwsze z nich (liniowa szybkość grzania) było spełnione i nie wymagało skomplikowanego testowania, o tyle dwa kolejne trzeba było sprawdzić.

W celu sprawdzenia czy rozważany proces można opisać jako proces jednostopniowy, użyto jednej z metod izokonwersyjnych. Najczęściej stosowaną metodą jest metoda Ozawy, Flynna i Walla, jednakże może być ona bardzo niedokładna. Dlatego też zaleca się stosowanie metody Kissingera, Akahiry i Sunose lub metody Starinka [81]. W niniejszej pracy wykorzystana została najbardziej dokładna z wymienionych metod, tj. metoda Starinka [149], która może być opisana następującym równaniem:

$$\ln\left(\frac{\Phi_i}{T_{\alpha,i}^{1,92}}\right) = C_{ST} - 1.0008 * \left(\frac{E_{\alpha}}{RT_{\alpha}}\right) \quad (26)$$

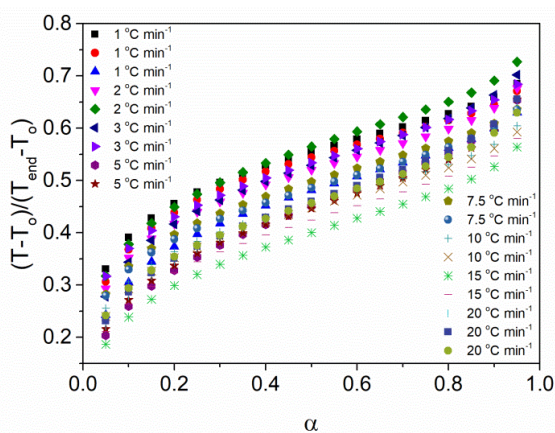
gdzie i to indeks numerujący kolejne szybkości grzania, C_{ST} to stała wynikająca z dopasowania. Z dopasowania linii prostej danej wzorem (26) do otrzymanych wyników obliczone zostały wartości energii aktywacji E_{α} dla kolejnych ułamków wykrystalizowanej substancji α (patrz Rys. 63).



Rys. 63 Wykres zależności $\ln(\Phi/T_\alpha^{1.92})$ vs $1000/T_\alpha$ (model Starinka) z dopasowaniem równania (26) do danych eksperymentalnych (linie przerywane) (a) oraz uzyskany na podstawie tych wyników wykres zależności E_a od α (b).

Ponownie otrzymano dwa różne zestawy wartości E_a dla niższych i wyższych szybkości grzania. Różnica między maksymalną wartością E_a a średnią wynosiła $\sim 5\%$, podczas gdy różnica między minimalną wartością E_a a średnią wynosiła $\sim 15\%$. Jako że akceptowany zakres rozbieżności to 20-30%, proces zimnej krystalizacji amorficznej CBZ mógł być opisywany jako proces jednostopniowy.

Ostatnim założeniem modelu KS, które sprawdzono, była niezmienniczość modelu kinetycznego z szybkością grzania. Założenie to najłatwiej sprawdzić analizując kształt pików zimnej krystalizacji dla różnych szybkości grzania. Już na pierwszy rzut oka zauważono, że pik ten znacząco zmieniał swój kształt wraz ze zmianą szybkości grzania (patrz Rys. 60). Wraz ze wzrostem szybkości grzania pik stawał się bardziej symetryczny, a jego maksimum przesuwało się w stronę niższego α , co obrazowo przedstawiono na Rys. 64. W związku z tym rozważane w tym akapicie założenie nie było spełnione.



Rys. 64 Wykres zależności znormalizowanej względem T_o i T_{end} temperatury pików zimnej krystalizacji w funkcji ułamka wykryzalizowanej substancji α dla różnych szybkości grzania (gdzie T_o – temperatura początku zimnej krystalizacji, T_{end} – temperatura końca zimnej krystalizacji).

W tym miejscu warto jednak dodać, że dla wielu modeli reakcji błąd wyznaczenia E_a , na skutek nie spełnienia założenia o niezmienniczości modelu kinetycznego z szybkością grzania, jest mniejszy niż 5% [81]. W związku z tym wartość energii aktywacji otrzymanej przy wykorzystaniu modelu KS dla procesu zimnej krystalizacji amorficznej CBZ mogłaby być uznana za poprawną fizycznie. Jednakże w dalszej części niniejszego podrozdziału zostanie pokazane, że model KS ma jeszcze jedno ważne ograniczenie w kontekście opisywania kinetyki krystalizacji i nie jest on najbardziej fortunnym modelem do opisu tego typu reakcji.

5.5.3. Model Augisa i Bennetta

Choć równanie opisujące model Augisa i Bennetta na pierwszy rzut oka może się wydawać podobne do modelu Kissingera, te dwa modele znacząco się od siebie różnią. Przede wszystkim, jak już wcześniej wspomniano, model KS został wyprowadzony dla reakcji n -tego rzędu, podczas gdy model AB został wyprowadzony wychodząc z równania Avramiego (19), opisującego właśnie kinetykę procesu krystalizacji [82]. Model AB rozszerza model JMA na warunki nieizotermiczne i nie zakłada żadnej konkretnej rzędowości reakcji. W porównaniu do modelu KS, model AB do oszacowania energii aktywacji rozważanego procesu wykorzystuje, poza szybkością grzania Φ i temperaturą maksimum piku krystalizacji T_p , również temperaturę początku piku krystalizacji T_0 :

$$\ln \frac{\Phi}{T_p - T_0} = C_{AB} - \frac{E_a}{RT_p} \quad (27)$$

gdzie C_{AB} to parametr dopasowania. Wynik dopasowania równania (27) do punktów eksperymentalnych przedstawiono na Rys. 62. Podobnie jak w przypadku modelu KS, otrzymano dwa różne dopasowania – dla niższych i wyższych szybkości grzania. Oszacowane wartości energii aktywacji z modeli KS ($\sim 107 \text{ kJ mol}^{-1}$) i AB ($\sim 102 \text{ kJ mol}^{-1}$) były sobie równe w granicach niepewności pomiarowych dla wysokich szybkości grzania, natomiast dla niskich szybkości grzania wartość E_a , obliczona z modelu AB ($\sim 162 \text{ kJ mol}^{-1}$), była $\sim 13\%$ niższa niż z modelu KS ($\sim 185 \text{ kJ mol}^{-1}$). Wartości te nie były ze sobą zgodne w granicach niepewności pomiarowych.

Model AB umożliwia także obliczenie wartości wykładnika eksponenty Avramiego n (patrz Tab. 22) z poniższego wzoru:

$$n = \frac{2,5}{\Delta\tau_{FWHM}} * \frac{T_p^2}{\frac{\Delta E_a}{R}} \quad (28)$$

gdzie $\Delta\tau_{FWHM}$ to szerokość połówkowa piku zimnej krystalizacji.

O ile model AB prawidłowo opisuje kinetykę krystalizacji w porównaniu do modelu KS, posiada on pewne ograniczenia. Mianowicie, aby prawidłowo interpretować otrzymane dane (np. wartość parametru n), niezbędna jest wiedza z innych źródeł na temat procesu krystalizacji. W szczególności model ten nie jest w stanie rozróżnić krystalizacji powierzchniowej od objętościowej. W dalszej części tego podrozdziału zostanie pokazany bardziej rozbudowany model, który takie rozróżnienie umożliwia.

Tab. 22 Wartości parametrów n i m obliczone na podstawie różnych modeli.

Nieizotermiczny model Avramiego								
Szybkość grzania [°C min ⁻¹]	1	2	3	5	7.5	10	15	20
Parametr n	5.1±2.8	5.0±2.0	5.0±1.8	3.7±1.6	5.1±1.6	4.8±1.8	4.0±1.9	6.2±1.4
Model Augisa i Bennetta								
Szybkość grzania [°C min ⁻¹]	1	2	3	5	7.5	10	15	20
Parametr n	3.64±0.13	3.23±0.11	3.02±0.11	2.79±0.10	4.77±0.34	5.27±0.37	4.38±0.31	4.28±0.30
Model Ozawy								
Temperatura [°C]	108		110		112		114	
Szybkość grzania [°C min ⁻¹]	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5
Parametr n	1.32±0.16	6.88±0.64	1.35±0.21	6.27±0.39	1.16±0.19	5.09±0.25	1.04±0.18	4.62±0.20
Model Maturity								
Temperatura [°C]	108		110		112		114	
Szybkość grzania [°C min ⁻¹]	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5
Parametr n	1.32±0.16	6.88±0.64	1.35±0.21	6.27±0.39	1.16±0.19	5.09±0.25	1.04±0.18	4.62±0.20
Parametr m	1	6	1	5	1	4	1	4

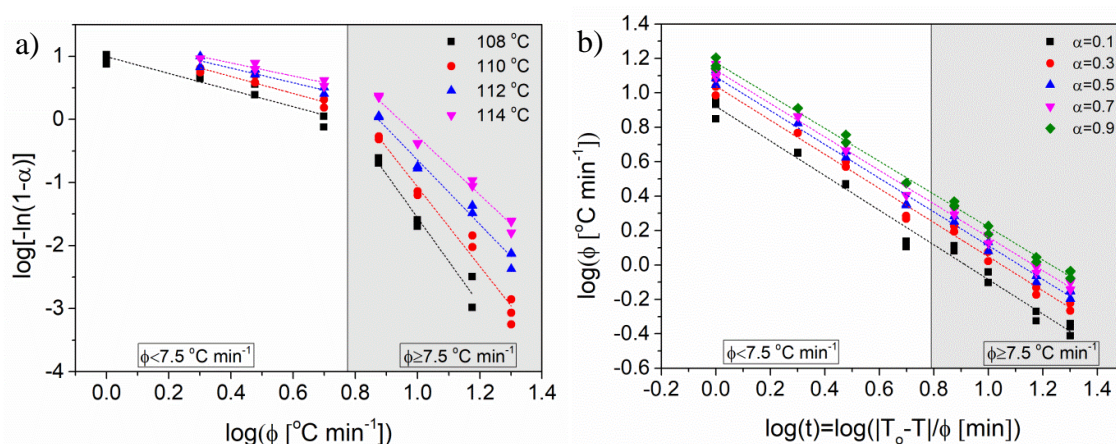
5.5.4. Model Ozawy

Innym modelem wyprowadzonym właśnie dla procesu krystalizacji jest model Ozawy. Opiera się on na następującym równaniu [83]:

$$\log[-\ln(1 - \alpha)] = C_{Oz} - n \log(\Phi) \quad (29)$$

gdzie C_{Oz} jest parametrem dopasowania. Podobnie jak model AB, model OZ daje możliwość obliczenia wartości wykładnika eksponenty Avramiego n . W tym przypadku

parametr ten jest otrzymywany na drodze dopasowania prostej opisanej równaniem (29) do danych eksperymentalnych (patrz Rys. 65a) i nie wymaga informacji o wartości $\Delta\tau_{FWHM}$ poszczególnych pików, jak to miało miejsce w przypadku modelu AB. Podobnie jak w przypadku wcześniejszych modeli zastosowanych do wyników analiz DSC przeprowadzonych dla CBZ, również dla modelu OZ widoczna była konieczność dopasowania prostych o różnym nachyleniu – dla niższych i wyższych szybkości grzania. Proste otrzymane dla różnych temperatur nie były do siebie równoległe co wskazywało na to, że proces zimnej krystalizacji amorficznej CBZ był zależny od temperatury. Porównując modele AB i OZ, stwierdzono, że pierwszy z nich daje możliwość obliczenia parametru n w funkcji szybkości grzania, podczas gdy drugi – w funkcji temperatury (patrz Tab. 22). Żaden z tych modeli nie daje możliwości obliczenia parametru n zarówno w funkcji szybkości grzania, jak i temperatury. Żaden z tych modeli nie pozwala również odróżnić krystalizacji powierzchniowej od objętościowej.



Rys. 65 Wykres zależności $\log[-\ln(1-\alpha)]$ vs $\log(\Phi)$ (model OZ) wraz z dopasowaniem równania (29) do danych eksperymentalnych (przerywane linie) (a) oraz wykres zależności $\log(\Phi)$ vs $\log t$ (model MO) wraz z dopasowaniem równania (30) do danych eksperymentalnych (przerywane linie) (b).

5.5.5. Model Mo

Model Mo został zaproponowany aby rozwiązać problem krystalizacji drugorzędowej, która jest pomijana w modelach JMA i OZ, a odgrywa znaczącą rolę w przypadku krystalizacji np. polimerów. Został on wyprowadzony jako połączenie modelu JMA zmodyfikowanego przez Jeziornego oraz modelu OZ i jest opisywany następującym wzorem [70]:

$$\log\Phi = \log F(T) - a \log t \quad (30)$$

gdzie $F(T)$ to ściśle zdefiniowana stała (patrz [70]), zaś a to stosunek wykładnika eksponenty Avramiego do wykładnika eksponenty Ozawy. Chociaż podane rozwiązanie pozwoliło uzyskać satysfakcjonujące dopasowanie równania (30) do punktów eksperymentalnych (patrz Rys. 65b), nie niosło ono jednak konkretnych informacji na temat procesu krystalizacji (wartość parametru a nie informuje o mechanizmie krystalizacji, jest to jedynie pewien stosunek).

5.5.6. Model Maturity

Model Maturity jest najbardziej rozbudowanym ze wszystkich opisywanych dotychczas modeli. W większości przypadków pozwala on nie tylko wyznaczyć energię aktywacji obserwowanego procesu, ale również rozróżnić między krystalizacją powierzchniową a objętościową. Model MS rozszerza model OZ i model KS w następujący sposób:

$$\ln\Phi = -\frac{mE_a}{nRT} - \frac{1}{n}\ln[-\ln(1-\alpha)] + C_{MS1} \quad (31)$$

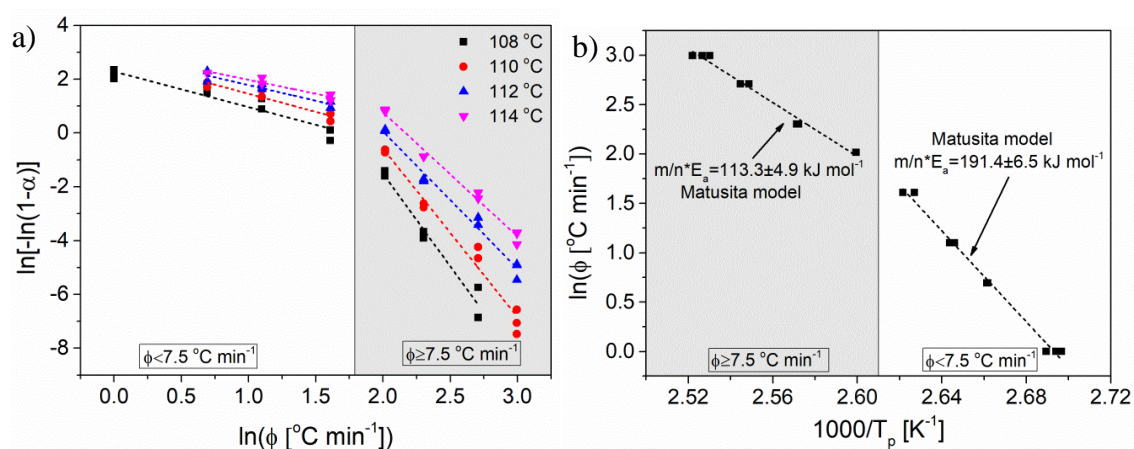
$$\ln\left(\frac{\alpha^n}{T_p^2}\right) = -\frac{mE_a}{RT_p} + C_{MS2} \quad (32)$$

gdzie n i m to parametry opisujące mechanizm krystalizacji i wymiarowość wzrostu kryształitów, zaś C_{MS1} i C_{MS2} to parametry dopasowania. Model MS jest równoważny z modelem OZ jedynie wówczas gdy $n=m$. Taka sytuacja ma miejsce, gdy w próbce zachodzi krystalizacja powierzchniowa lub krystalizacja objętościowa, dla której liczba zarodków jest stała w czasie. Gdy w próbce zachodzi krystalizacja objętościowa ze zmieniającą się liczbą zarodków w czasie, to $n \neq m$ i jedynie model MS jest słuszny. Z kolei w przypadku modelu MS i KS równoważność występuje jedynie w momencie, gdy $n=m=1$, czyli kiedy w próbce zachodzi krystalizacja powierzchniowa. W przeciwnym przypadku tylko model MS jest słuszny. W tym miejscu warto zauważyć, że parametry n i m z modelu MS nie powinny być mylone z wykładnikami eksponenty Avramiego i Ozawy. Prawidłowa interpretacja parametrów modelu MS została przez Autorów tego modelu ściśle podana, co przedstawiono w Tab. 23.

Tab. 23 Sposób interpretacji wartości parametrów n i m z modelu MS dla różnych mechanizmów krystalizacji.

Mechanizm krystalizacji	n	m
<i>Krystalizacja objętościowa ze stałą liczbą zarodków w czasie ($n=m$)</i>		
Trójwymiarowy wzrost krystalitów	3	3
Dwuwymiarowy wzrost krystalitów	2	2
Jednowymiarowy wzrost krystalitów	1	1
<i>Krystalizacja objętościowa z rosnącą liczbą zarodków w czasie ($n=m+1$)</i>		
Trójwymiarowy wzrost krystalitów	4	3
Dwuwymiarowy wzrost krystalitów	3	2
Jednowymiarowy wzrost krystalitów	2	1
<i>Krystalizacja powierzchniowa ($n=m=1$)</i>	1	1

Dopasowanie równania (31) do danych eksperymentalnych przedstawiono na Rys. 66. Podobnie jak w poprzednich modelach niezbędne były dwie proste o różnych nachyleniach, aby uzyskać satysfakcjonujące dopasowanie. Aby wyznaczyć energię aktywacji najpierw z wykresu zależności $\ln[-\ln(1-\alpha)]$ vs $\log(\Phi)$ wyznaczono parametr n . Następnie wyznaczono parametr m bazując na wiedzy dotyczącej zachodzącego procesu krystalizacji. Na koniec wartość E_a została wyznaczona z wykresu zależności $\log(\Phi)$ vs $1000/T_p$. Obliczone w ten sposób wielkości przedstawiono w Tab. 22 i Tab. 24.



Rys. 66 Wykresy zależności $\ln[-\ln(1-\alpha)]$ vs $\log(\Phi)$ (model MS) wraz z dopasowaniem równania (31) do danych eksperymentalnych (przerywane linie) (a) oraz wykres zależności $\log(\Phi)$ vs $1000/T_p$ (model MS) wraz z dopasowaniem równania (31) do danych eksperymentalnych (przerywane linie) (b).

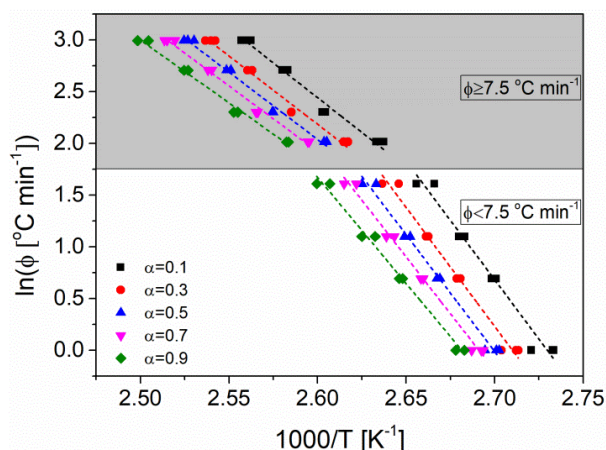
Tab. 24 Energia aktywacji zimnej krystalizacji obliczona na podstawie różnych modeli.

		Model Kissingera							
Szybkość grzania [°C min ⁻¹]		<7.5				≥7.5			
Energia aktywacji [kJ mol ⁻¹]		185.1±6.5				106.8±4.9			
		Model Augisa i Bennetta							
Szybkość grzania [°C min ⁻¹]		<7.5				≥7.5			
Energia aktywacji [kJ mol ⁻¹]		162.0±5.7				101.6±7.2			
		Model Maturity (dla $\log(\Phi)$ w funkcji odwrotności temperatury maksimum piku $1000/T_p$)							
Temperatura [°C]		108		110		112		114	
Szybkość grzania [°C min ⁻¹]		<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5
Energia aktywacji [kJ mol ⁻¹]		191.3±6.5	132.2±5.7	191.3±6.5	136.0±5.9	191.3±6.5	141.6±6.1	191.3±6.5	141.6±6.1

W tym miejscu warto zaznaczyć, że model MS daje również możliwość obliczenia E_a w funkcji α (patrz Tab. 25). Wówczas zależność $\log(\Phi)$ nie jest rysowana w funkcji odwrotności temperatury maksimum piku (tak jak to przedstawiono na Rys. 66b), ale w funkcji odwrotności temperatury, dla której ułamek wykrystalizowanej substancji osiąga konkretną wartość (tak jak to przedstawiono na Rys. 67). W przypadku amorficznej CBZ wartość E_a nieznacznie zmieniała się z α . Na początku krystalizacji (tj. dla $\alpha=0.1$) E_a była o ~11% wyższa niż na końcu krystalizacji (tj. dla $\alpha=0.9$). Wartości E_a , obliczone z zależności $\log(\Phi)$ od odwrotności temperatury maksimum piku, były bliskie wartościom uzyskanym dla $\alpha=0.1$ (porównaj Tab. 24 i Tab. 25).

Tab. 25 Energia aktywacji obliczona z modelu Matusity dla przypadku gdy wartość $\log(\Phi)$ jest rysowana w funkcji odwrotności temperatury, dla której ułamek wykrystalizowanej substancji osiąga konkretną wartość $1000/T$.

$\alpha=0.1$								
Temperatura [°C]	108		110		112		114	
Szybkość grzania [°C min ⁻¹]	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5
Energia aktywacji [kJ mol ⁻¹]	190.8±6.2	130.9±4.7	190.8±6.2	133.8±4.6	190.8±6.2	139.4±4.4	190.8±6.2	139.4±4.4
$\alpha=0.3$								
Temperatura [°C]	108		110		112		114	
Szybkość grzania [°C min ⁻¹]	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5
Energia aktywacji [kJ mol ⁻¹]	191.2±4.8	127.8±4.0	191.2±4.8	131.5±3.9	191.2±4.8	136.9±3.8	191.2±4.8	136.9±3.8
$\alpha=0.5$								
Temperatura [°C]	108		110		112		114	
Szybkość grzania [°C min ⁻¹]	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5
Energia aktywacji [kJ mol ⁻¹]	187.7±4.1	126.0±3.4	187.7±4.1	129.6±3.4	187.7±4.1	135.0±3.2	187.7±4.1	135.0±3.2
$\alpha=0.7$								
Temperatura [°C]	108		110		112		114	
Szybkość grzania [°C min ⁻¹]	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5
Energia aktywacji [kJ mol ⁻¹]	182.5±3.6	123.2±3.0	182.5±3.6	126.7±2.9	182.5±3.6	132.0±2.8	182.5±3.6	132.0±2.8
$\alpha=0.9$								
Temperatura [°C]	108		110		112		114	
Szybkość grzania [°C min ⁻¹]	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5	<7.5	≥7.5
Energia aktywacji [kJ mol ⁻¹]	170.6±3.6	117.3±2.9	170.6±3.6	120.7±2.8	170.6±3.6	125.7±2.7	170.6±3.6	125.7±2.7



Rys. 67 Wykres zależności $\log(\Phi)$ vs $1000/T$ (model MS rozszerzony na zależność od ułamka wykryształizowanej substancji) wraz z dopasowaniem równania (31) do danych eksperymentalnych (przerywane linie).

Użyteczność modelu MS polega na tym, że często może on być poprawnie użyty nawet w momencie, gdy nie wiadomo czy w próbce zachodzi krystalizacja powierzchniowa, czy objętościowa. Wynika to z faktu, iż rozróżnienie między tymi dwoma typami krystalizacji jest często możliwe na podstawie obliczonego parametru n . Wcześniej jednak należy odpowiedzieć na pytanie, jaki typ krystalizacji objętościowej może zachodzić w próbce, jeśli nie zachodzi tam krystalizacja powierzchniowa. Zakłada się, że jeżeli substancja jest ogrzewana tuż po amorfizacji, to w próbce może mieć miejsce krystalizacja objętościowa z rosnącą liczbą zarodków (bo tuż po amorfizacji liczba zarodków wynosi zero). Wówczas $n=m+1$. Z kolei jeśli substancja przed rozpoczęciem pomiarów nieizotermicznych jest wygrzewana w okolicach T_g można założyć, że podczas tego wygrzewania dochodzi do zarodkowania i następnie podczas ogrzewania może dojść do krystalizacji objętościowej, dla której liczba zarodków nie zmienia się w czasie (bo zarodki pojawiły się podczas procesu anilacji). Wówczas $n=m$. Jedynie w przypadku próbek wygrzewanych, model MS nie jest w stanie odróżnić krystalizacji powierzchniowej od objętościowej (w obu tych przypadkach n może być równe 1). W przypadku próbek które nie były poddawane anilacji, wyznaczenie parametru n jest wystarczające, by odróżnić krystalizację powierzchniową ($n=1$) od objętościowej (n zawsze >1 , patrz Tab. 23).

5.5.7. Dyskusja wyników otrzymanych dla różnych modeli kinetycznych

Pomiary DSC przedstawione w niniejszym podrozdziale odbywały się każdorazowo tuż po przygotowaniu próbki, dlatego można założyć, że w próbce możliwa była jedynie krystalizacja powierzchniowa lub krystalizacja objętościowa z rosnącą liczbą

zarodków w czasie. Dla niskich szybkości grzania, obliczona wartość parametru n z modelu MS wyniosła 1, co oznacza, że w próbce dominowała krystalizacja powierzchniowa. Co za tym idzie wartość parametru m również wynosiła 1 (patrz Tab. 23), stosunek m/n był równy 1 i równania (31) oraz (32) (opisujące model MS) sprowadzały się do równania (29) opisującego model OZ i równania (25) opisującego model KS. Dla wyższych szybkości grzania, wartość parametru n była większa od 1, co oznacza że zachodziła wówczas krystalizacja objętościowa z rosnącą liczbą zarodków. Wartość parametru m była równa $n-1$, stąd $m/n < 1$. W konsekwencji równania opisujące model MS różniły się od tych opisujących modele OZ i KS.

Dla niższych szybkości grzania, obliczona z modelu MS energia aktywacji zimnej krystalizacji była niezależna od temperatury i równa $\sim 191 \text{ kJ mol}^{-1}$. W granicach niepewności wartość E_a obliczona z modeli MS (dla T_p) i KS była zgodna. Wartość obliczona z modelu AB była znacząco niższa w porównaniu do wartości otrzymanych z modeli MS (dla T_p) i KS. Z kolei była ona zgodna w granicach niepewności z wartościami otrzymanymi z modelu MS rozszerzonego na różne ułamki wykrystalizowanej substancji (przykładowo dla $\alpha=0.9$ wartość E_a wynosiła $\sim 171 \text{ kJ mol}^{-1}$). Dla wyższych szybkości grzania, wartość E_a obliczona z modelu MS była zależna od temperatury i nieznacznie rosła wraz ze wzrostem temperatury. W porównaniu do wartości obliczonych z modeli KS i AB, wartości E_a obliczone z modelu MS były wyższe (patrz Tab. 24).

Wartości parametru n znacząco różniły się między modelami JMA, AB, OZ i MS. Pierwszym powodem tych rozbieżności był fakt, że modele JMA i AB pozwalają opisać mechanizm krystalizacji zachodzący podczas pomiarów nieizotermicznych (tj. różne wartości parametru n są otrzymywane dla różnych szybkości grzania), podczas gdy modele OZ i MS na podstawie pomiarów nieizotermicznych próbują opisać mechanizm krystalizacji jaki miałyby miejsce podczas pomiarów izotermicznych (tj. różne wartości parametru n dla różnych temperatur). Wartości obliczone z modeli JMA i AB różniły się między sobą. Jako że udowodniono, że założenia modelu JMA nie były spełnione, wartości otrzymane dla tego modelu z fizycznego punktu widzenia były nieprawidłowe. Wartości obliczone z modelu AB wydawały się być poprawne fizycznie i rozsądne (wartość parametru n zmieniała się monotonicznie, tj. malała, dla niższych i wyższych szybkości grzania, z wyjątkiem wartości parametru n dla szybkości grzania $10^\circ\text{C min}^{-1}$, która była zaskakująco wysoka w porównaniu do wartości otrzymywanych dla sąsiednich

szybkości). Wartości obliczone z modeli OZ i MS były ze sobą zgodne, aczkolwiek warto pamiętać o tym, że model OZ podaje poprawną fizycznie interpretację parametru n jedynie w przypadku powierzchniowej krystalizacji lub krystalizacji objętościowej ze stałą w czasie liczbą zarodków. Model MS rozszerza interpretację również na przypadek krystalizacji objętościowej ze zmienną w czasie liczbą zarodków.

Na podstawie wyznaczonych przy pomocy modelu MS wartości parametru n stwierdzono, że dla niskich szybkości grzania w próbce przeważała krystalizacja powierzchniowa, zaś dla wysokich – objętościowa. Wartość parametru n malała wraz ze wzrostem temperatury. Przeprowadzone pomiary DSC nie umożliwiły jednakże bardziej szczegółowego opisu mechanizmu tej krystalizacji. Wiadomo bowiem, że w przypadku trójwymiarowej krystalizacji wartość parametru n powinna wynosić 4, zaś dla mniej wymiarowych krystalizacji wartość ta powinna być mniejsza od 4. W przypadku wyników przedstawionych w niniejszej pracy, wartość parametru n wahała się od ~ 7 do ~ 5 , co oznacza że proces zimnej krystalizacji amorficznej CBZ zachodzący dla wyższych szybkości grzania miał charakter objętościowy, ale bardziej złożony niż klasyczna trójwymiarowa krystalizacja.

6. Podsumowanie i wnioski

Celem niniejszej pracy było zbadanie fizycznej stabilności krystalicznej i amorficznej formy karbamazepiny. Już pierwsze badania przeprowadzone przy wykorzystaniu DSC pokazały, że rozważana substancja czynna wykazywała odmienne zachowanie termiczne niż to, które jest szeroko opisywane w literaturze. CBZ w okolicach temperatury topnienia była niestabilna i ulegała degradacji do iminostylbenu i kwasu izocyjanowego. Nawet niewielka ilość IMB powodowała, że CBZ była skłonna do szklenia się (nawet przy tak niskiej szybkości chłodzenia jak $5^{\circ}\text{C min}^{-1}$).

Identyfikacja produktów rozkładu została przeprowadzona w oparciu o szereg technik komplementarnych. Obecność kwasu izocyjanowego została bezpośrednio potwierdzona dzięki pomiarom termogravimetrycznym sprzężonym ze spektroskopią w podczerwieni – pasma charakterystyczne dla tej substancji były widoczne na widmie FTIR. Z kolei obecność IMB została bezpośrednio potwierdzona przez pomiary HPLC, zaś pośrednio również przez pomiary XRD oraz DSC. Dla każdej z tych technik ustalono pewien wskaźnik, świadczący o obecności IMB w próbce. Dla pomiarów HPLC potwierdzeniem obecności IMB w próbce było obserwowanie na chromatogramie piku o czasie retencji ~ 13 min. Dla pomiarów XRD była to obecność na dyfraktogramie refleksu $\sim 18.6^{\circ}$. Dla pomiarów DSC o obecności IMB świadczyła obecność na termogramie anomalii endotermicznej o maksimum $\sim 140^{\circ}\text{C}$, jak również przesunięcie piku topnienia CBZ poniżej 190°C . Z kolei dla pomiarów FTIR trudno było potwierdzić obecność IMB w próbce. Jedynie dokładna analiza zmian parametrów pasm (takich jak położenie, intensywność, wysokość, czy szerokość połówkowa) była w stanie pokazać, że w próbce zachodzą zmiany dynamiki molekularnej w zakresie temperatur $135\text{-}150^{\circ}\text{C}$, które można skorelować z topnieniem niewielkich ilości IMB. Z kolei dla próbki znacząco zanieczyszczonej IMB jako diagnostyczne uznano pasmo położone $\sim 1400\text{ cm}^{-1}$. Jeśli pasmo to było rozdwojone to był to marker świadczący właśnie o znaczącej degradacji CBZ (ponieważ zarówno dla próbki krystalicznej, jak i amorficznej, niezanieczyszczonej IMB, charakterystyczne było pojedyncze pasmo $\sim 1390\text{ cm}^{-1}$). Dodatkowo zauważono, że markerem świadczącym o obecności nawet niewielkich ilości IMB w próbce CBZ było znaczące obniżenie wartości temperatury przejścia szklistego (o kilka, a nawet kilkanaście stopni).

W pracy podjęto próby termicznej stabilizacji CBZ. Zaproponowano trzy procedury mające na celu zmniejszenie ilości IMB w stapianej próbce: (i) szybkie grzanie i chłodzenie CBZ, (ii) uwodnienie CBZ, (iii) rekrytalizację CBZ z rozpuszczalników organicznych. Wszystkie zaproponowane sposoby widocznie zmniejszyły ilość IMB w próbce – z powyżej 6% do nawet mniej niż 0.5%. Procedura szybkiego grzania i chłodzenia okazała się najmniej wydajna, gdyż nawet przy tak dużej szybkości zmian temperatury jak $50^{\circ}\text{C min}^{-1}$ nie udało się zmniejszyć ilości IMB w próbce poniżej 1%. Metody obejmujące modyfikację próbki były bardziej wydajne, przy czym rekrytalizacja z rozpuszczalników organicznych była najmniej powtarzalna, zaś hydratacja najbardziej obiecująca. Po stopieniu i schłodzeniu uwodnionej CBZ, ilość IMB była na poziomie poniżej 0.5%. Przy okazji tych badań dowiedziono również, że istotny wpływ na termiczną stabilność CBZ miał rodzaj układu (otwarty/zamknięty), w którym substancję ogrzewano.

Badania wpływu atmosfery na termiczne zachowanie CBZ wykazały, że rodzaj atmosfery znacząco wpływał na proces krystalizacji CBZ (tj. na to w jakim układzie krystalograficznym substancja krystalizowała), natomiast nie wpływał znacząco na proces degradacji CBZ (w mieszaninie CBZ i IMB zawsze identyfikowano CBZ w formie I). Skłonność CBZ do sublimacji okazała się mieć kluczowy wpływ na jej degradację. W układach zamkniętych obecność gazowej CBZ wpływała na wzrost ciśnienia i prowadziła do degradacji substancji nawet $\sim 20^{\circ}\text{C}$ poniżej temperatury topnienia. Z kolei w układach otwartych, w których wszystkie gazowe produkty mogły opuścić układ, zaś ciśnienie było zawsze równe ciśnieniu atmosferycznemu, degradacja CBZ nie zachodziła nawet tuż powyżej temperatury topnienia.

Istotność właściwego doboru układu pomiarowego została przedyskutowana również w kontekście różnych od DSC technik pomiarowych. Zauważono, że dla silnie sublimujących substancji wyniki uzyskiwane z pomiarów XRD mogą się znacząco różnić między próbkami umieszczonymi w kuwecie pomiarowej (układ otwarty) oraz kapilarze (układ zamknięty). Zwrócono także uwagę na specyficzność temperaturowych pomiarów FTIR przeprowadzanych dla substancji zmieszanych z KBr w celu uformowania pastylki. W tym przypadku układ może być częściowo uważany za zamknięty, gdyż molekuly KBr w pewnym stopniu izolują od otoczenia molekuly badanej substancji. Z drugiej strony, obecność molekuł KBr w ogóle izoluje molekuly badanej substancji (tj. np. CBZ) od

siebie nawzajem, co może znacząco wpływać na zaobserwowane zachowanie termiczne substancji.

W dalszej kolejności opracowano procedurę otrzymywania niezanieczyszczonej przez IMB amorficznej CBZ na drodze szybkiego chłodzenia. Aby nie spowodować degradacji CBZ przy jej stapianiu, substancję ogrzewano w układzie otwartym. Natomiast aby zeszklić stopioną CBZ, chłodzono ją ze średnią szybkością równą przynajmniej $\sim 100^{\circ}\text{C min}^{-1}$ (chłodzenie ze średnią szybkością $\sim 80^{\circ}\text{C min}^{-1}$ prowadziło jedynie do krystalizacji próbki). Termiczne zachowanie zeszkłonej CBZ scharakteryzowano przy wykorzystaniu metod komplementarnych: DSC, XRD i FTIR. Wykazano, że mięknięcie szkła CBZ ma miejsce $\sim 56^{\circ}\text{C}$, zaś wraz z dalszym ogrzewaniem dochodzi do zimnej krystalizacji próbki, a następnie jej stopienia. Jeśli próbka jest ogrzewana tuż po otrzymaniu szkła, to zimna krystalizacja prowadzi do powstania jedynie formy I CBZ. Zmiany dynamiki molekularnej były obserwowane przy pomocy badań FTIR dla wszystkich przejść fazowych zachodzących podczas ogrzewania próbki. Najmocniej dynamika ta zmieniała się podczas zimnej krystalizacji i topnienia CBZ, zaś najslabiej podczas mięknięcia szkła.

Izotermiczne badania XRD wykazały, że proces nukleacji dla zeszkłonej CBZ rozpoczynał się po upływie ~ 8 h od otrzymania szkła, niezależnie od tego czy substancja była przechowywana w RT, czy w lodówce. Z kolei proces wzrostu krystalitów był znacząco spowolniony dla próbki przechowywanej w lodówce. Po upływie 6 tygodni próbka przechowywana w RT była w znaczącym stopniu krystaliczna, podczas gdy próbka przechowywana w lodówce – niemal całkowicie amorficzna. Proces izotermicznej krystalizacji prowadził do otrzymania mieszaniny trzech odmian polimorficznych CBZ – formy I, III i IV.

Przeprowadzono również obliczenia mające na celu oszacowanie fizycznej stabilności amorficznej CBZ na podstawie modelu Adama i Gibbsa rozszerzonego na stan szklisty oraz wyników uzyskanych z pomiarów DSC. Stabilność wyliczona dla RT (~ 6.5 h) była w przybliżeniu zgodna z czasem rozpoczęcia nukleacji wyznaczonym na podstawie badań XRD (~ 7.7 h), podczas gdy stabilność wyliczona dla temperatury 5°C (~ 18 dni) nie była zgodna z wynikami XRD (~ 8.5 h), co może wynikać z faktu, że choć czas relaksacji strukturalnej (który był wyznaczany właśnie z modelu Adama i Gibbsa)

jest ważnym parametrem wpływającym na fizyczną stabilność szkła, to nie jest on jedynym.

Kinetyka zimnej krystalizacji CBZ została zbadana przy użyciu sześciu modeli: (i) Johnsona, Mehla i Avramiego, (ii) Kissingera, (iii) Augisa i Bennetta, (iv) Ozawy, (v) Mo oraz (vi) Matusity. W pracy przedyskutowano założenia modeli i przedstawiono testy pozwalające na ich sprawdzenie. W przypadku zimnej krystalizacji amorficznej CBZ pokazano, że założenia modelu JMA nie są spełnione. Model MS został uznany za najbardziej uniwersalny z przedstawionych modeli. Jako jedyny był w stanie odróżnić krystalizację powierzchniową od objętościowej. Pokazano, że dla niskich szybkości grzania ($<7.5^{\circ}\text{C min}^{-1}$), zimna krystalizacja amorficznej CBZ zachodziła głównie powierzchniowo. Wartość energii aktywacji wynosiła $\sim 191 \text{ kJ mol}^{-1}$ i była niezależna od temperatury. Zależała jednak nieznacznie od ułamka wykryształizowanej substancji – wraz ze wzrostem frakcji krystalicznej w próbce energia ta malała (spadek o $\sim 11\%$ między 10-cio a 90-cio procentowym stopniem wykryształizowania próbki). Dla wyższych szybkości grzania ($\geq 7.5^{\circ}\text{C min}^{-1}$) zimna krystalizacja miała charakter objętościowy, a jej mechanizm zmieniał się wraz ze zmianą temperatury. Co za tym idzie wartość energii aktywacji również była nie tylko zależna od ułamka wykryształizowanej substancji (spadała wraz ze wzrostem wykryształizowanej frakcji), ale również od temperatury (rosła wraz ze wzrostem temperatury) i wahała się w granicach $\sim 139 \text{ kJ mol}^{-1}$ (najwyższa temperatura i najniższy stopień wykryształizowania) do $\sim 117 \text{ kJ mol}^{-1}$ (najniższa temperatura i najwyższy stopień wykryształizowania).

Reasumując, wnioski płynące z badań opisanych w niniejszej rozprawie można zebrać w postaci zwięzłych odpowiedzi na pytania postawione we wprowadzeniu:

- 1) Metoda szybkiego chłodzenia pozwala uniknąć krystalizacji CBZ i prowadzi do jej zeszklenia, jednakże szybkość chłodzenia nie może być niższa niż $\sim 100^{\circ}\text{C min}^{-1}$.
- 2) Otrzymana faza szklista jest niestabilna zarówno w RT jak i podczas przechowywania w lodówce. Amorficzna CBZ ulega nukleacji po upływie $\sim 8 \text{ h}$. W warunkach izotermicznych proces zimnej krystalizacji prowadzi do otrzymania mieszaniny form polimorficznych. Wzrost krystalitów jest znacząco spowolniony w przypadku próbki przechowywanej w lodówce w porównaniu do próbki przechowywanej w RT. W warunkach nieizotermicznych próbka najpierw ulega mięknięciu, a następnie

zimnej krystalizacji do formy I. Dla niskich szybkości grzania, zimna krystalizacja ma charakter powierzchniowy, zaś dla wysokich – objętościowy.

- 3) Gdy próbka ulegnie termicznej degradacji, jej zeszklenie jest możliwe przy znacznie niższej szybkości chłodzenia (nawet $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$) w porównaniu do próbki niezdegradowanej. Wówczas podczas schładzania próbki można zaobserwować jej zeszklenie (gdy szybkość grzania wynosi $\sim 10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ lub więcej) lub częściowe zeszklenie i częściową krystalizację (przy niższych szybkościach grzania). Podczas ponownego ogrzewania próbka ulega odszkleniu i zimnej krystalizacji oraz dwuetapowemu topnieniu, związanemu z osobnym topnieniem IMB oraz CBZ.
- 4) Obecność produktów termicznego rozkładu CBZ może być wykryta przy użyciu szeregu technik. DSC oraz HPLC to metody pozwalające na szybką identyfikację obecności IMB w próbce, nawet gdy jego ilość jest na poziomie kilku procent lub mniej. Z kolei w przypadku technik XRD oraz FTIR dopiero dogłębna analiza wyników pozwala zidentyfikować obecność IMB.
- 5) Zarówno hydratacja CBZ jak i jej rekrystalizacja z rozpuszczalników organicznych pozwalają poprawić jej stabilność termiczną, przy czym hydratacja jest metodą bardziej powtarzalną. Ilość produktów degradacji można również zmniejszyć zwiększając szybkość grzania i chłodzenia próbki, a co za tym idzie czas, w którym próbka przebywa w wysokich temperaturach.
- 6) Rodzaj układu (otwarty lub zamknięty) ma kluczowy wpływ na zachowanie termiczne CBZ. W układzie otwartym degradacja CBZ jest znacząco zahamowana, podczas gdy w układzie zamkniętym przyspieszona (na skutek m.in. wzrostu ciśnienia w układzie). Atmosfera pomiaru (obojętna lub utleniająca) nie wpływa na termiczną stabilność CBZ. Determinuje ona jednak proces krystalizacji zachodzący podczas ochładzania próbki po uprzednim stopieniu.
- 7) Rozbieżność w ocenie stabilności CBZ w okolicach temperatury topnienia między różnymi grupami badawczymi wynika ze sposobu stapiania próbki. Główną rolę odgrywa tu rodzaj układu pomiarowego (otwarty lub zamknięty), charakter próbki (powierzchniowa, objętościowa, zdyspergowana w macierzy) oraz maksymalna temperatura do której ogrzewano próbkę.

Bibliografija

- [1] M. Krstić, M. Popović, V. Dobričić, S. Ibrić, Influence of Solid Drug Delivery System Formulation on Poorly Water-Soluble Drug Dissolution and Permeability, *Molecules*. 20 (2015) 14684–14698.
- [2] J.A. Baird, B. Van Eerdenbrugh, L.S. Taylor, A Classification System to Assess the Crystallization Tendency of Organic Molecules from Undercooled Melts, *J. Pharm. Sci.* 99 (2010) 3787–3806.
- [3] K. Grzybowska, S. Capaccioli, M. Paluch, Recent developments in the experimental investigations of relaxations in pharmaceuticals by dielectric techniques at ambient and elevated pressure, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 100 (2016) 158–182.
- [4] L. Chen, T. Okuda, X.Y. Lu, H.K. Chan, Amorphous powders for inhalation drug delivery, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 100 (2016) 102–115.
- [5] T. Vasconcelos, S. Marques, J. das Neves, B. Sarmento, Amorphous solid dispersions: Rational selection of a manufacturing process, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 100 (2016) 85–101.
- [6] J. Ubbink, Structural and thermodynamic aspects of plasticization and antiplasticization in glassy encapsulation and biostabilization matrices, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 100 (2016) 10–26.
- [7] M. Descamps, J.F. Willart, Perspectives on the amorphisation/milling relationship in pharmaceutical materials, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 100 (2016) 51–66.
- [8] S.J. Dengale, H. Grohganz, T. Rades, K. Löbmann, Recent advances in co-amorphous drug formulations, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 100 (2016) 116–125.
- [9] S. Qi, D. Craig, Recent developments in micro- and nanofabrication techniques for the preparation of amorphous pharmaceutical dosage forms, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 100 (2016) 67–84.
- [10] P.A. Priemel, H. Grohganz, T. Rades, Unintended and in situ amorphisation of pharmaceuticals, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 100 (2015).
- [11] K.T. Savjani, A. Gajjar, J. Savjani, Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques, *ISRN Pharm.* 2012 (2012) 195727.
- [12] S. Kalepu, V. Nekkanti, Insoluble drug delivery strategies: review of recent advances and business prospects, *Acta Pharm. Sin. B.* 5 (2015) 442–453.
- [13] A. Maleki, H. Kettiger, A. Schoubben, J.M. Rosenholm, V. Ambrogi, M. Hamidi, Mesoporous silica materials: From physico-chemical properties to enhanced dissolution of poorly water-soluble drugs, *J. Controlled Release*. 262 (2017) 329–347.
- [14] P. Tran, Y.-C. Pyo, D.-H. Kim, S.-E. Lee, J.-K. Kim, J.-S. Park, Overview of the Manufacturing Methods of Solid Dispersion Technology for Improving the Solubility of Poorly Water-Soluble Drugs and Application to Anticancer Drugs, *Pharmaceutics*. 11 (2019) 132.
- [15] A. Bhakay, M. Rahman, R.N. Dave, E. Bilgili, Bioavailability Enhancement of Poorly Water-Soluble Drugs via Nanocomposites: Formulation–Processing Aspects and Challenges, *Pharmaceutics*. 10 (2018) 86.
- [16] J.M. Ting, W.W. Porter, J.M. Mecca, F.S. Bates, T.M. Reineke, Advances in Polymer Design for Enhancing Oral Drug Solubility and Delivery, *Bioconjug. Chem.* 29 (2018) 939–952.
- [17] D. Mahlin, C.A.S. Bergström, Early drug development predictions of glass-forming ability and physical stability of drugs, *Eur. J. Pharm. Sci.* 49 (2013) 323–332.

- [18] A. Alhalaweh, A. Alzghoul, D. Mahlin, C.A.S. Bergström, Physical stability of drugs after storage above and below the glass transition temperature: Relationship to glass-forming ability, *Int. J. Pharm.* 495 (2015) 312–317.
- [19] S. Thakral, M.W. Terban, N.K. Thakral, R. Suryanarayanan, Recent advances in the characterization of amorphous pharmaceuticals by X-ray diffractometry, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 100 (2016) 183–193.
- [20] W. Liu, L. Dang, H. Wei, Thermal, phase transition, and thermal kinetics studies of carbamazepine, *J Therm Anal Calorim.* 111 (2013) 1999–2004.
- [21] K. Higashi, K. Ueda, K. Moribe, Recent progress of structural study of polymorphic pharmaceutical drugs, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 117 (2017) 71–85.
- [22] Z. Tolou-Ghamari, M. Zare, J.M. Habibabadi, M.R. Najafi, A quick review of carbamazepine pharmacokinetics in epilepsy from 1953 to 2012, *J. Res. Med. Sci. Off. J. Isfahan Univ. Med. Sci.* 18 (2013) 81–85.
- [23] W. Czernicki, M. Baranska, Carbamazepine Polymorphs: Theoretical and Experimental Vibrational Spectroscopy Studies, *Vib. Spectrosc.* 65 (2013) 12–23.
- [24] A. Grzesiak, M. Lang, K. Kim, A.J. Matzger, Comparison of the Four Anhydrous Polymorphs of Carbamazepine and the Crystal Structure of Form I, *J. Pharm. Sci.* 92 (2003) 2260–2271.
- [25] C. McGregor, M.H. Saunders, G. Buckton, R.D. Saklatvala, The Use of High-speed Differential Scanning Calorimetry (Hyper-DSCTM) to Study the Thermal Properties of Carbamazepine Polymorphs, *Thermochim. Acta.* 417 (2004) 231–237.
- [26] J.B. Arlin, L.S. Price, S.L. Price, A.J. Florence, A Strategy for Producing Predicted Polymorphs: Catemeric Carbamazepine Form V, *Chem Commun.* 47 (2011) 7074–7076.
- [27] C. Rustichelli, G. Gamberini, V. Ferioli, M.C. Gamberini, R. Ficarra, S. Tommasini, Solid-state Study of Polymorphic Drugs: Carbamazepine, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 23 (2000) 41–54.
- [28] Y. Kobayashi, S. Ito, S. Itai, K. Yamamoto, Physicochemical Properties and Bioavailability of Carbamazepine Polymorphs and Dihydrate, *Int. J. Pharm.* 193 (2000) 137–146.
- [29] M.A.L. Pinto, B. Ambrozini, A.P.G. Ferreira, É.T.G. Cavaleiro, Thermoanalytical Studies of Carbamazepine: Hydration/Dehydration, Thermal Decomposition, and Solid Phase Transitions, *Braz. J. Pharm. Sci.* 50 (2014) 877–884.
- [30] J. Deng, S. Staufienbiel, R. Bodmeier, Evaluation of a Biphasic In Vitro Dissolution Test for Estimating the Bioavailability of Carbamazepine Polymorphic Forms, *Eur. J. Pharm. Sci.* 105 (2017) 64–70.
- [31] L.E. McMahon, P. Timmins, A. Williams, P. York, Characterization of Dihydrates Prepared from Carbamazepine Polymorphs, *J. Pharm. Sci.* 85 (1996) 1064–1069.
- [32] B.V. Joshi, V.B. Patil, V.B. Pokharkar, Compatibility Studies Between Carbamazepine and Tablet Excipients Using Thermal and Non-thermal Methods, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 28 (2002) 687–94.
- [33] A. Nokhodchi, H. Al-Hamidi, M.D. Antonijevic, S. Owusu-Ware, W. Kaialy, Dissolution and Solid State Behaviours of Carbamazepine-gluconolactone Solid Dispersion Powders: The Potential Use of Gluconolactone as Dissolution Enhancer, *Chem. Eng. Res. Des.* 100 (2015) 452–466.
- [34] A. Nokhodchi, N. Bolourtchian, R. Dinarvand, Dissolution and Mechanical Behaviors of Recrystallized Carbamazepine from Alcohol Solution in the Presence of Additives, *J. Cryst. Growth.* 274 (2005) 573–584.

- [35] F. Flicker, V.A. Eberle, G. Betz, Recrystallization of Commercial Carbamazepine Samples-A Strategy to Control Dissolution Variability, *Pharmaceutics*. 4 (2012) 58–70.
- [36] L.G. Jensen, F.B. Skautrup, A. Müllertz, B. Abrahamsson, T. Rades, P.A. Priemel, Amorphous is not always better—A dissolution study on solid state forms of carbamazepine, *Int. J. Pharm.* 522 (2017) 74–79.
- [37] M.M. Varma, S.K. Razia Begum, Formulation, Physicochemical Evaluation, and Dissolution Studies of Carbamazepine Solid Dispersions, *Int. J. Pharm. Sci. Nanotechnol.* 5 (2012) 1790–1807.
- [38] J. Djuris, I. Nikolakakis, S. Ibric, Z. Djuric, K. Kachrimanis, Preparation of Carbamazepine–Soluplus® Solid Dispersions by Hot-melt Extrusion, and Prediction of Drug–Polymer Miscibility by Thermodynamic Model Fitting, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 84 (2013) 228–237.
- [39] Z. Naima, T. Siro, G.D. Juan-Manuel, C. Chantal, C. René, D. Jerome, Interactions Between Carbamazepine and Polyethylene Glycol (PEG) 6000: Characterisations of the Physical, Solid Dispersed and Eutectic Mixtures, *Eur. J. Pharm. Sci.* 12 (2001) 395–404.
- [40] J.E. Patterson, M.B. James, A.H. Forster, R.W. Lancaster, J.M. Butler, T. Rades, The Influence of Thermal and Mechanical Preparative Techniques on the Amorphous State of Four Poorly Soluble Compounds, *J. Pharm. Sci.* 94 (2005) 1998–2012.
- [41] M. Moneghini, D. Voinovich, B. Perissutti, F. Princivalle, Action of Carriers on Carbamazepine Dissolution, *Pharm. Dev. Technol.* 7 (2002) 289–296.
- [42] Y. Guinet, L. Paccou, F. Danède, J. Willart, P. Derollez, A. Hédoux, Comparison of amorphous states prepared by melt-quenching and cryomilling polymorphs of carbamazepine, *Int. J. Pharm.* 509 (2016) 305–313.
- [43] N.S. Trasi, S.R. Byrn, Mechanically Induced Amorphization of Drugs: A Study of the Thermal Behavior of Cryomilled Compounds, *AAPS PharmSciTech.* 13 (2012) 772–784.
- [44] H.P. Rang, M.M. Dale, J.M. Ritter, *Leki przeciwpadaczkowe i ośrodkowo działające leki zwiotczające mięśnie*, w: *Farmakol. Klin.*, Wydawnictwo Czelej, Lublin, 2001: pp. 563–567.
- [45] M. Graczyk, A. Adamczyk, Karbamazepina - zastosowanie w medycynie paliatywnej, *Pol Med Paliatyw.* 4(2) (2005) 88–90.
- [46] R.M. Martins, S. Siqueira, L.A. Tacon, L.A.P. Freitas, Microstructured Ternary Solid Dispersions to Improve Carbamazepine Solubility, *Powder Technol.* 215–216 (2012) 156–165.
- [47] R.A. Halliwell, R.M. Bhardwaj, C.J. Brown, N.E.B. Briggs, J. Dunn, J. Robertson, A. Nordon, A.J. Florence, Spray Drying as a Reliable Route to Produce Metastable Carbamazepine Form IV, *J. Pharm. Sci.* 106 (2017) 1874–1880.
- [48] F. Keramatnia, A. Shayanfar, A. Jouyban, Thermodynamic Solubility Profile of Carbamazepine–Cinnamic Acid Cocrystal at Different pH, *J. Pharm. Sci.* 104 (2015) 2559–2565.
- [49] G.M. Day, J.A. Zeitler, W. Jones, T. Rades, P.F. Taday, Understanding the Influence of Polymorphism on Phonon Spectra: Lattice Dynamics Calculations and Terahertz Spectroscopy of Carbamazepine, *J. Phys. Chem. B.* 110 (2006) 447–456.
- [50] M. Lang, J.W. Kampf, A.J. Matzger, Form IV of Carbamazepine, *J. Pharm. Sci.* 91 (2002) 1186–1190.

- [51] C. Lefebvre, A.M. Guyot-Hermann, M. Draguet-Brughmans, R. Bouché, J.C. Guyot, Polymorphic Transitions of Carbamazepine During Grinding and Compression, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 12 (1986) 1913–1927.
- [52] C. Xu, M. Zou, Y. Liu, J. Ren, Y. Tian, J. Yan, Y. Wang, G. Cheng, Pharmacokinetics of carbamazepine polymorphs and dihydrate in rats, related to dogs and humans, *Arch Pharm Res.* 34 (2011) 1973–1982.
- [53] Javadzadeh Yousef, Mohammadi Ameneh, Khoei Nazaninossadat, Nokhodchi Ali, Improvement of physicomachanical properties of carbamazepine by recrystallization at different pH values, *Acta Pharm.* 59 (2009) 187–197.
- [54] J. Liu, F. Cao, C. Zhang, Q. Ping, Use of polymer combinations in the preparation of solid dispersions of a thermally unstable drug by hot-melt extrusion, *Acta Pharm. Sin. B.* 3 (2013) 263–272.
- [55] A. Shayanfar, S. Velaga, A. Jouyban, Solubility of carbamazepine, nicotinamide and carbamazepine–nicotinamide cocrystal in ethanol–water mixtures, *Fluid Phase Equilibria.* 363 (2014) 97–105.
- [56] J.A. Zeitler, P.F. Taday, M. Pepper, T. Rades, Relaxation and Crystallization of Amorphous Carbamazepine Studied by Terahertz Pulsed Spectroscopy, *J. Pharm. Sci.* 96 (2007) 2703–2709.
- [57] Y. Li, J. Han, G. Zhang, D. Grant, R. Suryanarayanan, In Situ Dehydration of Carbamazepine Dihydrate: A Novel Technique to Prepare Amorphous Anhydrous Carbamazepine, *Pharm. Dev. Technol.* 5 (2000) 257–266.
- [58] C. Benmore, J.K.R. Weber, A. Taylor, B. Cherry, J. Yarger, Q. Mou, W. Weber, J. Neufeind, S. Byrn, Structural characterization and aging of glassy pharmaceuticals made using acoustic levitation, *J. Pharm. Sci.* 102 (2013) 1290–1300.
- [59] V. Ambrogi, F. Marmottini, C. Pagano, Amorphous Carbamazepine Stabilization by the Mesoporous Silicate SBA-15, *Microporous Mesoporous Mater.* 177 (2013) 1–7.
- [60] K. Kawakami, T. Harada, K. Miura, Y. Yoshihashi, E. Yonemochi, K. Terada, H. Moriyama, Relationship between Crystallization Tendencies during Cooling from Melt and Isothermal Storage: Toward a General Understanding of Physical Stability of Pharmaceutical Glasses, *Mol. Pharm.* 11 (2014) 1835–1843.
- [61] B. Wunderlich, A classification of molecules, phases, and transitions as recognized by thermal analysis, *Thermochim. Acta.* 340–341 (1999) 37–52.
- [62] M. Klinger, Glassy disordered systems: Topology, atomic dynamics and localized electron states, *Phys. Rep.* 165 (1988) 275–397.
- [63] E.D. Zanutto, J.C. Mauro, The glassy state of matter: Its definition and ultimate fate, *J. Non-Cryst. Solids.* 471 (2017) 490–495.
- [64] J. Langer, Theories of Glass Formation and the Glass Transition, *Rep. Prog. Phys. Phys. Soc. G. B.* 77 (2014) 042501.
- [65] P. G. Debenedetti, F. H. Stillinger, Supercooled Liquids and the Glass Transition, *Nature.* 410 (2001) 259–267.
- [66] C. Queiroz, J. Šesták, Aspects of the non-crystalline state, *Phys. Chem. Glas. - Eur. J. Glass Sci. Technol. Part B.* 51 (2010) 165–172.
- [67] R. Zallen, *Powstawanie ciał amorficznych*, w: *Fiz. Ciał Amorficznych*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 1994: pp. 9–18.
- [68] T. Tropin, J. Schmelzer, V. L. Aksenov, Modern aspects of the kinetic theory of glass transition, *Phys.-Uspekhi.* 59 (2016) 42–66.

- [69] A. Deptuch, T. Jaworska-Gołab, M. Marzec, M. Urbańska, M. Tykarska, Cold crystallization from chiral smectic phase, *Phase Trans. Multinat. J.* 92 (2019) 126–134.
- [70] T. Liu, Z. Mo, S. Wang, H. Zhang, Nonisothermal melt and cold crystallization kinetics of poly(aryl ether ether ketone ketone), *Polym. Eng. Sci.* 37 (1997) 568–575.
- [71] Deepika, P.K. Jain, K.S. Rathore, N.S. Saxena, Structural characterization and phase transformation kinetics of Se₅₈Ge₄₂–xPbx (x=9, 12) chalcogenide glasses, *J. Non-Cryst. Solids.* 355 (2009) 1274–1280.
- [72] M. Çelikbilek, A.E. Ersundu, S. Aydın, *Crystallization Kinetics of Amorphous Materials*, w: *Adv. Cryst. Process.*, IntechOpen, Rijeka, 2012.
- [73] K. Matusita, S. Sakka, Kinetic Study on Non-Isothermal Crystallization of Glass by Thermal Analysis (Commemoration Issue Dedicated to Professor Megumi Tashiro on the Occation of his Retirement), *Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ.* 59 (1981) 159–171.
- [74] M. Avrami, Kinetics of Phase Change. I General Theory, *J. Chem. Phys.* 7 (1939) 1103–1112.
- [75] M. Avrami, Kinetics of Phase Change. II Transformation-Time Relations for Random Distribution of Nuclei, *J. Chem. Phys.* 8 (1940) 212–224.
- [76] M. Avrami, Granulation, Phase Change, and Microstructure Kinetics of Phase Change. III, *J. Chem. Phys.* 9 (1941) 177–184.
- [77] A. Jeziorny, Parameters characterizing the kinetics of the non-isothermal crystallization of poly(ethylene terephthalate) determined by d.s.c., *Polymer.* 19 (1978) 1142–1144.
- [78] J. Málek, The applicability of Johnson-Mehl-Avrami model in the thermal analysis of the crystallization kinetics of glasses, *Thermochim. Acta.* 267 (1995) 61–73.
- [79] H.E. Kissinger, Variation of Peak Temperature With Heating Rate in Differential Thermal Analysis, *J. Res. Natl. Bur. Stand.* 57 (1956) 217–221.
- [80] H.E. Kissinger, Reaction Kinetics in Differential Thermal Analysis, *Anal. Chem.* 29 (1957) 1702–1706.
- [81] S. Vyazovkin, A.K. Burnham, J.M. Criado, L.A. Pérez-Maqueda, C. Popescu, N. Sbirrazzuoli, ICTAC Kinetics Committee recommendations for performing kinetic computations on thermal analysis data, *Thermochim. Acta.* 520 (2011) 1–19.
- [82] J.A. Augis, J.E. Bennett, Calculation of the Avrami parameters for heterogeneous solid state reactions using a modification of the Kissinger method, *J. Therm. Anal.* 13 (1978) 283–292.
- [83] T. Ozawa, Kinetics of non-isothermal crystallization, *Polymer.* 12 (1971) 150–158.
- [84] K. Matusita, T. Komatsu, R. Yokota, Kinetics of non-isothermal crystallization process and activation energy for crystal growth in amorphous materials, *J. Mater. Sci.* 19 (1984) 291–296.
- [85] P.J. Haines, *Thermal Methods of Analysis*, Springer Netherlands, 1995.
- [86] M. Sorai, *Comprehensive Handbook of Calorimetry & Thermal Analysis*, John Wiley & Sons, Inc., 2004.
- [87] J.D. Menczel, R.B. Prime, *Thermal Analysis of Polymers: Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, Inc., 2009.
- [88] S.L. Simon, Temperature-modulated differential scanning calorimetry: theory and application, *Thermochim. Acta.* 374 (2001) 55–71.
- [89] M. Szumera, Charakterystyka wybranych metod termicznych (cz.1), *LAB.* 17 (2012) 28–34.

- [90] Broszura firmy TA Instruments, <http://www.tainstruments.com/pdf/brochure/2011%20TGA%20Brochure.pdf> (dostęp 10.07.2019).
- [91] R.L. Blaine, B.K. Hahn, Obtaining Kinetic Parameters by Modulated Thermogravimetry, *J. Therm. Anal. Calorim.* 54 (1998) 695–704.
- [92] W. Zieliński, A. Rajca, Spektroskopia w podczerwieni, w: *Metody Spektrosk. Ich Zastos. Identyfikacji Związków Org.*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 1995: pp. 297–318.
- [93] Z. Kęcki, Widmo oscylacyjne, w: *Podstawy Spektrosk. Mol.*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 1992: pp. 56–92.
- [94] M. El - Azazy, Introductory Chapter: Infrared Spectroscopy - A Synopsis of the Fundamentals and Applications, w: *Infrared Spectrosc. - Synop. Fundam. Appl.*, IntechOpen, London, 2019: pp. 1–8.
- [95] E. Mikuli, A. Migdał-Mikuli, Spektroskopia absorpcyjna w podczerwieni i spektroskopia ramanowskiego rozpraszania światła, w: *Komplementarne Metody Badań Przemian Fazowych*, Wydawnictwo UJ, Kraków, 2006: pp. 212–217.
- [96] I. Noda, Two-Dimensional Infrared Spectroscopy, *J. Am. Chem. Soc.* 111 (1989) 8116–8118.
- [97] I. Noda, Generalized Two-Dimensional Correlation Method Applicable to Infrared, Raman, and Other Types of Spectroscopy, *Appl. Spectrosc.* 47 (1993) 1329–1336.
- [98] I. Noda, Generalized Two-Dimensional Correlation Spectroscopy, w: *Front. Mol. Spectrosc.*, Elsevier, 2009: pp. 367–381.
- [99] M. Thomas, H.H. Richardson, Two-Dimensional FT-IR Correlation Analysis of the Phase Transitions in a Liquid Crystal, 4'-n-octyl-4-cyanobiphenyl (8CB), *Vib. Spectrosc.* 24 (2000) 137–146.
- [100] F. Menges, Spectragryph - optical spectroscopy software, <http://www.ffmpeg2.de/spectragryph/> (dostęp 10.07.2019).
- [101] S. Morita, 2Dshige, <https://sites.google.com/view/shigemorita/home/2dshige> (dostęp 10.07.2019).
- [102] A. Szytuła, Rentgenografia i neutronografia, w: *Fiz. Metody Badań W Biol. Med. Ochr. Śr.*, Wydanie I-1 dodruk, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2013: pp. 13–17.
- [103] A. Sykuła, E. Łodyga-Chruścińska, Polimorfizm - jego wpływ na substancje farmaceutyczne, *Zesz. Nauk. Politech. Łódz. Chem. Spoż. Biotechnol.* (2006) 93–106.
- [104] B. Birkholz, Principles of X-ray Diffraction, w: *Thin Film Anal. X-Ray Scatt.*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2006: pp. 1–42.
- [105] J. Rodríguez-Carvajal, Recent Advances in Magnetic Structure Determination by Neutron Powder Diffraction, *Phys. B Condens. Matter.* 192 (1993) 55–69.
- [106] J. Lasa, Chromatografia, w: *Fiz. Metody Badań W Biol. Med. Ochr. Śr.*, Wydanie I-1 dodruk, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2013: pp. 406–411.
- [107] A. Trzemzalska, A. Ciesielski, A. Jurczyński, Rola HPLC w kontroli jakości leku oraz alternatywy dla HPLC, *Świat Przem. Farm.* 3 (2008) 15–21.
- [108] A. Dołęga, P.M. Zieliński, N. Osiecka-Drewniak, New Insight Into Thermodynamical Stability of Carbamazepine, *J. Pharm. Sci.* 108 (2019) 2654–2660.
- [109] A. Dołęga, E. Juszyńska-Gałązka, A. Deptuch, T. Jaworska-Gołąb, P.M. Zieliński, Vibrational Dynamics of Carbamazepine: Studies Based on Two-Dimensional Correlation Spectroscopy and X-ray Diffraction, *Appl. Spectrosc.* 74 (2020) 473–484.

- [110] A. Dołęga, A. Krupa, P.M. Zieliński, Enhanced thermal stability of carbamazepine obtained by fast heating, hydration and re-crystallization from organic solvent solutions: A DSC and HPLC study, *Thermochim. Acta.* 690 (2020) 178691.
- [111] A. Dołęga, E. Juszyńska-Gałązka, A. Deptuch, T. Jaworska-Gołąb, P.M. Zieliński, Thermoanalytical studies of a cytotoxic derivative of carbamazepine: iminostilbene, *J. Therm. Anal. Calorim.* 146 (2021) 2151–2160.
- [112] A. Dołęga, E. Juszyńska-Gałązka, N. Osiecka-Drewniak, P. Natkański, P. Kuśtrowski, A. Krupa, P.M. Zieliński, Study on the thermal performance of carbamazepine at different temperatures, pressures and atmosphere conditions, *Thermochim. Acta.* 703 (2021) 178990.
- [113] A. Dołęga, P.M. Zieliński, Kinetics of non-isothermal cold-crystallization of carbamazepine in the glassy state studied by DSC, *J. Non-Cryst. Solids.* 575 (2022) 121198.
- [114] A. Dołęga, E. Juszyńska-Gałązka, A. Deptuch, S. Baran, P.M. Zieliński, Cold-crystallization and physical stability of glassy carbamazepine, *Thermochim. Acta* 707 (2022) 179100.
- [115] Z. Qi, D. Zhang, F. Chen, J. Miao, B. Ren, Thermal decomposition and non-isothermal decomposition kinetics of carbamazepine, *Russ. J. Phys. Chem. A.* 88 (2014) 2308–2313.
- [116] M. O'Mahony, C. Seaton, D. Croker, S. Veessler, Å. Rasmuson, B. Hodnett, Investigating the Dissolution of the Metastable Triclinic Polymorph of Carbamazepine using in situ Microscopy, *CrystEngComm.* 16 (2014) 4133–4141.
- [117] R.J. Behme, D. Brooke, Heat of Fusion Measurement of a Low Melting Polymorph of Carbamazepine That Undergoes Multiple-Phase Changes During Differential Scanning Calorimetry Analysis, *J. Pharm. Sci.* 80 (1991) 986–990.
- [118] N. Kamali, A. Erxleben, P. McArdle, Unexpected Effects of Catalytic Amounts of Additives on Crystallization from the Gas Phase: Depression of the Sublimation Temperature and Polymorph Control, *Cryst. Growth Des.* 16 (2016) 2492–2495.
- [119] J.A. Zeitler, P.F. Taday, K.C. Gordon, M. Pepper, T. Rades, Solid-State Transition Mechanism in Carbamazepine Polymorphs by Time-Resolved Terahertz Spectroscopy, *ChemPhysChem.* 8 (2007) 1924–1927.
- [120] C. Lefebvre, A.M. Guyot-Hermann, M. Draguet-Brughmans, R. Bouché, J.C. Guyot, Polymorphic Transitions of Carbamazepine During Grinding and Compression, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 12 (1986) 1913–1927.
- [121] C. Strachan, S.L. Howell, T. Rades, K. Gordon, A Theoretical and Spectroscopic Study of Carbamazepine Polymorphs, *J. Raman Spectrosc.* 35 (2004) 401–408.
- [122] M. Suhasini, E. Sailatha, S. Gunasekaran, G.R. Ramkumaar, Molecular Structure and Spectroscopic Characterization of Carbamazepine with Experimental Techniques and DFT Quantum Chemical Calculations, *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* 141 (2015) 252–262.
- [123] D. Lin-Vien, N.B. Colthup, W.G. Fateley, J.G. Grasselli, Chapter 9 - Compounds Containing the Carbonyl Group, w: *Handb. Infrared Raman Charact. Freq. Org. Mol.*, 1991: pp. 117–154.
- [124] J. Coates, Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach, w: *Encycl. Anal. Chem.*, 2006.
- [125] P.J.P. Reboul, B. Cristau, J.C. Soyfer, J.P. Astier, 5H-Dibenz[b,f]azépinecarboxamide-5 (Carbamazépine), *Acta Crystallogr. B.* 37 (1981) 1844–1848.

- [126] A.D. Edwards, B.Y. Shekunov, R.T. Forbes, J.G. Grossmann, P. York, Time-resolved X-ray scattering using synchrotron radiation applied to the study of a polymorphic transition in carbamazepine, *J. Pharm. Sci.* 90 (2001) 1106–1114.
- [127] A.J. Cruz Cabeza, G.M. Day, W.D.S. Motherwell, W. Jones, Solvent inclusion in form II carbamazepine, *Chem Commun.* (2007) 1600–1602.
- [128] F.U. Krahn, J.B. Mielck, Effect of type and extent of crystalline order on chemical and physical stability of carbamazepine, *Int. J. Pharm.* 53 (1989) 25–34.
- [129] K. Graeser, C. Strachan, J. Patterson, K. Gordon, T. Rades, Physicochemical Properties and Stability of Two Differently Prepared Amorphous Forms of Simvastatin, *Cryst. Growth Des.* 8 (2008) 128–135.
- [130] Z. Wojnarowska, K. Grzybowska, K. Adrjanowicz, K. Kaminski, M. Paluch, L. Hawelek, R. Wrzalik, M. Dulski, W. Sawicki, J. Mazgalski, A. Tukalska, T. Bieg, Study of the Amorphous Glibenclamide Drug: Analysis of the Molecular Dynamics of Quenched and Cryomilled Material, *Mol. Pharm.* 7 (2010) 1692–1707.
- [131] W. Khan, N. Kumar, Characterization, thermal stability studies, and analytical method development of Paromomycin for formulation development, *Drug Test. Anal.* 3 (2011) 363–372.
- [132] G. Ceschel, R. Badiello, C. Ronchi, P. Maffei, Degradation of components in drug formulations: A comparison between HPLC and DSC methods, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 32 (2003) 1067–1072.
- [133] E. Bellocco, D. Barreca, G. Lagana, U. Leuzzi, F. Migliardo, R. Torre, G. Galli, A. Galtieri, L. Minutoli, F. Squadrito, Neutron scattering and HPLC study on L-ascorbic acid and its degradation, *Chem. Phys.* 345 (2008) 191–195.
- [134] E. Lizarraga, C. Zabaleta, J.A. Palop, Thermal stability and decomposition of pharmaceutical compounds, *J. Therm. Anal. Calorim.* 89 (2007) 783–792.
- [135] M.A. Ciciliati, J.H.F. de Jesus, É.T.G. Cavalheiro, Investigation of the thermal behavior of Labetalol, *Thermochim. Acta.* 668 (2018) 33–39.
- [136] B. Strach, E. Wyska, K. Pocięcha, A. Krupa, R. Jachowicz, Sensitive and precise HPLC method with back-extraction clean-up step for the determination of sildenafil in rat plasma and its application to a pharmacokinetic study, *Biomed. Chromatogr.* 29 (2015) 1559–1566.
- [137] J.E. Patterson, M.B. James, A.H. Forster, R.W. Lancaster, J.M. Butler, T. Rades, The Influence of Thermal and Mechanical Preparative Techniques on the Amorphous State of Four Poorly Soluble Compounds, *J. Pharm. Sci.* 94 (2005) 1998–2012.
- [138] C. Hu, C.J. Testa, B.T. Shores, W. Wu, K. Shvedova, S.C. Born, S. Chattopadhyay, B. Takizawa, S. Mascia, An experimental study on polymorph control and continuous heterogeneous crystallization of carbamazepine, *CrystEngComm.* 21 (2019) 5076–5083.
- [139] M.A. O'Mahony, C.C. Seaton, D.M. Croker, S. Veessler, Å.C. Rasmuson, B.K. Hodnett, Investigation into the Mechanism of Solution-Mediated Transformation from FI to FIII Carbamazepine: The Role of Dissolution and the Interaction between Polymorph Surfaces, *Cryst. Growth Des.* 13 (2013) 1861–1871.
- [140] K. Sypek, I. Burns, A. Florence, J. Sefcik, In Situ Monitoring of Stirring Effects on Polymorphic Transformations during Cooling Crystallization of Carbamazepine, *Cryst. Growth Des.* 12 (2012) 4821–4828.
- [141] T. Threlfall, Crystallisation of Polymorphs: Thermodynamic Insight into the Role of Solvent, *Org. Process Res. Dev.* 4 (2000) 384–390.

- [142] J.P. Elder, Sublimation measurements of pharmaceutical compounds by isothermal thermogravimetry, *J. Therm. Anal.* 49 (1997) 897–905.
- [143] G. Adam, J.H. Gibbs, On the Temperature Dependence of Cooperative Relaxation Properties in Glass-Forming Liquids, *J. Chem. Phys.* 43 (1965) 139–146.
- [144] B.C. Hancock, S.L. Shamblin, Molecular mobility of amorphous pharmaceuticals determined using differential scanning calorimetry, *Thermochim. Acta.* 380 (2001) 95–107.
- [145] K. Crowley, G. Zografi, The Use of Thermal Methods for Predicting Glass-Former Fragility, *Thermochim. Acta.* 380 (2001) 79–93.
- [146] K. Graeser, J. Patterson, J. Zeitler, K. Gordon, T. Rades, Correlating thermodynamic and kinetic parameters with amorphous stability, *Eur. J. Pharm. Sci. Off. J. Eur. Fed. Pharm. Sci.* 37 (2009) 492–8.
- [147] K. Kolodziejczyk, K. Grzybowska, Z. Wojnarowska, M. Dulski, L. Hawelek, M. Paluch, Isothermal Cold Crystallization Kinetics Study of Sildenafil, *Cryst. Growth Des.* 14 (2014) 3199–3209.
- [148] K. Seefeldt, J. Miller, F. Alvarez-Núñez, N. Rodríguez-Hornedo, Crystallization Pathways and Kinetics of Carbamazepine–Nicotinamide Cocrystals from the Amorphous State by In Situ Thermomicroscopy, Spectroscopy, and Calorimetry Studies, *J. Pharm. Sci.* 96 (2007) 1147–1158.
- [149] M. Starink, The determination of activation energy from linear heating rate experiments: a comparison of the accuracy of isoconversion methods, *Thermochim. Acta.* 404 (2003) 163–176.