

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej



Barbara Rojek

ROZPRAWA DOKTORSKA

**TERMOGRAWIMETRIA I SPEKTROSKOPIA
W PODCZERWIENI WSPOMAGANE
WIELOWYMIAROWYMI TECHNIKAMI
EKSPLORACJI DANYCH
W WYKRYWANIU NIEZGODNOŚCI
FIZYKOCHEMICZNYCH**

Promotor: prof. dr hab. Marek Wesołowski

Praca wykonana w Katedrze i Zakładzie Chemii Analitycznej

Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Gdańsk 2014

Podziękowania

Promotorowi, prof. dr hab. Markowi Wesołowskiemu składam serdeczne podziękowanie za pomoc i opiekę nad pracą doktorską.

Mojej Rodzinie dziękuję za wsparcie.

Prace, w których opublikowano część wyników rozprawy doktorskiej:

1. B. Rojek, M. Wesołowski, B. Suczacz: [Detection of compatibility between baclofen and excipients with aid of infrared spectroscopy and chemometry](#). *Spectrochimica Acta Part A*, 116, 532-538, 2013. IF=1,977
2. M. Wesołowski, B. Rojek: [Thermogravimetric detection of incompatibilities between atenolol and excipients using multivariate techniques](#). *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 113, 169-177, 2013. IF=1,982
3. M. Wesołowski, B. Rojek, J. Piotrowska: [Application of chemometrically processed thermogravimetric data for identification of baclofen-excipient interactions](#). *Journal of AOAC International*, 95, 691-698, 2012. IF=1,233
4. B. Rojek, M. Wesołowski: [Analiza termiczna wybranych substancji pomocniczych stosowanych w procesie formulacji produktów leczniczych](#). *Farmaceutyczny Przegląd Naukowy*, 9, 45-50, 2010.
5. B. Rojek, M. Wesołowski: [Rozkład termiczny wybranych substancji pomocniczych stosowanych w technologii stałych postaci leków](#). *Farmaceutyczny Przegląd Naukowy*, 5, 34-39, 2010.
6. B. Rojek, M. Wesołowski: [Evaluation of usefulness of CA and PCA for identification of incompatibilities in the pharmaceutical phase](#). *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Sect. DDD Pharmacia*, 22, 49-57, 2009.

SPIS TREŚCI

WSTĘP.....	8
CZĘŚĆ TEORETYCZNA.....	11
I Metody analizy termicznej.....	12
1. Różnicowa analiza termiczna.....	14
1.1. Interpretacja krzywych DTA.....	15
2. Różnicowa kalorymetria skaningowa.....	16
2.1. Aparatura do DSC.....	16
2.2. Zastosowanie DSC.....	17
3. Termograwimetria.....	17
3.1. Interpretacja krzywych TG.....	18
4. Techniki łączone.....	18
II Analiza termiczna w farmacji.....	19
1. Hydratacja i dehydratacja substancji.....	20
2. Analiza składu preparatów farmaceutycznych.....	20
3. Analiza czystości substancji leczniczych.....	22
4. Trwałość termiczna substancji stosowanych w farmacji.....	23
5. Polimorfizm substancji leczniczych.....	24
6. Równowagi fazowe w układach wieloskładnikowych.....	25
7. Stałe rozproszenia w obojętnych nośnikach.....	25
8. Interakcje substancji leczniczych z pomocniczymi.....	26
CEL PRACY.....	45
CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA.....	47
1. Materiał do badań.....	48
2. Aparatura.....	48
3. Metodyka badań.....	49
3.1. Różnicowa kalorymetria skaningowa.....	50
3.2. Różnicowa analiza termiczna i termograwimetria.....	50
3.3. Termomikroskopia.....	51
3.4. Spektroskopia w podczerwieni.....	51
3.5. Dyfrakcja rentgenowska proszkowa.....	51
3.6. Metody analizy wielowymiarowej.....	52
WYNIKI DOŚWIADCZEŃ I DYSKUSJA.....	53
1. Charakterystyka fizykochemiczna substancji leczniczych.....	54

1.1. Rozkład termiczny.....	54
1.2. Analiza w podczerwieni.....	62
1.3. Analiza dyfraktometryczna.....	65
2. Charakterystyka fizykochemiczna substancji pomocniczych.....	67
2.1. Rozkład termiczny.....	67
2.2. Analiza w podczerwieni.....	80
2.3. Analiza dyfraktometryczna.....	84
3. Charakterystyka fizykochemiczna mieszanin dwuskładnikowych.....	88
3.1. Analiza termograwimetryczna mieszanin.....	88
3.2. Analiza chemometryczna danych termograwimetrycznych.....	92
3.3. Interpretacja widm w podczerwieni.....	107
3.4. Interpretacja chemometryczna widm IR.....	115
3.5. Identyfikacja niezgodności za pomocą technik DSC i XRPD.....	124
WNIOSKI.....	144
BIBLIOGRAFIA.....	148
STRESZCZENIE.....	166
ABSTRACT.....	171

Skróty i symbole stosowane w pracy

ATR-FTIR	Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy	Spektroskopia osłabionego całkowitego wewnętrznego odbicia w podczerwieni z transformacją Fouriera
CA	Cluster Analysis	Analiza skupień
DDTA	Differentiate Differential Thermal Analysis	Różniczkowa różnicowa analiza termiczna
DRIFT-FTIR	Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy	Spektroskopia odbicia rozproszonego w podczerwieni z transformacją Fouriera
DSC	Differential Scanning Calorimetry	Różnicowa kalorymetria skaningowa
DTA	Differential Thermal Analysis	Różnicowa analiza termiczna
DTMA	Dynamic Thermomechanical Analysis	Dynamiczna analiza termomechaniczna
EGA	Evolved Gas Analysis	Analiza składu produktów gazowych
EGD	Evolved Gas Detection	Detekcja produktów gazowych
ETA	Emanation Thermal Analysis	Emanacyjna analiza termiczna
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy	Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera
GC/MS	Gas Chromatography coupled with Mass Spectrometry	Chromatografia gazowa sprzężona z spektrometrią masową
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Wysokosprawna chromatografia cieczowa
HS-DSC	High Sensitivity Differential Scanning Calorimetry	Wysokoczuła różnicowa kalorymetria skaningowa
HSM	Hot Stage Microscopy	Termomikroskopia
HST	Heat Stress Test	Test odporności na temperaturę
IC	Isothermal Calorimetry	Izotermiczna kalorymetria
IMC	Isothermal Microcalorimetry	Izotermiczna mikrokalorymetria
IR	Infrared Spectroscopy	Spektroskopia w podczerwieni
IST	Isothermal Stress Test	Test przyspieszonego starzenia
L-DTA	Localised Differential Thermal Analysis	Punktowa różnicowa analiza termiczna
L-TA	Localised Thermal Analysis	Punktowa analiza termiczna
L-TMA	Localised Thermomechanical Analysis	Punktowa analiza termomechaniczna
MC	Microcalorimetry	Mikrokalorymetria
MT-DSC	Modulated Temperature Differential Scanning Calorimetry	Różnicowa kalorymetria skaningowa z modulacją temperatury
MFTIR	Micro-Fourier Transformed Infrared Spectroscopy	Mikrospektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera
MS	Mass spectrometry	Spektrometria mas
NIR	Near Infrared Spectroscopy	Spektroskopia w bliskiej podczerwieni

NMR	Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego
¹³ C-NMR	Carbon Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego izotopu ¹³ C
¹ H-NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego izotopu ¹ H
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy	Homojądrowa technika wielowymiarowa (standardowo 2D), wykorzystująca jądrowy efekt Overhausera, powodujący zmianę (wzrost lub zmniejszenie) intensywności sygnałów
OM	Optical Microscopy	Mikroskopia optyczna
PCA	Principal Component Analysis	Analiza głównych składowych
PTMS	Photothermal Microspectrometry	Mikrospektroskopia fototermiczna
SEM	Scanning Electron Microscopy	Skaningowa mikroskopia elektronowa
TA	Thermoacoustic Analysis	Termoakustymetria
TAPM	Thermally Assisted Particle Manipulation	Metoda manipulacji cząstek wspomaganą termicznie
TD	Thermodilatometry	Termodylatometria
TG	Thermogravimetry	Termograwimetria
TG-DTA	Thermogravimetry-Differential Thermal Analysis	Termograwimetria z różnicową analizą termiczną
TG-DTG	Thermogravimetry-Derivative Thermogravimetry	Termograwimetria z różniczkową termograwimetrią
TG-DSC	Thermogravimetry-Differential Scanning Calorimetry	Termograwimetria z różnicową kalorymetrią skanningową
TG/FTIR	Thermogravimetry coupled with Fourier Transform Infrared Spectroscopy	Termograwimetria sprzężona z spektroskopią w podczerwieni z transformacją Fouriera
TLC	Thin Layer Chromatography	Chromatografia cienkowarstwowa
TMA	Thermomechanical Analysis	Analiza termomechaniczna
TS	Thermosonimetry	Termosonimetria
Tukey's HSD test	Multiple comparison test performed by calculating Honestly Significant Difference	Test wielokrotnego porównania do określenia istotności różnic
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography	Ultrasprawa chromatografia cieczowa
UV	Ultra Violet Spectrophotometry	Spektrofotometria w zakresie nadfioletu
XRD	X-Ray Diffraction	Dyfrakcja rentgenowska
XRPD	X-Ray Powder Diffraction	Dyfrakcja rentgenowska proszkowa

WSTĘP

Postęp technologiczny dokonujący się w nauce i w przemyśle powoduje, że wzrasta zapotrzebowanie na różne metody analityczne, których zadaniem jest, m.in. ustalenie z określoną dokładnością, precyzją i niepewnością składu produktów ważnych dla egzystencji człowieka [1-4]. Nowoczesne i dobrze pracujące laboratoria, wyposażone w odpowiednią aparaturę analityczną, zapewniają nie tylko kontrolę surowców, półproduktów i prawidłowość przebiegu procesów technologicznych w przemyśle, ale także, co jest szczególnie ważne, ocenę jakości wyrobu finalnego, np. artykułów żywnościowych i leków.

Ocena jakości znajdujących się w obrocie leków jest zagadnieniem bardzo ważnym. Ustawodawstwo farmaceutyczne przewiduje kontrolę zgodności leku gotowego z ustalonymi dla niego normami [5, 6]. Zobowiązuje to producentów do sprawdzania jakości surowców użytych do produkcji preparatów farmaceutycznych oraz do prowadzenia kontroli zarówno procesu produkcyjnego, jak i produktu finalnego.

Program badań obejmuje sprawdzenie wyglądu i oznakowania opakowania gotowego produktu, sprawdzenie zawartości preparatu w opakowaniu, oznaczenie substancji czynnych, straty przy suszeniu i zawartości popiołu oraz badania mikrobiologiczne. Jest to zagadnienie trudne z uwagi na specyficzny charakter leków, uwarunkowany zróżnicowaniem ich postaci. Wymaga także dobrej znajomości technologii postaci leku oraz metod fizykochemicznych stosowanych w analityce farmaceutycznej.

W ostatnich latach obserwuje się znaczny wzrost zainteresowania metodami analizy termicznej, szczególnie różnicową kalorymetrią skaningową (DSC), różnicową analizą termiczną (DTA) i termograwimetrią (TG), z uwagi na ich niekwestionowaną przydatność w rozwiązywaniu niektórych problemów w technologii i analizie stałych postaci leków [7-10]. Dobrze udokumentowane przykłady zastosowania tych metod to badanie czystości i polimorfizmu substancji stosowanych do produkcji leków, wykrywanie interakcji pomiędzy potencjalnymi składnikami w fazie preformulacji oraz analiza wpływu różnych procesów technologicznych, np. rozdrabniania w młynie kulowym lub rozcierania w moździerzu, na właściwości fizykochemiczne substancji leczniczych.

Włączenie technik analizy termicznej do badania złożonych procesów zachodzących podczas formowania i składowania preparatów farmaceutycznych otwiera przed nimi nowe obszary zastosowania. Najważniejsze z tych obszarów to badanie przemian fazowych, takich jak hydratacja lub krystalizacja, zachodzących z udziałem składników preparatów farmaceutycznych oraz ocena trwałości substancji leczniczych w zawierających je postaciach leku (tabletki, granulaty), przechowywanych w różnych warunkach doświadczenia. Ważnym

obszarem zastosowań metod termooanalitycznych może być także użyteczność tych technik w jakościowej i ilościowej kontroli składu preparatów farmaceutycznych, bez czego nie byłby możliwy postęp w technologii postaci leku.

Metody termooanalityczne, szczególnie DSC lub DTA stosowane alternatywnie oraz TG, są nowoczesnymi, zautomatyzowanymi i skomputeryzowanymi technikami instrumentalnymi, które umożliwiają badanie w szerokim zakresie temperatur przemian fizycznych i chemicznych, jakim ulegają stosowane w farmacji substancje lecznicze i pomocnicze, mieszaniny tych substancji i preparaty farmaceutyczne na różnych etapach procesu technologicznego, podczas zmian temperatur zachodzących w kontrolowany sposób [11-25]. Najważniejsze procesy, jakie z punktu widzenia farmacji mogą być badane tymi technikami to topnienie, krystalizacja, parowanie, sublimacja, polimorfizm i pseudopolimorfizm, przemiany szkliste, równowagi fazowe, dehydratacja i desolvatacja, reakcje z udziałem fazy stałej oraz rozkład termiczny. Poza obserwacjami jakościowymi uzyskanymi na podstawie krzywych termooanalitycznych analizowanych próbek, zastosowanie profesjonalnych programów komputerowych umożliwia uzyskanie danych ilościowych w postaci temperatur charakteryzujących kolejne przemiany oraz wartości ciepła tych przemian.

W odróżnieniu od powszechnie stosowanych technik analizy instrumentalnej, takich jak techniki spektrofotometryczne, elektroanalityczne, chromatograficzne lub elektroforetyczne, metody analizy termicznej zapewniają szybką analizę próbki bez konieczności jej wstępnego przygotowania. W nowoczesnych przyrządach do DSC, DTA i TG, masa analizowanej próbki nie przekracza zwykle kilku lub kilkunastu miligramów, przy czym zapewniają one szeroki zakres informacji o zachowaniu się analizowanej substancji podczas ogrzewania lub studzenia. Należy jednak liczyć się z tym, że dokładność wyników uzyskiwanych technikami termooanalitycznymi jest pochodną jakości sprzętu pomiarowego, parametrów operacyjnych i czystości stosowanych wzorców.

CZEŚĆ TEORETYCZNA

I. Metody analizy termicznej

Najogólniej ujmując, pod pojęciem analizy termicznej rozumie się zespół technik, których zasada działania polega na pomiarze zmian wybranych właściwości fizycznych badanej substancji w funkcji temperatury, w warunkach kontrolowanego programu temperatury. Pomiar termoanalityczny mogą obejmować zmiany takich właściwości fizycznych substancji, jak temperatura, entalpia, masa, wymiary liniowe, właściwości elektryczne, magnetyczne, akustyczne, mechaniczne, i inne. Pomiar zmian wybranej właściwości fizycznej prowadzi do określonej metody analizy termicznej, z których najważniejsze zestawiono w Tabeli 1 [26-28]. Spośród tych technik największe znaczenie w praktyce zyskała różnicowa analiza termiczna, różnicowa kalorymetria skaningowa i termograwimetria [8-10]. Pozostałe metody termoanalityczne nie znajdują tak szerokiego zastosowania, ponieważ wymagają bardzo skomplikowanej aparatury i mogą być wykorzystane jedynie w przypadku badania wąskiej grupy substancji.

W zależności od sposobu ogrzewania próbki w czasie pomiaru, metody termiczne dzieli się na statyczne i dynamiczne [26]. W trakcie analizy termicznej statycznej temperatura próbki zmieniana jest skokowo i utrzymywana jest na danym poziomie aż do osiągnięcia przez składniki próbki stanu równowagi termodynamicznej, swoistej dla danej temperatury. Analiza termiczna dynamiczna wykonywana jest przy stopniowym, zwykle liniowym wzroście lub obniżaniu temperatury. Obecnie stosowane są niemal wyłącznie metody dynamiczne, ponieważ umożliwiają szybkie wykonanie analizy badanej próbki. W Tabeli 2 zestawiono najważniejsze procesy fizyczne i chemiczne, które mogą być badane metodami analizy termicznej [28].

Wyniki analizy termicznej przedstawia się w postaci krzywych termoanalitycznych obrazujących zależność mierzonej właściwości fizycznej od temperatury. Rejestrując krzywe zapisuje się temperaturę lub czas na osi odciętych, a zmianę wybranej właściwości fizycznej, np. energii cieplnej, na osi rzędnych wskazując, czy zmiana jest endotermiczna czy egzotermiczna. Niekiedy rejestruje się również ich pierwsze pochodne, a uzyskane krzywe różniczkowe określają szybkość zmian mierzonego parametru ułatwiając odróżnienie nakładających się na siebie efektów termicznych i dokładne wyznaczenie temperatur pików. Najczęściej rejestruje się zróżniczkowane krzywe termograwimetryczne i krzywe termodylatometryczne [8-9, 26].

Tabela 1. Przegląd najważniejszych metod analizy termicznej [26-28].

Mierzony parametr	Metoda	Skrót
Temperatura	krzywe ogrzewania i studzenia	DTA
Różnica temperatur	różnicowa analiza termiczna	DSC
Swobodny przepływ strumienia ciepła (<i>heat flux</i>)	różnicowa kalorymetria skaningowa	DSC
Kompensovany przepływ ciepła (<i>power compensation</i>)	różnicowa kalorymetria skaningowa	TG
Zmiana masy	termogravimetria	EGD
Objętość wydzielającego się składnika gazowego	detekcja produktów gazowych	EGA
Analiza składu chemicznego wydzielanych gazów	analiza składu produktów gazowych	ETA
Oznaczenie wydzielających się radioaktywnych składników gazowych	emanacyjna analiza termiczna	
Dyfrakcja promieni X	termodyfraktometria	
Przepływ prądu elektrycznego	termoelektrometria	
Polaryzacja elektryczna	dielektryczna analiza termiczna	
Magnetyzacja	termomagnetymetria	
Zmiana wymiarów	termodylatometria	TD
Deformacja pod wpływem obciążeń	analiza termomechaniczna	TMA
Moduł tłumienia drgań wywołanych oscylacyjnym obciążeniem	dynamiczna analiza termomechaniczna	DTMA
Przepływ fal akustycznych	termoakustymetria	TA
Nateżenie efektów dźwiękowych	termosonimetria	TS
Współczynnik załamania światła	termorefraktometria	
Luminescencja	termoluminescencja	
Pomiar widma światła przechodzącego lub odbitego	termospektroskopia	
Obraz mikroskopowy	termomikroskopopia	

Tabela 2. Przemiany fizyczne i reakcje chemiczne możliwe do badania przy użyciu metod analizy termicznej [28].

Przemiany termiczne	Efekt termiczny		Ubytek masy	
	endo	egzo	ubytek	przyrost
Przemiany fizyczne				
Przemiana krystaliczna	x			
Przemiana szklista	x			
Topnienie	x			
Krystalizacja		x		
Parowanie	x		x	
Sublimacja	x		x	
Adsorpcja lub absorpcja		x		x
Desorpcja	x		x	
Reakcje chemiczne				
Dehydratacja lub desolvatacja	x		x	
Rozkład	x	x	x	
Reakcje ciało stałe-ciało stałe	x	x	x	
Reakcje ciało stałe-ciecz	x	x	x	
Reakcje ciało stałe-gaz	x	x		x
Reakcje redoks	x	x	x	

1. Różnicowa analiza termiczna

Zasada działania różnicowej analizy termicznej (DTA), polega na pomiarze różnicy temperatur (ΔT) między próbką (T_s) i substancją odniesienia (T_i). Obie substancje ogrzewane są równocześnie w jednakowych warunkach przy liniowym wzroście lub obniżaniu temperatury [8, 9, 29, 32]. Uzyskaną różnicę temperatur rejestruje się w funkcji czasu (t) lub temperatury (T), otrzymując krzywą DTA:

$$\Delta T = f(t) = f(T)$$

Gdy temperatura próbki i substancji odniesienia ma tę samą wartość ($\Delta T = 0$), w próbce nie zachodzą żadne procesy termiczne, a krzywa DTA nie ulega odchyleniu od linii podstawowej. Jeżeli natomiast temperatura próbki utrzymuje się na poziomie niższym w porównaniu z temperaturą substancji odniesienia ($\Delta T_1 < 0$), w próbce zachodzi proces wymagający dostarczenia z zewnątrz energii cieplnej, który charakteryzuje endotermiczny pik na krzywej DTA. W ostatnim przypadku, gdy temperatura próbki utrzymuje się na poziomie wyższym w porównaniu z temperaturą substancji odniesienia ($\Delta T_2 > 0$), w próbce zachodzi proces związany z uwolnieniem energii cieplnej, a na krzywej DTA charakteryzuje go pik egzotermiczny [26, 29, 32, 33]. Równania opisujące pik na krzywej DTA opierają się na

założeniu, że powierzchnia efektu jest w przybliżeniu proporcjonalna do masy próbki ulegającej przemianom termicznym.

Pik na krzywej DTA można opisać za pomocą charakterystycznych wartości, które pozwalają na odróżnienie go od innych pików [26, 29, 34, 35]. Charakterystycznymi parametrami związanymi z powierzchnią i kształtem pików są – jego szerokość (w), wysokość (h), powierzchnia (S) i współczynnik kształtu (s). Natomiast do charakterystycznych parametrów związanych z temperaturami pików należą temperatury – początku pików (T_i), ekstrapolowanego początku (T_e), maksimum pików (T_p) i końca pików (T_f). Charakterystyki pików nie zależą od czasu i temperatury, zależą natomiast od warunków wykonania pomiaru i właściwości fizycznych analizowanej substancji. Powierzchnia pików jest proporcjonalna do ilości ciepła wymienionego przez próbkę z otoczeniem, natomiast jego kształt uwarunkowany jest kinetyką procesu.

1.1. Interpretacja krzywych DTA

DTA jest metodą dynamiczną, to znaczy taką, w której nie osiąga się stanu równowagi termodynamicznej [26, 29, 33, 36]. Za jej pomocą można badać reakcje, którym towarzyszy dostatecznie duża wymiana ciepła z otoczeniem lub w czasie których w odpowiednio krótkim czasie ulega zmianie ciepło właściwe w wystarczająco dużym stopniu. Pozwala to stwierdzić, czy danej przemianie towarzyszy efekt endo czy egzotermiczny, i przy zastosowaniu odpowiednich układów, oznaczyć ilość pochłoniętej lub wydzielonej energii cieplnej.

Podczas jakościowej interpretacji krzywych DTA należy pamiętać, że DTA jest przede wszystkim metodą analizy fazowej [26, 29, 33, 36]. W związku z tym krzywa DTA odzwierciedla zmiany w układzie faz w badanej próbce w warunkach liniowego wzrostu lub obniżania temperatury. Ponieważ przemiany fazowe zależą pośrednio od składu chemicznego próbki, jakościową interpretację składu przeprowadza się porównując zakresy temperatur oraz wielkość i kształt pików na krzywych DTA substancji badanej i wzorcowej. Jest to możliwe przy założeniu, że pomiary dokonano w tych samych warunkach i przy użyciu tego samego typu aparatu. Zastosowanie DTA w identyfikacji składu mieszaniny złożonej z kilku związków chemicznych jest problematyczne, ponieważ wzajemne rozcieńczenie związków prowadzi do zmniejszenia powierzchni ich pików, często w połączeniu ze zmianą kształtu. W praktyce, za charakterystyczne piki uważane są jedynie te, które występują w temperaturach niższych niż temperatura topnienia badanej substancji.

Ilościowa interpretacja krzywych DTA obejmuje określenie czystości próbki, pomiary kalorymetryczne i badanie kinetyki reakcji. Z uwagi na konieczność kalibracji aparatury,

eliminację wpływu przewodnictwa cieplnego i dokonanie skomplikowanych przeliczeń, w oznaczaniu czystości i pomiarach kalorymetrycznych, głównie entalpii przemiany i ciepła właściwego, klasyczna DTA jest coraz częściej zastępowana przez kalorymetrię różnicową.

2. Różnicowa kalorymetria skaningowa

W różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC), rejestruje się energię konieczną do sprowadzenia do zera różnicy temperatur między próbką i substancją odniesienia [10, 29, 32, 37]. Podobnie jak w DTA, obie próbki ogrzewa się lub chłodzi w sposób kontrolowany, a krzywa DSC odzwierciedla ilość ciepła wymienionego przez próbkę z otoczeniem w jednostce czasu w funkcji czasu (t) lub temperatury (T):

$$dH/dt = f(t) = f(T)$$

Krzywa DSC kształtem swoim przypomina krzywą DTA. Początek temperatury, przy której rozpoczyna się przemiana odpowiada przecięciu się przedłużonej linii podstawowej ze styczną do krzywej w punkcie największego nachylenia. Natomiast entalpia przemiany jest proporcjonalna do powierzchni pod krzywą, ograniczonej przez linię podstawową.

2.1. Aparatura do DSC

Aparaturę do DSC stanowią m.in. pojemniki na próbkę i substancję odniesienia oraz układ do pomiaru różnicy temperatur między nimi [8, 10, 29, 33]. W czasie analizy rejestruje się energię elektryczną konieczną do utrzymania zerowej różnicy temperatur między obiema substancjami. Jest ona wprost proporcjonalna do ciepła pochłoniętego w trakcie przemiany, przy czym współczynnik proporcjonalności jest stały i nie zależy od temperatury. Rzędna rejestratora jest najczęściej wykalibrowana w mikrojoulach na sekundę, w związku z tym DSC umożliwia bezpośredni pomiar ciepła przemiany w funkcji temperatury.

Dostępne są dwa typy przyrządów do DSC, aparaty wykorzystujące kompensację mocy do utrzymania zerowej różnicy temperatur pomiędzy próbką badaną i odniesienia (*power compensation*), oraz aparaty, które wykorzystują stałą szybkość ogrzewania i układ wykrywania różnicowej temperatury jako różnicy w przepływie ciepła między próbką badaną i odniesienia (*heat flux*).

Aparatura do DSC pracująca w systemie z kompensacją mocy składają się z dwóch pieców, dla próbki badanej i substancji odniesienia, stanowiących niezależne układy pomiarowe wyposażone w oddzielne urządzenia grzewcze. Aparaty pracujące w systemie pomiaru przepływu ciepła składają się z pojedynczego pieca, w którym na wspólnym dysku

termoelektrycznym umieszczone są dwa pojemniki z substancjami, badaną i odniesienia.

2.2. Zastosowanie DSC

DSC jest techniką, która może być przydatna do wykrywania przemian fazowych i reakcji chemicznych zachodzących podczas ogrzewania lub chłodzenia substancji lub mieszaniny substancji oraz do wyznaczania zmian entalpii, ciepła właściwego i temperatur, przy których te przemiany zachodzą. Technikę tę używa się do wyznaczenia różnicy w przepływie ciepła w odniesieniu do temperatury, uwolnionego lub pochłoniętego przez badaną próbkę w porównaniu z substancją odniesienia, w funkcji temperatury [8, 10, 29, 38].

3. Termogravimetria

W termogravimetrii (TG), rejestruje się zmiany masy, jej ubytek względnie przyrost (Δm), zachodzące w wyniku ogrzewania próbki w warunkach liniowego wzrostu temperatury i wykreśla się te zmiany w funkcji czasu (t) lub temperatury (T), otrzymując krzywą TG [8, 9, 29, 39]:

$$\Delta m = f(t) = f(T)$$

ładź też rejestruje się szybkość zmiany masy (dm/dt), uzyskując różniczkową krzywą termogravimetryczną (DTG):

$$dm/dt = f(t) = f(T)$$

Typowe krzywe TG i DTG charakteryzują trzy przypadki. W pierwszym nie obserwuje się zmian masy próbki. Na krzywych TG i DTG odpowiada on odcinkowi poziomemu, tzw. *plateau*, wówczas dm/dt jest równe zero. W przypadku drugim, wielkość odchylenia krzywej TG od linii poziomej odzwierciedla szybkość zmiany masy i wykazuje wartość największą wówczas, gdy krzywa DTG osiąga maksimum. Przypadek ten odpowiada zakrzywionemu odcinkowi krzywej TG, w którym stosunek dm/dt jest większy od zera. Natomiast, gdy szybkość zmiany masy próbki jest bardzo mała i wskazuje na formowanie się pośredniego produktu rozkładu, proces charakteryzuje przegięcie na krzywej TG, a stosunek dm/dt nieznacznie różni się od zera.

Krzywa DTG posiada znaczną przewagę nad krzywą TG z uwagi na fakt, że wyraźnie odzwierciedla każdą zmianę w szybkości ubytku lub przyrostu masy próbki. Umożliwia to wyraźne rozdzielanie poszczególnych etapów rozkładu. Nieznaczny występ na piku DTG może wskazywać na obecność dwóch prawie całkowicie pokrywających się procesów termicznych, natomiast wydłużony koniec piku może wskazywać na silną adsorpcję gazowych produktów

rozkładu na powierzchni nowo tworzonej fazy [8, 9, 29, 39].

3.1. Interpretacja krzywych TG

Metoda TG umożliwia badanie tych przemian fizycznych i reakcji chemicznych, którym towarzyszy zmiana masy. Jakościowa interpretacja krzywych TG jest łatwiejsza niż krzywych DSC lub DTA. Identyfikacji związku chemicznego dokonuje się w wyniku porównania zakresów temperatur, kształtu krzywych i zmian masy towarzyszących określonym etapom rozkładu związku badanego i wzorcowego. Pomiarów należy dokonać w tych samych warunkach i przy użyciu tego samego typu aparatu.

Ilościowa interpretacja krzywych TG polega na wyznaczeniu parametrów kinetycznych. W pomiarach wykorzystuje się możliwość dokładnego określenia zmiany masy i jej szybkości w poszczególnych temperaturach. Można tego dokonać w oparciu o pomiary w warunkach izotermicznych lub nieizotermicznych. Metody oparte na pomiarach nieizotermicznych są stosunkowo szybkie i mało pracochłonne, wymagają jednak trudnych przeliczeń matematycznych, dostarczając przy tym mniej dokładnych danych [26, 29, 39-41].

4. Techniki łączone

Współczesna aparatura do analizy termicznej stwarza szerokie możliwości w zakresie łączonego stosowania metod nie tylko w obszarze różnych technik termoanalitycznych, ale także z innymi technikami instrumentalnymi. Aktualnie w użyciu znajdują się trzy grupy połączonych technik pomiarowych, które definiuje się jako techniki jednoczesne, jednoczesne techniki sprzężone i techniki jednoczesne współdziałające nie ciągle [9, 26].

Terminem techniki jednoczesne określa się badanie danej próbki w tym samym czasie, dwoma lub większą liczbą technik pomiarowych, np. równoczesna analiza DTA i TG [9, 26]. Ponieważ optymalne warunki pomiaru różnią się zasadniczo w przypadku analiz prowadzonych technikami DTA i TG, wyznaczone z krzywych DTA charakterystyczne temperatury przemian są często nawet o kilkadziesiąt stopni wyższe w porównaniu z wartościami uzyskanymi z krzywych TG. W znacznym stopniu utrudnia to interpretację wyników. Możliwość badania próbek o małej masie uzyskana w wyniku zwiększenia czułości przyrządów umożliwiła znalezienie kompromisowego rozwiązania i obecnie coraz częściej dokonuje się równoczesnej rejestracji krzywych DTA i TG z jednej próbki [42]. Jest to celowe, ponieważ obie krzywe ułatwiają wzajemnie swoją interpretację. DTA pozwala stwierdzić, czy danej przemianie fizycznej lub reakcji chemicznej towarzyszy efekt endo czy egzotermiczny i przy zastosowaniu

odpowiednich układów określić ilość pochłoniętego lub wydzielonego ciepła. Natomiast za pomocą TG można wyznaczyć dokładnie zmianę masy próbki i wykorzystać to w wyprowadzeniu równania reakcji chemicznej, zgodnie z którą przebiega rozkład. Obie techniki mogą także współpracować z wieloma innymi metodami instrumentalnymi umożliwiając pełną interpretację wyników termooanalitycznych [9, 43].

Pojęcie jednoczesne techniki sprzężone obejmuje badanie tej samej próbki za pomocą dwu lub więcej technik instrumentalnych działających niezależnie, przy czym aparaty te połączone są łącznikami [26]. Przykładem takich badań może być sprzężenie analizy TG i spektrometrii masowej. Natomiast pod pojęciem techniki jednoczesne współdziałające nie ciągle kryje się badanie próbki za pomocą dwu lub więcej sprzężonych technik pomiarowych, gdy pobieranie substancji do badań dla drugiej z tych technik lub sam pomiar odbywają się w sposób nieciągły. Przykładem są techniki – DTA i chromatografia gazowa, gdy do analizy chromatograficznej pobiera się porcje lotnych produktów reakcji wydzielających się z badanej próbki, umieszczonej w aparaturze do DTA.

Stosując jednoczesne techniki sprzężone i techniki jednoczesne współdziałające nie ciągle można zapewnić warunki umożliwiające pełną analizę przemian zachodzących w badanej próbce w funkcji temperatury, np. poprzez identyfikację i analizę składu gazowych produktów rozkładu lub analizę produktów pośrednich i pozostałości po rozkładzie [26]. Analizę wydzielających się gazów podczas pomiaru termooanalitycznego można wykonać stosując spektrometrię masową, spektrometrię w podczerwieni z transformacją Fouriera, chromatografię gazową lub absorbując gazowe produkty rozkładu w roztworach, a następnie miareczkując je lub mierząc zmianę pH. Wybór metod identyfikacji produktów pośrednich i (lub) końcowych zależy przede wszystkim od specyfiki badanego związku. Do analizy faz stałych można stosować proszkową dyfrakcyjną analizę rentgenowską (XRPD), spektrometrię w podczerwieni (IR) oraz termomikroskop (HSM), skaningowy mikroskop elektronowy (SEM) i transmisyjny mikroskop elektronowy (TEM).

II. Analiza termiczna w farmacji

Na przestrzeni kilkudziesięciu lat metody termooanalityczne znalazły właściwe sobie, interdyscyplinarne miejsce w nauce. Obecnie obserwuje się duży wzrost zainteresowania tymi technikami w rozwiązywaniu różnych problemów w nauce i przemyśle farmaceutycznym. Analiza termiczna jest stosowana m.in. w jakościowej i ilościowej analizie składu fazowego i

chemicznego substancji leczniczych, w określaniu ich czystości i trwałości oraz w badaniach fizykochemicznych do wyznaczania parametrów termodynamicznych i kinetycznych reakcji [7, 30, 31, 39].

1. Hydratacja i dehydratacja substancji

Wiele substancji leczniczych krystalizuje łącznie z cząsteczkami wody jako integralną częścią struktury krystalicznej tworząc tzw. hydraty. Obecność wody krystalizacyjnej wpływa na niektóre właściwości fizykochemiczne związku, głównie na trwałość i rozpuszczalność. Ma to duże znaczenie w procesie formowania postaci leku. Układ krystaliczny hydratów może łatwo ulec zniszczeniu pod wpływem temperatury i takich czynników mechanicznych, jak rozdrabnianie czy rozcieranie [7, 24, 31, 39].

Analiza DSC i TG w połączeniu z dyfrakcyjną analizą rentgenowską i mikroskopią elektronową wykazała, że rozdrabnianie i rozcieranie w moździerzu cefiksymu krystalizującego z trzema cząsteczkami wody, powoduje osłabienie wiązań między cząsteczkami substancji leczniczej i wody krystalizacyjnej. Siatka krystaliczna ulega zniszczeniu, w wyniku czego następuje obniżenie trwałości badanej substancji leczniczej. Wizualnym objawem tego procesu jest najczęściej zmiana koloru związku spowodowana pojawieniem się produktów rozkładu [39].

Równie ważnym procesem z punktu widzenia trwałości substancji leczniczych jest hydratacja. Stosując DSC i skaningowy mikroskop elektronowy stwierdzono, że na powierzchni tabletek przechowywanych przez dłuższy czas krystalizują składniki w formie kryształów o wyglądzie igieł [39, 44]. Dokładna analiza wykazała, że kryształy te to laktoza i mannitol, które krystalizują w obecności higroskopijnych składników tabletek, np. soli sodowej kwasu dokozanowego, chlorku magnezu lub octanu potasu. Podobieństwo krzywych DSC ponad wszelką wątpliwość identyfikuje obie substancje pomocnicze jako produkty krystalizacji tabletek.

2. Analiza składu preparatów farmaceutycznych

Potencjalna użyteczność metod analizy termicznej – DSC, DTA i TG w kontroli składu handlowych postaci leków polega nie tylko na sprawdzeniu tożsamości składników preparatu farmaceutycznego w oparciu o ich właściwości termiczne, ale także na ocenie zawartości aktywnego farmakologicznie składnika. Użyteczność tych technik w identyfikacji i analizie ilościowej niektórych substancji w preparatach leczniczych potwierdzają liczne doniesienia literaturowe [7, 39, 46].

Badania DSC dostępnych w aptekach preparatów farmaceutycznych wykazały, że możliwa jest zarówno identyfikacja składników (substancji leczniczych i pomocniczych), jak i analiza ilościowa tabletek, kapsułek, peletek i czopków, szczególnie w preparatach o dużej zawartości aktywnego składnika. Analiza sprowadza się do porównania temperatur początku endotermicznych pików DSC preparatów z odpowiednimi pikami substancji leczniczych użytych w roli substancji wzorcowych, analizowanych w tych samych warunkach.

Identyfikacja składników preparatów farmaceutycznych jest dość łatwa w przypadku form leku zawierających duże dawki substancji leczniczych. Poza temperaturą topnienia, do identyfikacji można użyć pik endotermiczny związany z dehydratacją lub egzotermiczny spowodowany rozkładem substancji leczniczej [7]. W niektórych przypadkach identyfikacja substancji czynnej nie jest jednak możliwa z uwagi na interakcje składników preparatu z utworzeniem eutektyku. Sytuacja taka występuje często w przypadku preparatów zawierających niskie dawki substancji leczniczych, utworzony wówczas eutektyk z występującą w dużej ilości substancją pomocniczą maskuje efekt endotermiczny identyfikujący substancję czynną. Należy nadmienić, że obecna w preparatach laktoza i skrobia kukurydziana nie wchodziły w interakcje z substancjami leczniczymi, umożliwiając tym samym ich analizę ilościową.

Analiza DSC preparatów Voltaren wykazała, że zależność pomiędzy powierzchnią endotermicznego pików DSC związanego z topnieniem diklofenaku, a jego stężeniem w preparacie może być wykorzystana do oznaczania substancji czynnej w tabletkach, czopkach i ampułkach. Spośród wymienionych preparatów, tylko tabletki zawierają diklofenak w postaci wolnego kwasu, który topi się w temp. 182°C [39, 45]. Natomiast czopki i ampułki zawierają go w formie soli sodowej, która nie jest aktywna termicznie w badanym zakresie temperatur. W związku z tym w przypadku czopków i ampulek należy zastosować pośrednią metodę oznaczania, polegającą na przekształceniu soli sodowej diklofenaku w postać wolnego kwasu za pomocą kwasu nitrylotrioctowego. Jest on kwasem mocniejszym niż diklofenak, a jego nadmiar nie przeszkadza w oznaczeniach techniką DSC, ponieważ nie ulega przemianom termicznym poniżej temp. 225°C. Wyniki uzyskane w ten sposób charakteryzują się wysoką precyzją i dokładnością, procedura jest dość szybka i łatwa do przeprowadzenia, i pomijając koszt aparatury, stosunkowo niedroga.

Analiza DTA i TG rozkładu termicznego handlowych preparatów farmaceutycznych reprezentujących proszki zwykle i musujące, zasyпки, kapsułki, granulaty zwykle i musujące, tabletki do stosowania wewnętrznego, do ssania i musujące oraz drażetki wykazała, że w ilościowej analizie składu tych preparatów można wykorzystać ubytek masy rejestrowany przez krzywą TG, wynikający z dehydratacji, dekarboksylacji, formowania pośredniego produktu

rozkładu oraz całkowitego odparowania lub sublimacji.

Badania wykazały, że użyteczność technik DTA i TG w kontroli składu preparatów farmaceutycznych jest bezdyskusyjna, ale tylko wtedy gdy charakterystyka rozkładu związków zawartych w analizowanej postaci leku została uprzednio określona i skatalogowana [46]. Substancja, której obecność nie jest spodziewana, i w związku z tym charakterystyka jej rozkładu termicznego nie jest znana, może zostać nie wykryta bądź też będzie wpływała na możliwość wykrycia pozostałych substancji zawartych w badanym preparacie.

Analizowany za pomocą technik termooanalitycznych preparat farmaceutyczny i zawarta w nim substancja lecznicza muszą sprostać szeregu wymogom. I tak najkorzystniej jest, gdy w skład masy tabletkowej wchodzi substancje nie ulegające rozkładowi w zakresie temperatur rozkładu termicznego substancji czynnej. Zawartość substancji leczniczej powinna wynosić przynajmniej 10% masy preparatu, a etapy jej rozkładu powinny przebiegać możliwie w największym zakresie temperatur, przy czym ubytek masy w określonym etapie powinien być stosunkowo duży. W rozpatrywanym zakresie temperatur nie powinien przebiegać rozkład termiczny pozostałych składników. Formowaniu pośrednich produktów rozkładu powinny towarzyszyć wyraźne plateau, przebiegające w możliwie najszerszych zakresach temperatur.

3. Analiza czystości substancji leczniczych

Jednym z czynników wpływających na skuteczność terapeutyczną leku jest czystość substancji użytych w procesie jego formowania, którą można określić stosując metody analizy termicznej. Analiza zakresów temperatur oraz kształtu i powierzchni endotermicznych pików DSC lub DTA związanych z topnieniem związków organicznych wykazała, że obecność zanieczyszczeń wpływa na parametry piku [35]. Im bardziej zanieczyszczona jest substancja, tym w większym stopniu temperatura początku i temperatura piku ulegają przesunięciu w kierunku niższych wartości, ponadto wysokość piku ulega zmniejszeniu. Natomiast wraz ze wzrostem jej czystości, odchylenie krzywej DSC lub DTA od linii podstawowej jest bardziej strome. Zakres temperatury między początkiem piku rejestrowanym przez rejestrator i początkiem ekstrapolowanym do zerowej szybkości ogrzewania zmniejsza się, równocześnie pik ulega zwężeniu. Wynika z tego, że przez porównanie efektów endotermicznych substancji o wysokiej czystości (wzorzec) z substancją zanieczyszczoną (próbka badana), można ocenić stopień zanieczyszczenia analizowanej substancji.

Oznaczanie czystości oparte jest na równaniu van't Hoffa, które przedstawia zależność między obniżeniem temperatury topnienia czystej substancji, spowodowanym zawartymi w niej

zanieczyszczeniami a stężeniem tych zanieczyszczeń [28, 35]. Równanie van't Hoffa spełnione jest jedynie dla idealnie rozcieńczonych roztworów. Z tego względu może być stosowane tylko dla względnie czystych próbek o czystości nie niższej niż 98,0%. Granicę tę można obniżyć rozcieńczając zanieczyszczoną substancję składnikiem podstawowym, aż do osiągnięcia czystości próbki około 99%.

Szczególnym warunkom powinny odpowiadać analizowane substancje. Nie można oznaczać czystości związków topiących się z rozkładem [35]. Związki o wysokiej prężności par mogą być analizowane tylko w hermetycznie zamkniętych pojemnikach. W podwyższonej temperaturze składniki próbki nie mogą reagować pomiędzy sobą ani z materiałem, z którego wykonany jest pojemnik. Związki występujące w dwóch lub więcej formach krystalicznych, np. odmiany polimorficzne, powinny być uprzednio przeprowadzone w jedną z form. Znacznym utrudnieniem jest także niska wartość ciepła topnienia czystej substancji.

Przy użyciu technik DSC i DTA badano czystość wielu substancji stosowanych w przemyśle farmaceutycznym. Zautomatyzowana i skomputeryzowana aparatura do analizy termicznej, wyposażona w odpowiednie oprogramowanie, dokonując skomplikowanych i czasochłonnych przeliczeń, skraca czas analizy, eliminuje subiektywne błędy oraz wpływa korzystnie na dokładność i precyzję oznaczeń [7, 28, 31, 35].

4. Trwałość termiczna substancji stosowanych w farmacji

Metody termoanalityczne znalazły także szerokie zastosowanie w badaniu trwałości i rozkładu termicznego substancji leczniczych [15, 28, 39, 47, 48]. Poznanie charakterystyki termicznej związku chemicznego, tzn. jego zachowania się w różnych temperaturach, jest zagadnieniem bardzo ważnym zarówno z punktu widzenia charakterystyki fizykochemicznej badanej substancji, jak i technologii postaci leku. Określenie zakresu temperatur, na których działanie substancja lecznicza może być narażona bez groźby wystąpienia niekorzystnych zmian w jej strukturze i działaniu farmakoterapeutycznym, jest istotne ze względu na warunki jej przechowywania i obróbki technologicznej.

Przy użyciu metod analizy termicznej badano rozkład w warunkach nieizotermicznych wielu organicznych i nieorganicznych substancji leczniczych. Na krzywych TG i DTG rozkładu termicznego, stosowanych w lecznictwie soli wapnia – pięciowodnego mleczanu wapnia i cyklobarbitalu wapnia w zakresie temperatur 600–800°C widoczny jest charakterystyczny etap rozkładu związany z dekarboksylacją węglanu wapnia, utworzonego w efekcie spalania struktury organicznej badanej substancji [49]. Ubytek masy towarzyszący temu

etapowi może być podstawą analizy ilościowej soli wapniowej w preparacie farmaceutycznym. Proces dekarboksylacji potwierdza endotermiczny pik na krzywej DTA.

Analiza rozkładu termicznego sulfonamidów wskazała z kolei na wpływ struktury chemicznej badanych substancji na przebieg ich destrukcji termicznej [50]. Porównując trwałość termiczną sulfatiazolu, sulfametoksydiazyny i sulfadiiminy stwierdzono wpływ podstawnika heterocyklicznego na trwałość podstawowej struktury sulfonamidu. Pochodne zawierające podstawniki pirymidynowe (sulfametoksydiazyna i sulfadiimina) zachowują się podobnie, podczas gdy sulfatiazol wykazuje wyższą trwałość. Z kolei izotiocyanowe pochodne tych trzech sulfonamidów ulegają rozkładowi termicznemu w niższych temperaturach, a ich rozkład przebiega wolniej z przesunięciem temperatury końca procesu w kierunku wyższych wartości.

5. Polimorfizm substancji leczniczych

Polimorfizm jest przykładem przemiany fazowej w układzie jednoskładnikowym faza stała-faza stała. Przemiany fazowe odgrywają zasadniczą rolę w poznaniu zależności między strukturą ciał stałych i ich właściwościami. W przypadku polimorfizmu, poszczególne odmiany różnią się między sobą budową krystaliczną, ciepłem tworzenia i innymi właściwościami fizycznymi. Stanowią odrębne fazy, trwałe w określonych zakresach temperatur i ciśnienia.

DSC i DTA są bardzo pomocne w wyznaczaniu charakterystycznych temperatur i ciepła przemian polimorficznych [34]. Procesy te wymagają dostarczenia ciepła do układu, i w związku z tym towarzyszą im efekty endotermiczne. Poszczególne odmiany polimorficzne mogą ulegać wzajemnej transformacji, przy czym przemiana może być odwracalna lub nieodwracalna. Za pomocą metod analizy termicznej można stwierdzić, czy dana przemiana jest odwracalna (enantiotropowa), czy nieodwracalna, tzn. jednokierunkowa (monotropowa). Z powierzchni efektu endotermicznego wyznacza się ciepło przemiany. Metody te spełniają także ważną rolę w wykrywaniu form pseudopolimorficznych, np. hydratów lub solwatów.

Polimorfizm jest istotnym czynnikiem z punktu widzenia technologii postaci leku. Odmienne struktury krystaliczne form polimorficznych powoduje, że często obserwuje się znaczne różnice we właściwościach fizycznych substancji, głównie w temperaturze topnienia, gęstości, twardości i rozpuszczalności. Spośród tych czynników, szybkość rozpuszczania i rozpuszczalność wywierają bezpośredni wpływ na biodostępność substancji aktywnej.

Na podstawie wyników analizy termicznej można określić szybkość przemiany polimorficznej. W przypadku wolno przebiegającej transformacji tworzy się odmiana

termodynamicznie nietrwała, tzw. odmiana metastabilna, zwykle korzystna pod względem terapeutycznym. Transformacja w kierunku najbardziej trwałej odmiany polimorficznej, tzw. stabilnej, która ma z reguły najwyższą temperaturę topnienia i najmniejszą rozpuszczalność, jest procesem niekorzystnym dla dostępności biologicznej.

Metody analizy termicznej zostały powszechnie uznane jako podstawowe techniki identyfikacji odmian polimorficznych substancji leczniczych, co potwierdzają zamieszczone w piśmiennictwie szczegółowe badania polimorfizmu wielu związków organicznych [34, 51-53].

6. Równowagi fazowe w układach wieloskładnikowych

Techniki analizy termicznej są nieocenione jako szybkie i dokładne metody badania równowag fazowych w układach dwu- i wieloskładnikowych [28]. Obok faz czystych mogą się w nich pojawiać również fazy stanowiące dwuskładnikowe roztwory stałe lub ciekłe. Znaczenie analizy fazowej wynika z faktu, że w przypadku ciał stałych nosicielami wielu specyficznych właściwości fizycznych i chemicznych są nie cząsteczki, lecz fazy. Wiąże się więc z analizą fazową badanie zależności właściwości ciał stałych od ich składu fazowego i struktury chemicznej.

Równoległe z technikami DSC i DTA, w badaniu układów fazowych stosowane są metody krzywych ogrzewania i studzenia, termomikroskopia oraz metoda strefowego topnienia. Zastosowanie przynajmniej dwóch z tych technik warunkuje prawidłową konstrukcję diagramu fazowego, który umożliwi wyznaczenie składu i temperatury topnienia eutektyku oraz jego ciepła topnienia w funkcji zawartości eutektyku w mieszaninie [28]. Ciepło topnienia osiąga wartość maksymalną dla mieszaniny o składzie odpowiadającym eutektykowi. Diagram fazowy pozwala więc nie tylko na stwierdzenie, jakie fazy są obecne i jaki jest ich skład, ale również jaka jest ich ilość. Metody termoanalityczne są ponadto nieocenione w wykrywaniu bardzo małych ilości eutektyku w mieszaninie, ponieważ charakteryzuje je wysoka czułość [28, 54].

Duża praktyczna użyteczność eutektyków w lecznictwie wynika z faktu, że każdy rodzaj oddziaływań między składnikami mieszaniny wiąże się ze zmianą właściwości fizycznych badanego produktu, głównie rozpuszczalności lub współczynnika podziału. W konsekwencji powoduje to zmianę właściwości farmakoterapeutycznych substancji leczniczych.

7. Stałe rozproszenia w obojętnych nośnikach

Słabą rozpuszczalność substancji czynnych w wodzie i płynach fizjologicznych można zmienić stosując je w formie rozproszonej w nośnikach obojętnych dla zdrowia człowieka, tj. w

formie stałych układów dyspersyjnych. Zapewniają one zmniejszenie wymiarów kryształków substancji aktywnej i zwiększenie ich liczby, co wydatnie zwiększa powierzchnię kontaktu rozpuszczanych związków z rozpuszczalnikiem. Proces ten jest korzystny z tego względu, że rozpuszczalność i powierzchnia rozpuszczanych substancji wpływają bezpośrednio na szybkość rozpuszczania [14, 28]. Umożliwiają tym sposobem zwiększenie absorpcji substancji czynnej z postaci leku do płynów fizjologicznych i tkanek.

Stale układy dyspersyjne uzyskuje się w wyniku rozproszenia jednej lub kilku substancji leczniczych w fazie stałej obojętnego nośnika, którym jest zwykle glikol polietylenowy 6000 (PEG 6000), poliwinylpirolidon (PVP) lub mocznik [28]. Najczęściej otrzymuje się je topiąc mieszaninę fizyczną złożoną z substancji aktywnej i obojętnego nośnika, po czym stop poddaje się krystalizacji. Można także rozpuszczać składniki we wspólnym rozpuszczalniku, a następnie odparować rozpuszczalnik. Znana jest także technika polegająca na połączeniu obu tych procedur, ponadto coraz częściej stosowana jest metoda suszenia rozpyłowego.

Interpretację wyników analizy termicznej wspomaga dyfrakcyjna analiza rentgenowska [28]. Jest jedyną metodą w przypadku, gdy trzeba określić skład fazowy prostych mieszanin, lub gdy trzeba ustalić stosunek form, bezpostaciowej do krystalicznej i przeprowadzić pomiar wielkości kryształków.

Cenną metodą zwiększania rozpuszczalności w wodzie substancji leczniczych jest także tworzenie kompleksów inkluzyjnych związków trudno rozpuszczalnych z cyklodekstrynami, a szczególnie z β -cyklodekstryną i 2-hydroksypropylo- β -cyklodekstryną. Niezastąpioną metodą badania tych kompleksów są techniki termoanalityczne [28].

8. Interakcje substancji leczniczych z pomocniczymi

Istotnym zagadnieniem w technologii farmaceutycznej jest wykrywanie niezgodności między składnikami preparatów farmaceutycznych, tj. określenie wzajemnej tolerancji między substancjami leczniczymi i pomocniczymi używanymi przy ich formowaniu [28, 30]. Brak zdolności do jednorodnego mieszania się składników wynika z oddziaływań między nimi. Efektem tych oddziaływań są zmiany właściwości chemicznych, fizycznych lub terapeutycznych leków.

Niezgodności chemiczne są wynikiem reakcji zobojętniania, hydrolizy, utleniania-redukcji lub reakcji kombinacji. Natomiast niezgodności fizyczne uwidaczniają się w postaci zmiany rozpuszczalności, adsorpcji substancji leczniczej przez substancję pomocniczą lub tworzenia eutektyku.

Stosując metody termoanalityczne można wykryć niezgodności chemiczne i fizyczne.

Badania polegają na rejestrowaniu krzywych termooanalitycznych substancji leczniczych, pomocniczych i ich mieszanin fizycznych, a następnie porównaniu otrzymanych krzywych [28, 30]. W wyniku tych analiz można stwierdzić, czy składniki mieszanin reagują ze sobą w niższych temperaturach, czy jedynie wpływają wzajemnie na swoją trwałość. Na krzywych graficznym obrazem reakcji chemicznych jest zmiana zakresów temperatur, kształtu i powierzchni pików lub pojawienie się dodatkowych efektów wywołanych obecnością nowo utworzonych połączeń. Natomiast przesunięcie początku rozkładu substancji w kierunku niższych temperatur odzwierciedla wpływ jednego ze składników na trwałość drugiego.

Przykładów zastosowania metod DSC, DTA i TG oraz innych technik analizy instrumentalnej w badaniu interakcji pomiędzy składnikami preparatów farmaceutycznych można cytować wiele. Najważniejsze z nich zestawiono w Tabeli 3.

Tabela. 3. Przegląd piśmiennictwa traktującego o zastosowaniu metod analizy termicznej i innych technik instrumentalnych w badaniu niezgodności między składnikami produktów leczniczych.

Lp.	Substancja lecznicza	Substancja pomocnicza	Techniki analityczne	Lit.
Leki działające na przewód pokarmowy i metabolizm				
1.	acetylosalicylowy kwas (lek działający również na krew i układ krwiotwórczy)	zgodność	brak zgodności	
		celuloza mikrokrystaliczna, talk, laktoza	celuloza mikrokrystaliczna (Avicel [®] PH-101), metakrylowego kwasu kopolimery (Eudragit [®] RS), dekstroza jednowodna skrobi pszenicznej	IR, XRPD [55]
		skrobia kukurydziana, celuloza mikrokrystaliczna, talk, laktoza		HS-DSC [56]
		laktoza jednowodna	magnezu stearynian	DSC, HPLC [57]
				HS-DSC [20]
		DSC, L-TMA, L-DTA, TAPM, PTMS, ATR-FTIR, HSM [58]		
		DSC, UPLC [59]		
		PVP K30, magnez stearynian, koloidalna krzemionka, kwas stearynowy	DSC, TG, DTG, FTIR, XRPD [60]	
2.	chlorpropamid	celuloza mikrokrystaliczna (Avicel PH102), hypromeloza (HPMC 2910/6), laktoza jednowodna, PVP K30, skrobia kukurydziana		[61]
		celuloza mikrokrystaliczna, wapnia węgiel		[62]
3.	cymetydyna	Microcel MC101 [®] , Explocel [®] , guma Grewia	DSC (fotowizualna), TG (izotermiczna)	[63]
			DSC, FTIR	[64]
4.	cysteaminę chlorowoderek		DSC, FTIR, MS, ¹ H-NMR-NOESY, HPLC/UV, TLC	[65]
5.	diflumisal		DSC, FTIR, XRD, SEM, HSM, NMR	[66]
		powidon		

6.	famotydyna	powidon K-25 (Plasdone®), karmeloza sodowa skrobia, celuloza mikrokrystaliczna, wapnia wodorofosforan bezwodny, kroskarmeloza sodowa, sodu laurylosiarczan, laktoza			HPLC	[67]
7.	glibenklamid	hydroksyetyloceluloza (Natrosol), kwas stearynowy, sorbitol, powidon poprzecznie usieciowany	magnezu stearynian		DSC, TG-DTG	[68]
9.	glimepiryd	skrobi glikolan, celuloza mikrokrystaliczna	magnezu stearynian, laktoza, winylopirolidonu i winylu octanu kopolimer (Plasdone® S-630)		DSC	[69]
10.	glipizyd	celulozy octan, krzemu dwutlenek koloidalny (Aerosil 200), mannitol (Pearlitol SD 200), celuloza mikrokrystaliczna (Avioceel PH 102), sodu chlorek AR, powidon (Plasdone K 29/32), hypromeloza (Methocel E 15), glikol polietylenowy (PEG-4000), talk	laktoza, meglumina, TRIS bufor GR, magnezu stearynian		DSC, TG-DTG, FTIR	[70]
11.	kwas liponowy (stosowany także w dermatologii)	palmitynian askorbylu, askorbinian sodu, fosforan askorbylomagnezowy, witamina C, witamina E, fluid silikonowy, olej mineralny, wazelina, anionowy emulgowany wosk naturalny, moczniak imidazolidynyli, sorbitol 70%	p-hydroksybenzoesan metylu, p- hydroksybenzoesan propylu, butylowany hydroksytoluen, niejonowy emulgowany wosk naturalny, glikol propylenowy, acetylowana lanolina		DSC, IR, IST	[71]
12.	kwas nikotynowy	β-cyklodekstryna, hydroksypropylo-α- cyklodekstryna, hydroksypropylo-β- cyklodekstryna	α-cyklodekstryna		DSC, IR, HPLC	[72]
13.	kwas ursodeoksycholowy		2-hydroksypropylo-β-cyklodekstryna		kalorymetria, ¹ H-NMR	[73]
					DSC, ¹³ C-NMR, IR, XRPD	[74]

14.	metformina	celuloza mikrokrystaliczna (Microcel MC101 [®]), skrobi glikolan sodu (Explosol [®]), kroscarmeloza sodowa (Explose [®]), powidon (PVP K30), magnezu stearynian	laktoza, skrobia	DSC, DTA, TG	[75]
	metforminy chlorowodorek w połączeniu z triacetylo-β-cyklodekstryną	chitosan, etyloceluloza (Ethocel [®]), guma ksantanova, metakrylowego kwasu kopolimer (Eudragit [®] L100-55), hypromeloza (Methocel [®] K4M)	glicerylu palmitylostearynian (Precirol [®] Ato5)	DSC	[76]
15.	nateglinid	celuloza mikrokrystaliczna (Avicel PH-101), kroscarmeloza sodowa (Ac-Di-Sol), hydroksypropyloceluloza (Hyprolose), polakrylina K (Kyron T314), powidon (Plasdone K-30)	magnezu stearynian	DSC, FTIR, IST	[77, 78]
16.	niklosamid	laktoza, mannitol, wapnia siarczan, wapnia węglan, celuloza mikrokrystaliczna, wapnia wodorofosforan jednowodny, metyloceluloza, skrobia, skrobi glikolan sodu, kroscarmeloza sodowa, karmeloza sodowa, żelatyna, sodu laurylosiarczan, krzemu dwutlenek koloidalny	laktitol jednowodny, magnezu stearynian, kwas stearynowy, sodu stearylofumaran, powidon, glikol polietylenowy 6000 (PEG-6000)	DSC, HPLC	[79]
17.	nystatyna		gliceryna, pektyna	IR, XRPD	[80]
18.	omeprazol sodu - izomery		mannitol	DSC, L-TA, ATR-IR	[81]

19.	pirydoksalu chlorowodorek	α -cyklodekstryna, β -cyklodekstryna, hydroksypropylo- α - cyklodekstryna, hydroksypropylo- β - cyklodekstryna		kalorymetria, $^1\text{H-NMR}$	[73]
20.	pirydoksyny chlorowodorek				
21.	polikosanol	kroskarmeloza sodowa (Ac-Di-Sol, Explocel), powidon, celuloza mikrokrystaliczna, skrobia kukurydziana, laktoza, żelatyna, magnezu stearynian, talk, sacharoza, celuloza acetylowana, sacharoza, wapnia fosforan dwuwodny (Encompress), karboksymetyloskrobia sodowa, skrobi glikolan sodu (Explotab), glikol polietylenowy (Carbowax 20000)		DSC, TG	[82]
22.	tolbutamid		β -cyklodekstryna		[83]
			β -cyklodekstryna, hydroksypropylo- β - cyklodekstryna	DSC, IR, XRPD	[84]
			powidon	DSC, FTIR, XRD, SEM, HSM, NMR	[66]
Leki działające na krew i układ krwiotwórczy					
23.	etamsylat (cyklonamina)		laktoza	DSC, XRD	[85]
24.	kwas askorbinowy	celuloza mikrokrystaliczna (Avicel® PH 101)	wapnia wodorofosforan, kwas stearynowy, magnezu stearynian, krzemu dwutlenek	TG-DTA	[86]
25.	kwas ϵ -amino-n- kapronowy	hypromeloza, wapnia wodorofosforan, krzemu dwutlenek koloidalny, magnezu stearynian, celuloza mikrokrystaliczna, powidon, kroskarmeloza sodowa, skrobi glikolan sodu, kwas stearynowy, skrobia przeżelowana	laktoza	DSC, IMC	[87]
Leki działające na układ sercowo-naczyniowy					
26.	amlodypiny maleinian	magnezu stearynian, skrobia, celuloza, talk		DTA, TG, DTG, FTIR, EGA	[88]

27.	atenolol	celuloza mikrokrystaliczna, skrobi glikolan sodu, magnezu stearynian, powidon k29/32	β-cyklodekstryna	DSC, TG	[89]
		celuloza mikrokrystaliczna (Avicel®)	magnezu stearynian, powidon	FTIR	[90]
		celulozy octan 398 N10, hypromeloza K4000, magnezu stearynian	polietylen tlenek (MW 3350, 100000, 200000, 5000000)	DSC, TG, FTIR, XRPD, SEM	[91]
28.	chinapril	laktuloza mikrokrystaliczna, skrobia kukurydziana, kroscarmeloza sodowa, skrobi glikolan sodu	2-hydroksypropylo-β-cyklodekstryna	DSC, FTIR, ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, XRD	[93]
		laktuloza jednowodna, celuloza mikrokrystaliczna, skrobia kukurydziana, kroscarmeloza sodowa, skrobi glikolan sodu	wapnia fosforan bezwodny, mannitol, magnezu stearynian	HPLC	[94]
29.	diltiazemu chlorowodrek		λ-karagenina (naturalny sulfonowany polisacharyd)	DSC, XRPD	[95]
30.	enalaprilu maleinian	Laktoza (Super-Tab®), celuloza mikrokrystaliczna (Microcel®), magnezu stearynian	krzemu dwutlenek koloidalny (Cab-O-Sil®), sodu wodorowęglan	DSC, TG	[96]
			laktoza jednowodna, magnezu stearynian	DSC, IR, UV, HPLC	[97]
32.	izosorbidu monoazotan	etyloceluloza (Ethocel), krzemu dwutlenek koloidalny (Aerosil 200), laktoza (Flowac 100), sorbitol, sodu chlorek, powidon (Plasdone K-29/32), hypromeloza (Methocel E-15), magnezu stearynian	celulozy octan, celuloza mikrokrystaliczna (Avicel PH-112)	DSC, IST	[98]
		celuloza mikrokrystaliczna (101, 102, Avicel®), etyloceluloza (Ethocel 10 STD®), metyloceluloza (Methocel 15PR), laktoza jednowodna, laktoza (Supertab®), kwas stearynowy, powidon (PVP IK30), krzemu dwutlenek koloidalny (Aerosil®)	magnezu stearynian	DSC, TG, FTIR, XRPD	[99]
34.	lacydypina		powidon	DSC, FTIR, XRD, SEM, HSM, NMR	[66]

35.	lowastatyna	etanol, magnezu stearynian, barwnik indygo blue, celuloza mikrokryształiczna, skrobia przeżelaznizowana, skrobia kukurydziana, kwas cytrynowy, kwas askorbinowy, powidon K30 (Kollidor)	butylhydroksyanizol	TG, DSC, FTIR, OM, XRD, HPLC, MS	[100]
		laktoza, skrobia, celuloza mikrokryształiczna, magnezu stearynian, indygo			
36.	nifedypina	Laktoza uwodniona, skrobia przeżelaznizowana, celuloza mikronizowana, magnezu stearynian		DSC, TG	[101]
		celuloza mikrokryształiczna, hypromeloza (Hpmc 100, Hpmc 50), krzemu dwutlenek, magnezu stearynian			
37.	nimodypina		powidon	DSC, FTIR, XRD, SEM, HSM, NMR	[66]
			hydroksypropylo- β -cyklodekstryna	DSC, FTIR, spektroskopia Ramana, XRD	[102]
38.	propranololu chlorowodorek		laktoza	DSC (fotowizualna), TG	[103]
			metakrylowego kwasu kopolimer (Eudragit L)	DTA, IR, UV	[104]
			pektyna	IR, UV, XRPD	[105]
			powidon	DSC, FTIR, XRD, SEM, HSM, NMR	[66]
39.	trandolapryl	α -laktoza jednowodna, celuloza mikrokryształiczna Avicel PH101, skrobia przeżelatynizowana		DSC, TG, FTIR, XRPD, SEM	[106]
		celuloza mikrokryształiczna, magnezu stearynian, hypromeloza, powidon, talk			
40.	werapamilu chlorowodorek	celuloza mikrokryształiczna, magnezu stearynian, skrobia, talk		DSC, DTA, TG-DTG	[107]

Leki stosowane w dermatologii					
41.	gryzeofulwina		powidon	DSC, FTIR, SEM, XRD, HSM, NMR	[66]
42.	mikonazol		metylo- β -cyklodekstryna	DSC, FTIR, SEM, XRD	[109]
43.	kwas all-transretinowy (tretinoina, kwas witaminy A)		chitosan (Hydagen [®])	DSC, IR	[110]
44.	sulfadiazyna		(α -, β -) cyklodekstryny krystaliczne, metylowana β -cyklodekstryna amorficzna, heptakis-(2,6-di-O-metylo)- β -cyklodekstryna krystaliczna, γ -cyklodekstryna	DSC, XRD	[111]
Leki działające na układ moczowo-płciowy i hormony płciowe					
45.	kwasu glutaminowego chlorowodorek		wapnia wodorofosforan dwuwodny	IC	[112]
46.	oksybutyniny chlorowodorek	celuloza mikrokrystaliczna, kwas stearynowy, wapnia stearynian, talk, D-mannitol, laktoza, skrobia kukurydziana	stearynian magnezu, tłuszczowego kwasu estry z sacharozą, kwas krzemowy bezwodny	XRD, DSC, MC, HPLC, Turkey'HSD test	[113]
47.	progesteron		β -cyklodekstryna, 2-hydroksypropylo- β -cyklodekstryna	DSC	[114]
48.	sildenafilu cytrynian	dwuzasadowy fosforan wapnia, magnezu stearynian, celuloza mikrokrystaliczna, skrobia kukurydziana, talk	Koloidalna krzemionka, kroskarmeloza sodu, laktoza jednowodna, mannitol, sacharozą	DSC, HSM, LC/UV, IST	[115]
Leki hormonalne do stosowania wewnętrznego (bez hormonów płciowych)					
49.	hydrokortyzon		β -cyklodekstryna, 2-hydroksypropylo- β -cyklodekstryna	DSC	[114]
50.	prednikarbat	metyloparaben, propyloparaben, carbomer 940, krospolimeru akrylan, kwas laktanowy, parafina ciekła, izopropylu palmitynian, mirystylu laktan, alkohol cetylowy	cyklodekstryny, hydroksypropylo- β -cyklodekstrynian β -cyklodekstryny	IR, XRPD	[116]
51.	prednizon	talk	stearynowy alkohol, glicerylu stearynian, piroolidyny karboksylan sodu	DSC, TG-DTG, FTIR	[117]
			laktoza, skrobia, powidon K-30, Explocel magnezu starynian	DSC (fotowizualna), TG	[118]

Leki stosowane w zakażeniach					
52.	acyklowir	Methocel, Polyox, Ethocel, laktoza, Microcel [®] , skrobi glikolan sodu, kroskarmeloza sodowa, Aerosil [®] , kwas stearynowy	magnezu stearynian	DSC, TG, FTIR, XRPD	[119]
53.	amoksylicyna trójwodna	metylceluloza, karboksymetyloceluloza, metylohydroksymetyloceluloza	etyloceluloza	IR, XRPD	[120]
54.	ampicylina		magnezu stearynian	DSC, TG	[121]
55.	antybiotyk β-laktamowy trójcykliczny	powidon, laktoza, magnezu stearynian		TG-DSC, FTIR, XRPD, SEM	[18]
56.	BG 637 (4,6-bis[2'(dietyloamino)etoksy]2,8,10-trimetylopirydol[3,2-g] chinolina)	hypromeloza (Methocel E15 LV), talk, mannitol (Pearlitol DC 400), krospowidon (Kollidon CL), laktoza jednowodna (Supertab), skrobi glikolan sodu (Primojel), magnezu stearynian, powidon (Kollidon K90 i K30), kroskarmeloza sodowa (AcDiSol), celuloza mikrokrystaliczna, kwas stearynowy, wapnia stearynian, magnezu stearynian, talk, D-mannitol, laktoza, skrobia kukurydziana, tłuszczowego kwasu estry z sacharozą		DSC, FTIR, NMR, UV, XRPD, GC/MS	[122]
57.	cefaktor		kwas krzemowy bezwodny	XRD, DSC, MC, HPLC, Turkey'HSD test	[113]
58.	delawirdyny mesylan		kroskarmeloza sodowa	FTIR, NMR	[123]
59.	dikloksacylina		magnezu stearynian	DSC, TG	[121]
60.	flukonazol		laktoza	DSC, XRD	[85]
61.	fosfomycynian (dwusodowy, wapnia)		glikol polietylenowy	DSC-TG	[22]
62.	lamiwudyna	laktoza, powidon K-30, talk, synetyzowane usieciowane polimery skrobi ziemniaczanej, magnezu stearynian		DSC, FTIR, IST	[124, 125, 126]

63.	metronidazol	celuloza mikrokrystaliczna (Microcel 101, Microcel 102, Avicel PH-101, Avicel PH-102)			DSC, DTA, TG	[127]
		hypromeloza (Methocel K4M), metylceluloza, celuloza mikrokrystaliczna (Avicel PH-101), polietylenowy tlenek, wapnia fosforan bezwodny (Di-Cafos)	wapnia fosforan dwuwodny (Emcompress)		DSC, NIR	[128]
		powidon K-25 (Plasdone [®]), karmeloza sodowa		HPLC		[67]
64.	newirapina	laktoza NF, celuloza mikrokrystaliczna (Avicel PH-101)			DSC, FTIR, XRPD, SEM	[129]
65.	norfloksacyna		β -cyklodekstryna (Kleptose [®]), hydroksypropylo- β -cyklodekstryna		DSC, IR, XRPD	[130]
66.	ornidazol		kroskarmeloza sodowa, celuloza mikrokrystaliczna 101, powidon skrobia kukurydziana, magnezu stearynian,		DSC, DTA, TG	[131]
67.	pefloksacyny mesylan	celuloza mikrokrystaliczna (PH-101, PH-102), wapnia fosforan bezwodny, wapnia wodorofosforan dwuwodny i wapnia wodorofosforan (Emcompress)	dekstroza bezwodna, mannitol (Pearlitol), laktoza bezwodna (Lactopress), α -laktoza jednowodna (Lactochem), skrobia przeżelowana (Lycatab), sorbitol (Neosorb)		DSC	[132]
68.	seknidazol	celuloza mikrokrystaliczna (Microcel 101, Microcel 102, Avicel PH-101, Avicel PH-102)			DSC, DTA, TG	[127]
69.	sulfadiazyna		(α -, β -) cyklodekstryny krystaliczne, metylowana β -cyklodekstryna amorficzna, heptakis-(2,6-di-O-metylo)- β -cyklodekstryna krystaliczna, γ -cyklodekstryna		DSC, XRD	[111]
			guma ksantanowa, guma guar, krzemiu dwutlenek koloidalny		IR, XRPD	[133]
70.	sulfametoksazol		(α -, β -) cyklodekstryny krystaliczne, metylowana β -cyklodekstryna amorficzna, heptakis-(2,6-di-O-metylo)- β -cyklodekstryna krystaliczna, γ -cyklodekstryna		DSC, XRD	[111]

71.	tetracykliny chlorowodorek	powidon K-25 (Plasdone®), karmeloza sodowa			HPLC	[67]
72.	trimetoprim		(α -, β -) cyklodekstryny krystaliczne, metylowana β -cyklodekstryna amorficzna, heptakis-(2,6-di-O-metylo)- β -cyklodekstryna krystaliczna, γ -cyklodekstryna		DSC, XRD	[111]
73.	tymidazol	celuloza mikrokrystaliczna (Microcel 101, Microcel 102, Avicel PH-101, Avicel PH-102)			DSC, DTA, TG	[127]
74.	UC-78		powidon		DSC, FTIR, XRD, SEM, HSM, NMR	[66]
75.	zidowudyna	Hypromeloz (Methocel® K-100), magnezu stearynian, laktoza, krzemu dwutlenek koloidalny (Aerosil), glikol polietylenowy 6000, skrobia			DSC, TG-DTG, IR, XRPD, GC/MS	[134]
Leki przeciwnowotworowe i immunomodulacyjne						
76.	ABT-229		hypromelozy ftalan HP-55, celulozy octanofitalan, celulozy octanotrimelitan, Eudragit® L100-55			
77.	ABT-627	wapnia wodorofosforan, celuloza mikrokrystaliczna, laktoza jednowodna, skrobia przeżelatynowana, wapnia stearynian, sodu stearylofumaran, uwodorniony olej z nasion bawełny, krzemu dwutlenek koloidalny, skrobi glikolan sodu, powidon K30, krospowidon, hypromeloz, hydroksypropyloceluloza	kwasy stearynowy, cynku stearynian, magnezu stearynian		IMC, HPLC	[135]
78.	azatioprin		guma żelowana deacetylowana (Gelrite®), metakrylowego kwasu kopolimer (Eudragit® S-100)		DSC, FTIR, ¹ H-NMR, XRPD, IST	[136]
79.	chlorambucyl		heptakis (2,6-di-O-metylo)- β -cyklodekstryna, β -cyklodekstryna		IR, XRPD	[137]
80.	imatinibu mesylan	Powidon (Kollidon CL), celuloza mikrokrystaliczna (Vivapur 102Si)	magnezu stearynian		DSC, TG, IR, XRPD	[138]

81.	lapachol	propyloparaben, kwas wersenowy, izodecylu oleinian, trójetanolamina, gliceryna, karbopol, cetomakrogol, olej mineralny	metyloparaben, cetiol, glicerylu monostearynian	DSC	[139]
82.	β -lapachon	celuloza mikrokrystaliczna, skrobia kukurydziana przeżelatyzowana, laktoza jednowodna, hypromeloza, talk, powidon, karmeloza o średniej lepkości, kroskarmeloza sodowa, β -cyklodekstryna, α -cyklodekstryna	magnezu stearynian, wapnia wodorofosforan dwuwodny, mannitol, sól sodowa estru kwasu fumarowego, metylo- β -cyklodekstryna, hydroksypropylo- β -cyklodekstryna	DSC, FTIR, OM	[140]
Leki działające na układ mięśniowo-szkieletowy					
83.	aceklofenak	Carbopol 940, hypromeloza, celuloza mikrokrystaliczna, Aerosil 200	magnezu stearynian	DSC, HSM, FTIR	[141]
84.	allopurinol	2-hydroksypropylo- β -cyklodekstryna, sodu sulfobutylotero- β -cyklodekstrynian, mannitol, α -laktoza jednowodna, rafinoza pięciowodna, trehaloza dwuwodna, magnezu azotan	β -cyklodekstryna	IR, UV, XRPD	[142]
85.	baklofen	olej rycynowy, Eudragit RS100, Eudragit L100, mannitol, wapnia wodorofosforan dwuwodny (Emcompress), wapnia wodorofosforan bezwodny	powidon K30	DSC, TG, NMR, HPLC	[143]
		mannitol, metyloceluloza, sodu alginian, karmeloza sodowa		FTIR, HPLC	[145]
		Ac-Di-Sol, krospowidon, skrobi glikolan sodu, aspartam, mannitol, celuloza mikrokrystaliczna, magnezu stearynian, talk		DSC	[146]
86.	celekoksib	celuloza mikrokrystaliczna (Avicel® PH-102), laktoza bezwodna, krospowidon, talk	magnezu stearynian, krzemu dwutlenek koloidalny (Aerosil®200)	DSC, FTIR, HPLC	[148]
87.	diklofenak		sodu wodorowęglan	DSC, TG	[149]
	diklofenak sodu		amoniometakrylowy kopolimer (Eudragit® RS PO)	DSC, TG, mikroskopia Ramana	[150]
88.	fenbufen		β -cyklodekstryna	FTIR	[151]

89.	ibuprofen	<p>skrobia 1500®</p> <p>kwasy stearynowe</p> <p>β-cyklodekstryna</p> <p>powidon</p> <p>powidon K30, magnezu stearynian</p>	<p>skrobia 1500®</p> <p>kwasy stearynowe</p> <p>β-cyklodekstryna</p> <p>powidon</p> <p>powidon K30, magnezu stearynian</p>	TG-DTA	[152]
				DSC	[153]
				DSC, XRPD	[154]
90.	indometacyna	<p>guma Grewia</p> <p>celuloza mikrokrystaliczna (Avicel®)</p> <p>Hydroksyetyloceluloza (Natrosol), hypromeloza (Methocel), celuloza mikrokrystaliczna (Avicel PH-101), skrobia kukurydziana, guma arabska, krzem dwutlenek koloidalny (Aerosil 200), magnezowo-glinowy krzemian (Veegum F), laktoza, glukoza, sorbitol, mannitol</p>	<p>powidon</p> <p>wapnia glicerofosforan</p> <p>chitosan</p> <p>dodecylu 2-(N,N-dimetyloamino) propionian</p> <p>epirizol</p> <p>etyloceluloza</p> <p>polikarbofil</p> <p>powidon</p> <p>powidon K-90</p> <p>powidon</p>	DSC, FTIR, XRD, SEM, HSM, NMR	[66]
				DSC, FTIR	[64]
				DSC, TG, DRIFT, XRPD, SEM	[157]
91.	ketoprofen	<p>Hydroksyetyloceluloza (Natrosol), hypromeloza (Methocel), celuloza mikrokrystaliczna (Avicel PH-101), skrobia kukurydziana, guma arabska, krzem dwutlenek koloidalny (Aerosil 200), magnezowo-glinowy krzemian (Veegum F), laktoza, glukoza, sorbitol, mannitol</p>	<p>powidon</p> <p>kwasy palmitynowy, kwasy stearynowe, alkohol stearynowy, magnezu stearynian, glikol polietylenowy 6000, poliwinylpolipirrolidon (PVPP), powidon K30</p>	DSC, XRPD	[155]
				FTIR	[151]
				DSC, FTIR, XRD, SEM, HSM, NMR	[66]
92.	kolchicyna	<p>guma Grewia</p> <p>celuloza mikrokrystaliczna (Avicel®)</p> <p>Hydroksyetyloceluloza (Natrosol), hypromeloza (Methocel), celuloza mikrokrystaliczna (Avicel PH-101), skrobia kukurydziana, guma arabska, krzem dwutlenek koloidalny (Aerosil 200), magnezowo-glinowy krzemian (Veegum F), laktoza, glukoza, sorbitol, mannitol</p>	<p>powidon</p> <p>kwasy palmitynowy, kwasy stearynowe, alkohol stearynowy, magnezu stearynian, glikol polietylenowy 6000, poliwinylpolipirrolidon (PVPP), powidon K30</p>	IR, UV, XRPD	[158]
				DSC, IR, NMR, XRPD	[159]
90.	indometacyna	<p>guma Grewia</p> <p>celuloza mikrokrystaliczna (Avicel®)</p> <p>Hydroksyetyloceluloza (Natrosol), hypromeloza (Methocel), celuloza mikrokrystaliczna (Avicel PH-101), skrobia kukurydziana, guma arabska, krzem dwutlenek koloidalny (Aerosil 200), magnezowo-glinowy krzemian (Veegum F), laktoza, glukoza, sorbitol, mannitol</p>	<p>powidon</p> <p>wapnia glicerofosforan</p> <p>chitosan</p> <p>dodecylu 2-(N,N-dimetyloamino) propionian</p> <p>epirizol</p> <p>etyloceluloza</p> <p>polikarbofil</p> <p>powidon</p> <p>powidon K-90</p> <p>powidon</p>	DSC, IR, ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, UV	[160]
				IR, XRD	[161]
				DSC, MT-DSC, XRPD	[162]
91.	ketoprofen	<p>Hydroksyetyloceluloza (Natrosol), hypromeloza (Methocel), celuloza mikrokrystaliczna (Avicel PH-101), skrobia kukurydziana, guma arabska, krzem dwutlenek koloidalny (Aerosil 200), magnezowo-glinowy krzemian (Veegum F), laktoza, glukoza, sorbitol, mannitol</p>	<p>powidon</p> <p>kwasy palmitynowy, kwasy stearynowe, alkohol stearynowy, magnezu stearynian, glikol polietylenowy 6000, poliwinylpolipirrolidon (PVPP), powidon K30</p>	IR, XRD	[163]
				DSC, FTIR, XRD, SEM, HSM, NMR	[164]
				IR, Spektroskopia Ramana	[165]
92.	kolchicyna	<p>guma Grewia</p> <p>celuloza mikrokrystaliczna (Avicel®)</p> <p>Hydroksyetyloceluloza (Natrosol), hypromeloza (Methocel), celuloza mikrokrystaliczna (Avicel PH-101), skrobia kukurydziana, guma arabska, krzem dwutlenek koloidalny (Aerosil 200), magnezowo-glinowy krzemian (Veegum F), laktoza, glukoza, sorbitol, mannitol</p>	<p>powidon</p> <p>kwasy palmitynowy, kwasy stearynowe, alkohol stearynowy, magnezu stearynian, glikol polietylenowy 6000, poliwinylpolipirrolidon (PVPP), powidon K30</p>	DSC, FTIR, XRD, SEM, HSM, NMR	[66]
				IR, UV, XRPD	[167]

93.	naproksen	sorbitol, karmeloza sodowa, glikol polietylenowy 20000, magnezowo-glinowy krzemian (Veegum F)	powidon	DSC, FTIR, XRD, SEM, HSM, NMR	[21]
94.	piroksykam	powidon K-30 (Kollidon K-30)	β-cyklodekstryna	DSC, FTIR, XRD	[168]
				FTIR, Spektroskopia Ramana	[169]
		celuloza mikrokrystaliczna, chitosan		DSC, TG, XRPD	[171, 172]
95.	waldekoksyb	celuloza mikrokrystaliczna (Avicel®), etyloceluloza (Ethocel 10 STD®), hypromeloza K4M (HPMC®), powidon K-30, krzemu dwutlenek koloidalny (Aerosil®), skrobia, talk	powidon	DSC, XRD	[173]
			powidon K-25	DSC, FTIR, XRPD SEM	[175]
Leki działające na ośrodkowy układ nerwowy					
96.	acetaminofen (paracetamol)	powidon, magnezu stearynian, kwas cytrynowy, aspartam, celuloza, skrobia	hypromeloza	HPLC	[177]
			mannitol	DSC, TG, XRPD	[178]
		celuloza mikrokrystaliczna	powidon	DSC, FTIR, XRD, SEM, HSM, NMR	[66]
97.	chlorpromazyny chlorowodorek	przy zawartości poniżej 65 i 75% paracetamolu - powidon i hypromeloza		DSC, MFT-IR, HSM, SEM	[179]
			β-cyklodekstryna	IR, XRPD	[180]

98.	dietylokarbamazyny cytrynian	laktoza, PVP K30, celuloza mikrokrystaliczna, talk, kroscarmeloza sodowa, talk, przeżelatynizowana skrobia, magnezu stearynian, 85% laktozy jednowodnej z 15% sproszkowanej skrobi (StarLac [®]), sproszkowana laktoza jednowodna (Flowlac [®]), laktoza jednowodna (Tabletose [®]), glikol polietylenowy (PEG 4000), krzemionka kolooidalna (Aerosil [®])		DSC, TG, FTIR, XRD [181]	
99.	fluoksytyny chlorowodrek	mikrokrystaliczna celuloza (Avicel PH102), hypromeloza (HPMC2910/6), PVP K30, skrobia kukurydziana, magnezu stearynian, dwuzasadowy fosforan wapnia, skrobiowy glikolan sodu (Primojel)	laktoza	NMR, GC/MS, HPLC [182]	
100.	gabapentyna	mannitol, rafinoza pięciowodna, trehaloza dwuwodna, magnezu azotan	laktoza	HPLC [61]	
101.	haloperidol	α -laktoza jednowodna, magnezu stearynian	hydroksypropylo- β -cyklodekstryna, sodu sulfobutylotetero- β -cyklodekstrynian, α -laktoza jednowodna, powidon K30	DSC, TG, NMR, HPLC [143]	
102.	ibuproksam	skrobia kukurydziana, celuloza mikrokrystaliczna (Avicel), karmeloza sodowa	powidon	DSC, TG, FTIR, DRIFT, XRD, SEM [183]	
103.	kwas walproinowy		glikol polietylenowy 4000, kwas palmitynowy, kwas stearynowy, wapnia i magnezu stearynian, poliwinylolipitolidon (PVPP), powidon K30	DSC, HSM, SEM [184]	
104.	kwetiapiny fumaran	hydroksypropyloceluloza K100M, sodu alginian, guma ksantanowa, tlenek polietylenowy WSR303	pochodne β -cyklodekstryny (metylo-, hydroksyetylo-, hydroksypropylo-)	DSC, FTIR, XRPD, SEM [185]	
105.	nebikapon	laktoza jednowodna, kroscarmeloza sodowa (Ac-Di-Sol [®])	powidon	DSC, FTIR, XRD, SEM, HSM, NMR [66]	
106.	nefazodonu chlorowodrek		Eudragit RSPO, wosk Carnauba, uwodorniony olej rycynowy	DSC, FTIR [186]	
106.		magnezu stearynian	laktoza	DSC, HS-DSC, HST [187]	
106.		magnezu stearynian	laktoza	DSC, IR, UV, HPLC [97]	

107.	olanzapina	aerosil, skrobi glikolan sodu, skrobia 1500, mannitol, skrobia kukurydziana	celuloza mikrokrystaliczna (Avicel PH-101), kroskarmeloza sodowa, wapnia fosforan dwuwodny (Di-tab®)	magnezu stearynian, laktoza bezwodna (22AN®), poliwidon K-30®	DSC, FTIR	[188]
		celuloza mikrokrystaliczna (Avicel PH-101), kroskarmeloza sodowa, wapnia fosforan dwuwodny (Di-tab®)	olej warzywny rafinowany uwodromiony (Lubritab®), celuloza mikrokrystaliczna (Avicel PH-101® i PH-102®, Emcoel®), metyloceluloza (A15LV, -E4M, -E5, -E15LV, -K4M, K4M CR)	skrobia 1500, metyloceluloza (E50LV, -E5M, -E10M CR, -K15M CR, -K100LV CR, -K100M CR), kroskarmeloza sodowa (Ac-Di-Sol®), dekstran (Emdex®), wapnia fosforan dwuwodny (Encompress®), skrobi glikolan sodu (Explotab®, Primojel®), laktoza, Ludipress® (laktoza, kollidon 30 i CL), magnezu stearynian, sodu laurylosiarczan, kwas stearynowy	DSC	[190]
109.	prochlorperazyny mesylan					
110.	salicylamid			powidon	DSC, FTIR, XRD, SEM, HSM, NMR	[66]
111.	temazepam					
112.	wenlafaksyny chlorowodrek	skrobi glikolan sodu, laktoza jednowodna, talk		magnezu stearynian, celuloza mikrokrystaliczna (Microcel®200), skrobia (snow flake®3400)	DSC, TG-DTG, DRIFT, XRPD, SEM	[191]
Leki przeciwpasożytnicze, owadobójcze i repelenty						
113.	benznidazol	częściowo przeżelowana skrobia kukurydziana (Starch 1500), przeżelowana skrobia kukurydziana (StarCap 1500), magnezu stearynian, α-cyklodekstryna, β-cyklodekstryna, γ-cyklodekstryna	hydroksymetyloceluloza (Cellosize QP 300), polietylenowy glikol 4000, hydroksypropylo-β-cyklodekstryna		DSC, FTIR, XRPD	[192]
114.	primachina	hypromeloz (Methocel K-15 M Premium), acryl-eze®, celuloza mikrokrystaliczna (Avicel PH-102), skrobia, krzemu dwutlenek koloidalny (Aerosil), polietylenu tlenek 8.10 ⁶ Da, talk, kwas stearynowy, wapnia fosforan trójzasadowy, glicerylu monostearynian, powidon, sodu stearylofumarany, alkohol stearynowy	laktoza, magnezu stearynian, mannitol		DSC, TG, FTIR	[193]

Leki działające na układ oddechowy					
115.	bromoheksanu chlorowodorek		β-cyklodekstryna	IR, XRPD	[194]
116.	diprofilina		hypromelozy octanobursztynian	HPLC, MS	[195]
117.	MK-0591		powidon	DSC, FTIR, XRD, SEM, HSM, NMR	[66]
118.	prometazyny chlorowodorek		dekstran, pektyna	IR, XRPD	[196]
119.		celuloza mikrokrystaliczna, guma Xantan, guma guar, powidon K-30, Opadry® Clear	Pearlitol® SD200, laktoza jednowodna, cynku stearynian	DSC, FTIR, IST	[197]
		metakrylowego kwasu kopolimer, typ A NF (Eudragit® L100), metakrylowego kwasu kopolimer typ B NF (S100), metakrylowego kwasu kopolimer typ C NF (L100-55), metakrylanu amonu kopolimer typ A NF (RLPO), metakrylanu amonu kopolimer typ B NF (RSPO)	Eudragit® L-100	DSC, TG-DTG, FTIR	[198]
	teofilina			DSC	[199]
			Eudragit® L-100	DSC, FTIR	[200]
			etylenodwuamina	IR, XRD	[161]
			chitosan	DSC, FTIR, XRPD	[201]
120.	triprolidyny chlorowodorek		glukoza, β-cyklodekstryna	DSC, TG, TG/FTIR, IR, XRD	[202]
121.	zafirlukast		β-cyklodekstryna	DSC, FTIR	[203]

Leki stosowane w chorobach narządu wzroku i słuchu			
122.	chloramfenikolu stearynian		krzemu dwutlenek koloidalny [204]
123.	karteololu chlorowodorek		metakrylowego kwasu kopolimer (Eudragit L) [205]
Leki różne			
124.	CC2 (N, N'-dichloro- bis(2,4,6-trichlorofenyl)- mocznik	metyceluloza, hydroksypropylceluloza, betaina	guma akacjowa, sodu laurylosiarczan, chlorek tetrametyloamonowy, bromek cetylotrimetyloamonowy [206]
125.	c-DHEA (kompleks dehydroepiandrosteronu z α -cyklodekstryną i glicyną)	guma ksantanowa, hypromeloza (Methocel K4M), skrobi glikolan sodu (Explotab [®]), poliwinyloaceto-poliwidon (Kollidon [®] SR), sodu chlorek	dekstran uwodniony (Emdex [®]), mannitol, magnezu stearynian [207]
126.	pikotamid	celuloza mikrokryształiczna (Avicel), skrobia kukurydziana, hypromeloza (Methocel [®] 3), hydroksyetyloceluloza (Natrosol), karmeloza sodowa, Veegum F, guma arabska	kwask askorbinowy, kwas winowy, powidon K-30, poliwinylpiperolidon [208]
127.	chlorek 2-PAM (pralidoksym, pralidoksyna)	sodu laurylosiarczan, alkohol poliwinylowy, poliakrylamid, celuloza mikrokryształiczna, hydroksypropylceluloza, octan celulozy, etyloceluloza, guma akacjowa (guma arabska)	betaina, metyceluloza [209]

Znaczenie znaków interpunkcyjnych łączących techniki analityczne:

- (myślnik) techniki jednoczesne

/ (ukośnik) techniki sprzężone

CEL PRACY

Technologia farmaceutyczna zajmuje się m.in. badaniami związanymi z formowaniem nowych postaci leków, dostosowanych do danej substancji leczniczej, które nie tylko zapewniłyby wygodę jej stosowania, lecz także odpowiednie stężenie terapeutyczne. Aktualnie dużo uwagi poświęca się stałym, doustnym formom leku, tj. tabletkom, granulatom czy proszkom. Opracowywane są technologie mające na celu wprowadzanie do produkcji nowych produktów leczniczych, jak również udoskonalane są metody analizy właściwości fizykochemicznych i biofarmaceutycznych postaci leku oraz metody kontroli procesów produkcyjnych.

Ważnym zagadnieniem w procesie preformulacji preparatów farmaceutycznych jest wykrywanie niezgodności fizykochemicznych pomiędzy substancją leczniczą i pomocniczą. W literaturze nie opisano uniwersalnego sposobu postępowania przy badaniu niezgodności, jak również zasad określających ocenę tego typu oddziaływań, występujących pomiędzy substancją leczniczą i pomocniczą. Liczba metod pomocnych w wykrywaniu niezgodności fizykochemicznych jest ograniczona, m.in. ze względu na długi czas trwania analiz i ich pracochłonność. Wśród metod najbardziej polecanych do tego typu badań są techniki analizy termicznej, tj. DSC, DTA, TG i DTG oraz metody spektroskopowe i rentgenografia proszkowa, a także test przyspieszonego starzenia w połączeniu z DSC. Metody analizy termicznej zapewniają szybką analizę próbki o stosunkowo małej masie (od kilku do kilkunastu miligramów), bez konieczności jej wstępnego przygotowania. Wyniki analiz termicznych potwierdzane za pomocą metod spektroskopowych czy rentgenografii proszkowej pozwalają zidentyfikować potencjalne niezgodności na etapie preformulacji.

Wśród metod instrumentalnych wykorzystywanych do wykrywania niezgodności na etapie preformulacji, najwięcej problemów sprawia interpretacja wyników uzyskiwanych za pomocą analizy termogravimetrycznej i spektroskopii w zakresie podczerwieni. W związku z tym, celem pracy było włączenie do interpretacji krzywych TG i widm IR zaawansowanych metod analizy wielowymiarowej – analizy skupień (CA) i analizy głównych składowych (PCA). Przeprowadzone badania mają wykazać, w jakim stopniu CA i PCA mogą być użyteczne jako techniki wspomagające interpretację krzywych TG i widm IR pod kątem wykrywania niezgodności między substancjami – leczniczą i pomocniczą.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

1. Materiał do badań

Analizowane substancje lecznicze i pomocnicze zestawiono w Tabeli 4.

Tabela 4. Analizowane substancje lecznicze i pomocnicze.

Substancja lecznicza	Producent
Acetazolamid Atenolol Baklofen Hydrokortyzon Piroksykam Kofeina (cz.) Teofilina (99%) Teobromina (cz.)	Polfa, Warszawa Polpharma, Starogard Gdański Polpharma, Starogard Gdański Pharma Cosmetic, Kraków GlaxoSmithKline Pharmaceuticals, Poznań Fluka, Buchs, Szwajcaria Fluka, Buchs, Szwajcaria Fluka, Buchs, Szwajcaria
Substancja pomocnicza	Producent
Glikokol (cz.d.a.) Glukoza bezwodna (cz.) Mannitol Sorbitol (cz.) Laktoza Sacharoza (cz.) Celuloza Avicel PH101 Skrobia rozpuszczalna Metyloceluloza β -cyklodekstryna (99%) Guma arabska (cz.) Meglumina (99%) Chitozan low-viscous Poliwinylopirolidon K 30 (cz.) Stearynian magnezu Talk	POCh, Gliwice POCh, Gliwice POCh, Gliwice POCh, Gliwice BUFA B.V., Uitgeest, Holandia POCh, Gliwice FMC Corp. Europe N.V., Bruksela, Belgia POCh, Gliwice Shin-Etsu Chemical Co., Tokio, Japonia Fluka, Buchs, Szwajcaria POCh, Gliwice Fluka, Siegen, Niemcy Fluka, Siegen, Niemcy Fluka, Siegen, Niemcy Faci, Carasco Genoa, Włochy Fette Pharma, Koeln, Niemcy

2. Aparatura

W badaniach zastosowano następującą aparaturę:

- Derywatograf OD-103 (MOM, Budapeszt, Węgry)
- Dyfraktometr D2 PHASER (Bruker, Karlsruhe, Niemcy)
- Mikroskop BX41 (Olympus, Shinjuku, Tokio, Japonia) ze stolikiem grzewczym (Semic Bioelektronika, Kraków, Polska)
- Różnicowy kalorymetr skaningowy DSC 822^e (Mettler Toledo, Schwerzenbach, Szwajcaria)
- Spektrofotometr IR Specord M-80 (Carl Zeiss, Jena, Niemcy)

3. Metodyka badań

Przygotowując homogeniczne, fizyczne mieszaniny dwuskładnikowe substancji leczniczych z pomocniczymi, odważano w naczynkach wagowych odpowiednie ilości substancji, a następnie przenoszono te substancje do tygielka porcelanowego i dokładnie mieszano łopatką. Skład chemiczny analizowanych mieszanin przedstawiono w Tabeli 5.

Tabela 5. Skład ilościowy analizowanych mieszanin substancji leczniczych z pomocniczymi.

Substancje lecznicze	Substancje pomocnicze	Skład mieszanin
Acetazolamid Atenolol Baklofen Hydrokortyzon Piroksykam	mannitol laktoza meglumina chitozan stearynian magnezu talk	mol / mol 9:1, 7:3, 1:1, 3:7, 1:9
	skrobia rozpuszczalna metyloceluloza β -cyklodekstryna poliwinylopirolidon K 30	m / m 9:1, 7:3, 1:1, 3:7, 1:9
Kofeina Teofilina Teobromina	glikokol glukoza sorbitol sacharoza	mol / mol 9:1, 4:1, 7:3, 3:2, 1:1, 2:3, 3:7, 1:4, 1:9
	celuloza guma arabska	m / m 9:1, 4:1, 7:3, 3:2, 1:1, 2:3, 3:7, 1:4, 1:9

Składniki mieszano w stosunku molowym wówczas, gdy masy molowe substancji leczniczej i pomocniczej były podobnego rzędu lub w stosunku masowym, gdy masy molowe obu substancji różniły się znacznie.

3.1. Różnicowa kalorymetria skaningowa

Analizę DSC przeprowadzono przy użyciu różnicowego kalorymetru skaningowego DSC 822^e Mettler Toledo z oprogramowaniem komputerowym Star^eSystem. Próbkę o masie ok. 4-5 mg umieszczano w 40 μ l aluminiowym tygielku, szczelnie zamkniętym pokrywką z dwoma otworkami, natomiast próbkę odniesienia stanowił pusty tygielek, również szczelnie zamknięty pokrywką z dwoma otworkami. Pomiar wykonywano w warunkach dynamicznych, w zakresie temperatur 25–300°C w atmosferze gazu obojętnego – azotu z przepływem 70 ml/min. Próbkę badaną i odniesienia ogrzewano z szybkością wzrostu temperatury 10°C/min. Po osiągnięciu temperatury 300°C komorę pomiarową schładzano ciekłym azotem do temperatury pokojowej.

Z krzywej DSC wyznaczano dla każdego pików, temperaturę początku pików T_i , temperaturę pików T_p oraz wartość ciepła przemiany fazowej i wartość znormalizowaną ciepła (ciepło właściwe).

3.2. Różnicowa analiza termiczna i termogravimetria

Badania termoanalityczne wykonano za pomocą derywatografu OD-103. Krzywe DTA, TG i DTG rejestrowano w jednakowych warunkach; 100 lub 200 mg odważki umieszczone w zestawie czterech tygli talerzowych o średnicy 18,5 mm każdy, ogrzewano z szybkością wzrostu temperatury 5°C/min w statycznej atmosferze powietrza, w zakresie temperatur 20–700°C, stosując α -Al₂O₃ jako substancję odniesienia.

Interpretacja krzywych DTA polegała na wyznaczeniu dla każdego z pików, temperatury początku pików T_i , temperatury pików T_p , temperatury końca pików T_f oraz zakresu temperatur endotermicznych i egzotermicznych pików (ΔT).

Bazując na krzywych TG odczytywano temperatury odpowiadające początkowi ubytku masy T_0 oraz kolejnym ubytkom masy – 1, 5, 15, 30, 50, 75 i 100% (T_1 , T_5 , T_{15} , T_{30} , T_{50} , T_{75} , T_{100}), dla których wykonano analizę chemometryczną.

Natomiast w przypadku krzywych DTG, wyznaczano temperaturę początku pików T_i , temperaturę pików T_p i temperaturę końca pików T_f .

3.3. Termomikroskopia

Pomiar temperatury topnienia z jednoczesną obserwacją zachowania się substancji badanej podczas ogrzewania, wykonano przy użyciu mikroskopu BX41 Olympus ze stolikiem grzewczym. Próbki badane poddano programowanemu ogrzewaniu w zakresie 20–350°C przy szybkości wzrostu temperatury 5°C/min i obserwowano w świetle spolaryzowanym przemiany fazowe zachodzące w analizowanym materiale.

3.4. Spektroskopia w podczerwieni

Widma w podczerwieni rejestrowano za pomocą spektrofotometru IR, Specord M-80, w zakresie spektralnym 4000–200 cm⁻¹ w skali transmitancji, stosując pastylki z KBr. Przygotowano je przez dodanie do 100 mg spektralnie czystego KBr (Uvasol[®], Merck, Niemcy), 1 mg sproszkowanej substancji badanej. Oba składniki dokładnie mieszano w celu uzyskania mieszaniny homogenicznej i prasowano pod ciśnieniem 10 atm, przy zastosowaniu prasy *mini-press*, otrzymując przezroczystą pastylkę.

Interpretacja widm IR, bazująca na znajomości struktury badanego związku, polegała na ustaleniu obecności wchodzących w skład danego związku grup funkcyjnych, poprzez określenie dokładnych obszarów w zakresie spektralnym 4000–200 cm⁻¹, w których występują charakterystyczne dla tych grup funkcyjnych pasma absorpcyjne.

3.5. Dyfrakcja rentgenowska proszkowa

Analizę dyfrakcyjną wykonano za pomocą dyfraktometru D2 Phaser z detektorem paskowym w technologii LynxeyeTM, przy napięciu 30 kV i natężeniu 10 mA. W pomiarach zastosowano filtr niklowy dla promieniowania CuK_α ($\lambda = 0,154060$ nm), w zakresie kąta 2θ , od 7 do 55°, z wielkością kroku kąta 2θ 0,02° i czasem pomiaru pojedynczego impulsu 0,10 s/krok.

Próbkę z niewielką ilością badanej substancji, roztartej uprzednio w moździerzu porcelanowym, umieszczano w kuwecie krzemowej formując możliwie gładką powierzchnię przy pomocy szklanej płytki. Następnie kuwetę z badaną substancją zamocowano w uchwycie goniometru.

Dane dyfrakcyjne uzyskano w postaci dyfraktogramów przedstawiających zależność intensywności (liczba zliczeń) refleksów dyfrakcyjnych od kąta dyfrakcji (odbicia braggowskiego) 2θ przy użyciu oprogramowania Diffrac.Suite.

3.6. Metody analizy wielowymiarowej

Do interpretacji wyników analizy termogravimetrycznej i widm w podczerwieni zastosowano metody analizy wielowymiarowej – analizę skupień (CA) i analizę głównych składowych (PCA). Obliczenia przeprowadzono za pomocą programu komputerowego Statistica wersja 10 (StatSoft Inc., USA).

Przedmiotem analizy chemometrycznej były wielowymiarowe zbiory danych pomiarowych zestawionych w postaci macierzy, które składały się z kolumn oraz z wierszy. Kolumny przedstawiały zmienne, natomiast wiersze badane próbki, którymi były:

- substancje lecznicze,
- dwuskładnikowe mieszaniny substancji leczniczych z substancjami pomocniczymi o malejącej zawartości substancji leczniczej, natomiast wzrastającej zawartości substancji pomocniczej,
- substancje pomocnicze.

Dla pierwszej grupy macierzy, w kolumnach znajdowały się wyniki analizy termogravimetrycznej, tj. wartości temperatur odpowiadające początkowi rozkładu (T_0) i kolejnym ubytkom masy (T_1 , T_5 , T_{15} , T_{30} , T_{50} , T_{75} i T_{100}). Natomiast w drugiej grupie macierzy kolumny przedstawiały wartości transmitancji w procentach odpowiadające kolejnym liczbom falowym, wyznaczonym na podstawie widm w podczerwieni. Do analizy wybrano dwa zakresy spektralne: 3600–2800 oraz 1800–1000 cm^{-1} , ze względu na możliwość wykrycia zmian w tych obszarach w przypadku wystąpienia niezgodności między składnikami. Pierwszy zakres spektralny obejmuje pasma absorpcyjne charakterystyczne dla substancji pomocniczych i leczniczych, które różnią się rodzajem pasm ze względu na ugrupowania występujące w strukturach tych substancji. Drugi z kolei obszar spektralny częściowo pozbawiony jest pasm absorpcyjnych substancji pomocniczych, pomagając dostrzec zmiany zachodzące w substancji leczniczej.

Macierze użyte do obliczeń za pomocą wielowymiarowych technik eksploracyjnych zawierały 8 kolumn w przypadku analizy krzywych TG i 402 kolumny w przypadku analizy widm IR, natomiast liczba wierszy wynosiła 7 lub 11, w zależności od liczby badanych mieszanin (Tabela 5). Obliczenia techniką analizy skupień przeprowadzono z użyciem metod aglomeracji: pojedynczego wiązania oraz metody Warda, przy zastosowaniu odpowiednich miar odległości: odległości euklidesowej oraz 1-r Persona. Obliczenia techniką analizy głównych składowych wykonano bez rotacji oraz stosując algorytm rotacji, varimax surowa i varimax znormalizowana.

**WYNIKI DOŚWIADCZEŃ
I DYSKUSJA**

1. Charakterystyka fizykochemiczna substancji leczniczych

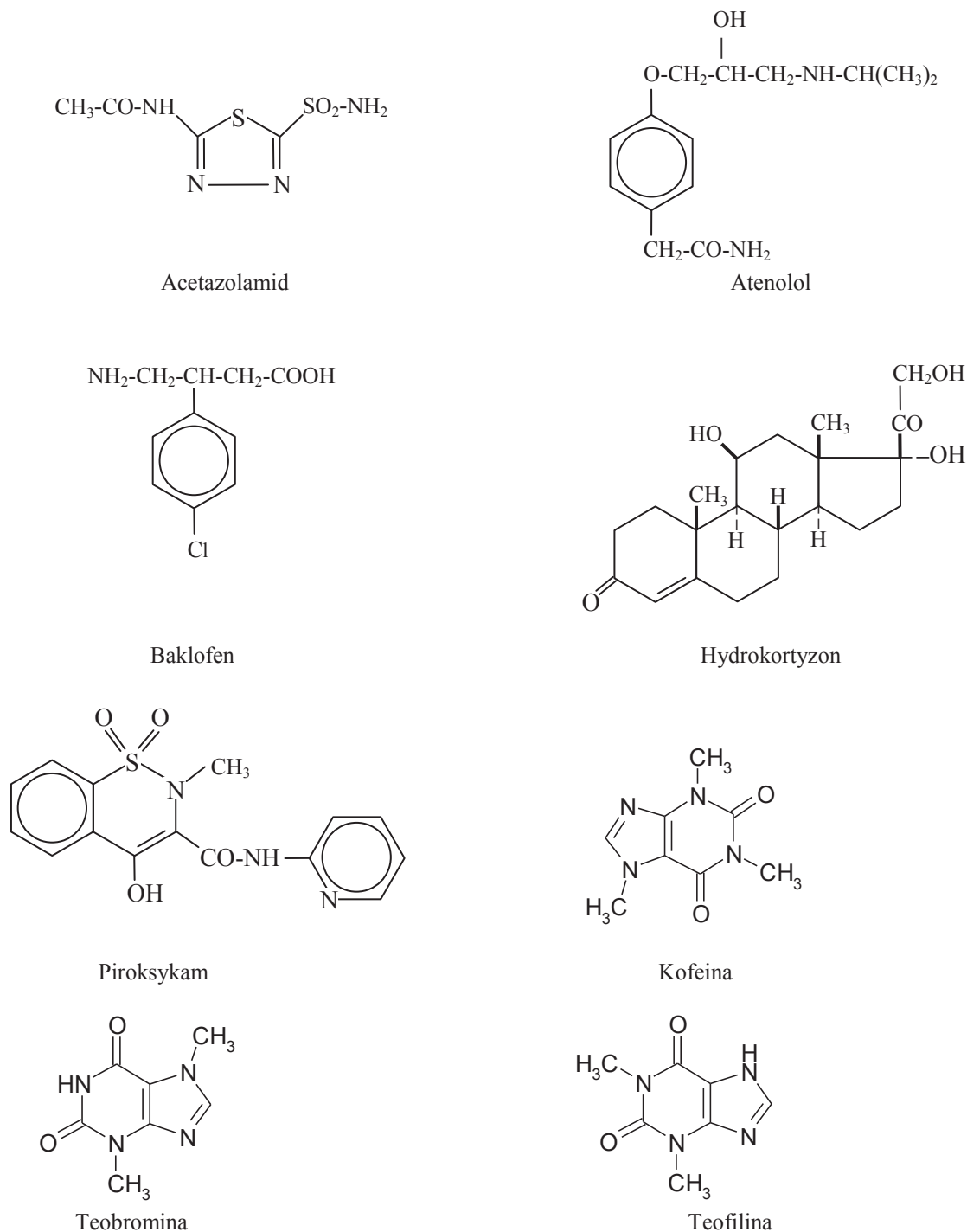
Poznanie właściwości fizykochemicznych substancji leczniczych ma kluczowe znaczenie przy późniejszej identyfikacji niezgodności pomiędzy nimi i substancjami pomocniczymi. Z tego powodu postanowiono zbadać zachowanie się tych substancji pod wpływem temperatury (termomikroskopia, krzywe DSC, DTA, TG i DTG) oraz poznać właściwości spektralne (widma IR) i zidentyfikować fazy krystaliczne lub amorficzne w badanych substancjach (XRD).

1.1. Rozkład termiczny

Na podstawie obserwacji termomikroskopowych i krzywych termoanalitycznych wyznaczono charakterystyczne temperatury przemian fazowych i procesów termicznych, zachodzących w badanych substancjach. Stwierdzono, iż duży wpływ na proces rozkładu termicznego wywiera budowa chemiczna badanych związków. Analizowane w ramach niniejszej pracy substancje lecznicze to osiem związków chemicznych, należących zgodnie z indeksem terapeutycznym do różnych grup w klasyfikacji anatomiczno-terapeutyczno-chemicznej leków [210]. Acetazolamid (5-acetamido-1,3,4-tiodiazolo-2-sulfonamid) to lek diuretyczny, zawierający grupę sulfonamidową ($-\text{SO}_2\text{NH}_2$) i zacylowaną grupę aminową w aromatycznym układzie heterocyklicznym [211]. Natomiast atenolol (2-[4-[2-hydroksy-3-(1-metyloetyloamino)-propoksy]-fenylo]-etanamid), β -adrenolityk kardioselektywny, jest pochodną 1-aryloksy-3-alkiloaminopropan-2-olu z grupą izopropylaminową i podstawnikiem amidowym w położeniu para. Z kolei baklofen (kwas (R,S)- β -(4-chlorofenylo)- γ -aminomasłowy), lek miorelaksacyjny, jest pochodną kwasu γ -aminomasłowego. Do hormonów steroidowych z układem Δ_4 -pregnenu, ugrupowaniem dihydroksyacetonowym w położeniu 17 należy glikokortykosteroid, hydrokortyzon (Δ_4 -pregneno-11 β -17 α ,21-triolo-3,20-dion). Natomiast struktura piroksyamu (1,1-dwutlenek-N-pirydylo-2-amid kwasu 2-metylo-4-hydroksybenzotiazyno-3-karboksylowego), niesteroidowego leku przeciwzapalnego, wywodzi się z układu heterocyklicznego benzo(tieno)tiazyny, w którym siarka tiazyny znajduje się w ugrupowaniu cyklicznego N-metylosulfonamidu, a w położeniu 4 występuje grupa enolowa. Kolejne substancje lecznicze to metyloksantyny z grupy puryn, pochodnych układu dwupierścieniowego, w którym pierścień sześcioczłonowy pirymidyny jest skondensowany z pierścieniem imidazolu. Należą do nich izomeryczne dwumetyloksantyny: teobromina i teofilina (3,7-dwumetylo- i 1,3-dwumetylo-(1*H*-puryno-2,6 (3*H*, 7*H*))-diony) oraz trzymetyloksantyna – kofeina (1,3,7-

trzymetylo-1*H*-puryno-2,6 (3*H*, 7*H*)-dion). Są to alkaloidy z grupy analeptyków, pobudzające OUN.

Wzory strukturalne tych substancji przedstawiono na Schemacie 1, natomiast wyniki badań termoanalitycznych zestawiono w Tabelach 6-8 i zilustrowano na Rys. 1-4.



Schemat 1. Wzory strukturalne badanych substancji leczniczych.

Tabela 6. Wyniki badań termomikroskopowych analizowanych substancji leczniczych.

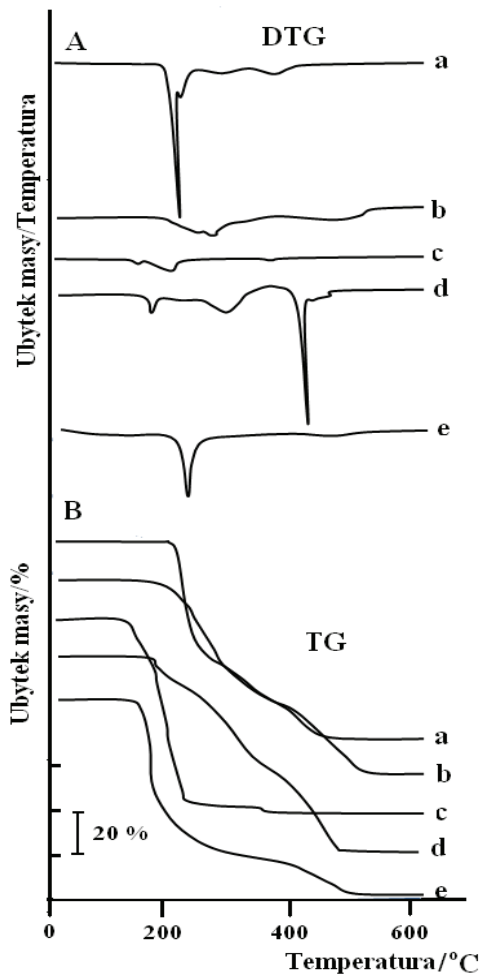
Substancja lecznicza	Wzór sumaryczny	Masa molowa [g/mol]	Literaturowe temperatury przemian fazowych [°C]	Temperatury przemian fazowych [°C]
Acetazolamid	$C_4H_6O_3N_4S_2$	222,20	topnienie, 258–259 [212]; 260 [213]	topnienie z rozkładem, 242-255
Atenolol	$C_{14}H_{22}O_3N_2$	266,30	topnienie, 146-148, 150–155 [213]; 152–155 [214]; 152-156,5 [215]	topnienie z rozkładem, 153-160
Baklofen	$C_{10}H_{12}O_2NCl$	213,70	topnienie, 195-200 [216]	dehydratacja, 117 topnienie, 198-208
Hydrokortyzon	$C_{21}H_{30}O_5$	362,50	topnienie z rozkładem, 216 [216] topnienie, 214 [213]	topnienie z rozkładem, 192-215
Piroteksykam	$C_{15}H_{13}O_4N_3S$	331,35	topnienie formy igieł, 196-198 topnienie formy sześciątów, 199-201 [213]	jednoczesne topnienie dwóch form polimorficznych, 194-207
Kofeina	$C_8H_{10}O_2N_4$	194,19	topnienie I odmiany polimorficznej, 235 [213] przemiana II odmiany polimorficznej w I, 162 [213] sublimacja, 180 [217, 218] topnienie, 234-239 [213]; 234-237 [217]; 235-237 [218]	topnienie II odmiany polimorficznej i przemiana w odmianę I, 159-162 topnienie I odmiany polimorficznej, 235-237
Teobromina	$C_7H_8O_2N_4$	180,16	sublimacja, 290 [217, 218] topnienie, 351 [217, 218]	topnienie, 340-345
Teofilina	$C_7H_8O_2N_4$	180,16	topnienie, 268 [218]; 269-274 [217]; 270-274 [213]	topnienie, 278-281

Tabela 7. Wyniki analizy krzywych DTA, TG i DTG substancji leczniczych (^a – pik endotermiczny, ^b – pik egzotermiczny).

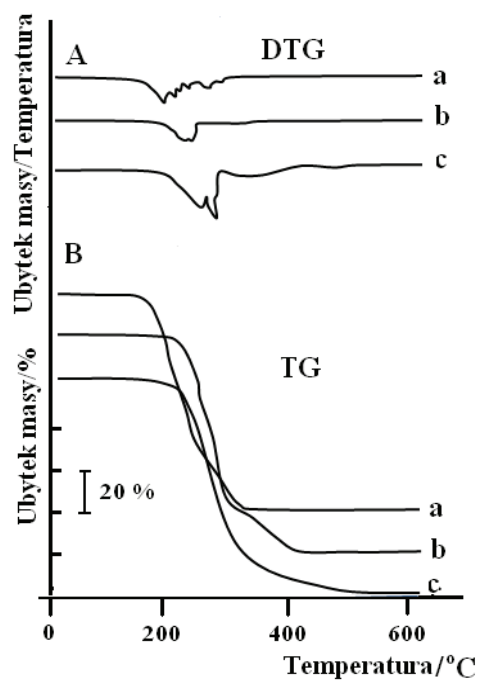
Substancja lecznicza	Etapy rozkładu		
	etap I	etap II	etap III
	Zakres temperatur pików DTA [°C]; temperatura pików DTA [°C] Zakres temperatur etapu TG-DTG [°C]; temperatura pików DTG [°C], w nawiasie ubytek masy [%]		
Acetazolamid	-----	180-210; 200 ^a , 210-245; 230 ^a 170-260; 200 (61,0)	245-360; 320 ^b 260-350; 300 (17,0) 360-500; 380 ^a , 420 ^b 350-500; 400 (22,0)
Atenolol	20-115; 95 ^a , 115-180; 120 ^a brak ubytku masy	180-225; 200 ^a 20-400; 220, 270 (66,0)	225-300; 260 ^b , 300-390; 305 ^a , 390-580; 510 ^b 400-580; 510 (34,0)
Baklofen	-----	80-190; 160 ^a 120-170; 160 (12,0) 190-250; 220 ^a , 250-360; 275 ^a 170-370; 230 (68,0)	360-510; 410 ^a , 470 ^b 370-510; 470 (3,0)
Hydrokortyzon	165-200; 170 ^a brak ubytku masy	200-320; 230 ^a 150-230; 210 (11,0)	320-560; 350 ^a , 480 ^b 230-400; 340 (47,0) 400-560; 470 (42,0)
Piroksykam	-----	155-210; 160 ^a , 210-275; 225 ^a 50-275; 200 (75,5)	275-560; 360 ^a , 500 ^b 275-560; 500 (24,5)
Kofeina	40-150; 120 ^a brak ubytku masy	150-270; 190 ^a brak ubytku masy	270-460; 330 ^a , 370 ^a , 430 ^b 90-460; 200, 220 (100,0)
Teobromina	-----	100-300; 270 ^a 150-290; 280 (81,0)	300-530; 340 ^a , 470 ^b 290-560; 370 (19,0)
Teofilina	-----	110-320; 220 ^a 110-300; 230, 260 (86,0)	320-490; 335 ^a , 450 ^b 300-490; 320 (14,0)

Tabela 8. Wyniki analiz krzywych DSC substancji leczniczych.

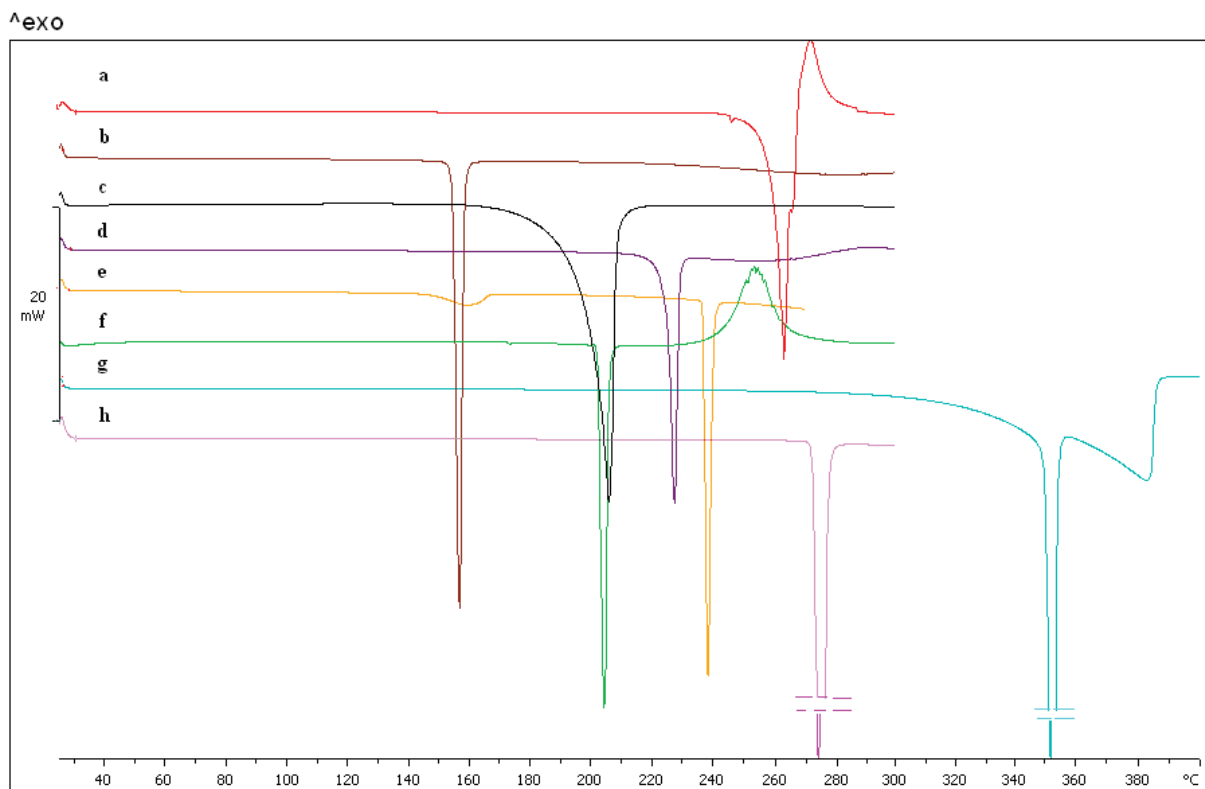
Substancja lecznicza	Masa próbki [mg]	Temperatura początku pików [°C]	Temperatura pików [°C]	Ciepło przemiany [mJ]	Ciepło właściwe [J/g]
Acetazolamid	4,26	258,17	260,88	-701,37	-164,64
		271,75	272,42	294,25	69,07
Atenolol	4,22	153,99	154,55	-598,72	-141,88
Baklofen	4,19	202,44	207,27	-1418,53	-338,55
Hydrokortyzon	4,29	224,21	226,00	-728,63	-169,84
		202,24	202,97	-478,71	-110,05
Piroksykam	4,35	247,03	254,43	672,40	154,57
Kofeina	4,29	147,78	159,42	-70,83	-16,51
		236,32	236,25	-432,55	-100,83
Teobromina	4,22	348,27	348,20	-3032,13	-718,51
			382,36		
Teofilina	4,30	272,35	273,14	-879,17	-204,46



Rys. 1. Krzywe TG i DTG substancji leczniczych: (a) acetazolamidu, (b) atenololu, (c) baklofenu, (d) hydrokortyzonu, (e) piroksykamu.



Rys. 2. Krzywe TG i DTG substancji leczniczych: (a) kofeiny, (b) teobrominy, (c) teofiliny.



Rys. 3. Krzywe DSC substancji leczniczych: (a) acetazolamidu, (b) atenololu, (c) baklofenu, (d) hydrokortyzonu, (e) piroksykamu, (f) kofeiny, (g) teobrominy, (h) teofiliny.

Analizując zestawione w Tabeli 6 wyniki badań termomikroskopowych, można zauważyć, iż spośród ośmiu badanych substancji leczniczych, atenolol wykazuje najniższą temperaturę topnienia, tj. ok. 153°C. W tej temperaturze jednocześnie z topnieniem zachodzi proces rozkładu atenololu. Natomiast w zakresie temperatur 190–215°C, topnieniu ulega baklofen, hydrokortyzon z rozkładem i piroksykan, który posiada dwie odmiany polimorficzne. Z kolei powyżej temperatury 242°C procesowi topnienia z rozkładem podlega acetazolamid. Kolejne substancje lecznicze, metyloksantyny, topią się w wyższych temperaturach niż wyżej wymienione substancje, przy czym jedna z odmian polimorficznych kofeiny topi się już w temperaturze 159°C przekształcając się w drugą formę, która ulega topnieniu w temperaturze ok. 235°C. Natomiast w przypadku teofiliny proces topnienia zachodzi w temperaturze powyżej 278°C. Z kolei teobromina zaczyna topić się w temperaturze o 60°C wyżej niż teofilina.

Porównując wyniki obserwacji termomikroskopowych z danymi literaturowymi można stwierdzić, iż w wielu przypadkach wyniki nie pokrywają się. Przykładem są metyloksantyny, dla których dane literaturowe wskazują na proces sublimacji; kofeiny w 180°C i teobrominy w 290°C, którego nie zaobserwowano w wyniku badań

termomikroskopowych. Ponadto, temperatury topnienia większości substancji leczniczych zamieszczone w literaturze różnią się o kilka stopni Celsjusza (w górę lub w dół) od temperatur odczytanych w pomiarach termomikroskopowych.

Wyniki analizy krzywych TG i DTG rozkładu termicznego badanych substancji leczniczych zamieszczono w Tabeli 7 i przedstawiono graficznie na Rys. 1 i 2 (krzywe TG i DTG). Przebieg procesu rozkładu wszystkich analizowanych związków odbywa się w analogiczny sposób. Etap I obejmuje zakres temperatur, w którym w analizowanej substancji nie zachodzą procesy związane ze zmianą składu chemicznego, co potwierdza brak ubytku masy na krzywych TG i DTG (atenolol, hydrokortyzon, kofeina). W etapie tym najczęściej zachodzą takie procesy, jak desorpcja wilgoci lub rozpuszczalników organicznych oraz uwalnianie wody krystalizacyjnej. Procesom tym towarzyszy kilkuprocentowy ubytek masy, w przypadku niektórych związków związane są z przemianami fazowymi I rzędu, najczęściej z topnieniem. Topnienie zazwyczaj połączone jest z gwałtownym rozkładem, rozpoczynającym kolejny etap rozkładu. Ponadto, w przypadku piroksykamu i kofeiny zachodzi przemiana polimorficzna. Natomiast teobromina ulega procesowi sublimacji.

W etapie II rozkładu następuje termiczna degradacja badanej substancji. Na krzywej TG proces ten potwierdza od kilkunastu do kilkudziesięciu procent ubytku masy. W etapie tym tworzą się pośrednie produkty rozkładu termicznego.

W etapie III produkty rozkładu ulegają ostatecznej destrukcji połączonej z całkowitym spalaniem skoksowanej pozostałości. Sumaryczny efekt cieplny tego etapu jest egzotermiczny.

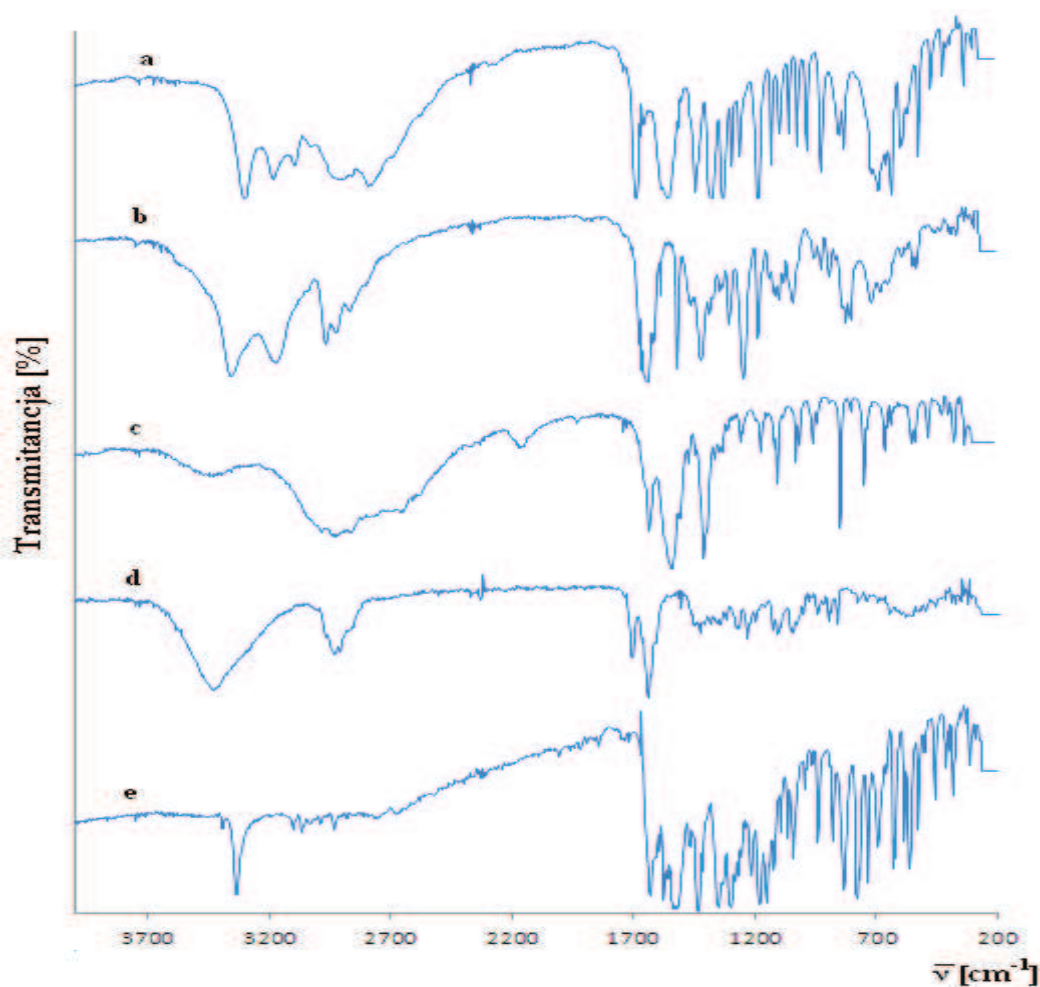
Wyniki badań DSC analizowanych substancji zestawiono w Tabeli 8 i zilustrowano na Rys. 3. DSC jest stosowana do badania przemian fazowych i reakcji chemicznych, zachodzących z wydzielaniem lub pochłanianiem ciepła. Na krzywych DSC większości badanych substancji można wyróżnić pojedynczy, wąski i ostro zakończony endotermiczny pik, związany z procesem topnienia substancji (atenolol, baklofen, hydrokortyzon, teofilina). Natomiast powierzchnia pola pod pikiem DSC określa ciepło przemiany (entalpie przemiany). Jednakże w przypadku kofeiny, na krzywej DSC widoczny jest niewysoki, zaokrąglony pik, odzwierciedlający proces topnienia drugiej odmiany polimorficznej, która następnie przekształca się w pierwszą odmianę, a ta ulega topnieniu, co ilustruje wysoki, wąski i ostro zakończony pik. Z kolei na krzywej DSC acetazolamidu występują dwa endotermiczne, nakładające się na siebie piki, związane z topnieniem i parowaniem oraz pik egzotermiczny, będący wynikiem rozkładu acetazolamidu. W przypadku piroksykamu obserwuje się endotermiczny pik związany z topnieniem i efekt egzotermiczny,

odzwierciedlający rozkład piroksykamu. Natomiast na krzywej DSC teobrominy występują dwa nakładające się na siebie efekty endotermiczne, odpowiedzialne za proces topnienia i parowania teobrominy.

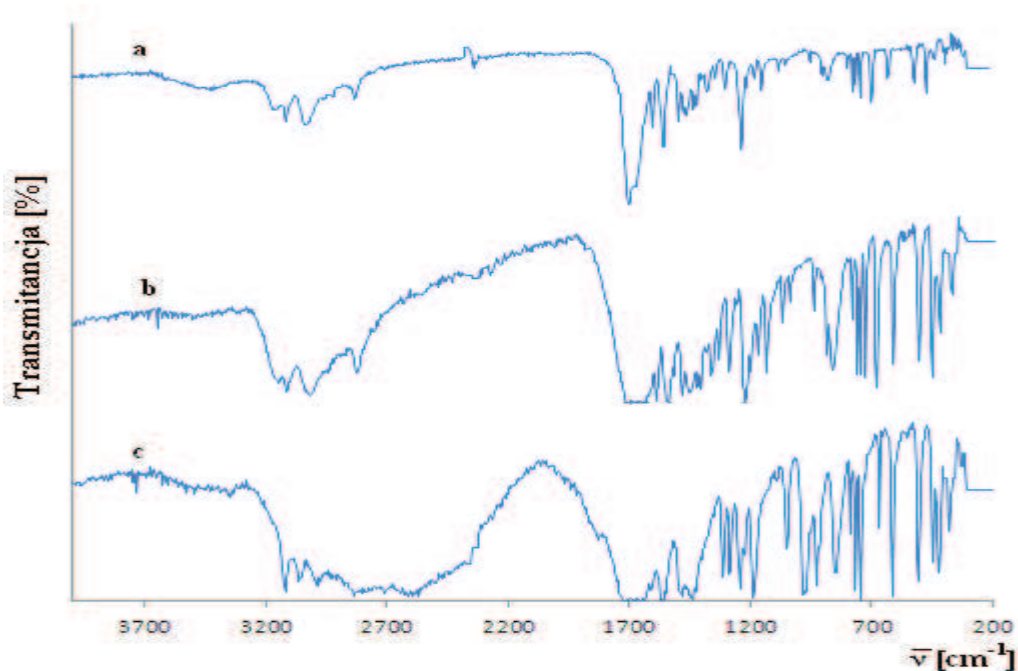
1.2. Analiza w podczerwieni

Widma IR substancji leczniczych w obszarze spektralnym $4000\text{--}200\text{ cm}^{-1}$ ilustrują Rys. 4 i 5. Dla każdej z badanych substancji wyznaczono zakresy liczb falowych, przy których występują charakterystyczne dla nich pasma absorpcji.

Pełna interpretacja widma IR jest trudna, gdyż cząsteczki związków organicznych mają z reguły złożoną budowę chemiczną, co oznacza, że w obrębie jednej cząsteczki występuje wiele różnych rodzajów drgań deformacyjnych i rozciągających, jak również różne ugrupowania atomów wykazują pasma o tej samej lub zbliżonej częstotliwości.



Rys. 4. Widma IR: (a) acetazolamidu, (b) atenololu, (c) baklofenu, (d) hydrokortyzonu, (e) piroksykamu.



Rys. 5. Widma IR metyloksantyn: (a) kofeiny, (b) teobrominy, (c) teofiliny.

Szczegółowa analiza danych wykazała, że w przypadku acetazolamidu i atenololu w zakresie spektralnym $4000\text{--}2300\text{ cm}^{-1}$ występują charakterystyczne pasma absorpcji przypisywane intensywnym drganiom rozciągającym (walencyjne) N–H w obszarze $3500\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$ oraz drganiom rozciągającym C–H w zakresie $3000\text{--}2750\text{ cm}^{-1}$ [2, 219, 211]. Acetazolamid zawierając grupę $\text{--SO}_2\text{NH}_2$ i zacetatylowaną grupę aminową w aromatycznym układzie heterocyklicznym [3], wykazuje pasma charakterystyczne dla sulfonamidów, tj. pasma drgań rozciągających grupy N–H dla sulfonamidów I-rzędowych, w zakresie liczb falowych $3300\text{--}3247\text{ cm}^{-1}$, drgania zginające N–H w $1650\text{--}1515\text{ cm}^{-1}$ i grupy S=O w zakresie $1370\text{--}1335\text{ cm}^{-1}$, $1170\text{--}1155\text{ cm}^{-1}$ oraz pasma drgań charakterystycznych dla związków heteroaromatycznych, odpowiadające drganiom rozciągającym N–H o częstotliwości $3500\text{--}3220\text{ cm}^{-1}$, drganiom szkieletowym (pierścienia) $1600\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$ oraz drganiom rozciągającym C=O charakterystycznym dla ketonów w zakresie $1870\text{--}1540\text{ cm}^{-1}$ [2, 219, 220].

Atenololowi, który w fragmencie struktury części aminowej posiada grupę izopropylową, a w części aryłowej - pierścień fenyłowy z ugrupowaniem amidowym w położeniu para [211], przypisuje się pasma drgań charakterystycznych dla amidów. Są to drgania rozciągające N–H przy 3350 i 3180 cm^{-1} i silne pasmo przy ok. 1650 cm^{-1} odpowiadające drganiom rozciągającym C=O amidów I-rzędowych. Występują także pasma drgań rozciągających O–H, charakterystyczne dla alkoholi w zakresie $3550\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$, a także drgań zginających O–H w $1420\text{--}1330\text{ cm}^{-1}$ oraz drgania rozciągające N–H,

charakterystycznych dla amin II-rzędowych o częstotliwości 3350–3310 cm^{-1} [2, 219, 220, 221].

W przypadku baklofenu, związku o strukturze aminokwasu [211], występują pasma charakterystyczne dla amin i kwasów karboksylowych, tj. pasma drgań rozciągających N–H dla amin I-rzędowych o częstotliwości 3500 i 3400 cm^{-1} , drgań rozciągających O–H, charakterystycznych dla kwasów karboksylowych w zakresie 3300–2500 cm^{-1} i C=O w zakresie 1725–1680 cm^{-1} , a także drgań zginających O–H w obszarze 1440–1395 cm^{-1} , drgań zginających C=O w zakresie 1320–1210 cm^{-1} oraz pasmo drgań charakterystycznych dla organicznych związków halogenowych, chlorobenzenów w zakresie 1096–1089 cm^{-1} [2, 219, 220].

Podstawę struktury hydrokortyzonu stanowi ugrupowanie dihydroksyacetonowe [211], z tego względu obecne jest pasmo charakterystyczne dla drgań rozciągających O–H alkoholi w zakresie 3650–3100 cm^{-1} , drgań rozciągających C–OH w obszarze 1260–1000 cm^{-1} , drgań rozciągających C–H w zakresie 3000–2800 cm^{-1} oraz pasma charakterystyczne dla drgań rozciągających C=O ketonów w zakresie liczb falowych 1850–1540 cm^{-1} i charakterystyczne dla drgań rozciągających C–H cykloalkanów w zakresie 3100–2853 cm^{-1} [2, 219, 220].

W widmie piroksykamu występują charakterystyczne dla sulfonamidów pasma drgań grup N–H i S=O, tj. w zakresie 3390–3247 cm^{-1} dla N–H, a w zakresie 1370–1335 cm^{-1} i 1170–1155 cm^{-1} dla S=O oraz pasma drgań rozciągających C=O przy ok. 1628 cm^{-1} [2, 219, 220, 222].

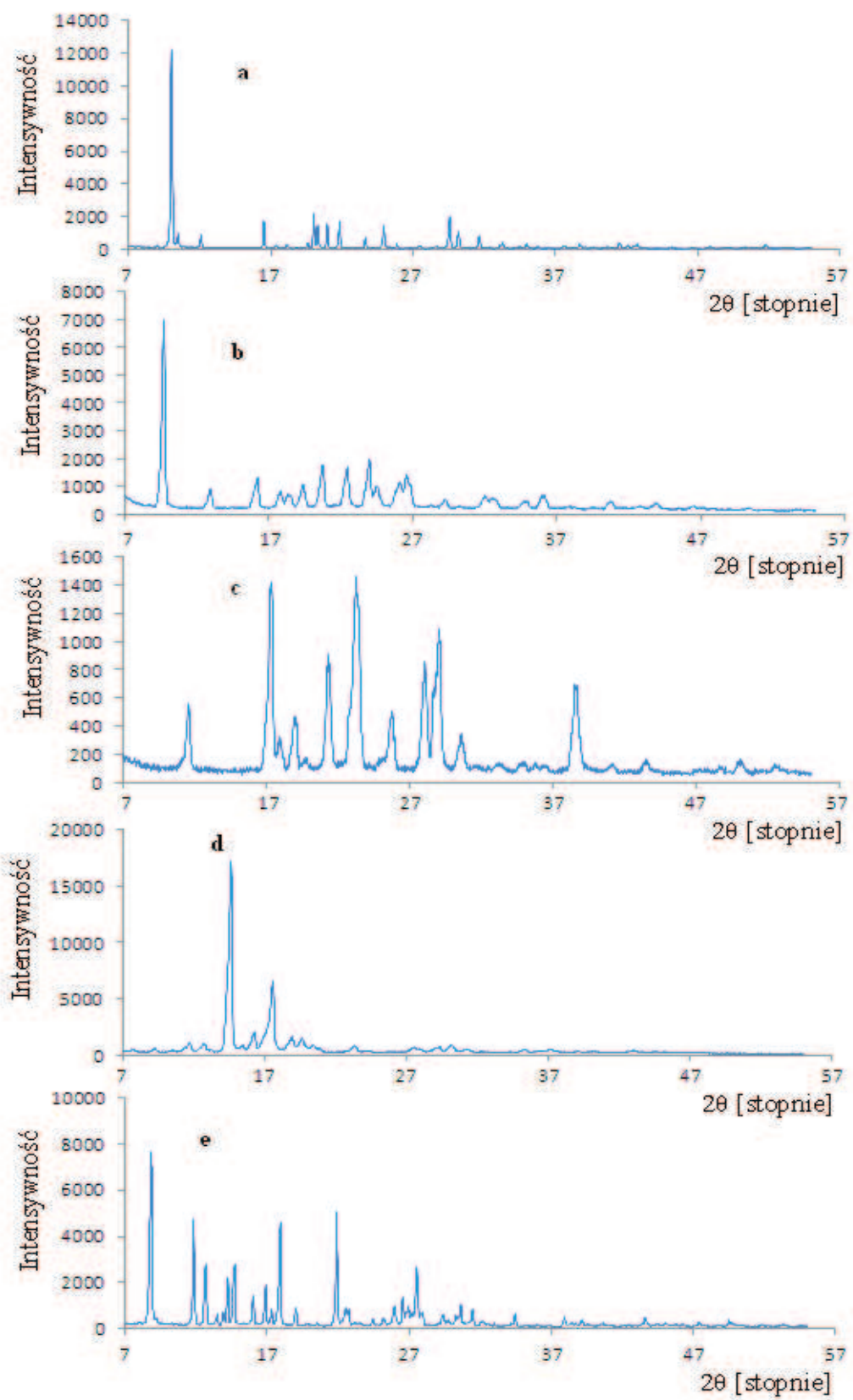
Widma IR metyloksantyn są bardzo podobne i można w nich wyróżnić dwa obszary: 4000–1500 cm^{-1} i poniżej 1500 cm^{-1} . Ten ostatni obszar nazwany jest obszarem daktyloskopowym lub tzw. „odciskiem palca” związku chemicznego. Jest on niezwykle trudny w interpretacji, gdyż występują w nim zarówno drgania walencyjne wiązań pojedynczych C–C i C–N, jak i drgania deformacyjne wiązań C–H. W widmie kofeiny w zakresie do 2000 cm^{-1} występują dwa pasma, które odzwierciedlają drgania walencyjne grup C–H, odpowiadające liczbom falowym 3125 i 3000 cm^{-1} . Drgania te związane są z dwoma podstawnikami metylowymi w pierścieniu pirymidyny i jednym podstawnikiem metylowym w strukturze imidazolu oraz z wiązaniem C–H w pierścieniu imidazolu. W widmach teofiliny i teobrominy obserwuje się więcej pasm w tym zakresie, co związane jest z obecnością ugrupowania aminy drugorzędowej N–H w ich cząsteczkach, przy czym drgania rozciągające pochodzące od tej grupy tworzą dublet.

Pasma w zakresie od 1708 do 1666 cm^{-1} odpowiadają drganiom walencyjnym ugrupowań karbonylowych w położeniu 1,6-pirymidyny. W zakresie 1800–1500 cm^{-1} mogą również występować drgania walencyjne wiązań podwójnych C=N pierścienia imidazolowego lub wiązań C=C skondensowanego pierścienia ksantyny. W widmie kofeiny drgania te odpowiadają liczbom falowym 1582 lub 1556 cm^{-1} , natomiast w widmach teofiliny i teobrominy brak jest pasma przy 1582 cm^{-1} , a występuje jedynie pasmo przy 1556 cm^{-1} [223, 224]. Rodzaje poszczególnych drgań cząsteczkowych i charakterystycznych częstości grupowych substancji leczniczych przedstawione są w literaturze [221, 223-233, 237].

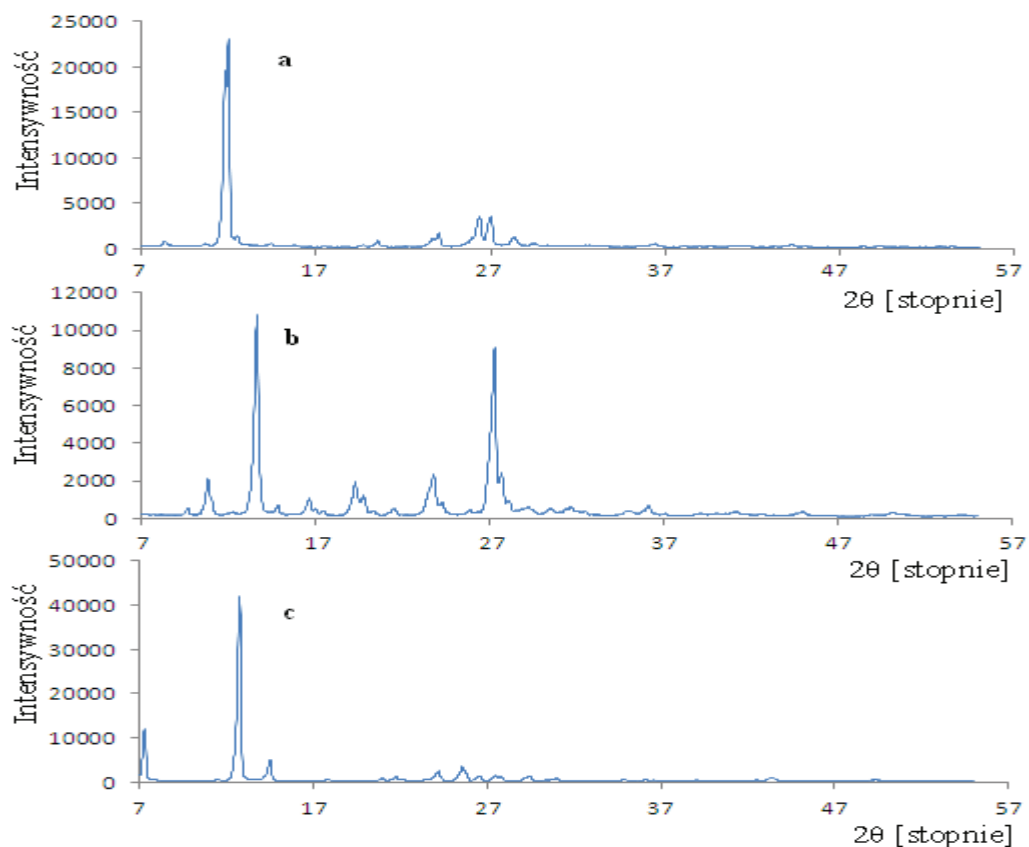
1.3. Analiza dyfraktometryczna

Dyfraktogramy substancji leczniczych przedstawiono na Rys. 6 i 7. Ich analiza potwierdziła budowę krystaliczną substancji leczniczych, czego dowodem są wyraźne, ostre piki dyfrakcyjne. Dla każdej substancji leczniczej wyznaczono kąty dyfrakcji 2θ przy największych natężeniach refleksów dyfrakcyjnych.

W przypadku acetazolamidu maksima intensywności refleksów dyfrakcyjnych wystąpiły przy kątach dyfrakcji 2θ : 10,01; 10,48; 16,51; 20,03; 20,33; 20,98; 21,83; 24,94; 29,58; 30,18 $^{\circ}$. Natomiast na dyfraktogramie atenololu największe natężenie refleksów dyfrakcyjnych zauważono przy kątach 2θ równych: 9,77; 16,29; 20,78; 22,48; 24,03; 26,12; 26,60, a baklofenu przy 2θ : 17,36; 23,31; 29,05; 29,13 $^{\circ}$. Największą intensywność refleksów dyfrakcyjnych przechodzących przez hydrokortyzon zaobserwowano przy 2θ : 14,59; 16,23; 17,52; 18,94; 19,62 $^{\circ}$. Z kolei na dyfraktogramie piroksykamu piki o najwyższym natężeniu występują przy kątach 2θ : 8,82; 11,82; 12,66; 14,24; 14,71; 16,02; 16,89; 17,92; 21,89; 26,54; 27,55; 30,63 $^{\circ}$. Maksima intensywności refleksów dyfrakcyjnych kofeiny zauważono przy 2θ : 11,96; 12,50; 23,69; 24,03; 26,38; 27,00; 28,34 $^{\circ}$, a w przypadku teobrominy przy 2θ równym: 10,78; 13,60; 16,63; 19,28; 19,72; 23,77 i 27,27 $^{\circ}$. Natomiast największą ilość refleksów dyfrakcyjnych przechodzących przez teofilinę zaobserwowano przy 2θ : 7,26; 12,75; 14,51; 21,79; 24,20; 25,57; 26,60; 27,51; 27,81; 29,43 $^{\circ}$.



Rys. 6. Dyfraktogramy substancji leczniczych: (a) acetazolamidu, (b) atenololu, (c) baklofenu, (d) hydrokortyzonu, (e) piroksykamu.



Rys. 7. Dyfraktogramy metyloksantyn: (a) kofeiny, (b) teobrominy, (c) teofiliny.

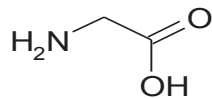
2. Charakterystyka fizykochemiczna substancji pomocniczych

Identyfikacja niezgodności fizykochemicznych pomiędzy składnikami stałych postaci leku nie jest możliwa bez dokładnej wiedzy o właściwościach substancji pomocniczych. W związku z tym, podobnie jak w przypadku substancji leczniczych, przeprowadzono badania termomikroskopowe, termoanalityczne, spektroskopowe i dyfraktometryczne wszystkich wykorzystanych w niniejszej pracy substancji pomocniczych.

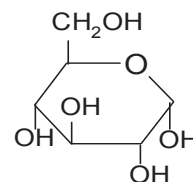
2.1. Rozkład termiczny

Wyniki badań rozkładu termicznego substancji pomocniczych (glikokolu, glukozy, mannitolu, sorbitolu, laktozy, sacharozy, celulozy mikrokrystalicznej, skrobi rozpuszczalnej, metylocelulozy, β -cyklodekstryny, gumy arabskiej, megluminy, chitozanu, poliwinyl-pirolidonu K30, stearynianu magnezu i talku), zestawiono w Tabeli 9-11 oraz przedstawiono graficznie na Rys. 8-11 [234, 235].

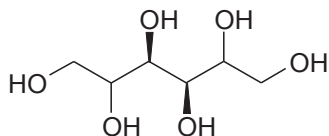
Na podstawie przedstawionych na Schematach 2 i 3 wzorów strukturalnych badanych substancji można zauważyć, iż z wyjątkiem talku, substancje pomocnicze to związki organiczne różniące się znacznie budową chemiczną i masą cząsteczkową. Glikokol jest najprostszym aminokwasem (glicyna, kwas aminooctowy), mannitol i sorbitol – alkoholami heksahydroksylowymi z grupy cukroli, natomiast pozostałe substancje pomocnicze są cukrami prostymi (glukoza), disacharydami (laktoza, sacharoza) lub polisacharydami (celuloza mikrokrystaliczna, eter metylowy celulozy – metyloceluloza, skrobia), i w pewnym stopniu guma arabska, stanowiąca stężałą wydzielinę z pni i gałęzi drzew afrykańskich z rodzaju *Acacia* [236], której głównym składnikiem jest rozgałęziony polisacharyd arabina. Kolejne substancje pomocnicze; β -cyklodekstryna jest cyklicznym, nieredukującym się oligosacharydem utworzonym z cząsteczek α -D-glukopiranozy połączonych wiązaniem α -1,4-glikozydowym, meglumina to N-metylo-D-glukozaamina, natomiast chitozan jest polimerem D-glukozaaminy z N-acetylo- β -glukozaaminą, otrzymywanym w procesie częściowej deacetylacji chityny pozyskiwanej z pancerzy krewetek i krabów. Z kolei poliwinylpirolidon jest syntetycznym polimerem zbudowanym z mieszaniny liniowych polimerów 1-winylo-2-pirolidonu, a stearynian magnezu jest solą wyższego kwasu tłuszczowego, kwasu stearynowego.



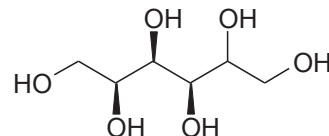
Glikokol



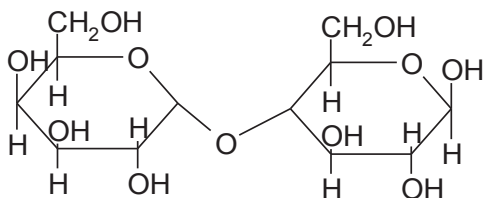
Glukoza



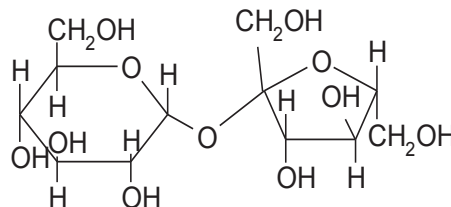
Mannitol



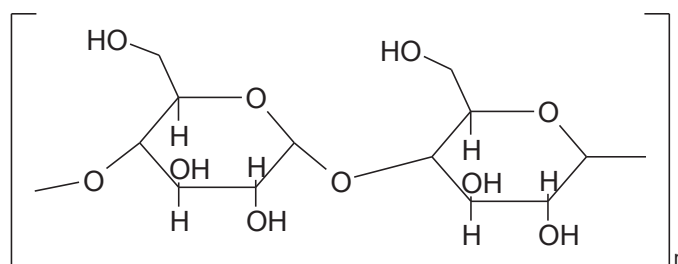
Sorbitol



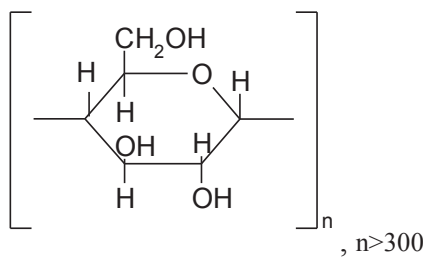
Laktoza



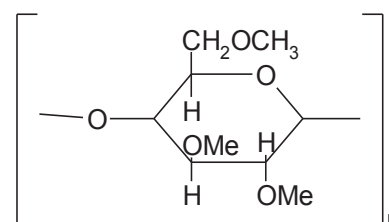
Sacharoza



Celuloza mikrokrystaliczna

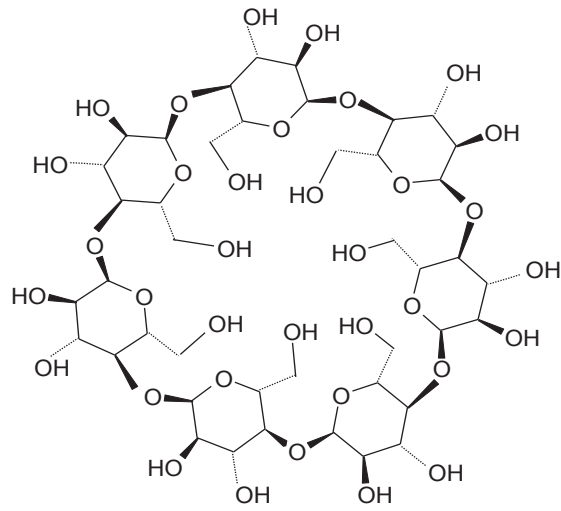


Skrobia

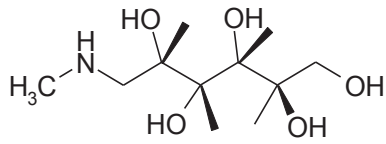


Metyloceluloza

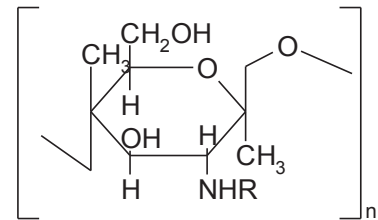
Schemat 2. Wzory strukturalne substancji pomocniczych.



β -cyklodekstryna

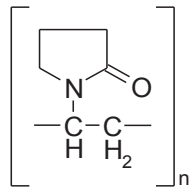


Meglumina

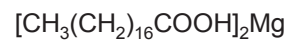


R=H lub COCH₃

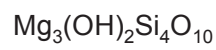
Chitosan



Poliwinylopirolidon K30



Stearynian magnezu



Talk

Schemat 3. Wzory strukturalne substancji pomocniczych.

Tabela 9. Wyniki badań termomikroskopowych analizowanych substancji pomocniczych.

Substancja pomocnicza	Wzór sumaryczny	Masa molowa [g/mol]	Literaturowe temperatury przemian fazowych [°C]	Temperatury przemian fazowych [°C]
Glikokol	$C_2H_5NO_2$	75,07	topnienie z rozkładem, 232-236 [237] topnienie z rozkładem, 262 [218]	topnienie, 240-243 rozkład, > 243
Glukoza	$C_6H_{12}O_6$	180,16	topnienie, 146; rozkład, > 200 [218] topnienie, 147 [217]	topnienie, 154-157 karmelizacja, 183-188 rozkład, > 250
Mannitol	$C_6H_{14}O_6$	182,17	topnienie, 166-168 [237, 238]; 165-170 [214]; 164-169 [215] temperatura zapłonu < 150 [237]	topnienie, 167-169 parowanie, 169-176
Sorbitol	$C_6H_{14}O_6$	182,17	topnienie formy metastabilnej, 93 topnienie formy polimorficznej γ , 97,7 [238] topnienie formy amorficznej, 110-112 [217, 238]	topnienie, 100-102 parowanie, > 205
Laktoza	$C_{12}H_{22}O_{11}$	342,30	topnienie uwodnionej odmiany α , 201-202 [238] topnienie bezwodnej odmiany α , 223 [237]; 222,8 [238] topnienie bezwodnej odmiany β , 252,3 [237, 238] topnienie bezwodnej laktozy handlowej, 232 [237]	dehydratacja, 137 przemiana krystaliczna, 144-146 topnienie, 208-211; karmelizacja, 217-240 zwęglanie, > 240
Sacharoza	$C_{12}H_{22}O_{11}$	342,30	topnienie z rozkładem, 160-186 karmelizacja, > 160 [238] krystalizacja, 170; topnienie, 184-185 [218] topnienie form: b, 169-170; a, 184-185 [217]	topnienie, 184-187 karmelizacja, 189-193 rozkład, > 250
Celuloza mikrokrystaliczna	$(C_6H_{10}O_5)_n$	$(162,14)_n$	rozkład, 260-270 [217]	rozkład, > 247
Skrobia rozpuszczalna	$(C_6H_{10}O_5)_n$	$(162,14)_n$	brak danych literaturowych	rozkład, > 220
Metyloceluloza	$(C_8H_{14}O_6)_n$	$(206,20)_n$	tworzenie skoksowanej pozostałości, 225-230 [237, 238]	rozkład, > 250 zwęglanie, > 300

β-cyklodekstryna	$C_{42}H_{70}O_{35}$	1135	topnienie, 255-265 [237, 238] temperatura topnienia podana na opakowaniu, 290-300	dehydratacja, > 80 przemiana fazowa, 158 topnienie, 296-300; rozkład, > 300
Guma arabska			brak danych literaturowych	rozkład, > 195
Meglumina	$C_7H_{17}NO_5$	195,21	topnienie, 128-132 [7, 238]; 129-131,5 [238]	topnienie, 127-131 parowanie z rozkładem, > 220
Chitozan	$C_{12}H_{24}N_2O_9$	340,10	przemiana szklista, 203 [237]	dehydratacja, 110-123 przemiana szklista, 211 rozkład, > 250
Poliwinylopirolidon K-30	$(C_6H_9NO)_n$	(111,14) _n	rozkład, >150 [239]	rozkład, > 200
Stearynian magnezu	$Mg(C_{18}H_{35}O_2)_2$	591,34	topnienie preparatów handlowych, 117-150 [237, 238] topnienie substancji o wysokiej czystości, 126-130 temperatura zapłonu, 250 [237]	topnienie, 139-144 parowanie, > 160
Talk	$Mg_3(OH)_2Si_4O_{10}$	379,29	temperatura zapłonu, 850 [214]	nie ulega przemianom fazowym w zakresie 20-350

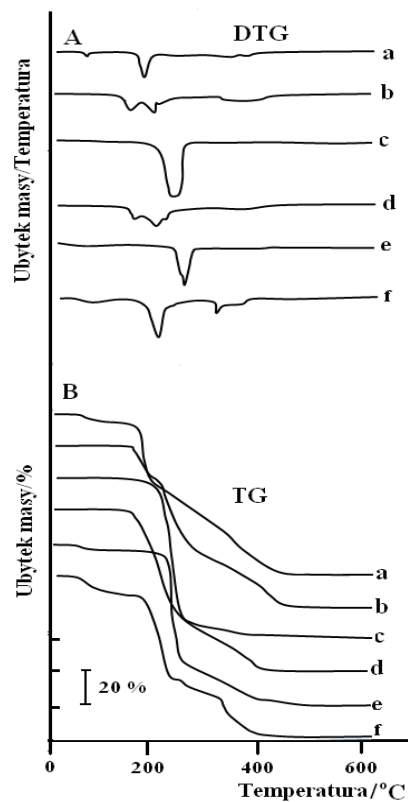
Tabela 10. Wyniki analizy krzywych DTA, TG i DTG rozkładu termicznego badanych substancji (^a – pik endotermiczny, ^b – pik egzotermiczny).

Substancja pomocnicza	Etapy rozkładu		
	etap I	etap II	etap III
	Zakres temperatur pików DTA [°C]; temperatura pików DTA [°C] Zakres temperatur etapu TG-DTG [°C]; temperatura pików DTG [°C], w nawiasie ubytek masy [%]		
Glikokol	20-160; 60 ^a 40-110; 55 (5,0)	160-270; 200 ^a 110-320; 200 (65,0)	270-520; 290 ^a , 420 ^b , 460 ^b 320-520; 410 (30,0)
Glukoza	20-150; 120 ^a brak ubytku masy	150-205; 170 ^a 20-195; 165 (20,0)	205-320; 245 ^a , 290 ^b 195-340; 230 (53,0) 320-510; 450 ^b 340-540; 430 (27,0)
Mannitol	105-190; 130 ^a brak ubytku masy	190-320; 260 ^a 150-320; 260 (96,0)	320-450; 430 ^b 320-480; 370 (4,0)
Sorbitol	-----	60-180; 80 ^a brak ubytku masy	180-430; 265 ^a , 380 ^b 80-700; 255 (93,0) > 700 (7,0)
Laktoza	80-140; 110 ^a 85-140; 110 (4,5)	140-210; 170 ^a 140-200; 180 (10,0) 210-300; 240 ^a 200-320; 230 (54,0)	300-490; 430 ^b 320-490; 430 (30,5)
Sacharoza	30-130; 90 ^a brak ubytku masy	130-160; 140 ^a , 160-200; 170 ^a 30-320; 170 (67,0)	200-500; 220 ^a , 290 ^b , 445 ^b 320-500; 445 (33,0)
Celuloza mikrokrystaliczna	20-120; 70 ^a 20-120; 50 (4,5)	120-240; 200 ^a brak ubytku masy	240-360; 270 ^a , 310 ^b , 360-470; 420 ^b 120-490; 265 (95,5)
Skrobia rozpuszczalna	35-130; 60 ^a 30-155; 60 (10,0)	130-205; 190 ^a 155-230; 200 (23,0) 205-290; 240 ^a 230-290; 260 (18,0)	290-510; 450 ^b 290-510; 445 (49,0)

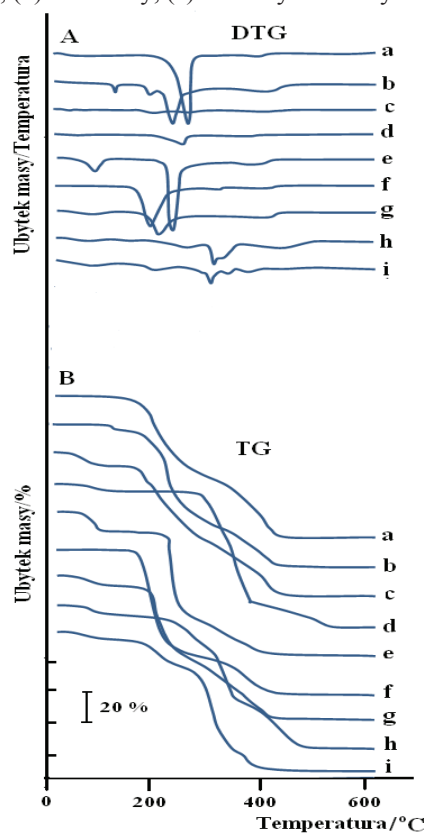
Metyloceluloza	35-90; 50 ^a 30-80; 50 (2,0)	165-270; 250 ^a , 270-310; 280 ^a 155-285; 260 (78,0)	310-450; 410 ^b 285-690; 405 (20,0)
β-cyklodekstryna	40-130; 80 ^a 40-120; 70 (13,0)	130-240; 200 ^a , 240-300; 250 ^a 185-325; 265 (65,0)	300-480; 400 ^b 325-525; 430 (22,0)
Guma arabska	40-160; 60 ^a 20-125; 60 (11,0)	160-330; 260 ^b , 125-320; 230 (59,0)	330-460; 390 ^b 320-460: 370 (27,0) > 700 (3,0)
Meglumina	90-160; 105 ^a brak ubytku masy	160-270; 225 ^b 130-330; 210 (75,0)	270-510; 420 ^b 330-510; 420 (25,0)
Chitozan	30-135; 60 ^a 30-140; 60 (8,0)	135-300; 240 ^b 140-315; 240 (58,0)	300-470; 430 ^b 315-470; 430 (34,0)
Poliwinylopirolidon K-30	30-120; 60 ^a 30-100; 50 (6,0)	120-315; 305 ^b 160-310; 275 (25,0) 315-380; 340 ^b 310-380; 335 (25,0)	380-560; 480 ^b 380-570; 485 (44,0)
Stearynian magnezu	40-150; 80 ^a 40-130; 70 (4,0)	150-200; 170 ^a , 200-290; 220 ^a 130-260; 205 (17,0) 290-320; 315 ^a , 320-340, 330 ^a 260-365; 320 (62,0)	340-430; 390 ^b 365-680; 395 (10,0)

Tabela 11. Wyniki analizy DSC badanych substancji pomocniczych.

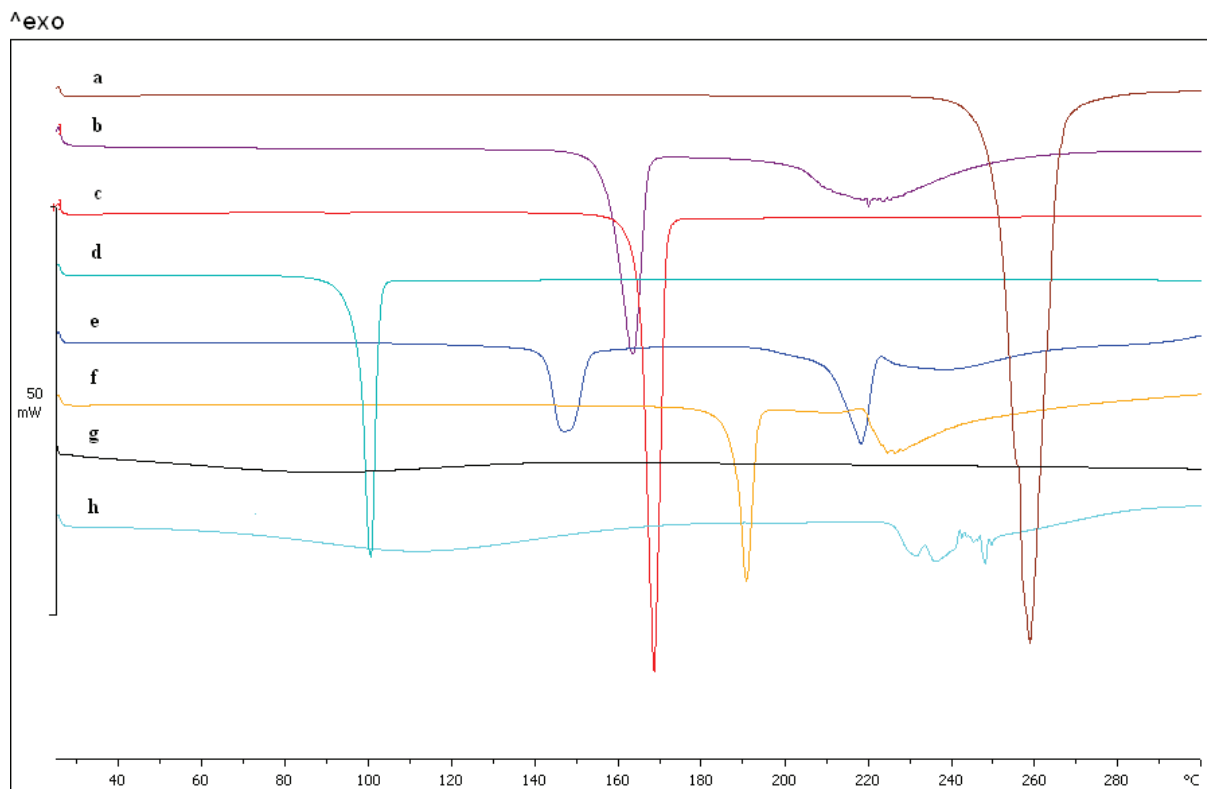
Substancja pomocnicza	Masa próbki [mg]	Temperatura początku pików [°C]	Temperatura pików [°C]	Ciepło przemiany [mJ]	Ciepło właściwe [J/g]
Glikokol	4,33	251,20	254,69	-4617,79	-1066,46
Glukoza	4,30	157,05 213,85	162,11 219,40	-933,41 -1136,10	-217,07 -264,21
Mannitol	4,27	165,65	166,54	-1254,37	-293,76
Sorbitol	4,26	97,92	99,70	-824,94	-193,65
Laktoza	4,13	143,74 209,86	147,41 217,19	-560,46 -1134,35	-135,70 -274,66
Sacharoza	4,18	188,32 201,69 220,52	190,87 212,83 227,20	-529,74 -29,35 -431,56	-126,73 -7,02 -103,24
Celuloza mikrokrystaliczna	4,17	27,56 326,51	95,95 341,88	-398,87 -721,28	-95,65 -185,90
Skrobia rozpuszczalna	4,14	25,96 232,81	96,39 236,60	-1466,93 -690,49	-354,33 -166,78
Metyloceluloza	4,33	26,99	75,95	-381,54	-88,11
β -cyklodekstryna	4,25	104,97	131,97	-2113,01	-497,18
Guma arabska	4,20	25,80 268,08	128,17 308,74	-1756,94 625,53	-374,61 133,37
Meglumina	4,27	127,97 223,61	128,88 248,73	-1325,24 301,07	-310,36 70,51
Chitozan	4,22	27,01 240,51 287,72	100,58 275,95 305,05	-778,23 -138,31 1054,34	-184,42 -32,77 249,84
Poliwinylopirolidon K-30	4,24	45,91 159,20	109,09 200,30	-576,02 -36,73	-135,85 -8,66
Stearynian magnezu	4,26	78,50	102,99	-1016,44	-238,60



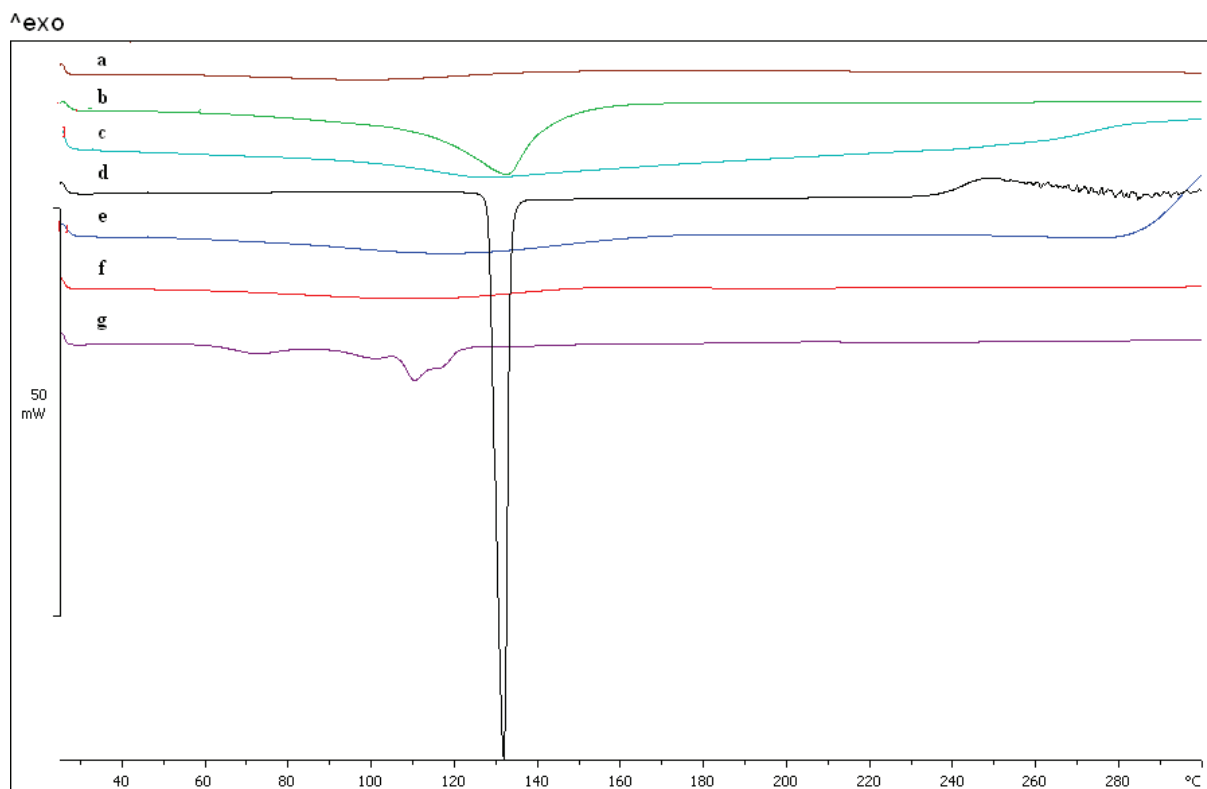
Rys. 8. Krzywe TG i DTG rozkładu termicznego badanych substancji pomocniczych: (a) glikokolu, (b) glukozy, (c) sorbitolu, (d) sacharozy, (e) celulozy mikrokrystalicznej, (f) gumy arabskiej.



Rys. 9. Krzywe TG i DTG rozkładu termicznego badanych substancji pomocniczych: (a) mannitolu, (b) laktozy, (c) skrobii, (d) metylocelulozy, (e) β -cyklodekstryny, (f) megluminy, (g) chitozanu, (h) poliwinylpirolidonu, (i) stearynianu magnezu.



Rys. 10. Krzywe DSC substancji pomocniczych: (a) glikokolu, (b) glukozy, (c) mannitolu, (d) sorbitolu, (e) laktozy, (f) sacharozy, (g) celulozy mikrokrystalicznej, (h) skrobi rozpuszczalnej.



Rys. 11. Krzywe DSC substancji pomocniczych: (a) metylocelulozy, (b) β -cyklodekstryny, (c) gumy arabskiej, (d) megluminy, (e) chitozanu, (f) poliwinylpirolidonu K30, (g) stearynianu magnezu.

Na podstawie danych literaturowych i zestawionych w Tabeli 9 wyników badań termomikroskopowych można stwierdzić, że analizowane substancje w różny sposób reagują na działanie podwyższonej temperatury. Glukoza, mannitol, sorbitol, sacharoza, meglumina i stearynian magnezu topią się w przedziale temperatur 100–200°C, po przekroczeniu temperatury 200°C topi się glikokol, z równoczesnym rozkładem. Różne formy laktozy bezwodnej i uwodnionej też topią się po przekroczeniu temperatury 200°C, natomiast w jeszcze wyższej temperaturze rozkładowi ulega celuloza, a w temperaturze prawie 300°C topi się β -cyklodekstryna. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych na temat zachowania się w wyższych temperaturach gumy arabskiej. Procesowi topnienia nie podlega natomiast skrobia rozpuszczalna, metyloceluloza, chitozan, poliwinylpirolidon K-30 i talk. Z wyjątkiem talku, który nie ulega żadnym przemianom w badanym zakresie temperatur, pozostałe cztery substancje pomocnicze zaczynają rozkładać się po przekroczeniu temperatury 200°C, ulegając zwęgleniu a następnie skoksowana pozostałość spala się w wyższych temperaturach.

Z zestawionych w Tabeli 9 danych wynika ponadto, że wyznaczone wartości temperatur są w niektórych przypadkach rozbieżne z danymi z literatury. Przykładem jest glikokol, którego topnienie z rozkładem następuje w temperaturze niższej, niż cytowana w poradniku fizykochemicznym [219]. Podobnie zachowuje się celuloza mikrokrystaliczna, która zaczyna rozkładać się w temperaturze niższej, niż podana w literaturze [222]. Z kolei glukoza topi się w temperaturze o około 10°C wyższej. Nie wykryto także przemian krystalicznych, które podano w piśmiennictwie dla sacharozy [217, 218].

Krzywe TG i DTG rozkładu termicznego badanych substancji przedstawiono na Rys. 8, 9, natomiast wyniki ich analizy zestawiono w Tabeli 10. Dokładna analiza zakresów temperatur poszczególnych procesów termicznych oraz wartości towarzyszących im ubytków masy prowadzi do wniosku, że tak jak w przypadku substancji leczniczych, można uogólnić przebieg rozkładu wszystkich substancji pomocniczych, wyróżniając trzy zasadnicze etapy. Ten schemat nie obejmuje talku, który w badanym zakresie temperatur nie ulega żadnym przemianom termicznym. Z tego powodu nie zamieszczono informacji o talku w Tabelach 10 i 11 oraz nie przedstawiono jego krzywych DSC, TG i DTG na rycinach.

Podsumowując uzyskane wyniki można stwierdzić, że w etapie I rozkładu analizowane substancje topią się (mannitol, sorbitol, meglumina, stearynian magnezu), niektóre z nich uwalniają najpierw wodę krystalizacyjną (dehydratacji towarzyszy kilku lub kilkunastoprocentowy ubytek masy), a następuje bezwodna substancja topi się (laktoza, β -

cyklodekstryna). W niektórych przypadkach topnienie połączone jest z gwałtownym ubytkiem masy, tj. towarzyszy mu rozkład termiczny rozpoczynający kolejny etap.

W wyniku dalszego ogrzewania badanej substancji, w etapie II rozkładu następuje jej termiczna degradacja. W przypadku węglowodanów (glukoza, laktoza, sacharoza), proces rozkładu określa się mianem karmelizacji [240, 241]. Obejmuje ona następujące po sobie reakcje dehydratacji, kondensacji i polimeryzacji z utworzeniem produktu o brązowym kolorze. Karmelizacja zachodzi bez udziału tlenu i jest procesem endotermicznym. W przypadku pozostałych związków, na krzywej DTA proces rozkładu potwierdza zespół nakładających się na siebie pików, zarówno endotermicznych jak i egzotermicznych, natomiast na krzywej TG, od kilkunastu do kilkudziesięciu procent ubytku masy. W etapie tym tworzą się pośrednie produkty rozkładu termicznego, których strukturę chemiczną bardzo trudno jest ustalić z uwagi na wielokierunkowość reakcji destrukcji termicznej badanych substancji.

W etapie III produkty karmelizacji i rozkładu ulegają ostatecznej destrukcji termicznej połączonej z całkowitym spalaniem skoksowanej pozostałości. Sumaryczny efekt cieplny tego etapu jest egzotermiczny, co potwierdza rozległy pik na krzywej DTA.

Interpretacja krzywych DTA, TG i DTG wykazała, że najbardziej charakterystyczne dla rozkładu termicznego badanych substancji okazały się efekty termiczne występujące w zakresie temperatur niższych, w etapie I. Obejmują one zakres temperatury topnienia badanej substancji oraz temperatur niższych niż temperatura topnienia. Obserwowane w tym zakresie charakterystyczne piki mogą być szczególnie przydatne podczas oceny właściwości substancji i produktów leczniczych występujących w fazie stałej.

Wyniki analiz krzywych DSC zestawiono w Tabeli 11 i zobrazowano na Rys. 10 i 11. Spośród wszystkich badanych substancji pomocniczych, tylko w przypadku mannitolu i sorbitolu można zauważyć pojedynczy, wąski i ostro zakończony endotermiczny pik, odzwierciedlający proces topnienia. Natomiast na krzywej DSC megluminy, oprócz pików topnienia, jest jeszcze obecny pik egzotermiczny, odpowiedzialny za rozkład. Z kolei glikokol topi się z rozkładem, co odzwierciedla pojedynczy, wysoki endotermiczny pik. W przypadku glukozy i sacharozy występuje pik endotermiczny, związany z topnieniem oraz niewysokie rozmyte endotermiczne piki, odzwierciedlające proces karmelizacji, a następnie rozkładu pozostałości. Podobny przebieg ma krzywa DSC laktozy, przy czym topnienie poprzedza dehydratacja i przemiana krystaliczna. Z kolei na krzywej DSC stearynianu magnezu można zaobserwować endotermiczny pik, odpowiedzialny za jego topnienie. Natomiast na krzywych DSC pozostałych substancji występują szerokie, rozmyte endotermiczne piki związane z

procesem dehydratacji oraz endotermiczne i egzotermiczne, odpowiedzialne za rozkład. W przypadku β -cyklodekstryny, oprócz dehydratacji, powinien według literatury i obserwacji termomikroskopowych, zachodzić proces topnienia w zakresie temperatur 255–265°C (literatura) lub 290–300°C (termomikroskopia). Jednakże na krzywej DSC β -cyklodekstryny nie zaobserwowano w podanym zakresie temperatur żadnego efektu endotermicznego.

2.2. Analiza w podczerwieni

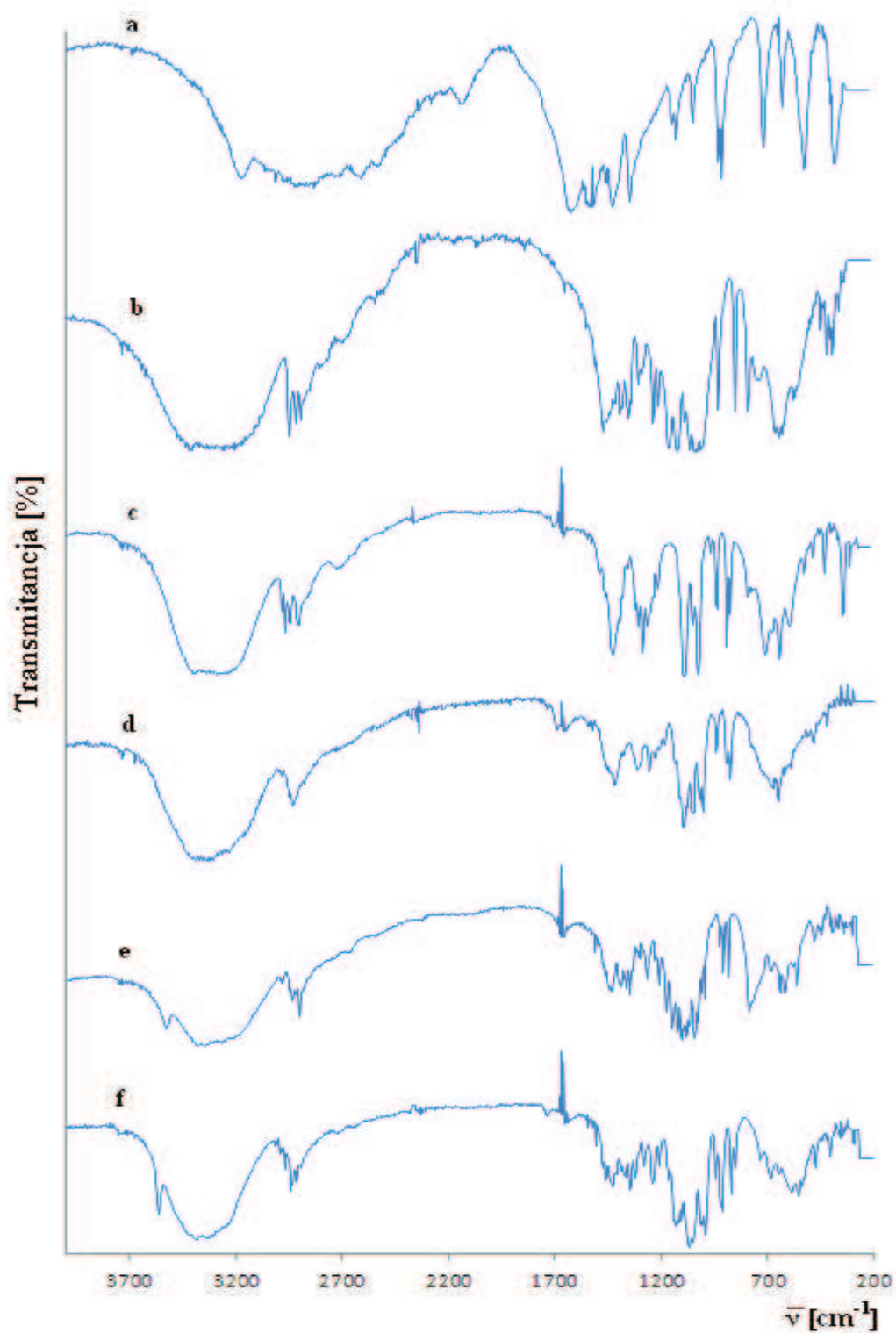
Na Rys. 12-14 przedstawiono widma IR substancji pomocniczych oraz określono na ich podstawie zakresy liczb falowych oraz odpowiadające im rodzaje drgań cząsteczkowych.

Widmo glikokolu wykazuje pasma charakterystyczne dla amin i kwasów karboksylowych. Częstości grupy aminowej występują w zakresie liczb falowych 3500–3200 cm^{-1} , pasma drgań rozciągających i zginających N–H w obszarze 1650–1560 cm^{-1} oraz 900–650 cm^{-1} , pasmo drgań rozciągających C–N w obszarze 1230–1030 cm^{-1} . Natomiast intensywne, szerokie pasmo drgań rozciągających O–H, charakterystyczne dla kwasów karboksylowych występuje w obszarze 3000–2500 cm^{-1} , a zginających O–H przy ok. 1400 i 920 cm^{-1} . Z kolei pasmo drgań rozciągających C=O kwasów karboksylowych jest obecne przy ok. 1700 cm^{-1} , a pasma drgań rozciągających C–H w obszarze 2960–2850 cm^{-1} i 1470–1350 cm^{-1} [2, 220, 242, 244].

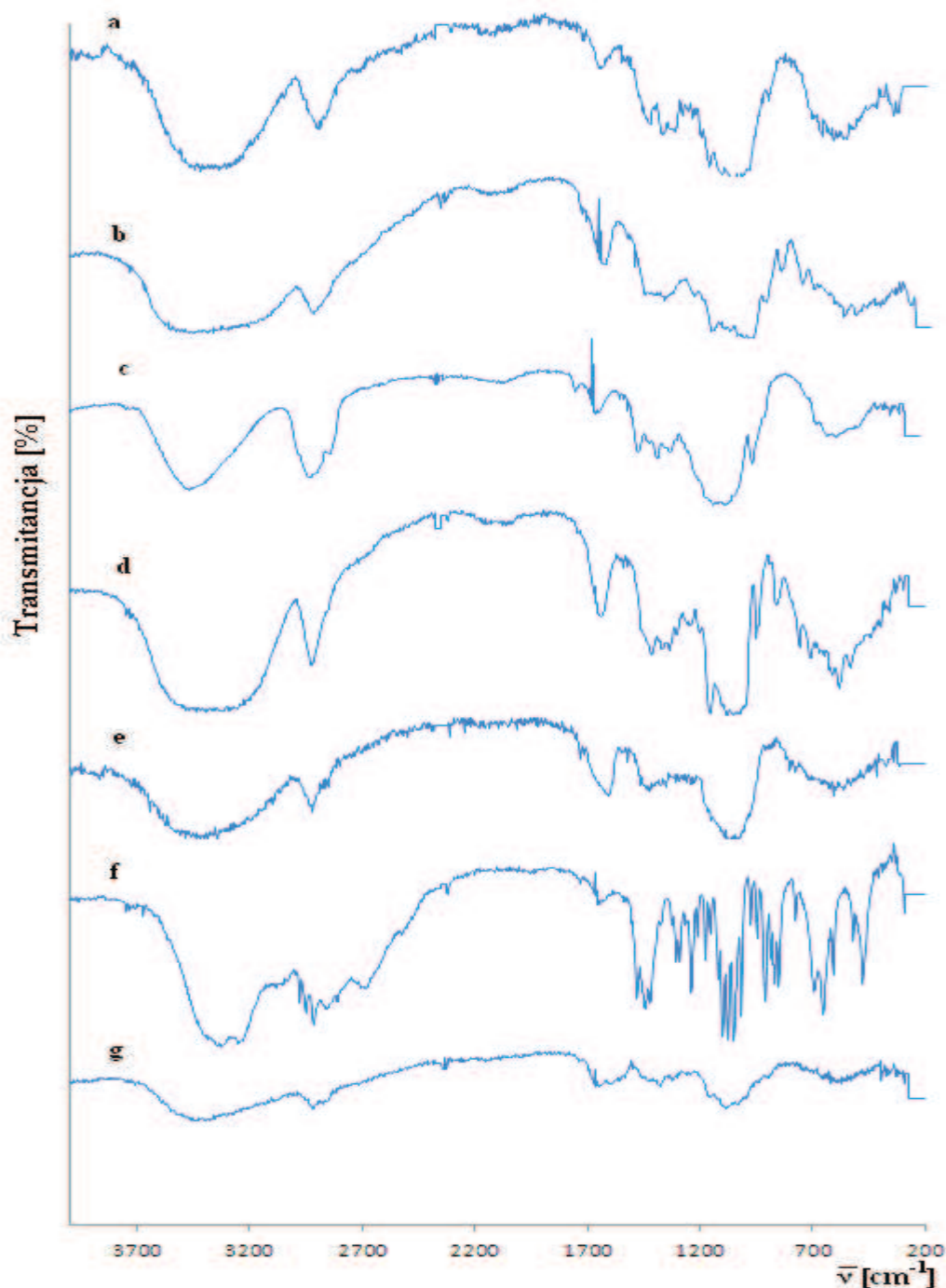
W widmach substancji pomocniczych, takich jak glukoza, disacharydy: laktoza i sacharoza, cukrole: mannitol i sorbitol oraz polisacharydy: celuloza mikrokryształiczna, skrobia, metyloceluloza i guma arabska, obserwuje się pasma absorpcyjne, odpowiadające intensywnemu i szerokiemu pasmu drgań rozciągających grupy O–H w zakresie liczb falowych 3600–3200 cm^{-1} , charakterystyczne dla alkoholi oraz pasma drgań rozciągającym C–H w zakresie 2950–2800 cm^{-1} . Natomiast fragment widma tych substancji w obszarze 2000–200 cm^{-1} różni się rodzajem pasm oraz intensywnością drgań. W zakresie liczb falowych 1500–1200 cm^{-1} , w widmach tych substancji są obecne pasma drgań –CH, –CH₂OH, a w obszarze 1200–950 cm^{-1} intensywne, szerokie pasmo drgań rozciągających wiązania C–OH, przy czym dla alkoholi pierwszorzędowych przy ok. 1050 cm^{-1} , a dla alkoholi drugorzędowych przy ok. 1100 cm^{-1} , natomiast w zakresie 950–700 cm^{-1} występują drgania deformacyjne C–OH, C–CH i O–CH₃ [2, 219, 220, 242, 245-255]. Poza tym w widmach glukozy i celulozy występują charakterystyczne pasma drgań rozciągających grupy aldehydowej C=O przy ok. 1725 cm^{-1} .

W przypadku widma gumy arabskiej, oprócz wymienionych wyżej rodzajów drgań, obserwuje się również drgania rozciągające N–H w obszarze 3500–3200 cm^{-1} i C=O w

zakresie 1725–1700 cm^{-1} oraz pasma drgań rozciągających C–N w obszarze 1230–1030 cm^{-1} [256].



Rys. 12. Widma IR substancji pomocniczych: (a) glikokolu, (b) glukozy, (c) mannitolu, (d) sorbitolu, (e) laktozy, (f) sacharozy.



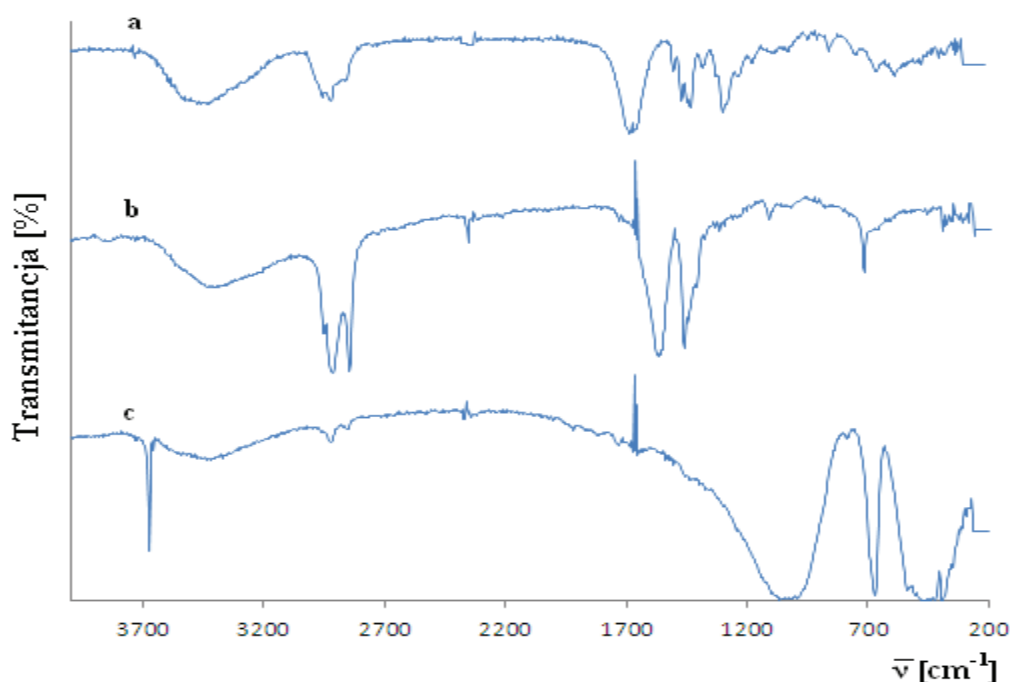
Rys. 13. Widma IR substancji pomocniczych: (a) celulozy mikrokrystalicznej, (b) skrobi, (c) metylcelulozy, (d) β -cyklodekstryny, (e) gumy arabskiej, (f) megluminy, (g) chitosanu.

W widmach IR β -cyklodekstryny, chitosanu i megluminy można zauważyć w zakresie liczb falowych $3600\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ intensywne, szerokie pasma drgań rozciągających grupy O–H oraz w obszarze $1260\text{--}1050\text{ cm}^{-1}$ szerokie pasma drgań rozciągających wiązania C–OH, które występują w alkoholach. Natomiast pasma drgań rozciągających C–H (alifatyczne) tych związków występują w zakresie $3000\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$. Z kolei w obszarze spektralnym $950\text{--}700\text{ cm}^{-1}$ występują drgania deformacyjne C–OH i C–CH [1, 25, 257, 258]. W przypadku chitosanu i megluminy, w zakresie liczb falowych $3300\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ znajdują się

także słabe pasma drgań rozciągających wiązań N–H. Pasma drgań rozciągających wiązań N–H i O–H częściowo się pokrywają, jednakże pasma drgań N–H są słabsze, ale często bardziej ostre niż odpowiednie pasma O–H [244]. Natomiast drgania zginające N–H amin pierwszorzędowych obserwuje się w zakresie $1650\text{--}1580\text{ cm}^{-1}$ [259-261].

W widmie poliwinylpirolidonu, można zauważyć dwa pasma o średniej intensywności, jedno drgań rozciągających wiązania N–H (amidowe) w zakresie $3550\text{--}3440\text{ cm}^{-1}$, drugie drgań rozciągających C=O w obszarze $1660\text{--}1620\text{ cm}^{-1}$. Natomiast w obszarze liczb falowych $3000\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$ występują pasma drgań rozciągających wiązanie C–H, a w regionie $1450\text{--}1470\text{ cm}^{-1}$ obecne są pasma drgań zginających wiązania C–H. Z kolei w obszarze spektralnym $1280\text{--}1020\text{ cm}^{-1}$ występują pasma pochodzące od oddziaływań pomiędzy drganiami zginającymi N–H i drganiami rozciągającymi C–N [262-266].

Widma IR stearynianu magnezu i talku różnią się od siebie, jak również od widm węglowodanów. W widmie stearynianu magnezu występują pasma drgań rozciągających C–H w zakresie liczb falowych $3000\text{--}2840\text{ cm}^{-1}$ i drgań zginających C–H w obszarze $1450\text{--}1375\text{ cm}^{-1}$, pasma drgań rozciągających C=O dla anionu karboksylowego w zakresie $1650\text{--}1550\text{ cm}^{-1}$ i przy ok. 1400 cm^{-1} oraz pasmo w zakresie $3650\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$, prawdopodobnie drgań rozciągających grupy O–Mg, podobnie jak w przypadku grupy O–H. Natomiast w widmie talku można zauważyć w obszarze $3700\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ pasma, które prawdopodobnie pochodzą od drgań grupy Si–OMg i O–H, a w zakresie $1110\text{--}830\text{ cm}^{-1}$ pasma drgań rozciągających Si–O [2, 219, 220, 267].

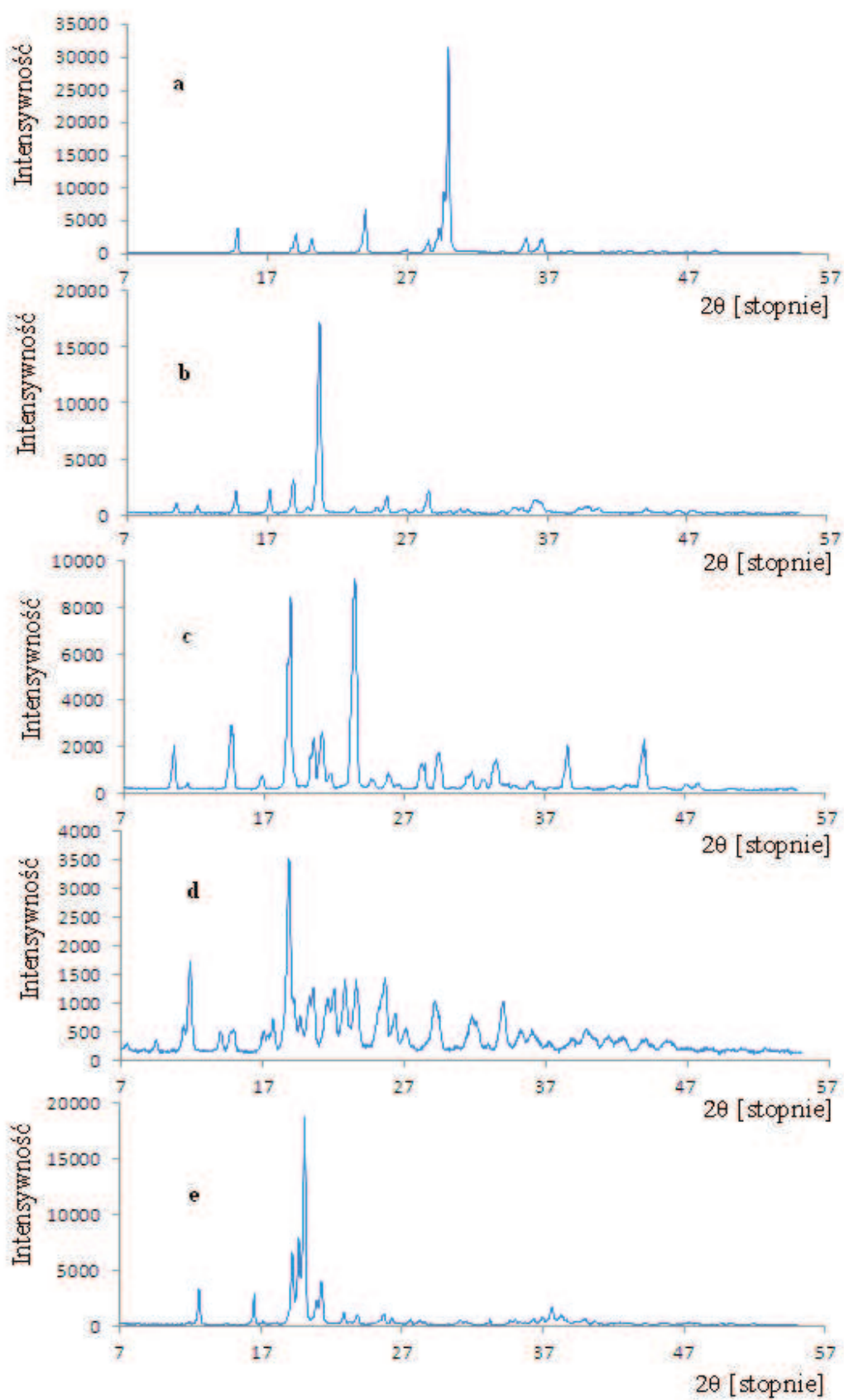


Rys. 14. Widma IR substancji pomocniczych: (a) poliwinylpirolidonu K30, (b) stearynianu magnezu, (c) talku.

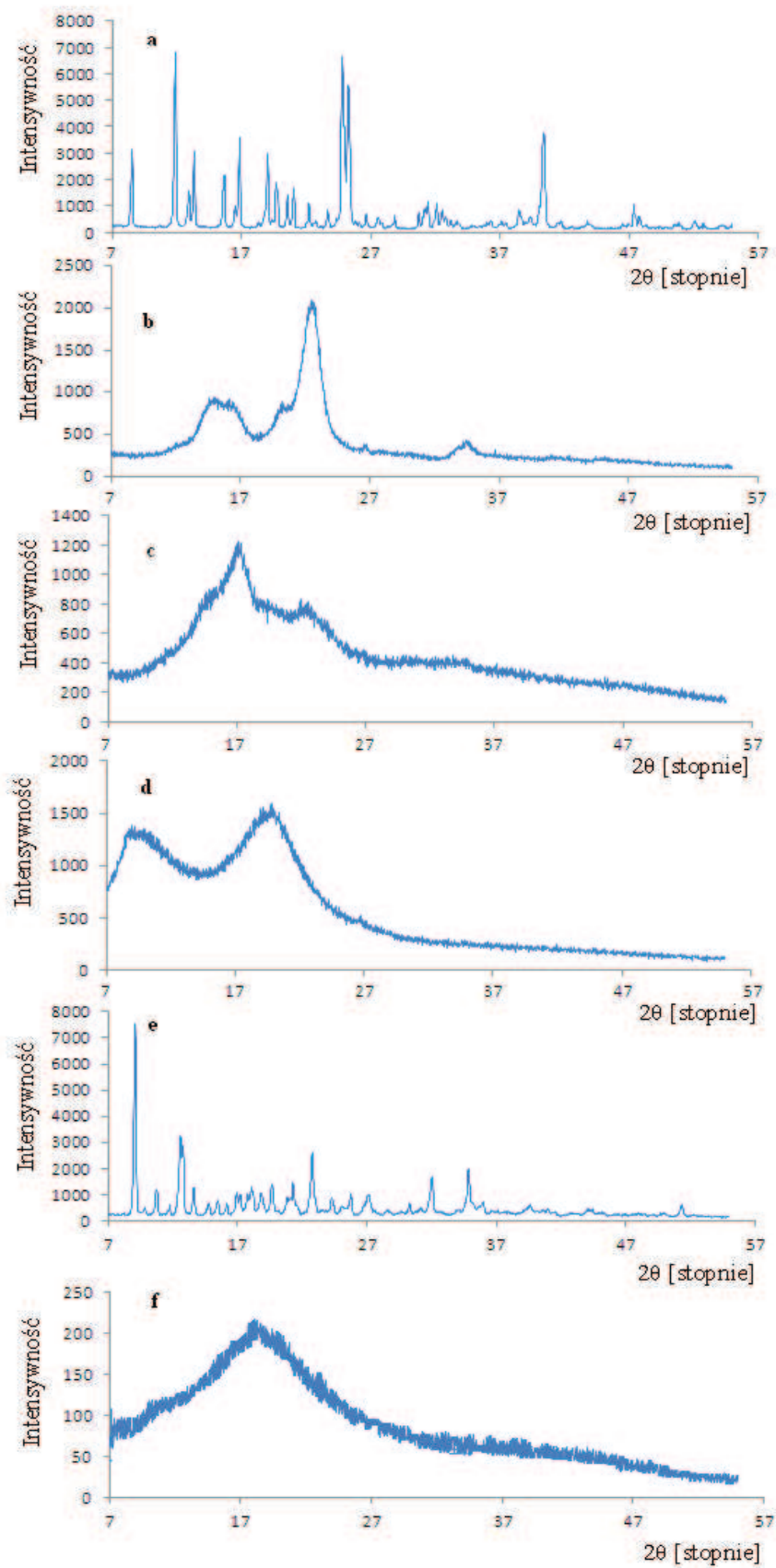
2.3. Analiza dyfraktometryczna

Analiza dyfrakcyjna pozwala stwierdzić, iż celuloza mikrokrystaliczna, skrobia, metyloceluloza, guma arabska, chitozan, poliwinylpirolidon K-30 są substancjami amorficznymi. Obraz dyfrakcyjny uzyskany dla tych substancji przedstawia szerokie, rozmyte piki dyfrakcyjne. Pozostałe substancje pomocnicze są krystaliczne (Rys. 15-17). W przypadku glikokolu uzyskano największą intensywność refleksów dla kątów dyfrakcyjnych 2θ równych: 14,83; 19,02; 20,11; 23,97; 28,46; 29,90; 35,44; 36,60 [°]. Natomiast maksima dyfrakcyjne glukozy wystąpiły przy 2θ : 10,48; 14,75; 17,16; 18,83; 20,72; 25,57; 28,54; 36,13 [°]. Z kolei największe natężenie refleksów dyfrakcyjnych mannitolu pojawiło się przy 2θ : 10,54; 14,61; 18,86; 20,51; 21,10; 23,41; 28,22; 29,39; 33,50; 38,64; 44,08 [°], a sorbitolu przy 2θ : 11,94; 18,88; 22,09; 22,80; 23,63; 25,63 [°].

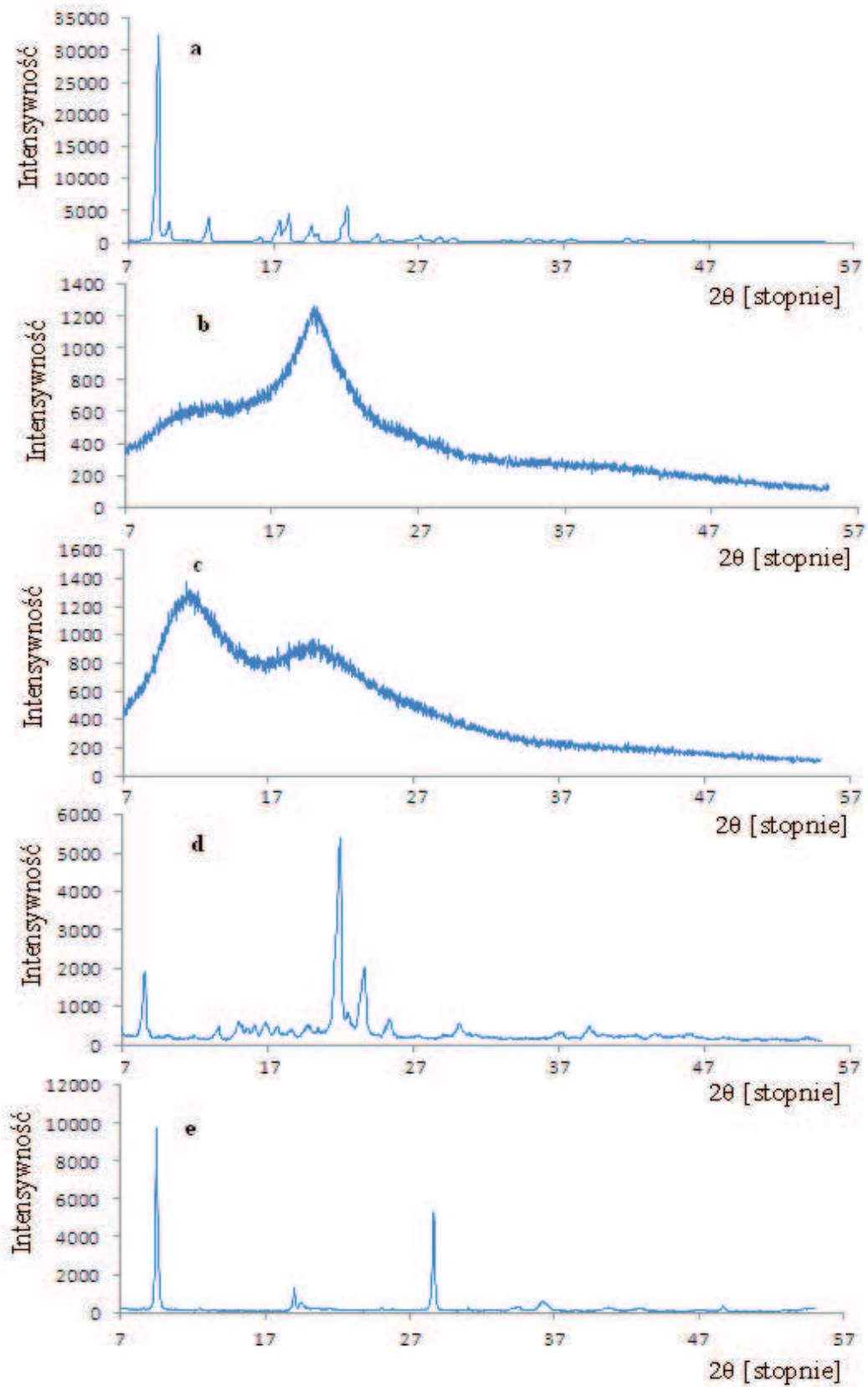
Na dyfraktogramie laktozy największą liczebność refleksów zauważono przy wartościach kątów dyfrakcji: 12,60; 16,53; 19,24; 19,66; 20,09; 20,96; 21,28; 37,65 [°] a sacharozy przy 2θ : 8,54; 11,88; 12,95; 13,35; 15,68; 16,87; 19,04; 19,70; 20,57; 21,08; 24,82; 25,29; 40,42 [°]. Natomiast maksima dyfrakcyjne celulozy wystąpiły przy kątach dyfrakcji: 22,31; 22,48; 22,68; 22,78 [°]. Z kolei największe natężenie refleksów dyfrakcyjnych w przypadku skrobi pojawiło się przy 2θ równym: 16,97; 17,18; 17,36 [°].



Rys. 15. Dyfraktogramy substancji pomocniczych: (a) glikokolu, (b) glukozy, (c) mannitolu, (d) sorbitolu, (e) laktozy.



Rys. 16. Dyfraktogramy substancji pomocniczych: (a) sacharozy, (b) celulozy mikrokrystalicznej, (c) skrobi, (d) metylocelulozy, (e) β-cyklodekstryny, (f) gumy arabskiej.



Rys. 17. Dyfraktogramy substancji pomocniczych: (a) megluminy, (b) chitosanu, (c) poliwinylpirolidonu K 30, (d) stearynianu magnezu, (e) talku.

3. Charakterystyka fizykochemiczna mieszanin dwuskładnikowych

Opierając się na właściwościach fizykochemicznych substancji leczniczych i pomocniczych oraz na wynikach analiz termicznych, spektrofotometrycznych oraz dyfraktometrycznych ich mieszanin fizycznych można sformułować wstępne wnioski o wzajemnej tolerancji dwóch substancji chemicznych występujących w mieszaninie. Jednakże w przypadku analiz TG i IR interpretacja wyników nie jest jednoznaczna i trudno jest na ich podstawie definitywnie wykluczyć interakcje między składnikami.

3.1. Analiza termograwimetryczna mieszanin

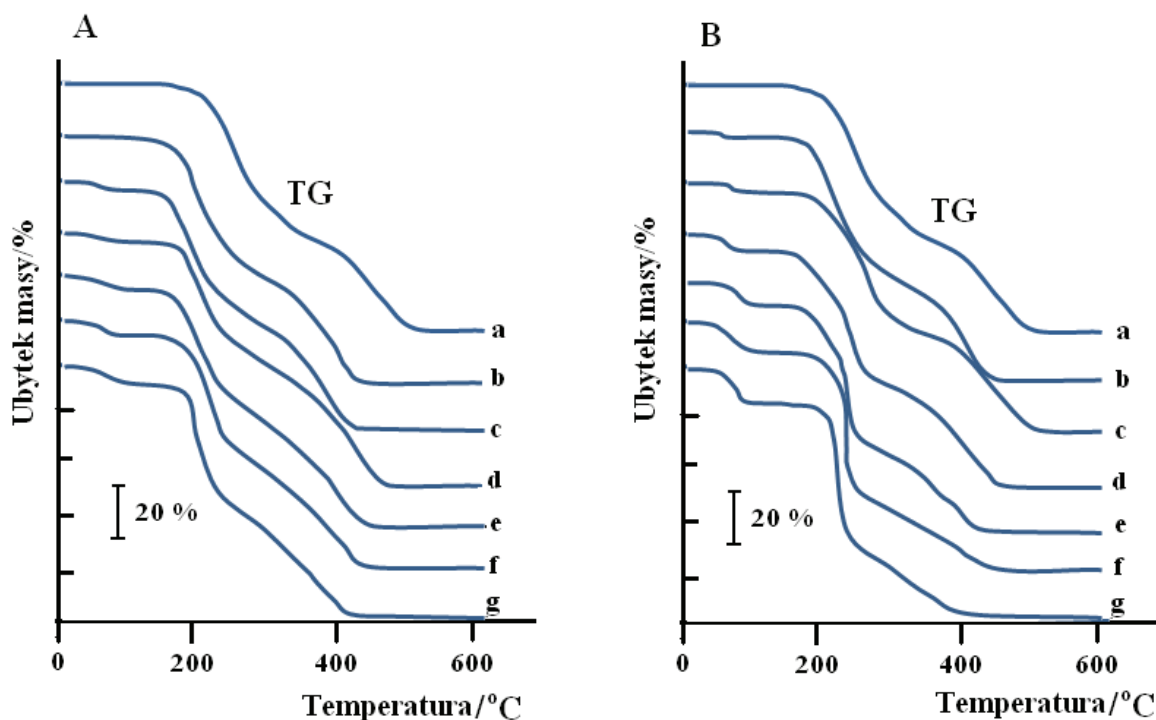
Interpretacja wyników analizy termograwimetrycznej polega na porównaniu krzywych TG mieszanin z krzywymi ich składników. Z kształtu krzywych TG można wnioskować o zmianach masy (ubytkach masy) podczas reakcji termicznych oraz wskazać zakresy temperatur, w których te reakcje zachodzą. Jednakże na podstawie krzywych TG nie uzyskuje się pełnej informacji o rodzaju procesu termicznego. Wielkości ubytków masy zależą m.in. od stechiometrii reakcji zachodzących podczas ogrzewania i towarzyszą im efekty endo lub egzotermiczne, które można rejestrować za pomocą krzywych DTA lub DSC.

Na krzywych TG mieszanin dwuskładnikowych można wyróżnić obszary ubytków masy, którym towarzyszą różne procesy termiczne. W niższych temperaturach obserwuje się dehydratację lub desolvatację. Występuje również parowanie stopionych substancji, połączone często z ich rozkładem. W wyższych temperaturach następuje destrukcja termiczna i spalanie pozostałości organicznej badanych substancji. Krzywa TG jako odzwierciedlająca ubytek masy, używana jest głównie w celu określenia trwałości termicznej próbki w wyższych temperaturach. Równocześnie z krzywymi TG można rejestrować zróżniczkowane krzywe TG (DTG). Piki na krzywej DTG odpowiadają ubytkom masy na krzywej TG. Im wyższy pik, tym większa szybkość ubytku masy. Piki na krzywych DTG umożliwiają także rozdzielenie nakładających się na siebie ubytków masy na krzywych TG.

Trudna do określenia na podstawie kształtu krzywej TG zdolność do wzajemnego mieszania się składników nie gwarantuje, że w badanej mieszaninie nie zachodzi interakcja. Wynika z tego, że bezpośrednie wyznaczenie z krzywej TG wielkości ubytków masy i zakresów temperatur, w których one zachodzą, nie prowadzi do jednoznacznych wniosków odnośnie możliwości użycia dwóch substancji w procesie formułacji leku.

Często stosowanym w takiej sytuacji rozwiązaniem może być połączenie TG z DSC, prowadząc pomiary w tych samych zakresach temperatur, szybkości ogrzewania próbki i atmosfery. W wielu pracach przedstawiono wyniki badań interakcji między składnikami w procesie preformulacji stosując równocześnie DSC i TG z zachowaniem tych samych warunków prowadzenia pomiarów [60, 68, 70, 75, 82, 91, 96, 99, 100, 103, 106, 117, 119, 121, 134, 138, 150, 156, 157, 178, 181, 189, 191, 193, 198, 206, 209]. Wyniki analiz termicznych potwierdzano za pomocą FTIR i XRPD. Zastosowanie TG w badaniu niezgodności miało na celu pokazanie różnic w „zachowaniu termicznym” próbek substancji leczniczych, pomocniczych i ich mieszanin w odniesieniu do liczby etapów i wielkości ubytków masy. Oliveira i wsp. [68] twierdzą, iż ubytki masy na krzywych TG mieszanin są powiązane ze zmianą w strukturze badanych substancji, wskazując m.in. na niezgodności między składnikami. W opinii Autorów DSC odznacza się większą zdolnością do identyfikacji niezgodności w mieszaninach niż TG. Natomiast Lerdkanchanaporn i wsp. [86] zastosowali TG do badania rozkładu termicznego kwasu askorbowego i wybranych substancji pomocniczych w formułacjach farmaceutycznych oraz określili zmiany w reaktywności badanych substancji i ich „zachowaniu termicznym”.

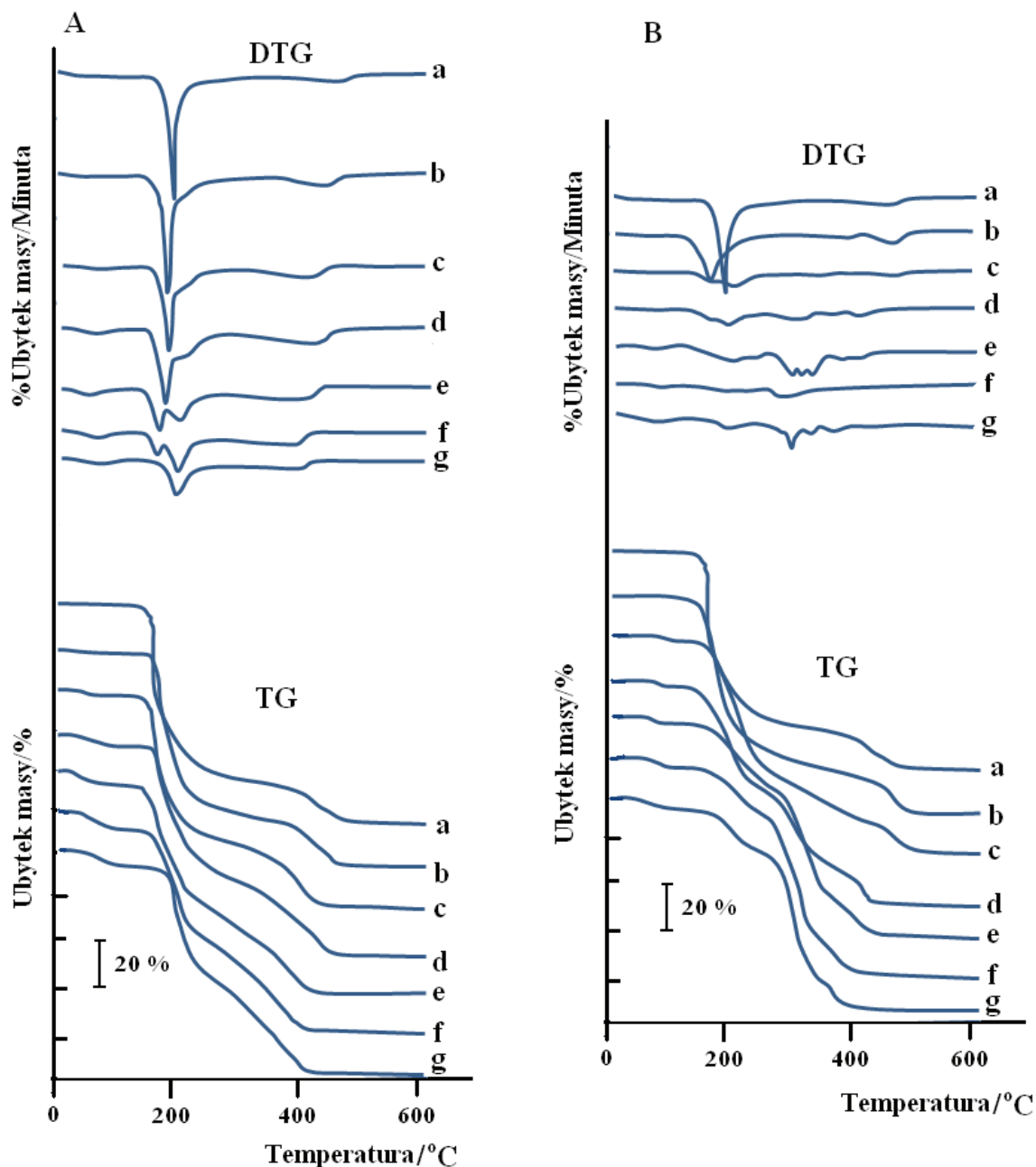
Na podstawie kształtu krzywych TG mieszanin fizycznych i ich składników można wstępnie ocenić, czy badane składniki można mieszać, ale należy to potwierdzić za pomocą innych metod. W przypadku, gdy składniki można mieszać bez pojawienia się niekorzystnych oddziaływań między nimi, kształt krzywych TG mieszanin o najwyższej zawartości substancji leczniczej jest zbliżony kształtem do krzywej tej substancji. Natomiast w mieszaninach o zmniejszającej się zawartości substancji leczniczej, a wzrastającej zawartości substancji pomocniczej, kształt krzywych TG mieszanin stopniowo zmienia się i staje się podobny do kształtu krzywej TG substancji pomocniczej. Z kolei gdy zmieszaniu składników towarzyszą oddziaływania fizykochemiczne między nimi, kształt krzywych TG mieszanin odbiega od powyższego schematu. Krzywa TG mieszaniny może mieć kształt podobny w niektórych odcinkach do kształtu krzywych TG substancji leczniczej i pomocniczej lub różnić się od kształtu ich krzywych TG. Przykładowe krzywe TG atenololu i jego mieszanin zilustrowano na Rys. 18.



Rys. 18. Krzywe TG: A - (a) atenololu, (g) chitozanu i ich mieszanin w stosunku molowym: (b) 9:1, (c) 7:3, (d) 1:1, (e) 3:7, (f) 1:9 oraz B - (a) atenololu, (g) β -cyklodekstryny i ich mieszanin w stosunku molowym: (b) 9:1, (c) 7:3, (d) 1:1, (e) 3:7, (f) 1:9.

Porównując krzywe TG mieszanin atenololu z chitozaniem z krzywymi składników (Rys. 18A) można stwierdzić, iż atenolol i chitozan mogą być stosowane razem w procesie formowania stałych postaci leku. Kształt krzywych TG począwszy od krzywej mieszaniny o najwyższej zawartości atenololu (krzywa b) zmienia się stopniowo wraz z obniżeniem zawartości atenololu a wzrostem zawartości chitozanu. Krzywa TG mieszaniny o najwyższej zawartości atenololu (krzywa b) ma kształt zbliżony do krzywej atenololu (krzywa a). Natomiast krzywa mieszaniny o najwyższej zawartości chitozanu (krzywa f) przyjmuje kształt krzywej chitozanu (krzywa g). Z kolei krzywe TG mieszanin atenololu z β -cyklodekstryną (Rys. 18B), niezależnie od zawartości obu składników w mieszaninach, mają kształt zbliżony do krzywej β -cyklodekstryny. Można wnioskować, iż występuje niezgodność pomiędzy atenololem i β -cyklodekstryną, ponieważ zmiany obserwowane w kształcie krzywych TG mieszanin nie wskazują na obecność atenololu w próbce. Przyczyną tego może być tworzenie się kompleksu inkluzyjnego β -cyklodekstryny z atenololem [90]. Jest to rodzaj interakcji, która jest korzystna z punktu widzenia biodostępności substancji leczniczej.

Wspomagając interpretację krzywych TG krzywymi DTG można dodatkowo rozdzielić nakładające się na siebie ubytki masy oraz określić szybkość ubytku masy w funkcji czasu lub temperatury



Rys. 19. Krzywe TG i DTG: A - (a) piroksykamu, (g) chitozanu i ich mieszanin w stosunku molowym: (b) 9:1, (c) 7:3, (d) 1:1, (e) 3:7, (f) 1:9 oraz B - (a) piroksykamu, (g) stearynianu magnezu i ich mieszanin w stosunku molowym: (b) 9:1, (c) 7:3, (d) 1:1, (e) 3:7, (f) 1:9.

Na Rys. 19A przedstawiono krzywe TG i DTG piroksykamu i jego mieszanin z chitozaniem, których kształt w zależności od zawartości składników w mieszaninach zmienia

się stopniowo. Począwszy od mieszaniny o najwyższej zawartości piroksykanu, kształt krzywych TG i DTG tej mieszaniny (krzywa b) podobny jest do kształtu krzywych TG i DTG piroksykanu (krzywa a). Kształt krzywych TG i DTG kolejnych mieszanin stopniowo zmienia się i staje się podobny do kształtu krzywych TG i DTG chitozanu, a ostatecznie w przypadku mieszaniny o najwyższej zawartości chitozanu (krzywa f) przyjmuje kształt krzywych TG i DTG chitozanu (krzywa g). Natomiast kształt krzywych TG i DTG mieszanin piroksykanu ze stearynianem magnezu różni się od kształtu krzywych składników (Rys. 19B). Przebieg krzywych TG i DTG wszystkich mieszanin z wyjątkiem mieszaniny o najwyższej zawartości piroksykanu (krzywa b), zbliżony jest bardziej do przebiegu krzywych TG i DTG stearynianu magnezu (krzywa g). Badania DSC i FTIR wykazały niezgodność między piroksykanem i stearynianem magnezu [174].

Na podstawie przedstawionych powyżej faktów trudno jest jednoznacznie ocenić czy zaszła interakcja pomiędzy składnikami mieszanin. Poza tym nie zawsze można uzyskać potwierdzenie tego faktu w literaturze.

3.2. Analiza chemometryczna danych termogravimetrycznych

Bezpośrednie porównanie krzywych TG badanych substancji i ich mieszanin, a szczególnie wielkości ubytków masy i zakresów temperatur, w których one zachodzą nie jest wystarczające do identyfikacji niezgodności w mieszaninach. Jak pokazała interpretacja wyników TG przedstawionych w rozdziale 3.1., trudno jest jednoznacznie ocenić czy interakcja zaszła. W przypadku substancji organicznych przeważnie zachodzą podobne procesy termiczne o zbliżonych ubytkach masy oraz zakresach temperatur. Dlatego interpretując wyniki analizy TG mieszaniny trudno jest przypisać poszczególne ubytki masy i zakresy temperatur do konkretnej substancji w mieszaninie. W związku z tym zachodzi konieczność zastosowania wielowymiarowych technik eksploracji danych jako metod wspomagających interpretację wyników termogravimetrycznych.

Dużą bazę danych pomiarowych uzyskaną na podstawie analizy krzywych TG i DTG rozkładu termicznego substancji leczniczych i pomocniczych oraz ich mieszanin fizycznych poddano analizie chemometrycznej z użyciem dwóch różnych technik wielowymiarowych – analizy skupień (CA) i analizy głównych składowych (PCA).

CA umożliwia przedstawienie w formie dendrogramu sposobu grupowania badanych mieszanin do określonych skupień, przy czym próbki należące do jednego skupienia

charakteryzują się znacznym wzajemnym podobieństwem pod względem charakterystyki rozkładu termicznego i jednocześnie, w jak największym stopniu, różnią się od próbek tworzących pozostałe skupienia. Zaletą zastosowania CA w interpretacji wyników jest także to, że uwzględnia ona całą zmienność zawartą w danych. Stosując tę analizę łatwo stwierdzić, że mieszaniny zgrupowane w określonym skupieniu wykazują bardzo podobne właściwości, co pozwala potwierdzić lub wykluczyć wystąpienie niezgodności. Z kolei PCA znacznie ułatwia interpretację wielowymiarowych zbiorów danych poprzez redukcję wielowymiarowości i przystępny, graficzny sposób prezentacji wyników. Odbywa się to jednak kosztem utraty pewnej części informacji, ponieważ technika ta nie uwzględnia całej zmienności zawartej w danych pomiarowych, jak to ma miejsce w przypadku CA. PCA umożliwia wyodrębnienie kilku istotnych czynników, które opisują zasadniczą część zmienności występującej w badanej macierzy danych.

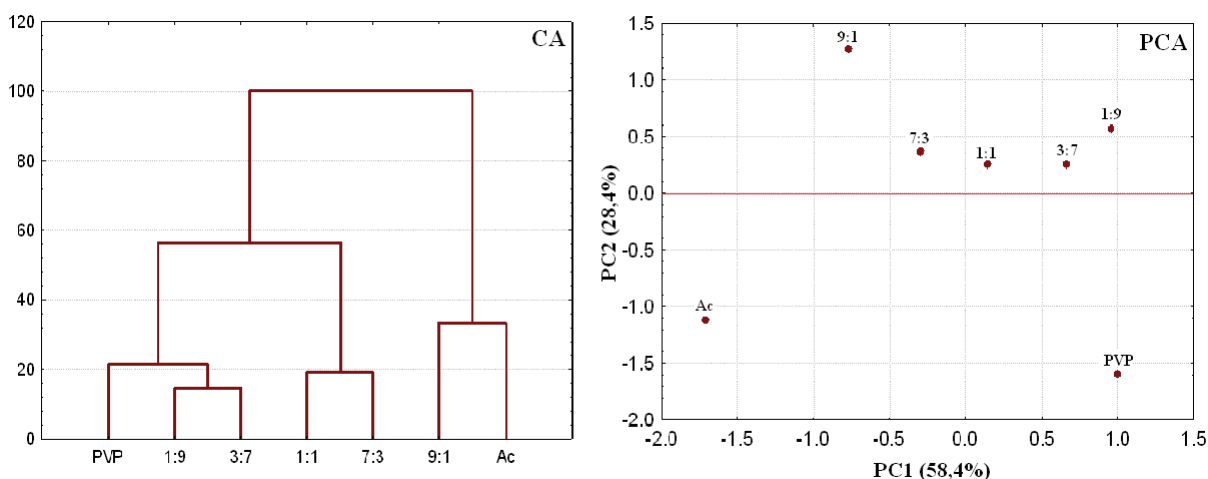
W pierwszym etapie badań wykonano obliczenia CA, korzystając z dwóch różnych sposobów aglomeracji (pojedynczego wiązania i metody Warda) oraz dwóch miar odległości (odległości euklidesowej i 1-r Pearsona). Uzyskano cztery diagramy drzewkowe dla każdego zbioru danych (macierzy). Szczegółowa analiza testowanych sposobów grupowania badanych próbek do określonych skupień wskazała na duże podobieństwo uzyskanych dendrogramów, ale wydaje się, że najlepszy sposób aglomeracji substancji i mieszanin można uzyskać stosując opartą na analizie wariancji metodę Warda oraz odległość euklidesową. Ten typ diagramu pozwala łatwo powiązać lokalizację próbek w określonym skupieniu z ich składem chemicznym i wynikającym z tego przebiegiem ich rozkładu termicznego.

W drugim etapie badań wykonano obliczenia PCA dla wszystkich badanych macierzy, a uzyskane dane zestawiono w Tabeli 12. Ich analiza wykazała, że można wyodrębnić dwa główne czynniki (PC1 i PC2), które dla zdecydowanej większości mieszanin opisują ponad 80% zmienności występującej w badanych macierzach. Pozwala to na graficzną prezentację struktury wielowymiarowych zbiorów danych termograwimetrycznych w układzie dwuwymiarowym, PC1 względem PC2. Zastosowano analizę bez rotacji czynników oraz z rotacją czynników stosując algorytmy – varimax surowa i varimax znormalizowana. Najbardziej przejrzyste rozmieszczenie próbek w dwuwymiarowej płaszczyźnie uzyskano wykonując obliczenia varimax znormalizowany.

Graficzną ilustrację wyników obliczeń CA i PCA dla wybranych macierzy danych przedstawiono na Rys. 20-28, a wyniki ich interpretacji zestawiono w Tabeli 13, wskazując znakiem (+) składniki mieszające się bez interakcji, natomiast znakiem (-) fakt wystąpienia niezgodności pomiędzy składnikami.

Na dendrogramie CA brak interakcji pomiędzy składnikami identyfikują dwa duże skupienia, z których jedno grupuje substancję pomocniczą i mieszaniny fizyczne o dużej zawartości substancji pomocniczej (najczęściej o stosunku substancji leczniczej do substancji pomocniczej wynoszącym 1:9, 3:7, także 1:1, a czasem nawet 7:3). Drugie skupienie stanowi substancja lecznicza i mieszaniny o wysokiej zawartości substancji leczniczych (najczęściej o stosunku substancji leczniczej do substancji pomocniczej równym 9:1, 7:3, a także 1:1). Taka organizacja skupień wskazuje na duże podobieństwo rozkładu termicznego mieszaniny do jej głównego składnika. Powyższe przypadki ilustrują Rys. 20-24.

Wyniki PCA potwierdzają powyższe spostrzeżenia. Zarówno badane składniki jak i ich mieszaniny fizyczne nie tworzą wyraźnych klasterów w dwuwymiarowym układzie PC1 względem PC2. Wszystkie próbki zlokalizowane są natomiast wzdłuż osi PC1, rozpoczynając od pojedynczego składnika znajdującego się przy najbardziej ujemnej wartości PC1, poprzez kolejne mieszaniny o stopniowo malejącej zawartości pierwszego, a wzrastającej zawartości drugiego składnika, aż do drugiego składnika umiejscowionego przy najbardziej dodatnich wartościach na osi PC2. Takie stopniowanie właściwości termicznych badanych próbek wskazuje, że nie zachodzą między składnikami interakcje, które mogłyby zmieniać kształt krzywych TG ich rozkładu termicznego. Druga główna składowa o niewielkiej wariancji decyduje o tym, że badane próbki nie są ułożone w jednej linii równoległej do osi PC1. Przykłady mieszanin, których składniki mieszają się ze sobą bez niekorzystnych oddziaływań między nimi, obrazują wykresy PCA przedstawione na Rys. 20-24.



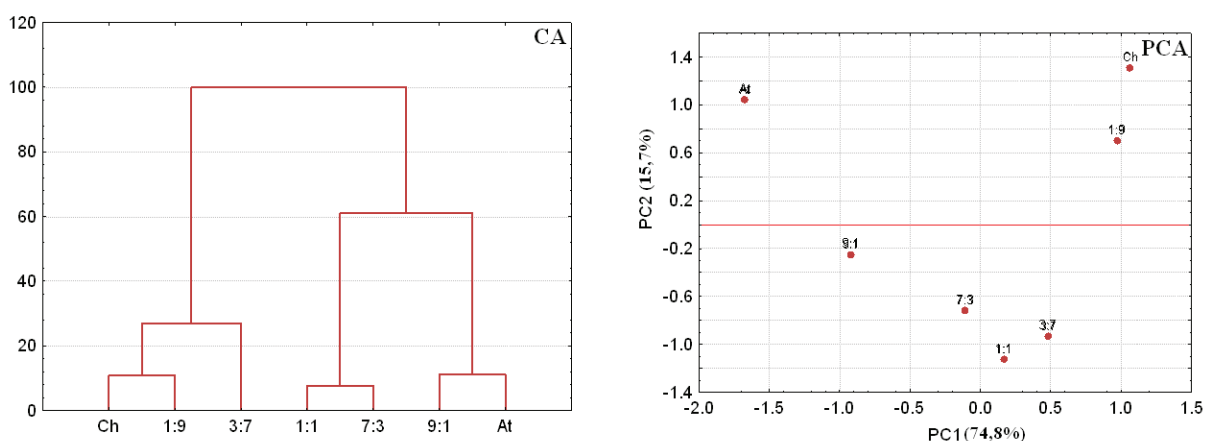
Rys. 20. Wykresy CA i PCA: acetazolamid (Ac), powidon (PVP) oraz mieszaniny fizyczne obu składników zmieszanych w stosunkach masowych: 9:1, 7:3, 1:1, 3:7, 1:9.

Tabela 12. Wyniki obliczeń PCA dla badanych mieszanin fizycznych substancji leczniczych i pomocniczych.

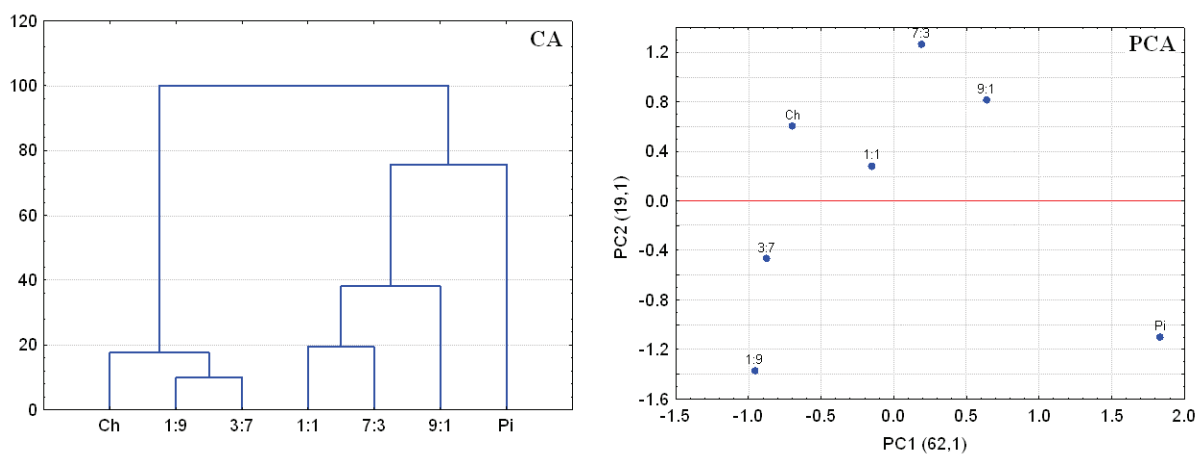
Macierz	Substancja pomocnicza	Numer głównej składowej					
		PC1		PC2		PC3	
		Wariancja %	Wartość własna	Wariancja (skumulowana wariancja) %	Wartość własna	Wariancja (skumulowana wariancja) %	Wartość własna
		Acetazolamid					
1.	Mannitol	63,3	5,1	28,0 (91,3)	2,2	6,8 (98,1)	0,5
2.	Laktoza	47,6	3,8	34,7 (82,2)	2,8	14,2 (96,4)	1,1
3.	Skrobia	69,5	5,6	22,6 (92,1)	1,8	5,7 (97,8)	0,5
4.	Metyloceluloza	64,6	5,2	27,8 (92,4)	2,2	4,8 (97,2)	0,4
5.	β-cyklodekstryna	58,0	4,6	26,5 (84,6)	2,1	13,3 (97,9)	1,1
6.	Meglumina	57,0	4,6	28,6 (85,6)	2,3	8,0 (93,6)	0,6
7.	Chitozan	60,9	4,9	24,5 (85,3)	2,0	10,5 (95,8)	0,8
8.	PVP	54,8	4,4	28,4 (83,2)	2,3	9,1 (92,3)	0,7
9.	Stearynian magnezu	60,9	4,9	21,4 (82,3)	1,7	13,3 (95,6)	1,1
		Atenolol					
10.	Mannitol	54,8	4,4	37,1 (91,8)	3,0	5,8 (97,6)	0,5
11.	Laktoza	69,5	5,6	22,9 (92,3)	1,8	6,5 (98,8)	0,5
12.	Skrobia	77,6	6,2	11,8 (89,4)	0,9	9,2 (98,6)	0,7
13.	Metyloceluloza	62,2	5,0	31,1 (93,4)	2,5	4,2 (97,5)	0,3
14.	β-cyklodekstryna	68,0	5,4	20,9 (88,9)	1,7	6,3 (95,2)	0,5
15.	Meglumina	72,6	5,8	19,8 (92,4)	1,6	6,1 (98,5)	0,5
16.	Chitozan	74,8	6,0	15,7 (90,5)	1,3	5,5 (96,0)	0,4
17.	PVP	73,4	5,9	14,5 (87,9)	1,2	6,4 (94,3)	0,5
18.	Stearynian magnezu	54,2	4,3	23,4 (77,6)	1,9	12,0 (89,7)	1,0
		Baklofen					
19.	Mannitol	69,4	5,6	16,6 (86,0)	1,3	10,6 (96,6)	0,8
20.	Laktoza	52,3	4,2	35,9 (88,2)	2,9	8,1 (96,3)	0,6
21.	Skrobia	58,2	4,7	26,6 (84,8)	2,1	12,5 (97,3)	1,0
22.	Metyloceluloza	67,9	5,4	18,6 (86,5)	1,5	7,1 (93,5)	0,6
23.	β-cyklodekstryna	58,8	4,7	28,5 (87,3)	2,3	8,3 (95,6)	0,7
24.	Meglumina	62,6	5,0	20,3 (82,9)	1,6	9,4 (92,4)	0,8
25.	Chitozan	53,9	4,3	17,3 (71,3)	1,4	12,7 (84,0)	1,0

26.	PVP	67,9	5,4	14,3 (82,2)	1,1	11,9 (94,1)	1,0
27.	Stearynian magnezu	66,3	5,3	22,4 (88,6)	1,8	8,5 (97,2)	0,7
Hydrokortyzon							
28.	Mannitol	55,2	4,4	29,8 (85,0)	2,4	10,7 (95,8)	0,9
29.	Laktoza	82,3	6,6	11,2 (93,5)	0,9	4,4 (97,9)	0,3
30.	Skrobia	77,2	6,2	14,2 (91,4)	1,1	5,8 (97,3)	0,5
31.	Metyloceluloza	78,7	6,3	15,2 (93,9)	1,2	4,2 (98,2)	0,3
32.	β -cyklodekstryna	77,2	6,2	14,4 (91,7)	1,2	5,2 (96,9)	0,4
33.	Meglumina	56,7	4,5	36,7 (93,5)	2,9	5,3 (98,8)	0,4
34.	Chitozan	76,8	6,1	16,7 (93,5)	1,3	4,3 (97,8)	0,3
35.	PVP	54,7	4,4	29,1 (83,8)	2,3	8,1 (91,9)	0,6
36.	Stearynian magnezu	71,2	5,7	13,9 (85,2)	1,1	8,9 (94,0)	0,7
Piroksykam							
37.	Mannitol	64,7	5,2	17,9 (82,6)	1,4	14,4 (97,0)	1,2
38.	Laktoza	41,6	3,3	33,1 (74,7)	2,6	13,4 (88,1)	1,1
39.	Skrobia	69,1	5,5	21,8 (90,8)	1,7	5,9 (96,8)	0,5
40.	Metyloceluloza	63,7	5,1	22,3 (86,0)	1,8	9,6 (95,6)	0,8
41.	β -cyklodekstryna	54,3	4,3	22,6 (76,8)	1,8	18,7 (95,5)	1,5
42.	Meglumina	50,2	4,0	34,8 (85,0)	2,8	10,2 (95,2)	0,8
43.	Chitozan	62,1	5,0	19,1 (81,2)	1,5	15,1 (96,2)	1,2
44.	PVP	68,8	5,5	16,4 (85,3)	1,3	10,6 (95,8)	0,8
45.	Stearynian magnezu	71,2	5,7	15,8 (87,0)	1,3	7,5 (94,5)	0,6
Kofeina							
46.	Glikokol	65,8	5,3	16,9 (82,7)	1,3	7,7 (90,4)	0,6
47.	Glukoza	49,1	3,9	27,9 (77,1)	2,2	17,6 (94,7)	1,4
48.	Sorbitol	55,6	4,4	24,9 (80,5)	2,0	10,6 (91,1)	0,8
49.	Sacharozza	66,6	5,3	18,2 (84,8)	1,5	8,8 (93,6)	0,7
50.	Celuloza mikrokrystaliczna	60,4	4,8	14,8 (75,2)	1,2	11,7 (86,8)	0,9
51.	Guma arabska	48,8	3,9	25,9 (74,8)	2,1	15,4 (90,2)	1,2
Teobromina							
52.	Glikokol	66,7	5,3	17,6 (84,3)	1,4	12,2 (96,5)	1,0
53.	Glukoza	61,3	4,9	22,2 (83,6)	1,8	10,8 (94,4)	0,9
54.	Sorbitol	61,4	4,9	22,5 (83,9)	1,8	9,4 (93,3)	0,8
55.	Sacharozza	55,3	4,4	17,6 (72,9)	1,4	15,7 (88,6)	1,3
56.	Celuloza mikrokrystaliczna	53,2	4,3	27,3 (80,5)	2,2	10,5 (91,0)	0,8
57.	Guma arabska	69,0	5,5	15,5 (84,5)	1,2	8,7 (93,2)	0,7

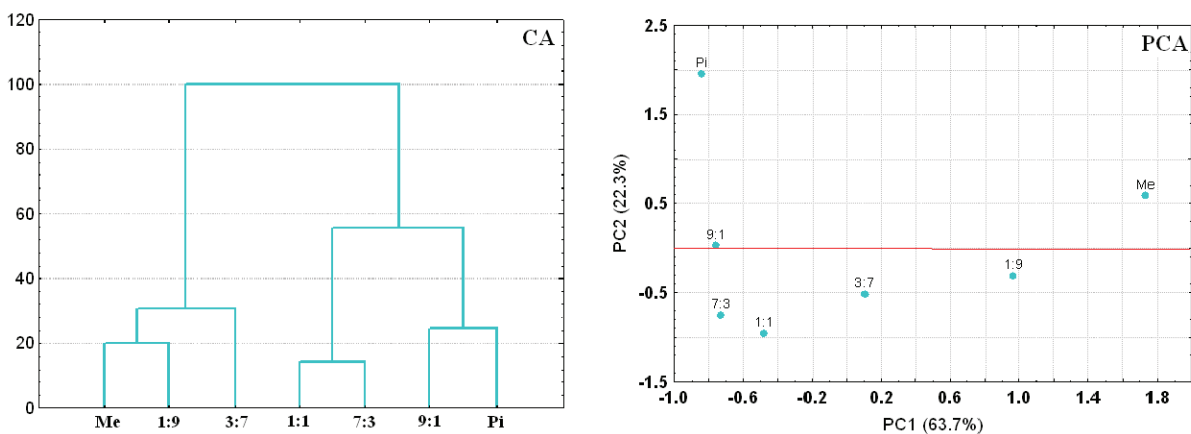
Teofilina									
58.	Glikokol	57,9	4,6	20,5 (78,4)	1,6	12,2 (90,6)	1,0		
59.	Glukoza	56,3	4,5	20,9 (77,2)	1,7	12,9 (90,1)	1,0		
60.	Sorbitol	45,0	3,6	24,1 (69,1)	1,9	16,5 (85,6)	1,3		
61.	Sacharoza	63,3	5,1	14,6 (77,9)	1,2	11,2 (89,2)	0,9		
62.	Celuloza mikrokrystaliczna	41,8	3,3	28,7 (70,5)	2,3	16,9 (87,4)	1,4		
63.	Guma arabska	58,9	4,7	24,3 (83,2)	1,9	11,2 (94,4)	0,9		



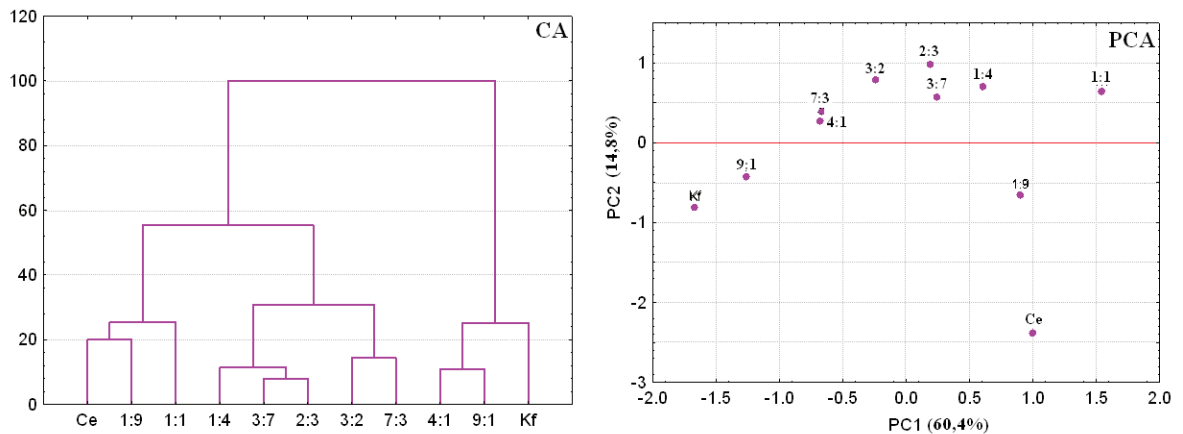
Rys. 21. Wykresy CA i PCA: atenolol (At), chitozan (Ch) oraz mieszaniny fizyczne obu składników zmieszanych w stosunkach masowych: 9:1, 7:3, 1:1, 3:7, 1:9.



Rys. 22. Wykresy CA i PCA: piroksydam (Pi), chitozan (Ch) oraz mieszaniny fizyczne obu składników zmieszanych w stosunkach molowych: 9:1, 7:3, 1:1, 3:7, 1:9.

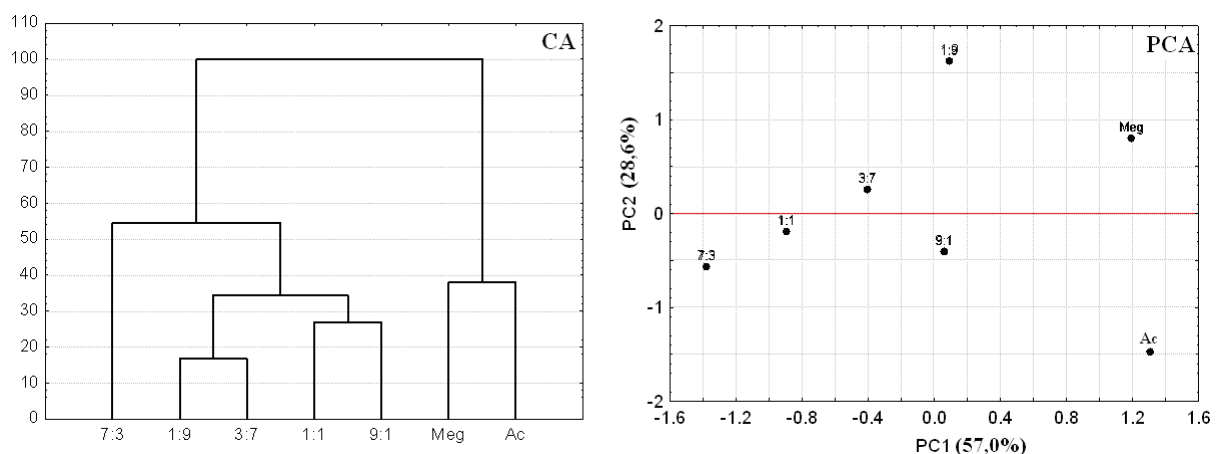


Rys. 23. Wykresy CA i PCA: piroksydam (Pi), metyloceluloza (Me) oraz mieszaniny fizyczne obu składników zmieszanych w stosunkach masowych: 9:1, 7:3, 1:1, 3:7, 1:9.

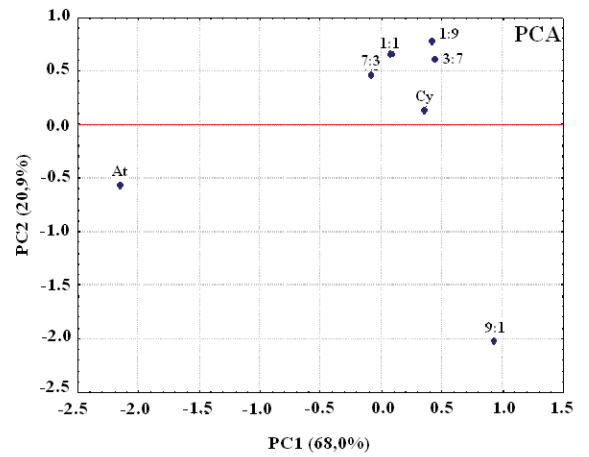
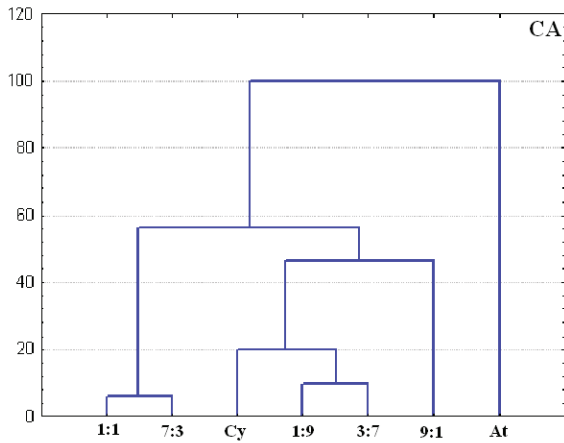


Rys. 24. Wykresy CA i PCA: kofeina (Kf), celuloza mikrokrystaliczna (Ce) oraz mieszaniny fizyczne obu składników zmieszanych w stosunkach masowych: 9:1, 4:1, 7:3, 3:2, 1:1, 2:3, 3:7, 1:4, 1:9.

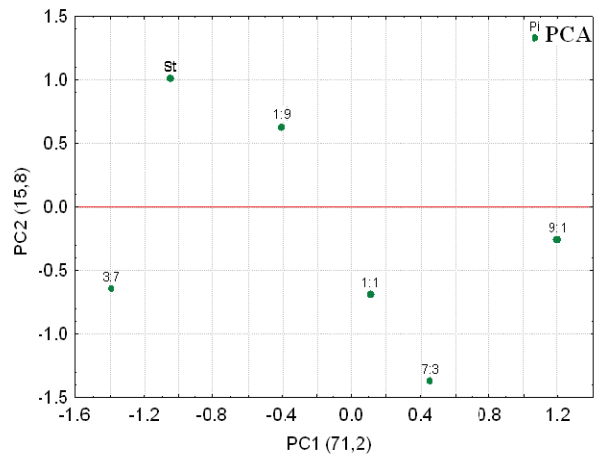
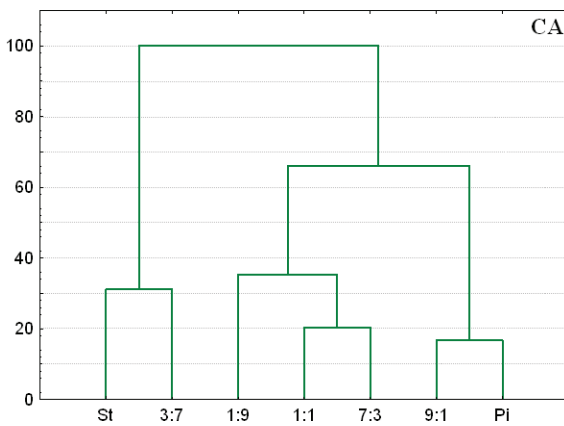
Inaczej wygląda dendrogram CA i wykres PCA w przypadku niezgodności między badanymi składnikami. Brak jest wyraźnie rozdzielonych dwóch skupień na dendrogramie CA, grupujących składnik i jego mieszaniny o dużej zawartości tego składnika, natomiast punkty na wykresie PCA odznaczają się tendencją do tworzenia klasterów grupujących mieszaniny o różnych zawartościach obu składników. Graficznie zobrazowano to na Rys. 25-28. Próbkę substancji i ich mieszanin mogą być bardzo różnie rozmieszczone na wykresach PCA. Dla przykładu, jeden ze składników może tworzyć oddzielne skupienie lub skupienie zawierające obok tego składnika tylko mieszaninę o jego najwyższej zawartości. Pozostałe próbki mogą tworzyć oddzielne skupienie wskazując, iż ich rozkład nie jest determinowany przez główny składnik mieszaniny, a różni się od niego. Oddzielne skupienie można także wyróżnić na wykresie PCA, grupuje ono mieszaniny o stosunku substancji leczniczej do substancji pomocniczej równym 3:7, 1:1 i 9:1 wskazując, że ich rozkład termiczny nie jest sumą efektów termicznych wynikających z rozkładu obu składników mieszanin.



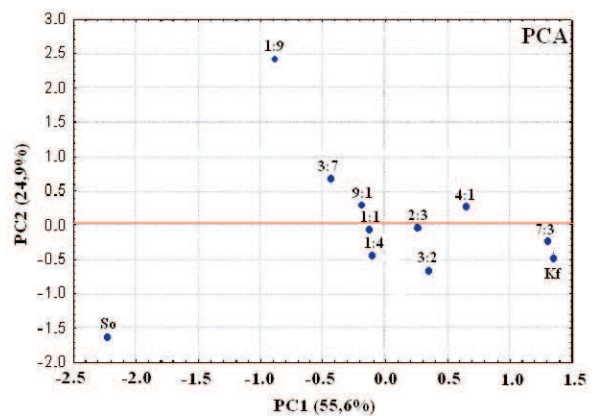
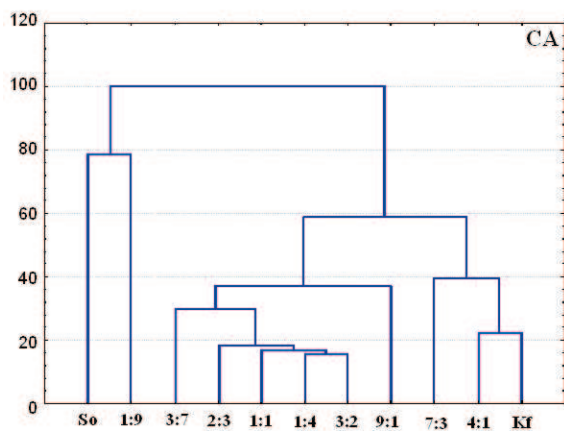
Rys. 25. Wykresy CA i PCA: acetazolamid (Ac), meglumina (Meg) oraz mieszaniny fizyczne obu składników zmieszanych w stosunkach molowych: 9:1, 7:3, 1:1, 3:7, 1:9.



Rys. 26. Wykresy CA i PCA: atenolol (At), β -cyklodekstryna (Cy) oraz mieszaniny fizyczne obu składników zmieszanych w stosunkach masowych: 9:1, 7:3, 1:1, 3:7, 1:9.

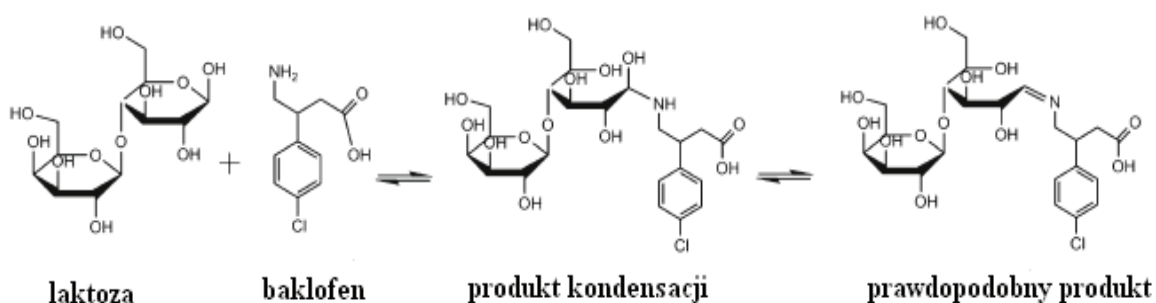


Rys. 27. Wykresy CA i PCA: piroksykam (Pi), stearynian magnezu (St) oraz mieszaniny fizyczne obu składników zmieszanych w stosunkach molowych: 9:1, 7:3, 1:1, 3:7, 1:9.



Rys. 28. Wykresy CA i PCA: kofeina (Kf), sorbitol (So) oraz mieszaniny fizyczne obu składników zmieszanych w stosunkach molowych: 9:1, 4:1, 7:3, 3:2, 1:1, 2:3, 3:7, 1:4, 1:9.

W Tabeli 13 zestawiono wyniki interpretacji dendrogramów CA i wykresów PCA dla 63. układów złożonych z wybranych substancji leczniczych i pomocniczych (łącznie 387 mieszanin fizykochemicznych). Odnosząc te wyniki do danych uzyskanych od producentów leków, zamieszczonych w ostatniej kolumnie Tabeli 13 można stwierdzić, iż w zdecydowanej większości przypadków potwierdzono fakt braku interakcji w sytuacji, gdy dana substancja lecznicza i substancja pomocnicza zostały wykorzystane wspólnie podczas produkcji znajdującego się na rynku specyfiku. Jednakże w niektórych przypadkach dodatek substancji pomocniczej do substancji leczniczej jest zamierzony w celu wywołania interakcji, korzystnie wpływającej na właściwości leku. Tak jest w przypadku atenololu, do którego dodaje się PVP w celu przemiany struktury krystalicznej atenololu w bezpostaciową. Forma bezpostaciowa atenololu wykazuje lepszą rozpuszczalność. Jest to przykład interakcji „korzystnych”. Natomiast w przypadku baklofenu i laktozy zachodzi reakcja Maillarda [145], w wyniku której grupa karbonylowa laktozy reaguje z grupą aminową baklofenu tworząc prostą glukozaminę, która rozpada się do związku *Amadori*, a następnie do 1-amino-1-deoksy-2-ketozy. W kolejnych etapach zachodzi szereg reakcji, m.in. dehydratacja i rozpad początkowych produktów reakcji. Kończącym produktem są melanoidy.



Schemat 4. Reakcja baklofenu z laktozą [145].

Tabela 13. Wyniki interpretacji dendrogramów CA i wykresów PCA.

Macierz	Substancja pomocnicza	Analiza chemometryczna				Przykładowe produkty lecznicze			
		Krzywe TG		Widma IR		Acetazolamid			
		CA	PCA	CA	PCA				
1.	Mannitol	-	-	-	-	Brak przykładu			
2.	Laktoza	+	+	-	-	Acetazolamid (Lannett Company, Inc.); Acetazolamid (Taro Pharmaceutical Company, Inc.); Acetazolamid (Physicians Total Care, Inc.), Acetazolamid (SmartPak Pharmacy), Acetazolamid (Remedyrepack Inc.), Acetazolamid (Emcure Pharmaceuticals USA, Inc.), Acetazolamid (Pharmacy & M-pesa Franchise), Acetazolamid (Heritage Pharma Inc.), Acetazolamid (AvKare Inc.), Zolamox (DDSA Pharmaceuticals Ltd.)			
3.	Skrobia	-	-	-	-	Acetazolamid (Lannett Company, Inc.); Acetazolamid (Mutual Pharmaceutical Company, Inc.); Acetazolamid (Physicians Total Care, Inc.), Acetazolamid (SmartPak Pharmacy), Acetazolamid (Emcure Pharmaceuticals USA, Inc.), Acetazolamid (Pharmacy & M-pesa Franchise), Acetazolamid (Heritage Pharma Inc.), Acetazolamid (Taro Pharmaceutical Company, Inc.), Acetazolamid (AvKare Inc.), Diamox (Wyeth), Moxaid (Goldshield Pharmaceuticals Ltd.), Zolamox (DDSA Pharmaceuticals Ltd.)			
4.	Metyloceluloza	-	-	-	-	Brak przykładu			
5.	β-cyklodekstryna	+	+	-	-	Brak przykładu			
6.	Meglumina	-	-	-	-	Brak przykładu			
7.	Chitozan	+	+	+	+	Brak przykładu			
8.	PVP	+	+	-	-	Diamox (Pharmacy Retailing NZ Ltd.), Diamox (Wyeth), Diuramid (Polpharma S.A.), Moxaid (Goldshield Pharmaceuticals Ltd.), Zolamox (DDSA Pharmaceuticals Ltd.)			
9.	Stearynian magnezu	+	+	-	-	Acetazolamid (Mutual Pharmaceutical Company, Inc.); Acetazolamid (Taro Pharmaceutical Company, Inc.); Acetazolamid (Physicians Total Care, Inc.), Acetazolamid (Remedyrepack Inc.), Acetazolamid (Emcure Pharmaceuticals USA, Inc.), Acetazolamid (Pharmacy & M-pesa Franchise), Diamox (Pharmacy Retailing NZ Ltd.), Diamox (Wyeth), Diuramid (Polpharma S.A.), Moxaid (Goldshield Pharmaceuticals Ltd.), Zolamox (DDSA Pharmaceuticals Ltd.)			
10.	Mannitol	+	+	+	+	Atenolol Brak przykładu			
11.	Laktoza	-	-	+	+	Apo-Antel (Apotex Inc.), Atenolol (Teva Uk Ltd.), Atenolol (Bristol Laboratories Ltd.), Atenolol (Sandoz Pty Ltd.), Mesonex (Adelco-Chromatourgia Athinon E. Colocotronis Bros SA), Amolin (Ergha Healthcare Ltd.)			

12.	Skrobia	+	+	+	+	+	Atenolol (Caraco Pharmaceuticals Laboratories, Ltd.); Atenolol (Ranbaxy Pharmaceuticals Inc.); Atenolol (State of Floryda DOH Central Pharmacy); Atenolol (Rebel Distributors Corp.); Atenolol (Sandoz Pty Ltd.); Mesonex (Adelco-Chromatourgia Athinon E. Colocotronis Bros SA), Amolin (Ergha Healthcare Ltd.), Atenolol (Accord Healthcare Ltd.), Atenolol (Actavis Uk Ltd.), Atenolol (Wockhardt Uk Ltd.), Tenormin (AstraZeneca Uk Ltd.)
13.	Metyloceluloza	+	+	+	+	+	Brak przykladu
14.	β -cyklodekstryna	-	-	-	-	-	Brak przykladu
15.	Meglumina	+	+	+	+	+	Brak przykladu
16.	Chitozan	+	+	+	+	+	Brak przykladu
17.	PVP	+	+	+	+	+	Atenolol (Zydus Pharmaceuticals Inc.); Atenolol (Caraco Pharmaceuticals Laboratories, Ltd.); Atenolol (Genpharm Inc.); Atenolol (TEVA Pharmaceuticals USA); Atenolol (Watson Laboratories, Inc.); Atenolol (Mutual Pharmaceutical); Atenolol (Northstar Rx LLC), Amolin (Ergha Healthcare Ltd.), Atenolol (Wockhardt Uk Ltd.), Vericordin (Dr Lazar y Cia. S.A.Q.el.)
18.	Stearynian magnezu	+	+	+	+	+	Normocard (Polfa Warszawa); Atenolol (Zydus Pharmaceuticals Inc.); Atenolol (Caraco Pharmaceuticals Laboratories, Ltd.); Atenolol (Ranbaxy Pharmaceuticals Inc.); Atenolol (Genpharm Inc.); Atenolol (Sandor Inc.); Atenolol (TEVA Pharmaceuticals USA); Atenolol (Watson Laboratories, Inc.); Atenolol (Mutual Pharmaceutical); Atenolol (Mylan Pharmacy); Atenolol (Northstar Rx LLC); Atenolol (state of Floryda DOH Central Pharmacy); Atenolol (Rebel Distributors Corp.); Apo-Antel (Apotex Inc.), Atenolol (Teva Uk Ltd.), Atenolol (Bristol Laboratories Ltd.), Atenolol (Sandoz Pty Ltd.), Mesonex (Adelco-Chromatourgia Athinon E. Colocotronis Bros SA), Amolin (Ergha Healthcare Ltd.), Atenolol (Accord Healthcare Ltd.), Atenolol (Actavis Uk Ltd.), Atenolol (Wockhardt Uk Ltd.), Tenormin (AstraZeneca Uk Ltd.), Vericordin (Dr Lazar y Cia. S.A.Q.el.)
Baklofen							
19.	Mannitol	+	+	+	+	+	Kemstro (Schwarz Pharma)
20.	Laktoza	-	-	-	-	-	Baclofen (Polpharma S.A.); Baclofen (Ceremark L.L.C.); Baclofen (IVAX Pharmaceuticals, Inc.); Baclofen (Physicians Total Care, Inc.);
21.	Skrobia	+	+	+	+	+	Baclofen (Polpharma S.A.); Baclofen (Alphapharm Pty Ltd.); Baclofen (Mylan Pharmaceuticals, Inc.); Baclofen (Northstar Rx LLC); Baclofen (Qualitest Pharmaceuticals); Baclofen (Rebel Distributor Corp.); Liotesal (Novartis Pharmaceuticals Corp.)
22.	Metyloceluloza	+	+	+	+	+	Brak przykladu
23.	β -cyklodekstryna	-	-	-	-	-	Brak przykladu
24.	Meglumina	-	-	-	-	-	Brak przykladu
25.	Chitozan	+	+	+	+	+	Brak przykladu

26.	PVP	+	+	+	+	+	+	Baclofen (Ceremark L.L.C.); Baclofen (Mylan Pharmaceuticals, Inc.); Baclofen (Northstar Rx LLC); Baclofen (Rebel Distributor Corp.); Lioresal (Novartis Pharmaceuticals Corp.); Kemstro (Schwarz Pharma)
27.	Stearynian magnezu	+	+	+	+	+	+	Baclofen (Polpharma S.A.); Baclofen (Caraco Pharmaceutical Laboratories, Ltd.); Baclofen (Lannett Company, Inc.); Baclofen (Alphapharm Pty Ltd.); Baclofen (Ceremark L.L.C.); Baclofen (IVAX Pharmaceuticals, Inc.); Baclofen (Mylan Pharmaceuticals, Inc.); Baclofen (Northstar Rx LLC); Baclofen (Physicians Total Care, Inc.); Baclofen (Qualitest Pharmaceuticals); Baclofen (Rebel Distributor Corp.); Lioresal (Novartis Pharmaceuticals Corp.); Kemstro (Schwarz Pharma)
Hydrokortyzon								
28.	Mannitol	+	+	+	+	+	+	Brak przykladu
29.	Laktoza	+	+	-	-	-	-	Cortef (Pharmacia and Upjohn Company); Hydrocortisone (Physicians Total Care); Hydrocortisone (west-word Pharmaceuticals Corp.); Hydrocortisone (Qualitest Pharmaceuticals)
30.	Skrobia	+	+	+	+	+	+	Hydrocortisonum (Jelfa S.A.); Cortef (Pharmacia and Upjohn Company); Hydrocortisone (Kaizer)
31.	Metyloceluloza	+	+	+	+	+	+	Brak przykladu
32.	β -cyklodekstryna	-	-	-	-	-	-	Brak przykladu
33.	Meglumina	+	+	+	+	+	+	Brak przykladu
34.	Chitozan	+	+	+	+	+	+	Brak przykladu
35.	PVP	+	+	+	+	+	+	Hydrocortisonum (Jelfa S.A.)
36.	Stearynian magnezu	-	-	+	+	+	+	Hydrocortisonum (Jelfa S.A.); Hydrocortisone (Kaizer); Hydrocortisone (Physicians Total Care); Hydrocortisone (west-word Pharmaceuticals Corp.); Hydrocortisone (Qualitest Pharmaceuticals)
Piroksykam								
37.	Mannitol	+	+	+	+	+	+	Feldene Melt (Catalent Uk Swindon Zydis Ltd.)
38.	Laktoza	-	-	-	-	-	-	Brexin (Chiesi Farmaceutici S.p.A.), Feldane (Keltman Pharmaceuticals Inc.); Flamexin (Polfa Kutno); Feldene (Pfizer Laboratories Div Pfizer Inc.); Piroxicam (Genpharm Inc.); Piroxicam (Mylan Pharmaceuticals Inc.); Apo-Piroxicam (Apotex Inc.); Piroxicam (Nostrum Laboratories, Inc.); Piroxicam (PACK Pharmaceuticals Inc.); Piroxicam (Physicians Total Care, Inc.); Piroxicam (TEVA Pharmaceuticals USA Inc.)
39.	Skrobia	-	-	-	-	-	-	Piroxicam (Jelfa S.A.); Flamexin (Polfa Kutno); Piroxicam (PACK Pharmaceuticals Inc.)
40.	Metyloceluloza	+	+	+	+	+	+	Brak przykladu

41.	β -cyklodekstryna	-	-	-	-	-	Brexin (Chiesi Farmaceutici S.p.A.), Flamexin (Polfa Kutno), Flamin (Life Pharmaceutical Company), Pirodex (The Shazoo Laboratories Ltd.), Pirozil (Cirin Pharmaceuticals Pvt. Ltd.), Brexecam (The Premier Pharmaceutical Co. Ltd.), Cyclohex (Platinum), Piroxicam-beta-cyclodextrin (Nysa)
42.	Meglumina	-	-	-	-	-	Brak przykladu
43.	Chitozan	+	+	+	+	+	Brak przykladu
44.	PVP	+	+	+	+	+	Feldane (Keltman Pharmaceuticals Inc.); Piroxicam (Physicians Total Care, Inc.); Piroxicam (TEVA Pharmaceuticals USA Inc.)
45.	Stearynian magnezu	-	-	-	-	-	Brexin (Chiesi Farmaceutici S.p.A.), Piroxicam (Jelfa S.A.); Feldane (Keltman Pharmaceuticals Inc.); Flamexin (Polfa Kutno); Feldene (Pfizer Laboratories Div Pfizer Inc.); Piroxicam (Genpharm Inc.); Piroxicam (Mylan Pharmaceuticals Inc.); Piroxicam (Nostrum Laboratories, Inc.); Piroxicam (PACK Pharmaceuticals Inc.); Piroxicam (Physicians Total Care, Inc.); Piroxicam (TEVA Pharmaceuticals USA Inc.)
Kofeina							
46.	Glikokol	-	-	+	+	+	Brak przykladu
47.	Glukoza	+	+	+	+	+	Kofex (GlaxoSmithKline), MB Active Supplement diety (Unipharm)
48.	Sorbitol	-	-	-	-	-	Febrisan Tabs (Nycomed Pharma Sp. z o.o.), Sesja tabletki musujace (Aflofarm)
49.	Sacharoza	+	+	-	-	-	Coffecorn forte, Coffecorn mitte (Filofarm), MB Active Supplement diety (Unipharm)
50.	Celuloza mikrokryst.	+	+	+	+	+	Saridon (Bayer); Aspirin activ (Bayer); Codipar plus (GlaxoSmithKline), Sesja Supplement diety (Aflofarm), Regu-therm Supplement diety (Aflofarm), Guarana Energy Supplement diety (Walmark), Stimea intense (Aflofarm)
51.	Guma arabska	-	-	-	-	-	Febrisan Tabs (Nycomed Pharma Sp. z o.o.)
Teobromina							
52.	Glikokol	+	+	-	-	-	Brak przykladu
53.	Glukoza	+	+	+	+	+	Brak przykladu
54.	Sorbitol	+	+	+	+	+	Brak przykladu
55.	Sacharoza	-	-	-	-	-	Brak przykladu
56.	Celuloza mikrokryst.	-	-	-	-	-	Brak przykladu
57.	Guma arabska	-	-	-	-	-	Brak przykladu

Teofilina						
58.	Glikokol	+	+	-	-	Brak przykladu
59.	Glukoza	-	-	-	-	Brak przykladu
60.	Sorbitol	-	-	-	-	Brak przykladu
61.	Sacharoza	-	-	-	-	Theo-24 (Manarch Pharmaceuticals)
62.	Celuloza mikrokryst.	+	+	+	+	Euphyllin (Lamberg fabryk); Theovent (GlaxoSmithKline)
63.	Guma arabska	-	-	-	-	Brak przykladu

+ brak interakcji
 - obecna interakcja

3.3. Interpretacja widm w podczerwieni

Badania niezgodności pomiędzy substancją leczniczą i pomocniczą za pomocą analizy termograwimetrycznej wspomaganej metodami chemometrycznymi prowadzą do uzyskania informacji o potencjalnych interakcjach. Jednakże wyniki te należy zweryfikować za pomocą innych technik analitycznych, tj. różnicowej kalorymetrii skaningowej, spektroskopii IR czy proszkowej dyfrakcji rentgenowskiej. W przypadku zastosowania metod termoanalitycznych, interakcje obserwowane w wyższych temperaturach nie zawsze występują w warunkach otoczenia.

Spektroskopia IR może być przydatną techniką do wykrywania niezgodności w mieszaninach substancji leczniczych i pomocniczych, świadczy o tym wiele prac, w których obok metod analizy termicznej zastosowano IR [18, 60, 65, 70-72, 77, 78, 80, 91, 97, 99, 106, 110, 117, 119, 122-125, 136, 138, 140, 141, 145, 148, 156, 160, 165, 174, 176, 181, 183, 186, 188, 192, 193, 196, 197, 205, 207].

Niezgodności na etapie preformulacji wykrywa się na podstawie pojawienia się nowych pasm absorpcyjnych lub poszerzenia i zmian w intensywności już istniejących pasm [60, 80]. Jednakże należy nadmienić, iż IR ma zastosowanie głównie do badania struktury i identyfikacji związków organicznych i nieorganicznych. Jest metodą opartą na absorpcji promieniowania elektromagnetycznego z zakresu podczerwieni między 12500 a 20 cm^{-1} przez oscylujące cząsteczki. Promieniowanie podczerwone obejmuje obszary: podczerwieni bliskiej (*Near Infrared*, NIR) 12500 - 4000 cm^{-1} , właściwej (podstawowej) (*Mid Infrared*, MIR) 4000 – 400 cm^{-1} i dalekiej (*Far Infrared*, FIR) 400 – 20 cm^{-1} . W badaniach struktury związków organicznych największe znaczenie ma obszar podczerwieni właściwej [2, 219].

Interpretacja widm w podczerwieni sprowadza się do przypisania poszczególnym charakterystycznym pasmom absorpcyjnym odpowiadających im grup funkcyjnych lub struktur szkieletu węglowego. Często zdarza się, iż charakterystyczne zakresy absorpcji różnych grup pokrywają się, a obecność określonego pasma w danym rejonie nie stanowi dostatecznego dowodu obecności odpowiedniego ugrupowania atomów. Dlatego też brak odpowiedniego charakterystycznego pasma absorpcyjnego w widmie IR świadczy o braku danej grupy w strukturze związku chemicznego [268].

Złożoność widm w podczerwieni, a także fakt nakładania się charakterystycznych zakresów absorpcji różnych grup funkcyjnych danych substancji w przypadku analizy mieszanin utrudnia interpretację widm IR mieszaniny, a tym samym identyfikację niezgodności. Wymusza to konieczność wspomagania analizy innymi metodami

instrumentalnymi. W celu ułatwienia interpretacji widm IR można także zastosować wielowymiarowe techniki eksploracyjne.

Poprzez porównanie widm mieszanin substancji leczniczych i pomocniczych z ich składnikami można uzyskać informacje o zmianach, które zaszły w widmach mieszanin. Mogą one dowodzić, iż składniki mieszanin oddziałują na siebie. Natomiast w przypadku widm mieszanin, w których pasma absorpcji obu substancji nie uległy zmianie (np. widma mieszanin acetazolamidu i chitozanu) ilustruje Rys. 29. Intensywność pasm obu substancji zmniejsza się stopniowo wraz z zmniejszeniem zawartości substancji w mieszaninach.

Na podstawie interpretacji widm IR wykryto następujące zmiany w mieszaninach:

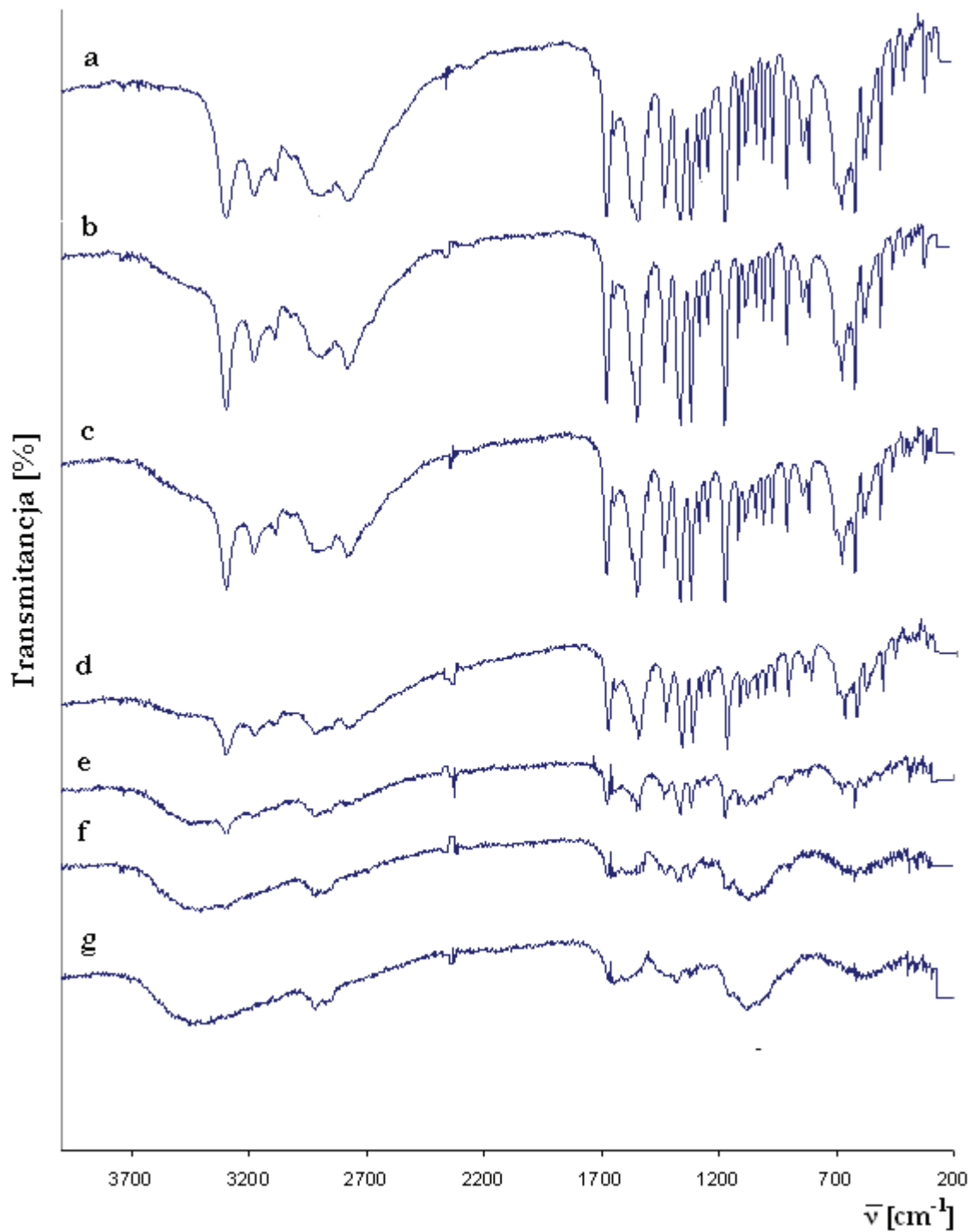
➤ acetazolamidu z:

- a) mannitolem – brak pasm absorpcyjnych związanych z obecnością acetazolamidu w przypadku mieszaniny o stosunku składników 1:9 przy liczbach falowych: 2900 cm^{-1} (drgania rozciągające grupy CH_3); 2775 cm^{-1} (drgania rozciągające N-H pierścienia heterocyklicznego acetazolamidu); 1675 cm^{-1} (drgania rozciągające $\text{C}=\text{O}$); 1550 cm^{-1} (drgania asymetryczne $\text{C}=\text{N}$ pierścienia heterocyklicznego acetazolamidu) oraz z obszaru liczb falowych $1400\text{--}800\text{ cm}^{-1}$, a także brak pasm absorpcyjnych mannitolu w widmach mieszanin o stosunku acetazolamidu i mannitolu 9:1 i 7:3,
- b) laktozą – zanik wszystkich pasm absorpcyjnych acetazolamidu z zakresu liczb falowych $3350\text{--}2600\text{ cm}^{-1}$ i $1700\text{--}200\text{ cm}^{-1}$ w widmach mieszanin acetazolamidu z laktozą o stosunkach składników 3:7 i 1:9,
- c) skrobią – pojawienie się nowego pasma przy 1725 cm^{-1} w widmach mieszanin o stosunku acetazolamidu i skrobi 1:1, 3:7, 1:9 oraz zanik pasm acetazolamidu w zakresie $3350\text{--}2600\text{ cm}^{-1}$ i $1700\text{--}200\text{ cm}^{-1}$ w przypadku widma mieszaniny o stosunku składników 1:9,
- d) metylocelulozą – większa intensywność pasma metylocelulozy przy 1725 cm^{-1} (drgania rozciągające $\text{C}=\text{O}$ grupy aldehydowej) w widmach mieszanin o stosunku składników 1:1, 3:7 i 1:9 oraz brak wszystkich pasm absorpcyjnych acetazolamidu w zakresie $3350\text{--}2600\text{ cm}^{-1}$ i $1700\text{--}200\text{ cm}^{-1}$ w widmie mieszaniny acetazolamidu i metylocelulozy o stosunku składników 1:9,
- e) β -cyklodekstryną – zanik pasm β -cyklodekstryny przy 1641 cm^{-1} i pasm z zakresu $1200\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ w widmach mieszanin o stosunku składników 9:1, 7:3, 1:1, 3:7 oraz brak pasm acetazolamidu w widmie mieszaniny o stosunku składników 1:9,

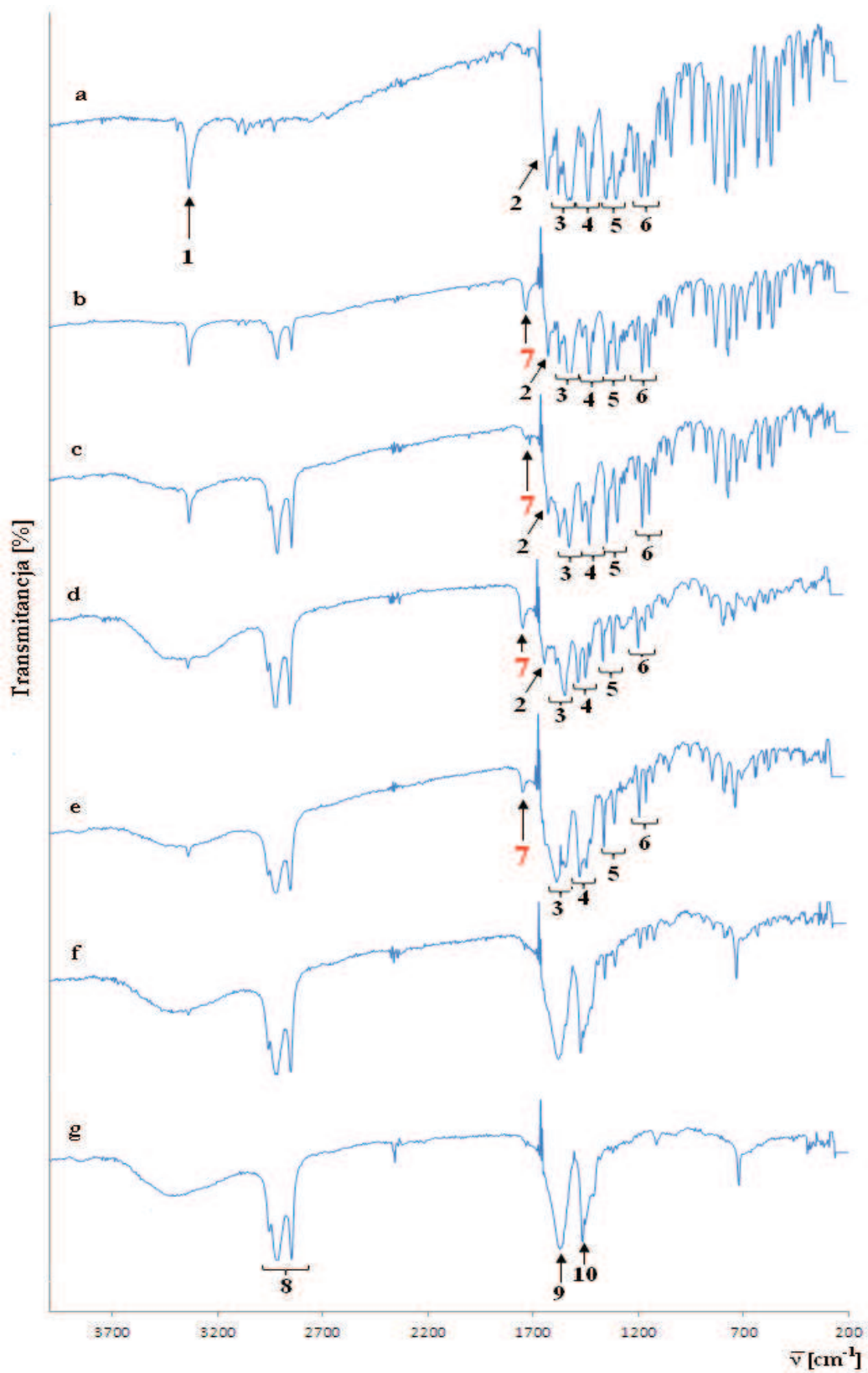
- f) meglumina – brak pasm megluminy w zakresie 1481-1417 cm^{-1} (drżania zginające C-H) w widmach mieszanin acetazolamidu i megluminy o stosunku 9:1, 7:3 i 1:1,
- g) poliwinylpirolidonem K30 – brak pasm poliwinylpirolidonu K30 przy 1679 i 1654 cm^{-1} (nałożenie drżać rozciągających C=O, tzw. I pasmo amidowo-laktamowe i drżać zginających N-H, tzw. II pasmo ugrupowania amidowo-laktamowego) oraz brak pasm w zakresie 1489-1417 cm^{-1} (drżania zginające C-H) i przy 1286 cm^{-1} (drżania rozciągające C-N pierścienia heterocyklicznego acetazolamidu) w widmach mieszanin o stosunku składników 9:1, 7:3 i 1:1,
- h) stearynianem magnezu – brak pasm acetazolamidu w zakresie 3350-2600 cm^{-1} i 1700-200 cm^{-1} w widmach mieszanin o stosunku składników 1:1, 3:7, 1:9 oraz pojawienie się nowych pasm przy 1725 i 1225 cm^{-1} w mieszaninach 3:7 i 1:9,
- atenololu z:
- a) β -cyklodekstryną – pasma β -cyklodekstryny nałożyły się na pasma atenololu,
- baklofenu z:
- a) laktozą – zwiększenie intensywności pasm laktozy w obszarze 3600-3100 cm^{-1} (drżania rozciągającymi O-H); zwiększenie intensywności pasm baklofenu przy 1525 i 1400 cm^{-1} w stosunku do pasma tej substancji przy 1625 cm^{-1} w mieszaninach 1:1, 3:7 i 1:9; a ponadto intensywność pasm baklofenu w mieszaninach 9:1, 7:3 i 1:1 nie ulega zmianie pomimo zmniejszającej się ilości substancji w mieszaninie,
- b) β -cyklodekstryną – zwiększenie intensywności pasm baklofenu przy 1525 i 1400 cm^{-1} w stosunku do pasma tej substancji przy 1625 cm^{-1} we wszystkich mieszaninach,
- c) meglumina – zmiana intensywności pasm baklofenu i megluminy w zakresie 3600-2500 cm^{-1} (drżania rozciągające N-H i O-H megluminy oraz drżania rozciągające N-H, C-H i O-H baklofenu); zwiększenie intensywności pasm baklofenu przy 1525 i 1400 cm^{-1} w stosunku do pasma tej substancji przy 1625 cm^{-1} we wszystkich mieszaninach oraz brak pasm megluminy w zakresie 1523–1387 cm^{-1} w mieszaninach 9:1 i 7:3,
- hydrokortyzonu z:
- a) laktozą – zwiększenie intensywności pasm w zakresie liczb falowych 3600-3000 cm^{-1} i 3000-2800 cm^{-1} hydrokortyzonu i laktozy (drżania rozciągające O-H i C-H laktozy oraz drżania rozciągające O-H i C-H hydrokortyzonu) we wszystkich

- mieszaninach oraz brak zmian w intensywności pasm laktozy w mieszaninach 1:9, 3:7, 1:1, 7:3 w stosunku do pasm laktozy jako wzorca,
- b) β -cyklodekstryną – intensywność pasm β -cyklodekstryny w mieszaninach 1:9, 3:7 i 1:1 jest taka sama jak pasm wzorca, natomiast intensywność pasma hydrokortyzonu przy 1640 cm^{-1} jest większa w mieszaninach 9:1, 7:3 i 1:1 w stosunku do pasm w widmie wzorca,
- piroksykanu z:
- a) laktozą, skrobią, β -cyklodekstryną, meglumina – zwiększenie intensywności pasm piroksykanu przy 1525 cm^{-1} , 1425 cm^{-1} i 1350 cm^{-1} w porównaniu do pasma tej substancji przy 1625 cm^{-1} we wszystkich mieszaninach,
- b) stearynianem magnezu - cyfry arabskie przypisane za pomocą strzałek do danego pasma na Rys. 30 odnoszą się do drgań oscylacyjnych piroksykanu: (1) rozciągających N-H i O-H, (2) rozciągających C=O, (3) rozciągających C-N, (4) deformacyjnych pierścienia C=C, (5) rozciągających SO₂, (6) rozciągających C-N, zginających N-H, rozciągających SO₂-N, (7) pojawiło się nowe pasmo; i stearynianu magnezu: (8) rozciągające symetryczne i asymetryczne CH₂-CH₃, (9) rozciągające asymetryczne COO⁻, (10) deformacyjne CH₂-CH₃ i rozciągające symetryczne COO⁻,
- kofeiny z:
- a) sorbitolem, sacharozą - cyfry arabskie przy pasmach absorpcyjnych na Rys. 31 oznaczają drgania oscylacyjne kofeiny: (1) rozciągające asymetryczne CH₃, (2) i (3) rozciągające C=O, (4) rozciągające C=C i zginające H-C=N, (5) zginające H-C=N, rozciągające pierścienia imidazolu, rozciągające pierścienia pirymidyny, (6) rozciągające pierścienia imidazolu i pierścienia pirymidyny, (7) rozciągające pierścienia pirymidyny oraz sacharozy: (8) rozciągające O-H, (9) rozciągające C-H, (10) zginające HCH i CH₂OH, (11) rozciągające CO, (12) deformacyjne COH, CCH, OCH, (13) cykliczne CCO), rozdzielenie pasma kofeiny na dwa w zakresie $1705\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$, a także zwiększenie ich szerokości i intensywności we wszystkich mieszaninach,
- b) gumą arabską – rozdzielenie pasma kofeiny na dwa w zakresie $1705\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$ oraz zwiększenie ich szerokości i intensywności we wszystkich mieszaninach,
- teobrominy z:
- a) glikokolem – zwiększenie szerokości i intensywności pasm teobrominy w zakresie $1800\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ we wszystkich mieszaninach,

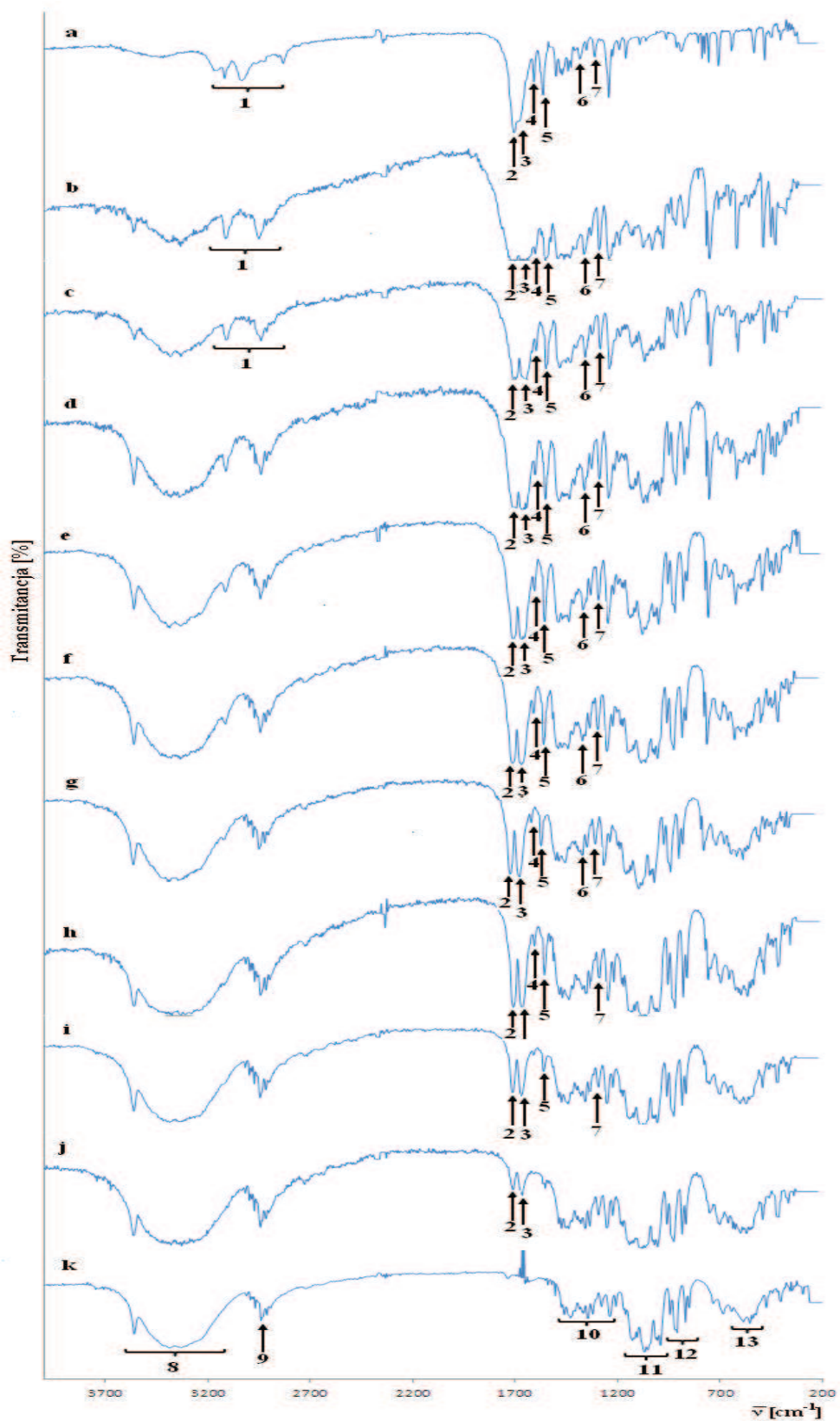
- b) sacharozą, celulozą i gumą arabską – zwiększenie intensywności pasma teobrominy przy 1684 cm^{-1} (drżania rozciągające C=O) w stosunku do pasm tej substancji przy 1592 cm^{-1} (drżania rozciągające C=C i zginające N-H) oraz przy 1548 cm^{-1} (drżania rozciągające pierścienia imidazolu i pirydyny oraz zginające N-H) we wszystkich mieszaninach,
- teofiliny z:
- a) glikokolem, glukozą, sorbitolem, sacharozą i gumą arabską - cyfry arabskie przy pasmach absorpcyjnych na Rys. 32 oznaczają drżania oscylacyjne teofiliny: (1) rozciągające N-H, (2) rozciągające C-H, (3) rozciągające C=O, (4) rozciągające C=O i zginające N-H, (5) rozciągające C=C i zginające N-H, (6) rozciągające pierścienia imidazolu, rozciągające pierścienia pirymidyny i zginające N-H, (7) zginające CH₃, zginające N-H i zginające C-H oraz sorbitolu: (8) rozciągające O-H, (9) rozciągające C-H, (10) zginające O-H, (11) rozciągające C-O pierwszorzędowych alkoholi i rozciągające C-O drugorzędowych alkoholi oraz rozdzielenie pasma teofiliny na dwa przy 1710 cm^{-1} (drżania rozciągające C=O) i 1665 cm^{-1} (drżania rozciągające C=O i drżania zginające N-H) we wszystkich mieszaninach.



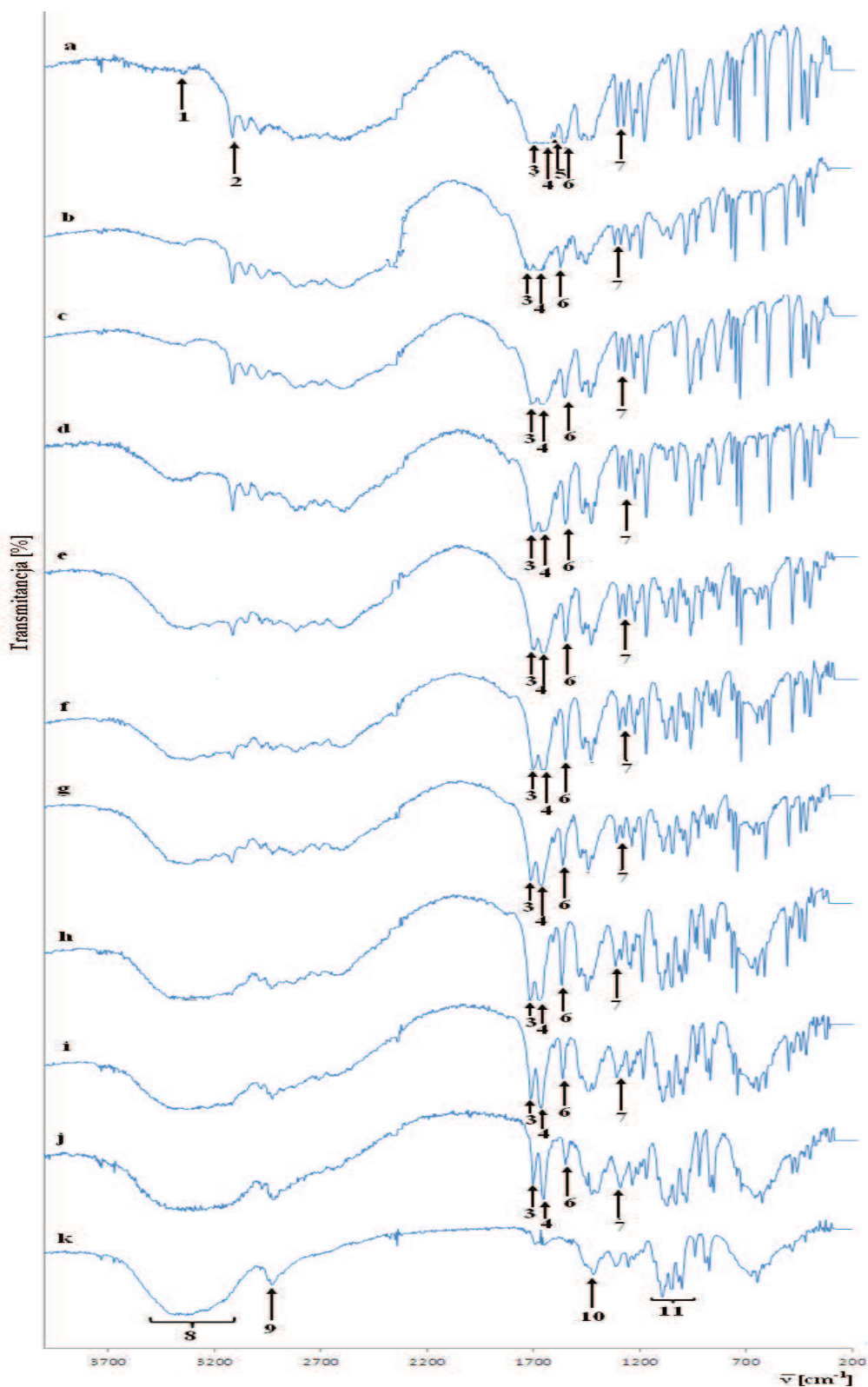
Rys. 29. Widma IR: (a) acetazolamidu, (g) chitosanu oraz ich mieszanin w stosunku molowym (b) 9:1, (c) 7:3, (d) 1:1, (e) 3:7, (f) 1:9.



Rys. 30. Widma IR: (a) piroksydamu, (g) stearynianu magnezu oraz ich mieszanin w stosunku molowym (b) 9:1, (c) 7:3, (d) 1:1, (e) 3:7, (f) 1:9.



Rys. 31. Widma IR: (a) kofeiny, (k) sacharozy oraz ich mieszanin w stosunku molowym (b) 9:1, (c) 4:1 (d) , 7:3, (e) 3:2, (f) 1:1, (g) 2:3, (h) 3:7, (i) 1:4, (j) 1:9.



Rys. 32. Widma IR: (a) teofiliny, (k) sorbitolu oraz ich mieszanin w stosunku molowym (b) 9:1, (c) 4:1 (d) , 7:3, (e) 3:2, (f) 1:1, (g) 2:3, (h) 3:7, (i) 1:4, (j) 1:9.

3.4. Interpretacja chemometryczna widm IR

Metody wielowymiarowej analizy statystycznej, CA i PCA, zastosowano również jako techniki wspomagające interpretację widm IR podczas identyfikacji niezgodności

fizykochemicznych pomiędzy substancjami leczniczymi i pomocniczymi.

Do obliczeń chemometrycznych wybrano dwa zakresy spektralne: 3600-2800 cm^{-1} i 1800-1000 cm^{-1} . Obszar spektralny 1800-1000 cm^{-1} jest zakresem daktyloskopowym (*fingerprint region*), który posiada układ pasm charakterystycznych dla danej substancji, częściowo pozbawiony jest pasm absorpcyjnych substancji pomocniczych, więc pomaga dostrzec wywołane interakcjami zmiany w strukturach substancji leczniczych. Jest on najbardziej korzystny do analizy chemometrycznej. Uzupełnieniem tego zakresu spektralnego jest obszar 3600-2800 cm^{-1} , odzwierciedlający najczęściej obecność w cząsteczce ugrupowań N-H, C-H, O-H. W przypadku substancji pomocniczych, które są węglowodanami, w widmach IR obecne są grupy O-H i C-H. Natomiast substancje lecznicze takie jak: acetazolamid, atenolol, baklofen, piroksydam, teobromina, teofilina, które zawierają w swojej strukturze ugrupowanie N-H, w tym obszarze posiadają pasma, które różnią się kształtem i intensywnością od pasm grup O-H substancji pomocniczych.

Podobnie, jak w przypadku chemometrycznej interpretacji wyników analiz TG, do obliczeń CA wybrano metodę Warda jako sposób aglomeracji oraz miarę odległości euklidesową, natomiast w PCA zastosowano graficzną prezentację wyników w układzie dwuwymiarowym, PC1 względem PC2, varimax znormalizowaną.

Analogicznie, jak przy chemometrycznej interpretacji wyników analiz TG, wyniki CA wskazują, że w przypadku braku oddziaływań między składnikami, na dendrogramie można wyodrębnić dwa oddzielne skupienia. Jedno skupienie stanowi substancja lecznicza wraz z mieszaninami o jej wyższych zawartościach niż substancji pomocniczej, natomiast drugie złożone jest z substancji pomocniczej i mieszanin o jej wyższych zawartościach niż substancji leczniczej. Takie grupowanie badanych próbek wskazuje na bardzo duże podobieństwo ich widm IR, w związku z czym zestawienie mieszanin o podobnym składzie chemicznym w jednym skupieniu świadczy o braku jakiegokolwiek oddziaływania fizykochemicznego pomiędzy składnikami.

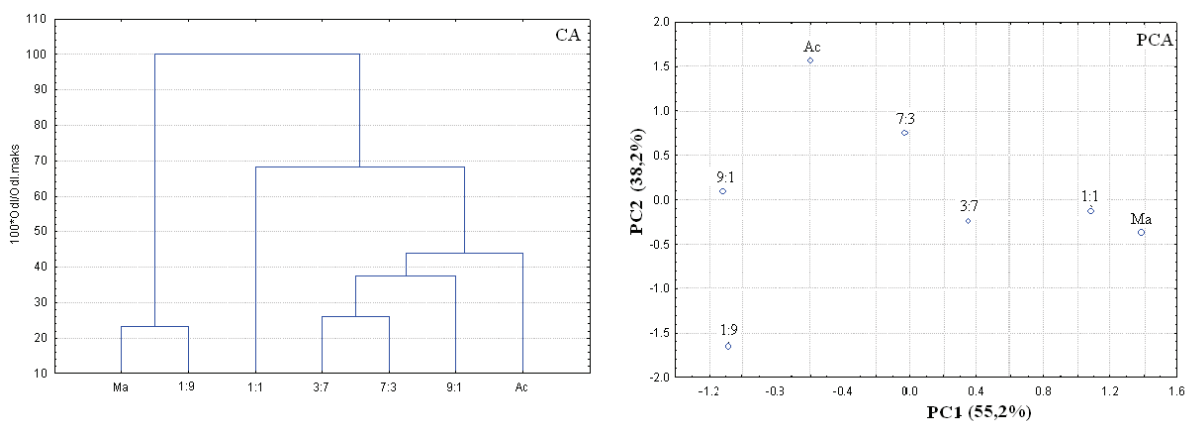
Wyniki interpretacji dendrogramów CA i wykresów PCA uzyskanych na podstawie widm IR oraz krzywych TG dla 63. dwuskładnikowych mieszanin substancji leczniczych z pomocniczymi zestawiono w Tabeli 13. W ostatniej kolumnie tej tabeli zamieszczono informacje o dostępnych na rynku preparatach leczniczych, które w swoim składzie zawierają badane substancje lecznicze i pomocnicze.

W przypadku wystąpienia niezgodności pomiędzy badanymi substancjami, obserwuje się odstępstwa od wyżej przedstawionego schematu, np. substancja lecznicza nie łączy się w jedno skupienie z mieszaninami o jej dużej zawartości lecz tworzy oddzielne skupienie lub

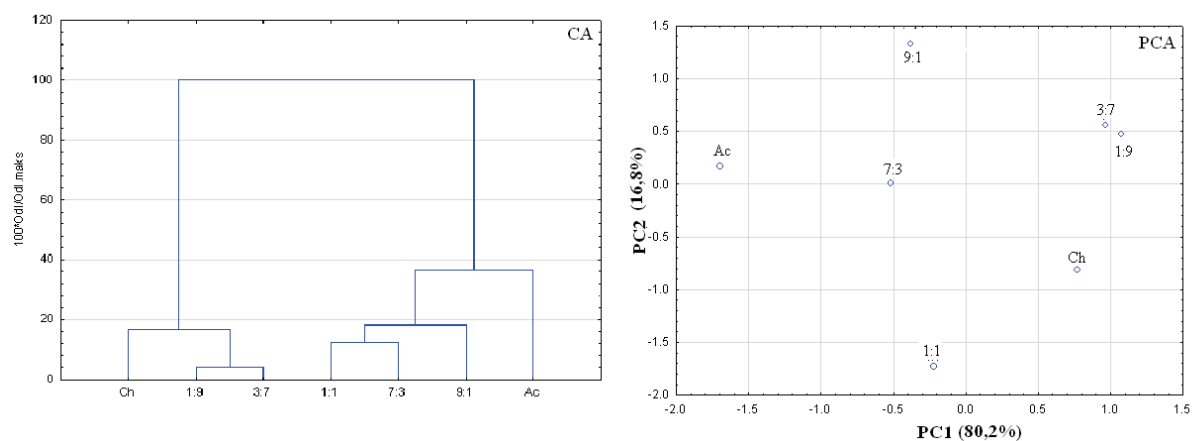
występuje w skupieniu z mieszaninami o jej małych zawartościach. Substancja lecznicza może też tworzyć skupienie z substancją pomocniczą, co może wskazywać na podobieństwo widm obu substancji, lecz mimo to w mieszaninach obie substancje mogą ulegać interakcji. Dowodem tego są zmiany w pasmach absorpcji widm mieszanin w podczerwieni.

Na podstawie graficznej interpretacji wyników obliczeń PCA można wskazać, które z badanych substancji mogą być razem użyte w procesie formulacji. Rozmieszczenie badanych próbek na płaszczyźnie utworzonej przez PC1 i PC2 informuje o oddziaływaniach substancji leczniczej z pomocniczą. Utworzenie dwóch oddzielnych obszarów, gdy w jednym obszarze skupiona jest substancja lecznicza wraz z mieszaninami o jej wyższych zawartościach, natomiast w drugim substancja pomocnicza wraz z mieszaninami o jej wyższych zawartościach, prowadzi do wniosku iż obie substancje mogą być razem mieszane. Natomiast w przypadku, gdy np. substancja lecznicza jest zlokalizowana bliżej mieszanin o jej małej zawartości lub tworzy oddzielne skupienie, można mówić o wystąpieniu niezgodności w badanych mieszaninach. W Tabeli 14 zestawiono wartości trzech pierwszych głównych składowych obliczone na podstawie wartości transmitancji w wyznaczonym zakresie liczb falowych dla 63. dwuskładnikowych mieszanin. Z danych tych wynika, iż w przypadku wszystkich mieszanin, łączna wariancja dwóch pierwszych składowych głównych przekracza 90%.

Na dendrogramie CA mieszanin acetazolamidu i mannitolu (Rys. 33), można zauważyć, iż wiązanie na najniższym poziomie tj. ok. 23% maksymalnej odległości wiązania, występuje pomiędzy mannitolem i jego mieszaniną z acetazolamidem w stosunku molowym 1:9. Interpretacja widma IR tej mieszaniny wskazuje na brak pasm absorpcyjnych acetazolamidu. Natomiast dwie mieszaniny acetazolamidu z mannitolem o stosunkach molowych 3:7 i 7:3 utworzyły skupienie na poziomie 26% maksymalnej odległości wiązania. Wskazuje to na podobne oddziaływanie promieniowania IR w badanym zakresie spektralnym z tymi mieszaninami. Powyższe potwierdza PCA, w obszarze wysokich wartości PC1 znajduje się zarówno mannitol jak i jego mieszanina z acetazolamidem w stosunku molowym 1:9. Mieszaniny acetazolamidu i mannitolu o stosunku molowym 3:7 i 7:3 znajdują się w centralnej części wykresu PC1 względem PC2. Położenie acetazolamidu oraz jego mieszanin z mannitolem o stosunkach molowych 9:1 i 1:1 w obszarze niskich wartości PC1 wskazuje na różnice w widmach IR substancji leczniczej i jej mieszanin z mannitolem. Odzwierciedleniem tego jest na wykresie CA oddzielne skupienie mieszaniny w stosunku molowym 1:1, połączonego ze skupieniem acetazolamidu i jego mieszanin na poziomie około 70%.



Rys. 33. Wykresy CA i PCA. Acetazolamid (Ac), mannitol (Ma) oraz mieszaniny fizyczne obu składników zmieszanych w stosunkach molowych 9:1, 7:3, 1:1, 3:7, 1:9. Pierwsza cyfra arabska określa zawartość acetazolamidu, a druga mannitolu.

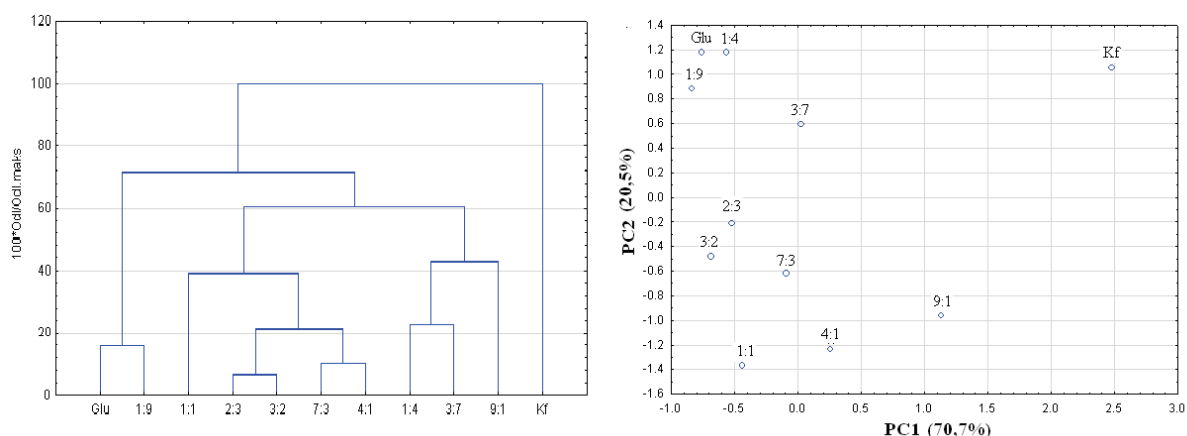


Rys. 34. Wykresy CA i PCA. Acetazolamid (Ac), chitozan (Ch) oraz mieszaniny fizyczne obu składników zmieszanych w stosunkach molowych 9:1, 7:3, 1:1, 3:7, 1:9.

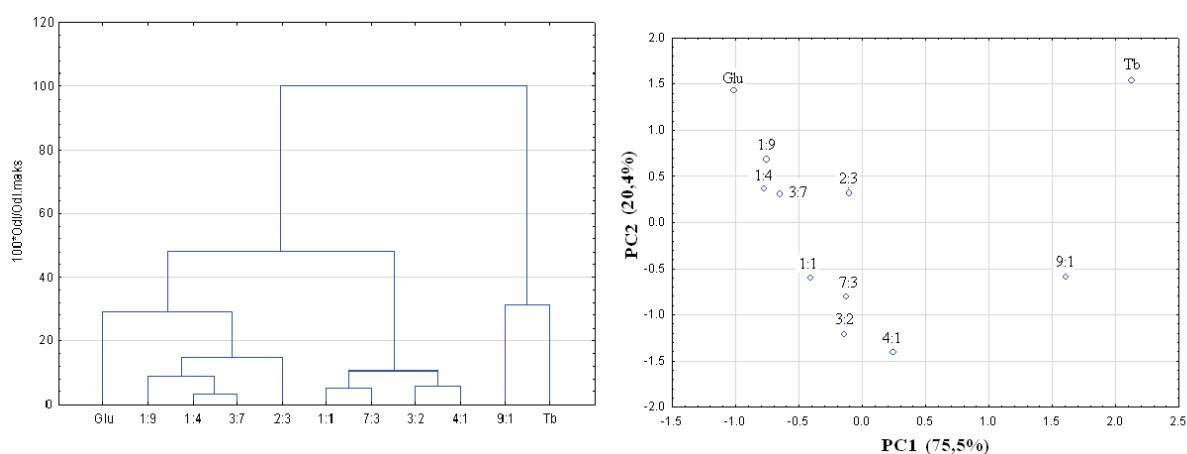
Na Rys. 34 (diagram CA), na najniższym poziomie wiązania (ok. 4%) łączą się dwie mieszaniny acetazolamidu i chitozanu o stosunkach molowych 1:9 i 3:7. Wykazuje to na duże podobieństwo widm IR. Potwierdza to również lokalizacja tych próbek na wykresie PCA. Natomiast acetazolamid i jego mieszaniny z chitozaniem o stosunkach 9:1, 7:3 i 1:1 oraz chitozan i jego mieszanin z acetazolamidem o stosunkach 1:9 i 3:7, łączą się na najwyższym poziomie skupiania tj. 100%. Odzwierciedleniem tego na wykresie PC1 względem PC2 jest położenie acetazolamidu w lewej części wykresu, a chitozanu w prawej. Intensywność pasm acetazolamidu w widmach IR jego mieszanin z chitozaniem zmniejsza się stopniowo wraz z zmniejszeniem się jego zawartości w mieszaninach. Oznacza to, że acetazolamid i chitozan mogą być razem użyte w procesie formulacji.

Obliczenia CA dla mieszanin kofeiny z glukozą (Rys. 35) wskazują, że na poziomie skupiania ok. 6% znajdują się dwie mieszaniny składników o stosunkach molowych 2:3 i 3:2.

Są one również blisko siebie położone na wykresie PCA. Natomiast na poziomie skupiania ok. 15% znajduje się glukoza i jej mieszanina z kofeiną o stosunku molowym 1:9. Z kolei kofeina łączy się ze wszystkimi mieszaninami na najwyższym poziomie wiązania (100%). Potwierdzeniem tego jest na wykresie PCA lokalizacja kofeiny w dużej odległości od glukozy i jej mieszanin z kofeiną. W widmie kofeiny dwa pasma w zakresie spektralnym 1705-1640 cm^{-1} nakładają się na siebie i są nierozdzielone. Rozdzielenie pasm kofeiny jest widoczne w widmach jej wszystkich mieszanin z glukozą, stąd też kofeina nie tworzy skupienia z żadną mieszaniną.



Rys. 35. Wykresy CA i PCA. Kofeina (Kf) i glukoza (Glu) oraz mieszaniny fizyczne obu składników zmieszanych w stosunkach molowych 9:1, 4:1, 7:3, 3:2, 1:1, 2:3, 3:7, 1:4, 1:9.



Rys. 36. Wykresy CA i PCA. Teobromina (Tb) i glukoza (Glu) oraz mieszaniny fizyczne obu składników zmieszanych w stosunkach molowych 9:1, 4:1, 7:3, 3:2, 1:1, 2:3, 3:7, 1:4, 1:9.

Na dendrogramie mieszanin teobrominy z glukozą (Rys. 36) tworzą się liczne skupienia na najniższym poziomie skupiania tj. od 4 do 15%. Oddzielne skupienie tworzy się pomiędzy teobrominą i jej mieszaniną o najniższej zawartości glukozy (mieszanina

teobrominy z glukozą o stosunku molowym 9:1), które łączy się na najwyższym poziomie tj. 100% z pozostałymi skupieniami. Widma IR teobrominy i jej mieszaniny z glukozą (9:1) wykazują bardzo duże podobieństwo. Odzwierciedleniem tego jest też lokalizacja teobrominy i jej mieszaniny na wykresie PCA w obszarze najwyższych wartości PC1.

Tabela 14. Wartości trzech pierwszych składowych obliczone na podstawie widm IR badanych mieszanin substancji leczniczych z pomocniczymi.

Macierz	Substancja pomocnicza	Numer głównej składowej					
		PC1		PC2		PC3	
		Wariancja %	Wartość własna	Wariancja (skumulowana wariancja) %	Wartość własna	Wariancja (skumulowana wariancja) %	Wartość własna
		Acetazolamid					
1.	Mannitol	55,2	222,1	38,2 (93,4)	153,3	4,6 (98,0)	18,6
2.	Laktoza	68,4	275,0	26,8 (95,2)	107,6	3,8 (99,0)	15,2
3.	Skrobia	75,1	301,7	23,1 (98,2)	92,8	1,1 (99,3)	4,6
4.	Metyloceluloza	73,8	296,9	20,8 (94,6)	83,5	3,8 (98,4)	15,3
5.	β-cyklodekstryna	67,6	271,7	28,4 (96,0)	114,3	2,7 (98,7)	10,9
6.	Meglumina	66,1	265,9	28,6 (94,7)	114,6	4,8 (99,5)	19,7
7.	Chitozan	80,2	322,3	16,8 (97,0)	67,8	2,0 (99,0)	7,7
8.	PVP	77,1	310,0	17,8 (94,9)	71,7	4,0 (98,9)	15,8
9.	Stearynian magnezu	72,7	292,2	18,1 (90,8)	72,7	7,5 (98,3)	30,2
		Atenolol					
10.	Mannitol	62,9	253,0	29,5 (92,4)	118,6	4,9 (97,3)	19,5
11.	Laktoza	71,0	285,4	25,5 (96,5)	102,6	2,1 (98,6)	8,5
12.	Skrobia	71,5	287,6	24,5 (96,0)	98,2	3,2 (99,2)	13,1
13.	Metyloceluloza	58,6	235,4	39,1 (97,7)	157,1	1,5 (99,2)	6,4
14.	β-cyklodekstryna	78,9	317,2	17,2 (96,1)	69,2	2,6 (98,7)	10,4
15.	Meglumina	80,1	322,1	16,8 (96,9)	67,3	2,3 (99,2)	9,2
16.	Chitozan	85,4	343,5	10,2 (95,6)	41,0	3,4 (99,0)	13,3
17.	PVP	77,2	310,2	20,1 (97,3)	80,8	1,4 (98,7)	5,5
18.	Stearynian magnezu	68,4	275,0	27,0 (95,4)	108,3	3,4 (98,8)	13,8
		Baklofen					
19.	Mannitol	55,1	221,4	38,4 (93,5)	154,6	4,1 (97,6)	16,3
20.	Laktoza	62,9	252,8	33,7 (96,6)	135,6	2,8 (99,4)	11,1
21.	Skrobia	65,9	265,1	29,5 (95,4)	118,3	2,1 (97,5)	8,6
22.	Metyloceluloza	54,0	217,1	36,0 (90,0)	144,8	9,0 (99,0)	36,2
23.	β-cyklodekstryna	65,6	263,8	32,0 (97,6)	128,4	1,6 (99,2)	6,5
24.	Meglumina	68,2	274,4	25,2 (93,4)	101,0	5,6 (99,0)	22,4
25.	Chitozan	52,3	210,4	41,9 (94,2)	168,2	5,2 (99,4)	21,0

26.	PVP	72,1	290,0	23,4 (95,5)	93,9	3,7 (99,2)	14,8
27.	Stearynian magnezu	66,3	266,4	25,1 (91,4)	100,9	5,9 (97,3)	23,7
Hydrokortyzon							
28.	Mannitol	72,8	292,5	23,4 (96,2)	94,0	3,0 (99,2)	12,2
29.	Laktoza	78,0	313,5	16,1 (94,1)	64,9	4,9 (99,0)	19,4
30.	Skrobia	86,4	347,2	9,4 (95,8)	38,1	2,0 (97,8)	7,7
31.	Metyloceluloza	81,8	329,0	14,8 (96,6)	59,4	2,2 (98,8)	8,8
32.	β -cyklodekstryna	79,6	320,0	17,1 (96,7)	68,7	2,1 (98,8)	8,3
33.	Meglumina	84,6	340,2	13,2 (97,8)	52,9	1,1 (98,9)	4,5
34.	Chitozan	80,6	324,2	17,3 (97,9)	69,4	1,4 (99,3)	5,4
35.	PVP	75,9	305,2	16,6 (92,5)	66,6	6,4 (98,9)	25,7
36.	Stearynian magnezu	57,6	231,5	36,3 (93,9)	145,8	4,3 (98,2)	17,5
Piroksykam							
37.	Mannitol	61,7	248,1	29,1 (90,8)	116,9	3,4 (94,2)	13,8
38.	Laktoza	52,0	209,2	41,6 (93,6)	167,2	4,2 (97,8)	16,9
39.	Skrobia	83,7	336,6	14,4 (98,1)	57,7	0,9 (99,0)	3,7
40.	Metyloceluloza	76,5	307,7	20,4 (96,9)	81,8	1,9 (98,8)	7,5
41.	β -cyklodekstryna	70,1	281,9	25,4 (95,5)	102,2	3,1 (98,6)	12,5
42.	Meglumina	58,3	234,4	27,2 (85,5)	109,1	11,4 (96,9)	46,1
43.	Chitozan	92,8	373,2	5,6 (98,4)	22,4	0,8 (99,2)	3,2
44.	PVP	85,2	342,4	12,5 (97,7)	50,2	1,0 (98,7)	4,3
45.	Stearynian magnezu	52,8	212,1	38,4 (91,2)	154,4	4,8 (96,0)	19,3
Kofeina							
46.	Glikokol	87,2	350,7	7,0 (94,2)	28,0	3,7 (97,9)	14,7
47.	Glukoza	70,7	284,0	20,5 (91,2)	82,7	4,7 (95,9)	18,7
48.	Sorbitol	71,1	285,8	22,4 (93,5)	90,2	2,7 (96,2)	10,5
49.	Sacharoza	68,8	276,7	24,1 (92,9)	96,8	4,8 (97,7)	19,3
50.	Celuloza mikrokrystaliczna	59,5	239,1	32,5 (92,0)	130,9	6,5 (98,5)	25,8
51.	Guma arabska	72,6	291,7	22,0 (94,6)	88,7	4,3 (98,9)	17,2
Teobromina							
52.	Glikokol	82,3	331,0	10,7 (93,0)	43,0	3,3 (96,3)	13,0
53.	Glukoza	75,5	303,4	20,4 (95,9)	82,1	2,7 (98,6)	10,7
54.	Sorbitol	80,1	322,1	15,2 (95,3)	61,1	2,5 (97,8)	10,2
55.	Sacharoza	70,4	282,9	24,4 (94,8)	98,3	2,3 (97,1)	8,9
56.	Celuloza mikrokrystaliczna	64,0	257,5	31,3 (95,3)	125,6	3,1 (98,4)	12,4
57.	Guma arabska	73,5	295,6	22,8 (96,3)	91,7	2,4 (98,7)	9,7

Teofilina									
58.	Glikokol	59,0	237,1	28,8 (87,8)	115,8	6,9 (94,7)	27,9		
59.	Glukoza	65,8	264,6	28,2 (94,0)	113,2	3,9 (97,9)	15,6		
60.	Sorbitol	50,3	202,3	40,8 (91,1)	163,9	4,7 (95,8)	19,0		
61.	Sacharoza	55,8	224,2	38,9 (94,7)	156,6	3,1 (97,8)	12,4		
62.	Celuloza mikrokrystaliczna	55,1	221,6	40,9 (96,0)	164,3	2,6 (98,6)	10,4		
63.	Guma arabska	66,9	269,0	29,3 (96,2)	117,7	2,2 (98,4)	9,0		

3.5. Identyfikacja niezgodności za pomocą technik DSC i XRPD

Analizując dane uzyskane na podstawie interpretacji krzywych TG i widm IR za pomocą wielowymiarowych technik eksploracji danych stwierdzono, iż w niektórych przypadkach różnią się one w ocenie potencjalnych interakcji pomiędzy substancją leczniczą i pomocniczą. Różnice dotyczą jedenastu przypadków (Tabela 15), tj. czterech substancji pomocniczych w mieszaninach z acetazolamidem, po dwie substancje pomocnicze w mieszaninach z hydrokortyzonem i kofeiną, a w przypadku jednej substancji pomocniczej, mieszanin z atenololem, teobrominą i teofiliną. Należy podkreślić, iż laktoza i glikokol stanowiły substancje pomocnicze najczęściej generujące rozbieżności w interpretacji wyników za pomocą technik CA i PCA. Również w przypadku mieszanin stearynianu magnezu z substancją leczniczą częściej obserwowana jest różnica w interpretacji krzywych TG i widm IR, niż w mieszaninach z pozostałymi substancjami pomocniczymi.

Zastosowanie DSC jako metody polecanej do szybkiej identyfikacji niezgodności pomiędzy składnikami mieszanin oraz proszkowej dyfrakcji rentgenowskiej (XRPD) pozwoliło zweryfikować wyniki uzyskane na podstawie krzywych TG i widm IR. XRPD jako metoda badania postaci krystalicznej i amorficznej związków chemicznych, pozwala wykryć zmiany w strukturze wewnętrznej analizowanych substancji tworzące się w ich mieszaninach, poprzez analizę zmian w kształcie i intensywności pików na dyfraktogramach oraz pojawienie się nowych pików lub zanik charakterystycznych pików badanej substancji. W przypadku krzywych DSC, o interakcji między składnikami świadczą zmiany zakresów temperatur, kształtu i powierzchni pików, a także zmiany w wartościach entalpii oraz pojawienie się dodatkowych pików lub zanik pików substancji leczniczej.

Mieszaniny, w przypadku których wyniki uzyskane za pomocą krzywych TG nie pokrywają się z wynikami uzyskanymi na podstawie widm IR, zestawiono w Tabeli 15. Ich szczegółowa analiza wykazała, iż w mieszaninach acetazolamidu z laktozą, β -cyklodekstryną, poliwinylpiperolidonem i stearynianem magnezu wykryto interakcje na podstawie interpretacji widm IR za pomocą technik CA i PCA, których nie potwierdziła analiza krzywych TG. Jednakże z informacji zamieszczonych w Tabeli 13 wynika, iż na rynku jest wiele preparatów handlowych, które zawierają w swym składzie acetazolamid oraz laktozę, poliwinylpiperolidon i stearynian magnezu. Nie znaleziono natomiast przykładu preparatu farmaceutycznego zawierającego acetazolamid i β -cyklodekstrynę jako substancję pomocniczą. Może to sugerować, iż w mieszaninach acetazolamidu z laktozą,

poliwinylpirolidonem i stearynianem magnezu nie występują niezgodności. Jednak z drugiej strony, zmiany na krzywych DSC niektórych z tych mieszanin w odniesieniu do krzywych składników użytych jako wzorce mogą sugerować niezgodności.

Brak endotermicznego pików DSC związanego z topnieniem acetazolamidu oraz zmiana kształtu i temperatur pików endotermicznych laktozy (Rys. 37A), wskazuje na interakcję we wszystkich mieszaninach acetazolamidu z laktozą, z wyjątkiem mieszaniny 9:1 (1 część laktozy zmieszana z 9 częściami acetazolamidu). Jednakże na dyfraktogramie mieszanin acetazolamidu z laktozą (Rys. 37B) nie widać znaczących zmian w liniach dyfrakcyjnych, jedynie pik laktozy przy kącie dyfrakcji $20,25^\circ$, o największej intensywności, zwiększył znacząco swoją intensywność w mieszaninach o stosunku acetazolamidu do laktozy 1:9, 3:7, 1:1 i 7:3. Należy zauważyć, iż interakcje acetazolamidu z laktozą wykryte za pomocą widm IR zostały potwierdzone jedynie na podstawie DSC, pomimo iż w składzie preparatów farmaceutycznych acetazolamid występuje razem z laktozą. Interakcje acetazolamidu z laktozą spowodowane są prawdopodobnie reakcją Maillarda, której efektem jest m.in. karmelizacja węglowodanu.

W przypadku krzywych DSC mieszanin acetazolamidu z β -cyklodekstryną o stosunku 3:7 i 1:9 (Rys. 38A), widoczne są zmiany kształtu i wysokości pików endotermicznego odzwierciedlającego proces topnienia acetazolamidu (3:7), lub jego brak (1:9), co związane jest z małą zawartością acetazolamidu w tych mieszaninach. Można też zauważyć dodatkowe egzotermiczne pików DSC powyżej temp. 270°C , które nie występują na krzywych obu składników. Z kolei na dyfraktogramie mieszanin acetazolamidu z β -cyklodekstryną nie zaobserwowano zmian w układzie linii dyfrakcyjnych składników mieszaniny (Rys. 38B), a ich intensywność jest uzależniona od zawartości składników w mieszaninie. W związku z tym, w tych mieszaninach nie dochodzi do interakcji.

Na krzywej DSC mieszaniny acetazolamidu z poliwinylpirolidonem o stosunku masowym 1:9 (Rys. 39A), nie zaobserwowano endotermicznego pików acetazolamidu związanego z jego topnieniem, co można tłumaczyć małą zawartością tej substancji w mieszaninie. Nieznaczne zmiany kształtu i wysokości pików endotermicznego związanego z topnieniem acetazolamidu uwidaczniają krzywe DSC mieszanin tego leku z poliwinylpirolidonem o stosunku 7:3, 1:1 i 3:7. W przypadku dyfraktogramu mieszaniny obu składników o stosunku masowym 3:7 (Rys. 39B) widać, iż pik acetazolamidu o największej intensywności przy $2\theta=10,01$ zmniejszył się, a jego intensywność można porównać z intensywnością pików o kącie dyfrakcji $2\theta=10,48$. Poza tym linie dyfrakcyjne acetazolamidu na dyfraktogramach mieszanin acetazolamidu z poliwinylpirolidonem o

stosunkach masowych 9:1, 7:3 i 1:1 przy kątach dyfrakcji 20,03°, 20,33°, 20,98°, 21,83° oraz 24,94°, 29,58° i 30,18°, bez względu na zawartość acetazolamidu wykazują intensywność podobną do intensywności linii dyfrakcyjnych acetazolamidu użytego jako wzorca. Wskazuje to, że analizy DSC i XRPD nie potwierdzają wyników uzyskanych na podstawie interpretacji widm IR za pomocą technik wielowymiarowych.

Na krzywych DSC wszystkich mieszanin acetazolamidu ze stearynianem magnezu (Rys. 40A) obecne są piki obu składników, a ich intensywność jest adekwatna do zawartości składników w mieszaninach, z tym, że endotermiczny pik acetazolamidu uległ przesunięciu w kierunku niższych wartości, do temp. ok. 255°C, a pik egzotermiczny w kierunku wyższych wartości, do temp. 265°C. Na dyfraktogramach mieszanin obu substancji (Rys. 40B) można zauważyć, że intensywność najwyższego piku acetazolamidu przy kącie dyfrakcji 10,01° zmniejsza się proporcjonalnie do zawartości acetazolamidu w mieszaninach. W przypadku mieszanin tych składników również nie zachodzą interakcje, które wykryto na podstawie widm IR.

W przeciwieństwie do widm IR, analiza krzywych TG wykazała, iż w mieszaninach atenololu z laktozą dochodzi do interakcji. Na Rys. 41A i B można zauważyć zmiany wskazujące na niezgodności między oboma składnikami. W przypadku krzywych DSC (Rys. 41A) pik związany z topnieniem atenololu uległ przesunięciu w kierunku niższych wartości temperatur, z temp. ok. 153°C do temp. ok. 146°C i nałożył się na pik laktozy związany z przemianą krystaliczną. Również pik związany z topnieniem i karmelizacją laktozy uległ przesunięciu w kierunku niższych temperatur, z ok. 220°C do temp. 200°C (w przypadku mieszanin 9:1, 7:3 i 1:1), lub do temp. ok. 175°C (w przypadku mieszanin 3:7 i 1:9). Z kolei na dyfraktogramach mieszanin atenololu i laktozy (Rys. 41B), podobnie jak w przypadku dyfraktogramów mieszanin acetazolamidu z laktozą, zauważyć można iż intensywność piku laktozy przy kącie dyfrakcji 20,25° uległa zwiększeniu.

W mieszaninach hydrokortyzonu z laktozą wykryto interakcję za pomocą widm IR, czego nie potwierdza analiza CA i PCA krzywych TG. Natomiast w mieszaninach hydrokortyzonu ze stearynianem magnezu wykryto interakcję za pomocą krzywych TG, której nie potwierdziła analiza IR. Jednakże obecność obu substancji pomocniczych w preparatach handlowych z hydrokortyzonem sugeruje brak niezgodności farmaceutycznych. Porównując krzywe DSC mieszanin hydrokortyzonu i laktozy (7:3, 1:1, 3:7 i 1:9) z krzywymi składników (Rys. 42A) stwierdzono brak endotermicznego piku związanego z topnieniem hydrokortyzonu. Również na krzywych DSC mieszanin hydrokortyzonu ze stearynianem magnezu (Rys. 43A) zauważono brak tego piku. Dodatkowo na dyfraktogramie mieszanin

hydrokortyzonu i laktozy (Rys. 42B) zwiększyła się intensywność pików laktozy przy kącie dyfrakcji $20,31^\circ$, podobnie jak w mieszaninach acetazolamidu z laktozą (Rys. 37B) i atenololu z laktozą (Rys. 41B). Tymczasem krzywe XRPD mieszanin hydrokortyzonu i stearynianu magnezu (Rys. 43B) nie wykazują istotnych zmian w stosunku do dyfraktogramów składników. Wynika z tego, że w obu wyżej wymienionych mieszaninach z hydrokortyzonem wykryto niezgodności, w przypadku laktozy za pomocą widma IR, co potwierdza analiza DSC, w przypadku stearynianu magnezu za pomocą krzywych TG, co potwierdza analiza DSC. Interakcja hydrokortyzonu i laktozy może być wynikiem reakcji Maillarda i karmelizacji. Natomiast w przypadku stearynianu magnezu, interakcję może powodować wiązanie wodorowe.

W przypadku mieszanin kofeiny z glikokolem stwierdzono interakcję na podstawie krzywych TG, natomiast analizy IR i DSC ich nie potwierdzają. Na krzywych DSC mieszanin kofeiny z glikokolem (Rys. 44) można zauważyć pik kofeiny i glikokolu, których intensywność zmienia się wraz z zmieniającą się zawartością obu składników w mieszaninie, czyli nie występuje niezgodność pomiędzy składnikami.

Chociaż obecność sacharozy w preparatach handlowych z kofeiną sugeruje brak niezgodności farmaceutycznych, w mieszaninach obu substancji wykryto interakcję za pomocą widm IR. Może być ona wynikiem karmelizacji. Porównując krzywe DSC mieszanin kofeiny z sacharozą z krzywymi obu składników (Rys. 45A), stwierdzono brak endotermicznego pików związanego z topnieniem kofeiny, a także zmiany temperatur, kształtów i powierzchni pików endotermicznych sacharozy we wszystkich mieszaninach. Natomiast dyfraktogramy mieszanin kofeiny z sacharozą (Rys. 45B) ujawniają zmiany w liniach dyfrakcyjnych sacharozy przy kątach dyfrakcji $19,04^\circ$, $19,71^\circ$, $24,82^\circ$ i $25,29^\circ$.

Z kolei w mieszaninach teobrominy i teofiliny z glikokolem wykryto interakcje za pomocą widm IR, czego nie potwierdziła analiza krzywych TG i DSC. Jedynie w przypadku mieszaniny teobrominy z glikokolem w stosunku 1:9 (Rys. 46A) brak jest endotermicznego pików związanego z topnieniem teobrominy z powodu niskiej zawartości substancji leczniczej w mieszaninie. Na dyfraktogramach mieszanin teobrominy z glikokolem (Rys. 46B) nie zaobserwowano zmian świadczących o niezgodnościach. Natomiast na krzywych DSC mieszanin teofiliny z glikokolem (Rys. 47) obecne są pik obu składników, z tym że intensywność pików zależy od zawartości substancji w mieszaninach. Widma IR mieszanin teofiliny i teobrominy z glikokolem, z uwagi na fakt nakładania się na siebie wielu pasm absorpcyjnych, mogą prowadzić do błędnych wniosków.

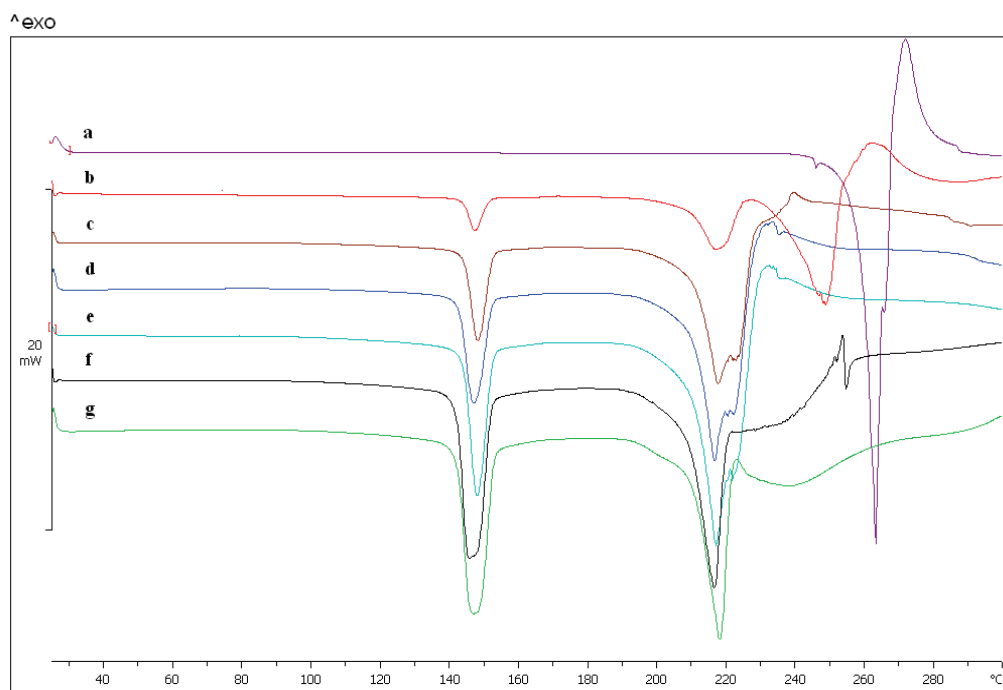
Podsumowując należy stwierdzić, iż interpretacja za pomocą technik CA i PCA danych uzyskanych z widm IR dla jedenastu omawianych układów prowadziła częściej do błędnych wyników niż interpretacja krzywych TG. Interpretacja krzywych TG wspomagana CA i PCA w czterech przypadkach nie została potwierdzona analizą krzywych DSC i XRPD. Natomiast analiza IR wspomagana CA i PCA w siedmiu przypadkach dała odmienne wyniki od DSC i XRPD. Przyczyną błędów w interpretacji wyników TG może być mniej dokładny odczyt temperatury z krzywej TG w porównaniu do zapisu cyfrowego spektrofotometru IR. Również mała liczba danych wyznaczonych z krzywych TG w zakresie 20-300°C i użyta do analizy za pomocą wielowymiarowych technik eksploracji danych może być powodem niewłaściwej interpretacji wyników. W przypadku widm IR uzyskano 402 wartości transmitancji do obliczeń CA i PCA. Jednakże tak duża liczba danych do obliczeń statystycznych może wprowadzać tzw. „szum informacyjny” utrudniając interpretację. Poza tym interpretację wyników uzyskanych z widm IR utrudnia fakt, iż widmo zawiera wiele różnych pasm odpowiadających drganiom rozciągającym i deformacyjnym. Większość grup funkcyjnych daje charakterystyczne pasma absorpcyjne, które występują w widmie w zbliżonym zakresie liczb falowych. W związku z tym nakładanie się pasm absorpcyjnych i złożoność widm IR może utrudniać ich interpretację.

Prawdopodobne niezgodności w mieszaninach dwuskładnikowych badanych substancji leczniczych z cukrami redukującymi (laktozą, metylocelulozą, glukozą, celulozą, gumą arabską) mogą być wynikiem reakcji Maillarda [182]. Polega ona na reakcji grupy karbonylowej węglowodanu z grupą aminową substancji leczniczej tworząc cząsteczki wody i związki typu N-podstawionej glukozaminy. Produkty reakcji rozpadają się następnie na mniejsze cząsteczki, zawierające ugrupowanie O=C-C-N, tworząc związki o nazwie *Amadori*. Natomiast alkohole cukrowe (mannitol, sorbitol) i cukry nieredukujące (sacharoza) nie uczestniczą w reakcji Maillarda. Poza tym, w mieszaninach substancji leczniczej z węglowodanami, obok reakcji Maillarda zachodzi również karmelizacja i w związku z tym tworzy się mieszanina produktów reakcji Maillarda i karmelizacji, z tym, że reakcja karmelizacji zachodzi w temperaturze powyżej 120-150°C, a reakcja Maillarda w temperaturze pokojowej.

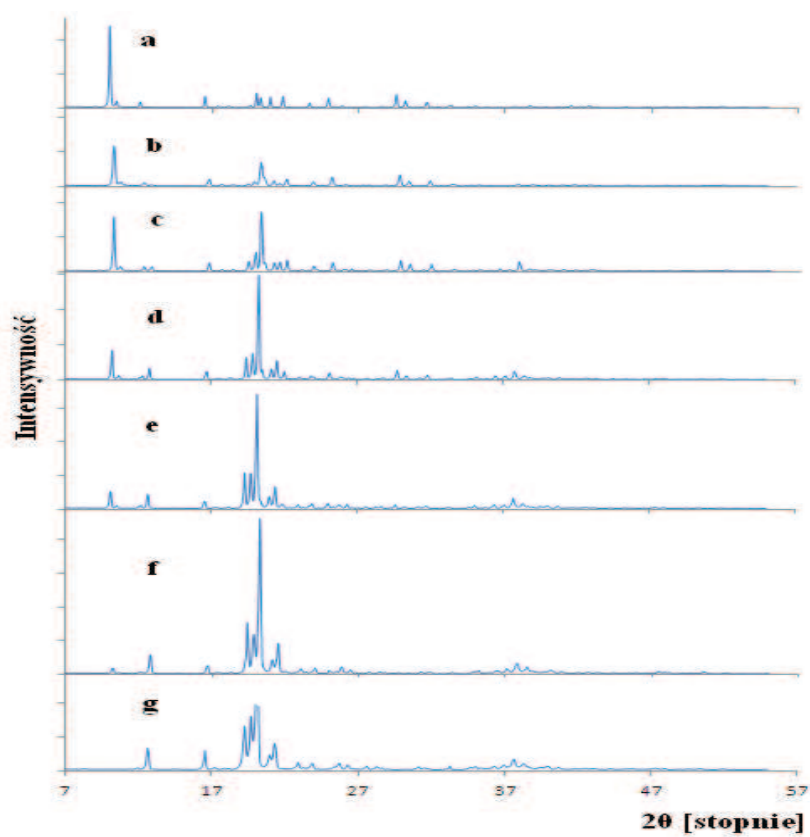
Niezgodności w mieszaninach substancji leczniczych z β -cyklodekstryną mogą być wynikiem tworzenia się kompleksów inkluzyjnych z atenololem [90] i piroksykamem [169, 170]. Z kolei w przypadku mieszanin substancji leczniczych z mannitolem, prawdopodobne niezgodności mogą być skutkiem wiązania wodorowego tworzącego się pomiędzy grupami C-H i CH₂ mannitolu i np. ugrupowaniem substancji leczniczej zawierającym azot [174].

Niezgodności substancji leczniczych z megluminą i chitozaniem mogą być wynikiem tworzenia się wiązania wodorowego pomiędzy grupą hydroksylową megluminy lub chitozanu i grupą aminową substancji leczniczej, podobnie jak w przypadku celekoksybu [259]. Natomiast w wyniku zmieszania substancji leczniczej z poliwinylpirolidonem, niezgodności mogą być skutkiem reakcji chemicznej zachodzącej podczas ogrzewania, tak jak w przypadku mieszaniny kwasu acetylosalicylowego i poliwinylpirolidonu [60]. Być może jest to przyczyną przesunięcia piku topnienia kwasu acetylosalicylowego w kierunku niższych wartości temperatur i nałożenia się tego piku na pik dehydratacji poliwinylpirolidonu. Autorzy podają też inną przyczynę interakcji kwasu acetylosalicylowego z poliwinylpirolidonem. Uważają, iż woda uwolniona podczas dehydratacji poliwinylpirolidonu (zakres temp. 53,2-113,5°C) przyczynia się do rozkładu tego kwasu. W literaturze opisano również inne przypadki mieszanin poliwinylpirolidonu z substancjami leczniczymi, takimi jak naproksen, ibuprofen, ketoprofen, kaptopryl [99, 156, 178, 193], w których zidentyfikowano, wynikające z obecności wody z pvp, interakcje w fazie stałej zachodzące podczas ogrzewania. W przypadku zmieszania substancji leczniczej ze stearynianem magnezu tworzy się wiązanie wodorowe pomiędzy grupą hydroksylową stearynianu magnezu a grupą NH substancji leczniczej [174]. W literaturze jest także opisana interakcja chemiczna pomiędzy stearynianem magnezu a kwasem acetylosalicylowym [60], która zachodzi podczas ogrzewania. Znane są też przypadki interakcji stearynianu magnezu z glibenklamidem, atenololem, ibuprofenem, ketoprofenem, katoprylem i olanzapiną [91, 119, 156]. Z kolei zmieszanie kofeiny z sorbitolem doprowadziło do niezgodności, prawdopodobnie ze względu na wiązanie wodorowe, podobnie jak w przypadku mieszaniny mannitolu z acetazolamidem, pomiędzy grupami C-H i CH₂ sorbitolu i odpowiednimi ugrupowaniami metyloksantyny. Natomiast niezgodności występujące w mieszaninach metyloksantyn z sacharozą mogą być prawdopodobnie wynikiem reakcji karmelizacji sacharozy. Karmelizacja polega na usunięciu wody z cukru, a następnie w reakcjach izomeryzacji i polimeryzacji tworzą różne związki chemiczne. Dokładne mechanizmy tych reakcji nie są jeszcze w pełni znane.

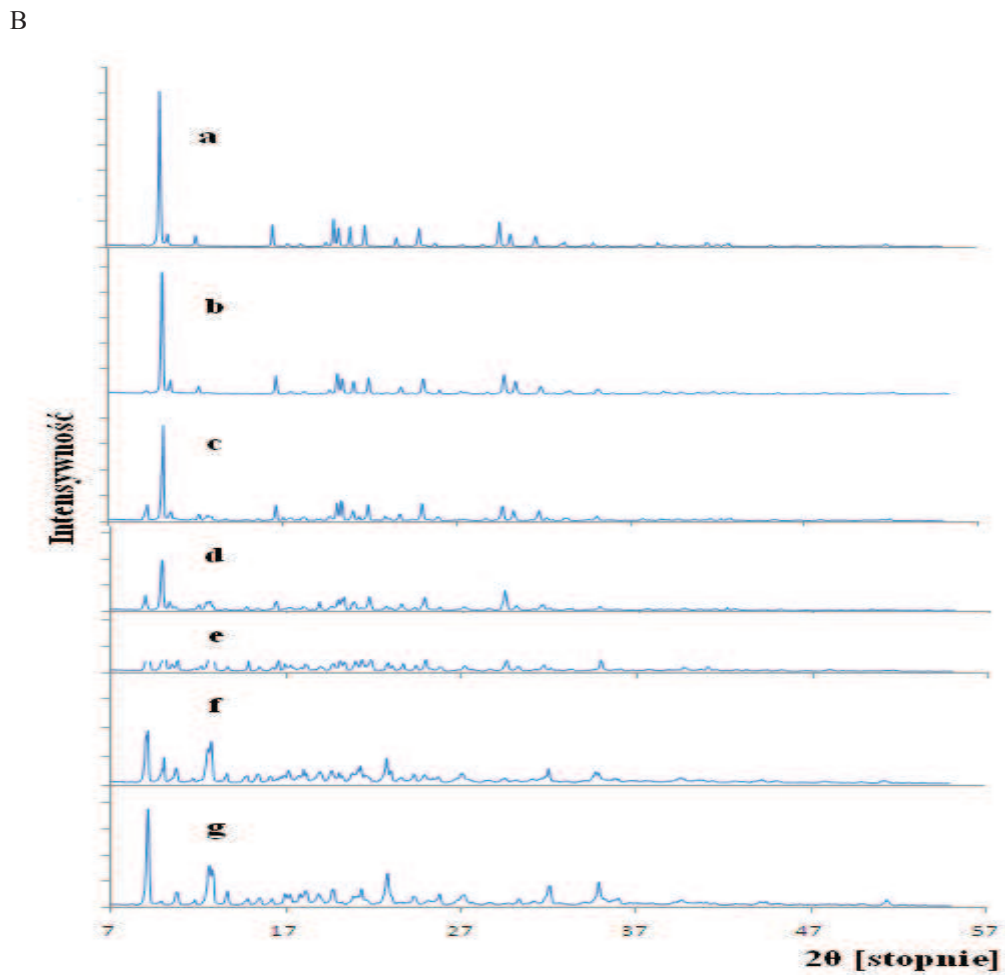
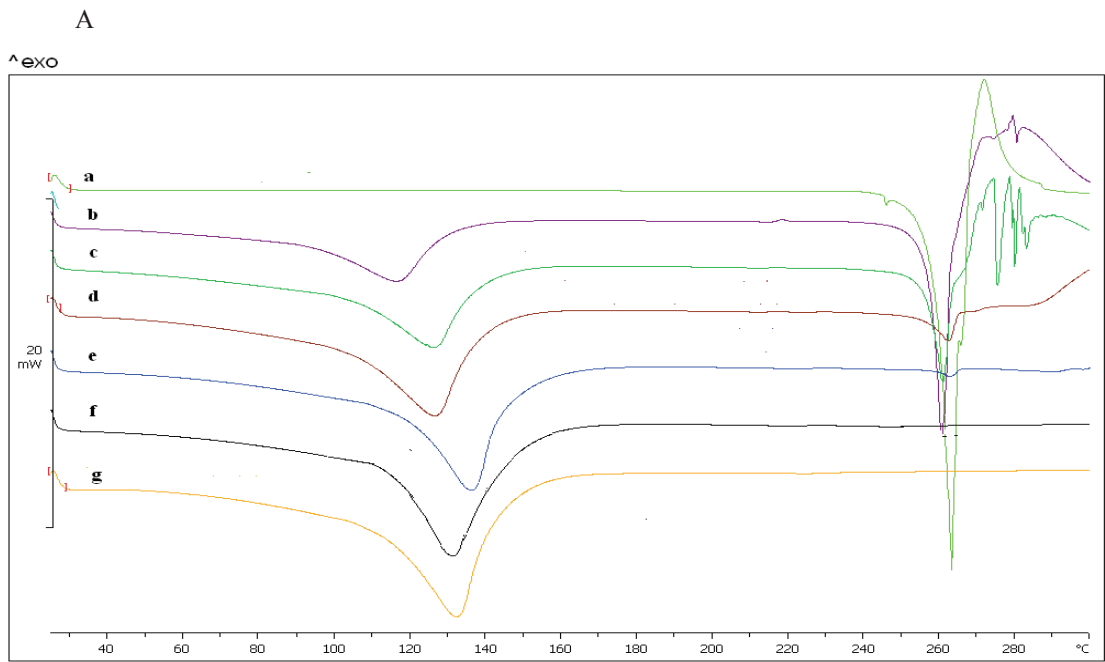
A



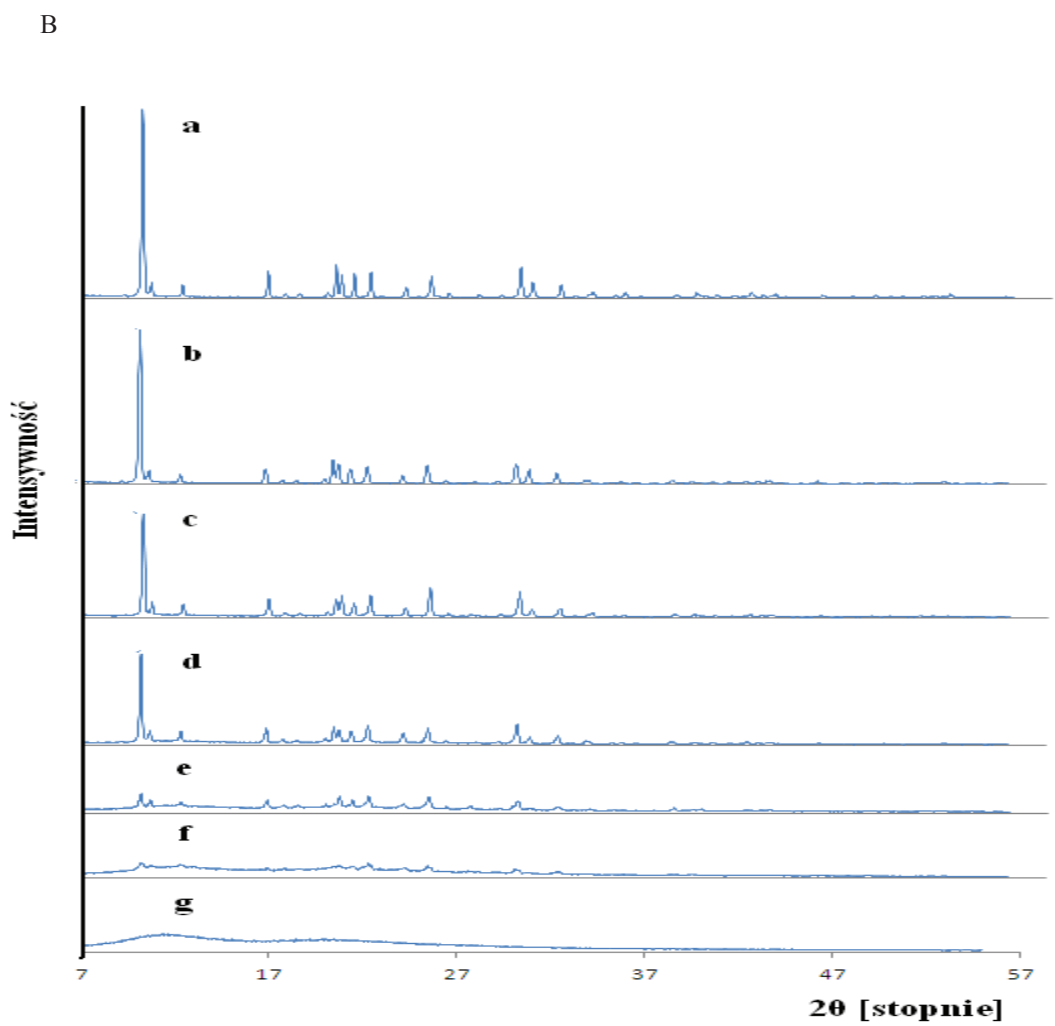
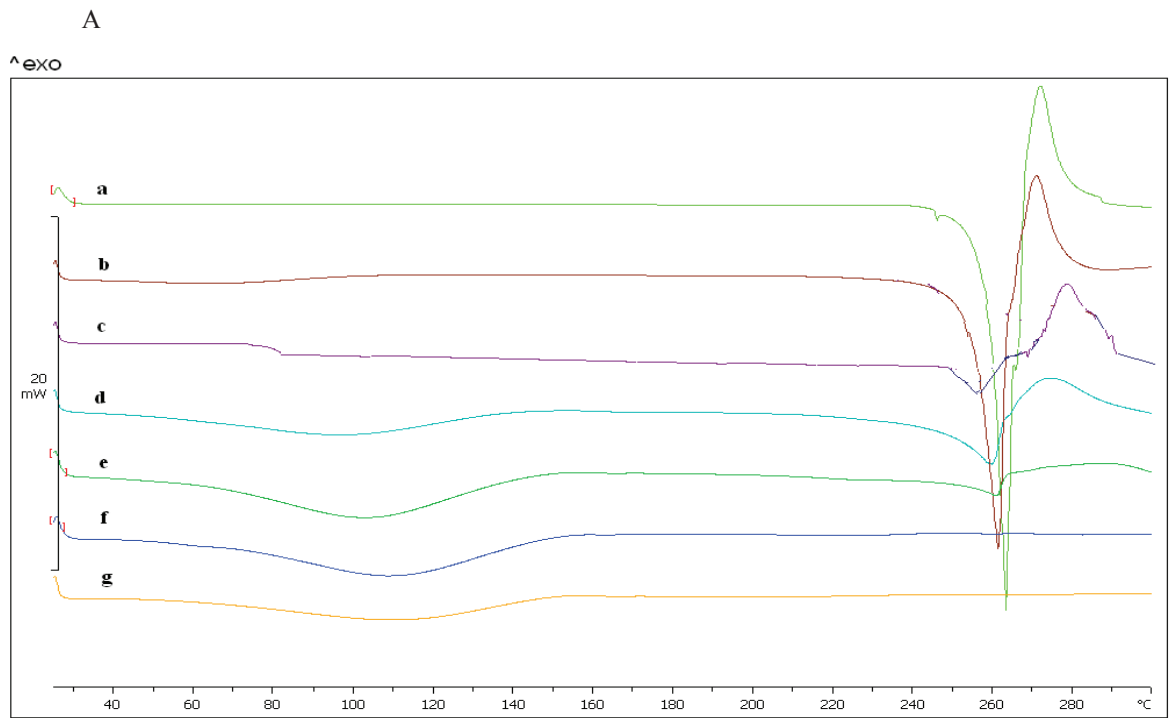
B



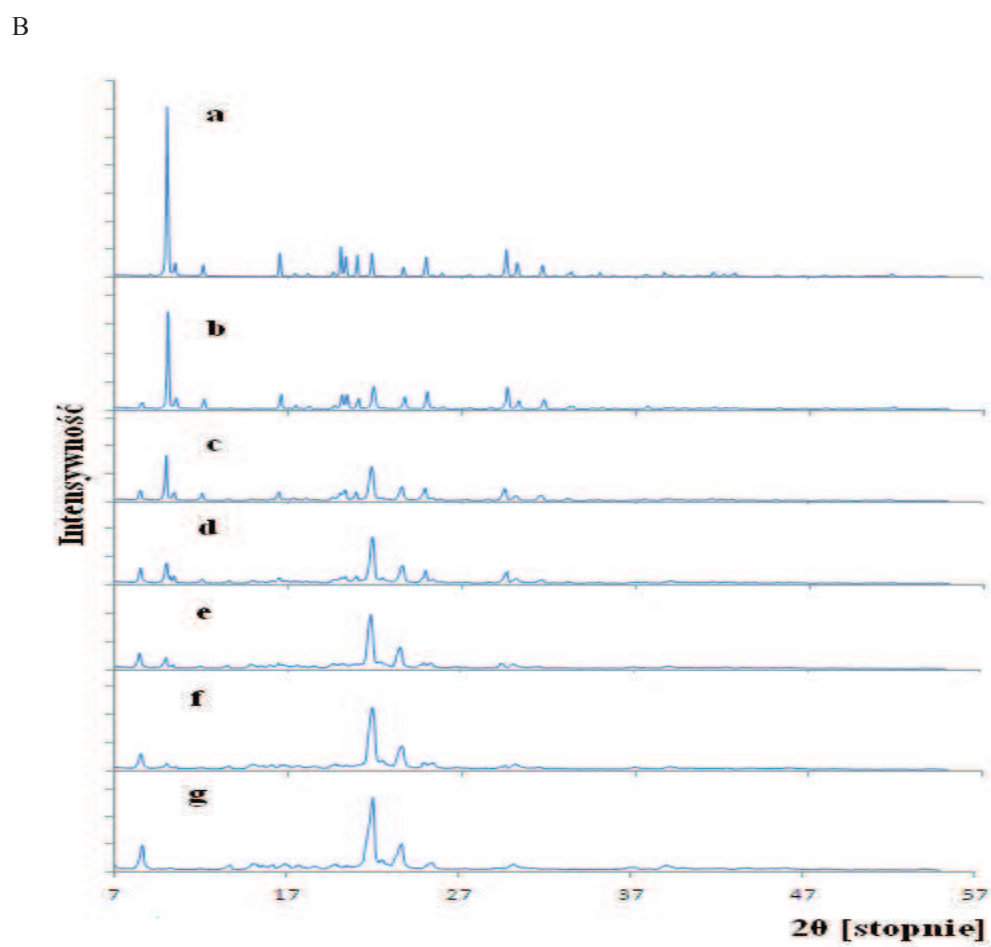
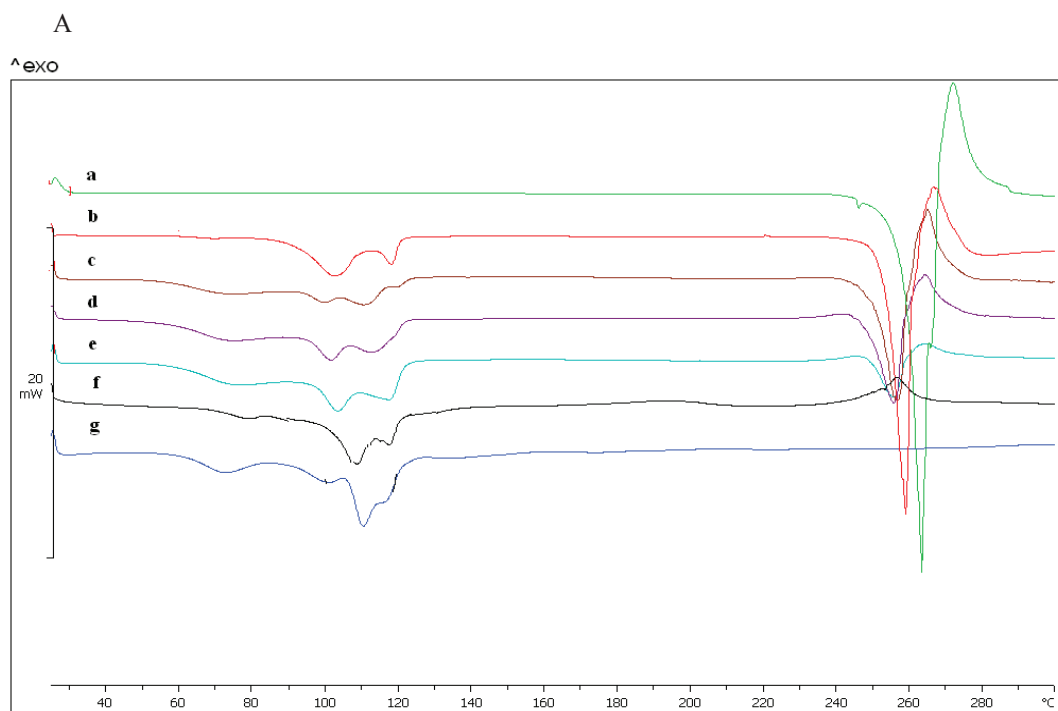
Rys. 37. (A) Krzywe DSC i (B) dyfraktogramy acetazolamidu (a), laktozy (g) i ich mieszanin w stosunku molowym 9:1 (b), 7:3 (c), 1:1 (d), 3:7 (e), 1:9 (f).



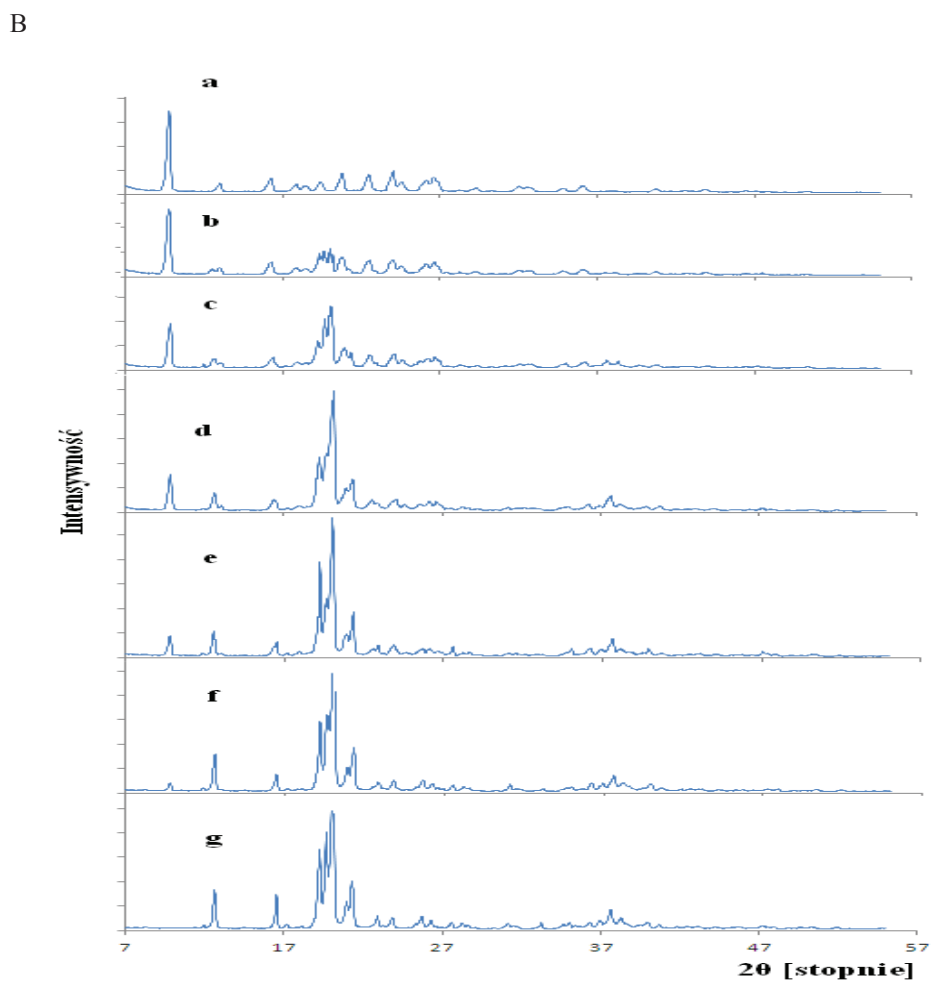
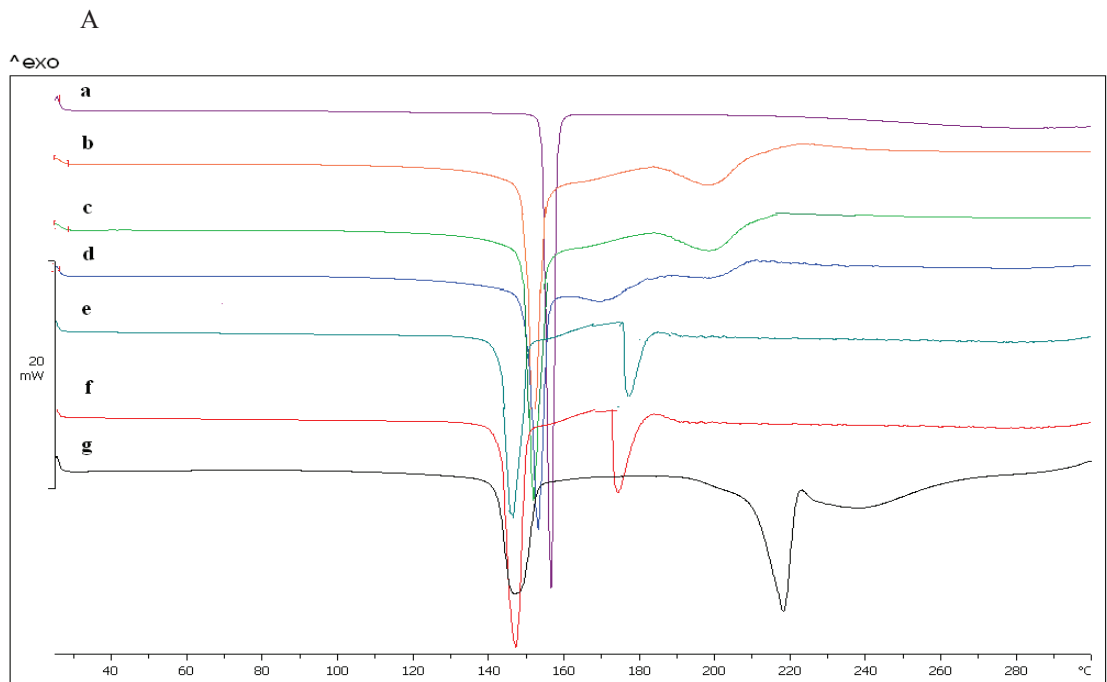
Rys. 38. (A) Krzywe DSC i (B) dyfraktogramy acetazolamidu (a), β -cyklodekstryny (g) i ich mieszanin w stosunku masowym 9:1 (b), 7:3 (c), 1:1 (d), 3:7 (e), 1:9 (f).



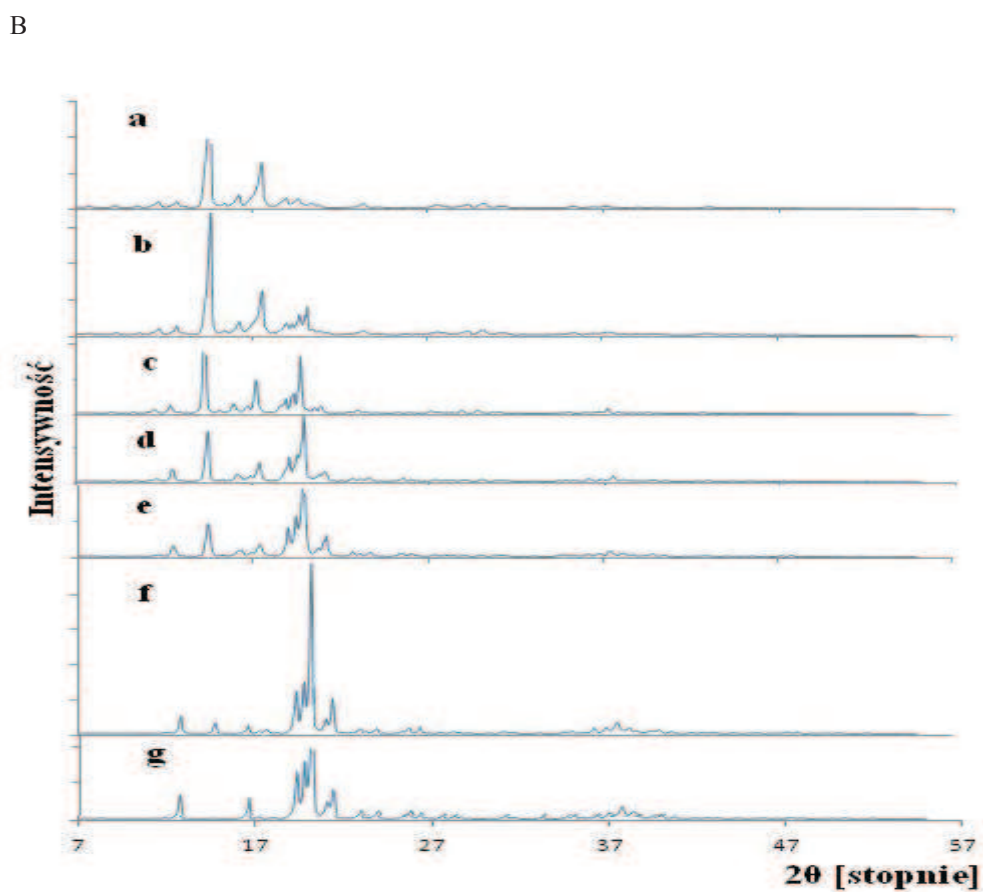
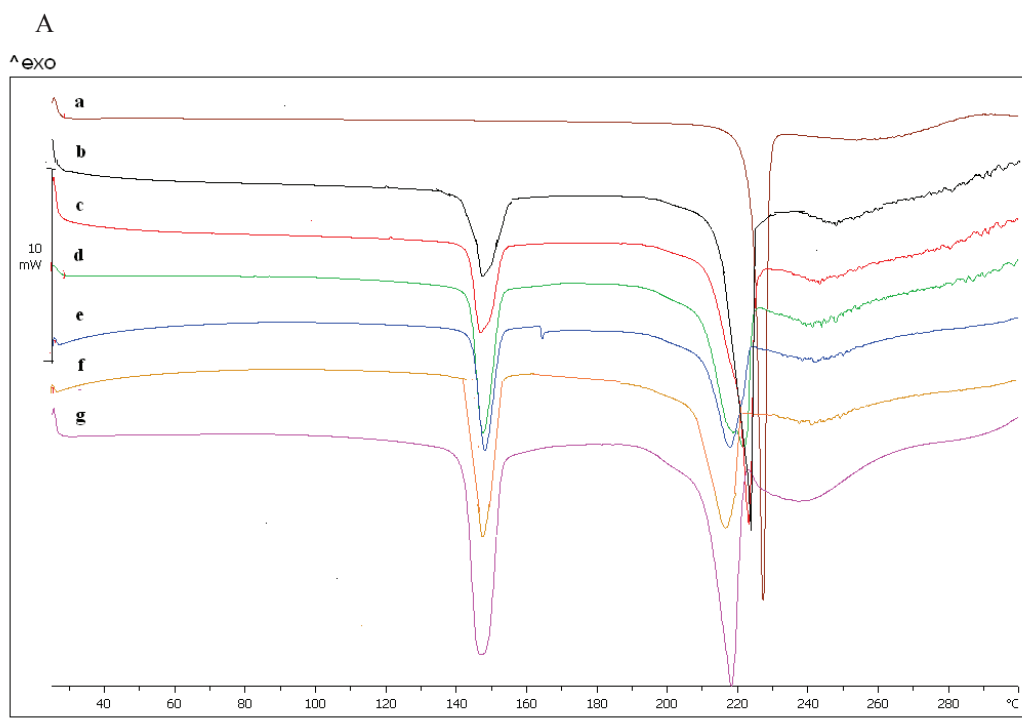
Rys. 39. (A) Krzywe DSC i (B) dyfraktogramy acetazolamidu (a), poliwinylpirolidonu K30 (g) i ich mieszanin w stosunku masowym 9:1 (b), 7:3 (c), 1:1 (d), 3:7 (e), 1:9 (f).



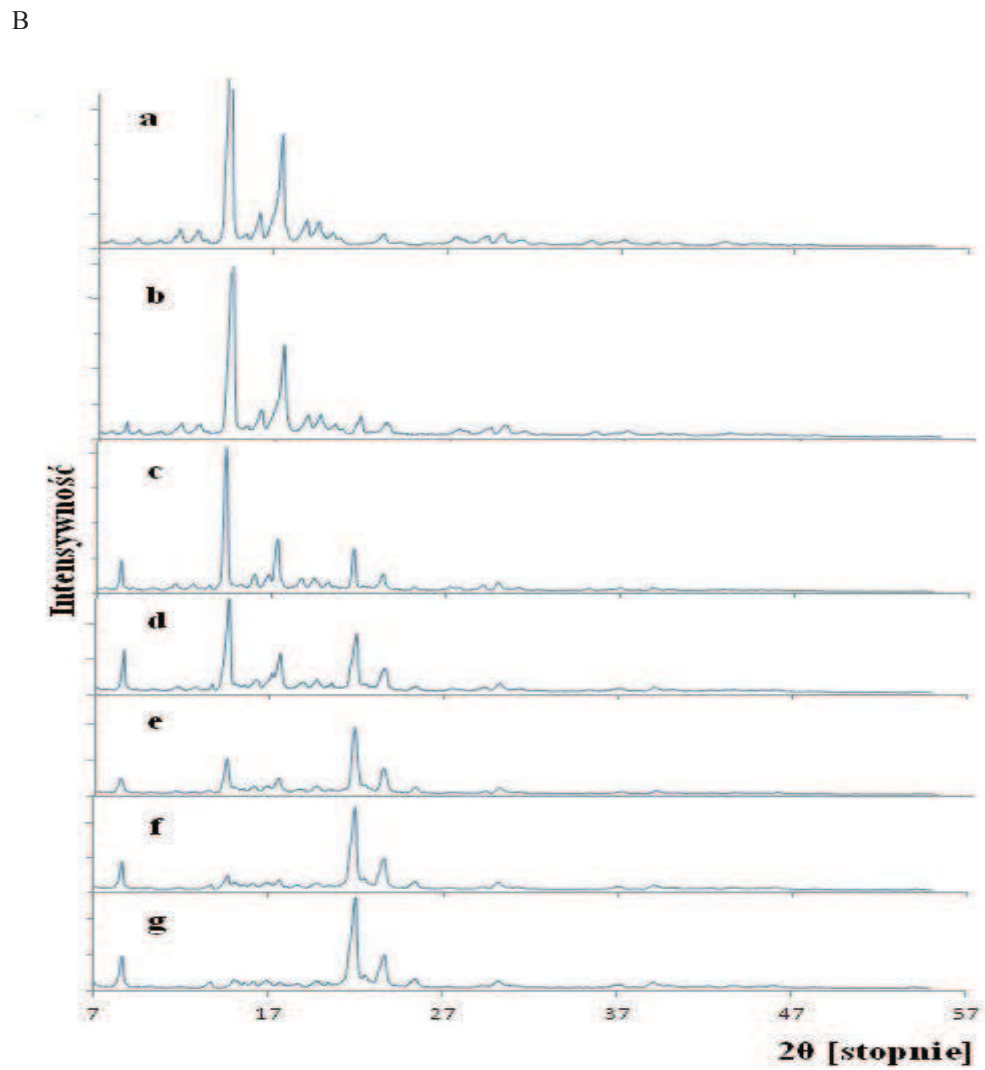
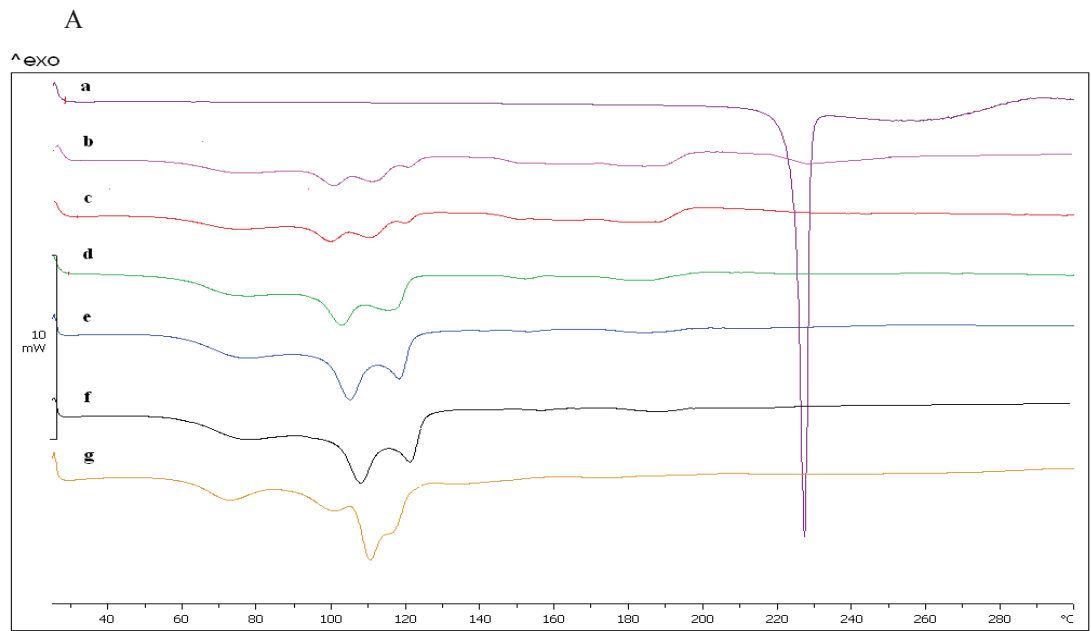
Rys. 40. (A) Krzywe DSC i (B) dyfraktogramy acetazolamidu (a), stearynianu magnezu (g) i ich mieszanin w stosunku molowym 9:1 (b), 7:3 (c), 1:1 (d), 3:7 (e), 1:9 (f).



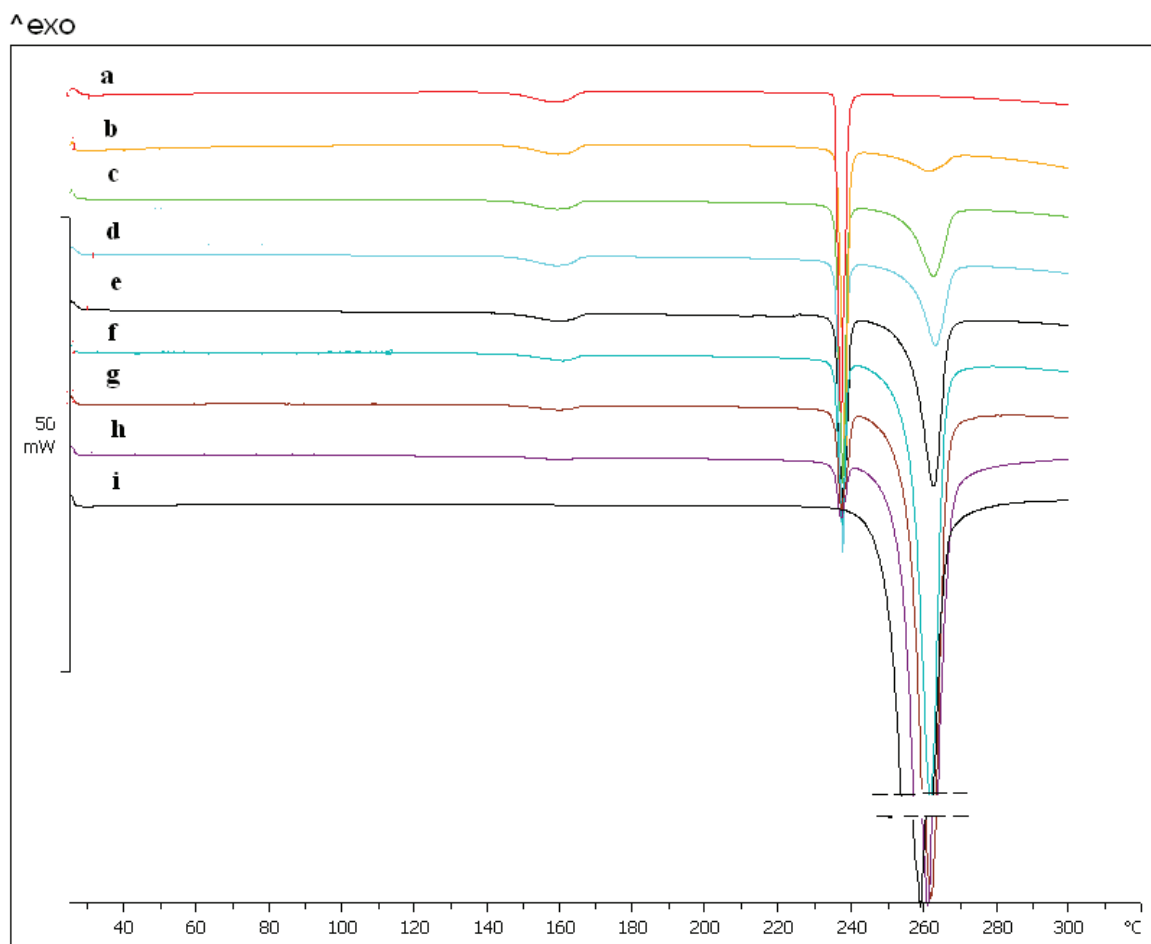
Rys. 41. (A) Krzywe DSC i (B) dyfraktogramy atenololu (a), laktozy (g) i ich mieszanin w stosunku molowym 9:1 (b), 7:3 (c), 1:1 (d), 3:7 (e), 1:9 (f).



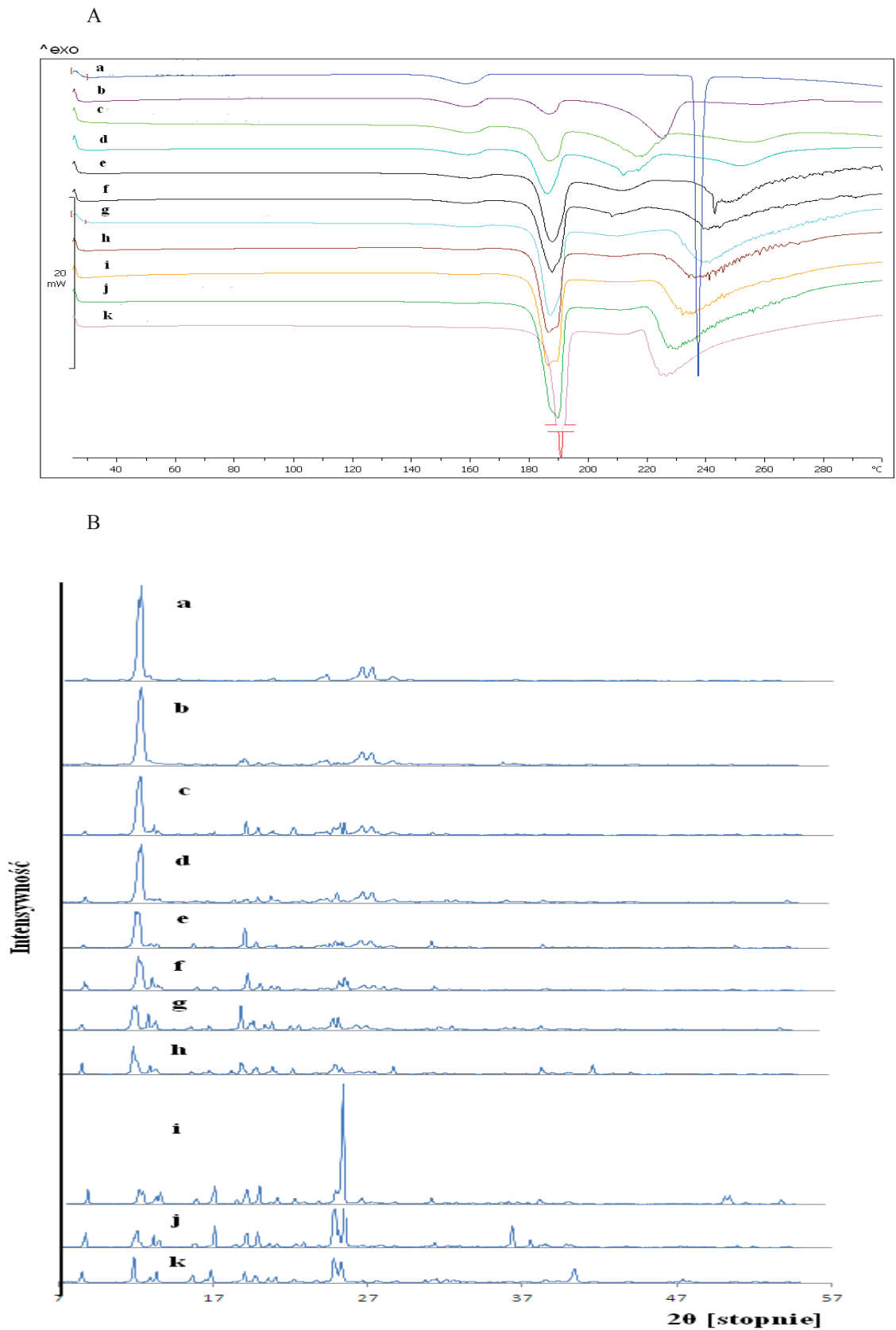
Rys. 42. (A) Krzywe DSC i (B) dyfraktogramy hydrokortyzonu (a), laktozy (g) i ich mieszanin w stosunku molowym 9:1 (b), 7:3 (c), 1:1 (d), 3:7 (e), 1:9 (f).



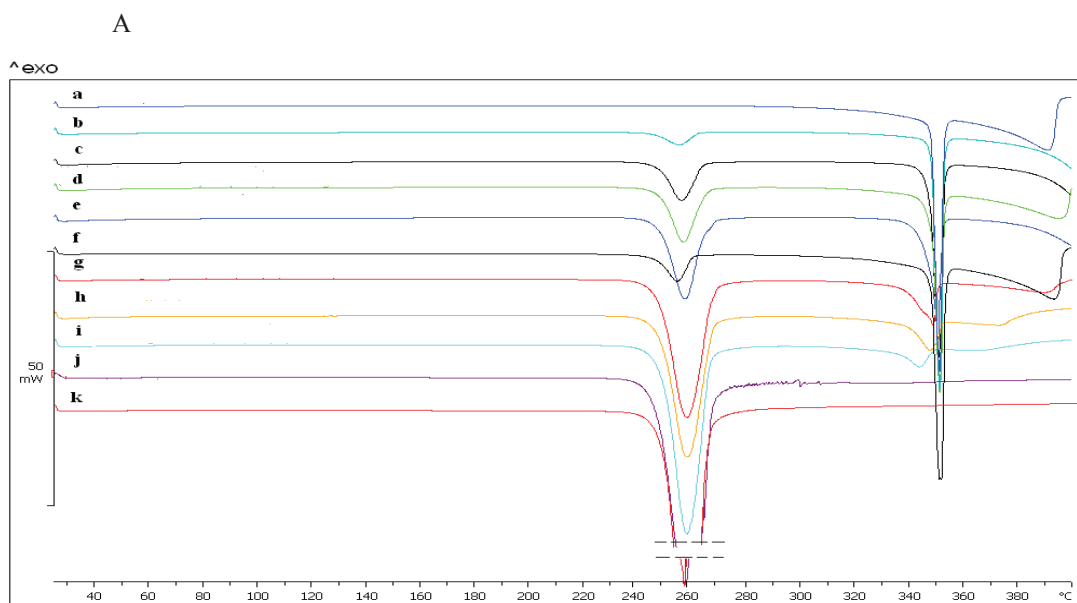
Rys. 43. (A) Krzywe DSC i (B) dyfraktogramy hydrokortyzonu (a), stearynianu magnezu (g) i ich mieszanin w stosunku molowym 9:1 (b), 7:3 (c), 1:1 (d), 3:7 (e), 1:9 (f).



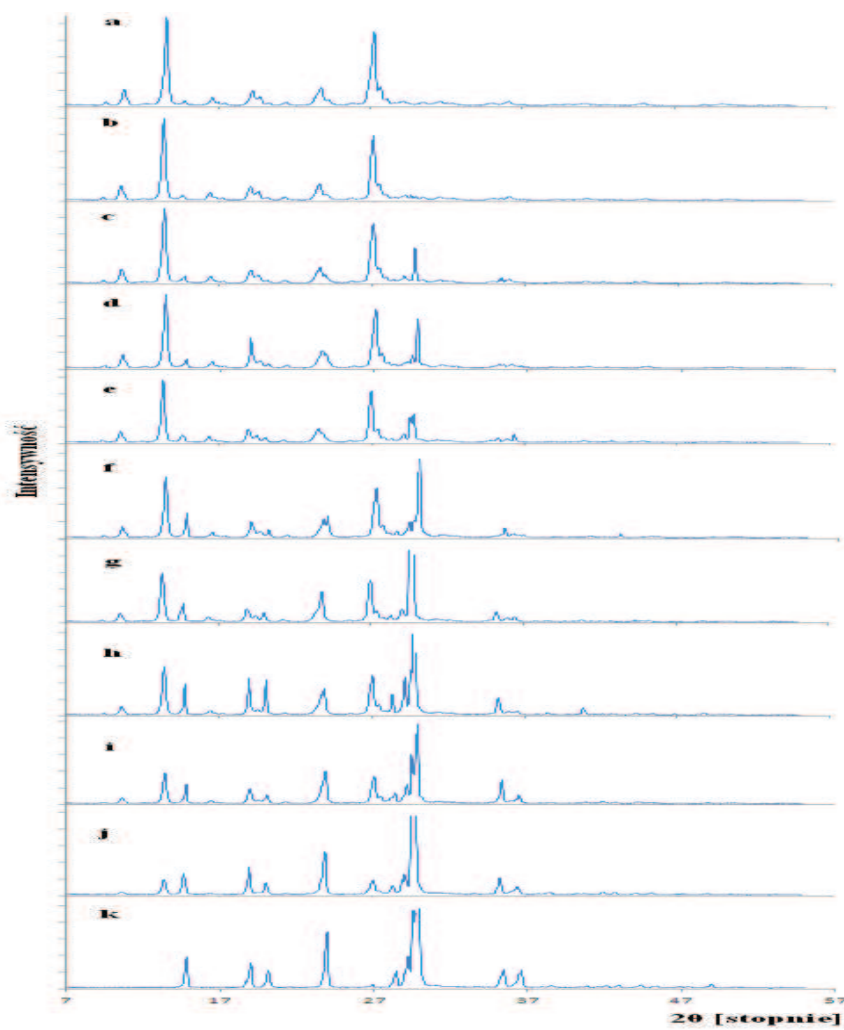
Rys. 44. Krzywe DSC kofeiny (a), glikokolu (k) i ich mieszanin w stosunku molowym 9:1 (b), 4:1 (c), 7:3 (d), 3:2 (e), 1:1 (f), 2:3 (g), 3:7 (h), 1:4 (i), 1:9 (j).



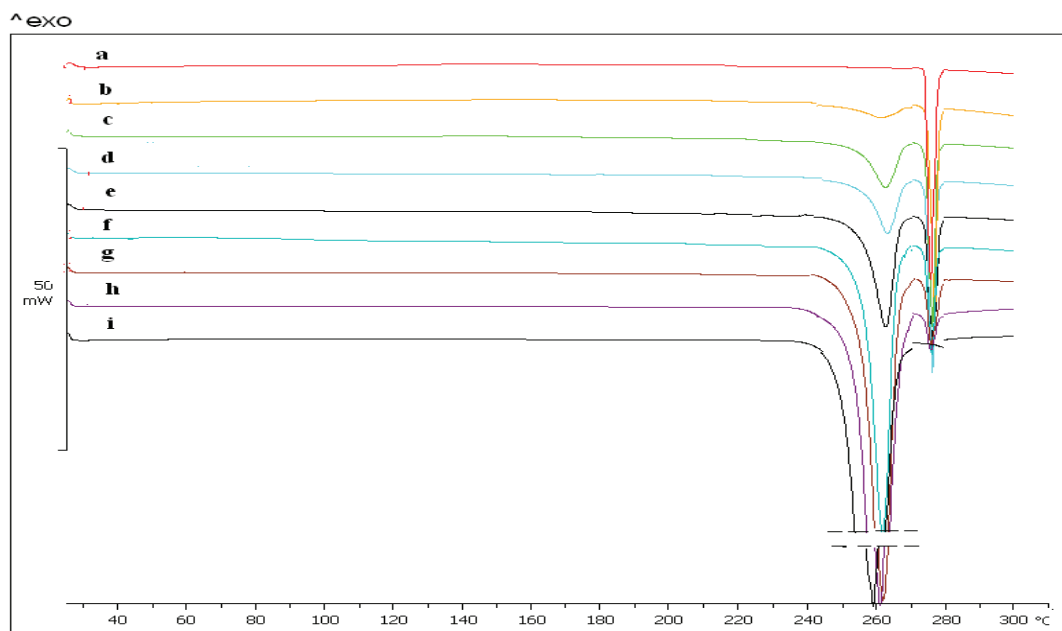
Rys. 45. (A) Krzywe DSC i (B) dyfraktogramy kofeiny (a), sacharozy (k) i ich mieszanin w stosunku molowym 9:1 (b), 4:1 (c), 7:3 (d), 3:2 (e), 1:1 (f), 2:3 (g), 3:7 (h), 1:4 (i), 1:9 (j).



B



Rys. 46. (A) Krzywe DSC i (B) dyfraktogramy teobrominy (a), glikokolu (k) i ich mieszanin w stosunku molowym 9:1 (b), 4:1 (c), 7:3 (d), 3:2 (e), 1:1 (f), 2:3 (g), 3:7 (h), 1:4 (i), 1:9 (j).



Rys. 47. Krzywe DSC teofiliny (a), glikokolu (k) i ich mieszanin w stosunku molowym 9:1 (b), 4:1 (c), 7:3 (d), 3:2 (e), 1:1 (f), 2:3 (g), 3:7 (h), 1:4 (i), 1:9 (j).

Tabela 15. Wyniki interpretacji dendrogramów CA i wykresów PCA.

Macierz	Substancja pomocnicza	Analiza chemometryczna				Wyniki analizy DSC i XRPD	
		Krzywe TG		Widma IR			
		CA	PCA	CA	PCA		
Acetazolamid							
2.	Laktoza	+	+	-	-	-	wykryto niezgodności między składnikami
5.	β -cyklodekstryna	+	+	-	-	-	składniki można mieszać, interakcji nie wykryto
8.	PVP	+	+	-	-	-	
9.	Stearynian magnezu	+	+	-	-	-	
Atenolol							
11.	Laktoza	-	-	+	+	+	wykryto niezgodności między składnikami
Hydrokortyzon							
29.	Laktoza	+	+	-	-	-	wykryto niezgodności między składnikami
36.	Stearynian magnezu	-	-	+	+	+	
Kofeina							
46.	Glikokol	-	-	+	+	+	składniki można mieszać, interakcji nie wykryto
49.	Sacharozą	+	+	-	-	-	wykryto niezgodności między składnikami
Teobromina							
52.	Glikokol	+	+	-	-	-	składniki można mieszać, interakcji nie wykryto
Teofilina							
58.	Glikokol	+	+	-	-	-	składniki można mieszać, interakcji nie wykryto

Cyfry arabskie zamieszczone w pierwszej kolumnie oznaczają numery macierzy danych z krzywych TG i widm IR, zgodne z numeracją zamieszczoną w Tabeli 12 (krzywe TG) oraz w Tabeli 14 (widma IR).

- + brak interakcji
- obecna interakcja

WNIOSKI

1. Wspomagane wielowymiarowymi technikami eksploracji danych badania termooanalityczne i spektroskopowe 63. układów złożonych z substancji leczniczych i substancji pomocniczych oraz ich dwuskładnikowych mieszanin fizycznych wskazały na przydatność analizy termograwimetrycznej i spektrofotometrii IR w identyfikacji potencjalnych niezgodności fizykochemicznych występujących w fazie preformulacji stałej postaci leku.
2. Niniejsza praca jest pierwszym opisanym w fachowej literaturze przypadkiem wykorzystania wielowymiarowych technik eksploracji danych - analizy skupień (CA) i analizy głównych składowych (PCA) jako metod wspomagających interpretację krzywych TG i widm IR, zwiększając ich użyteczność w wykrywaniu niezgodności pomiędzy substancjami leczniczymi i pomocniczymi.
3. Obliczenia CA i PCA wykonane na kilkuset macierzach danych uzyskanych na podstawie krzywych TG i widm IR wykazały, że najwięcej informacji o potencjalnych niezgodnościach fizykochemicznych dostarczają wykresy CA uzyskane w wyniku obliczeń z użyciem hierarchicznej aglomeracji Warda z euklidesową miarą odległości. W przypadku PCA, najbardziej czytelne rozmieszczenie badanych mieszanin na dwuwymiarowej płaszczyźnie PC1 względem PC2 uzyskano stosując algorytm - varimax znormalizowany.
4. Wyniki obliczeń CA wskazujące na brak niezgodności pomiędzy składnikami mieszanin, przedstawiały na dendrogramie dwa duże skupienia, z których jedno grupowało substancję pomocniczą i mieszaniny fizyczne o dużej zawartości substancji pomocniczej (najczęściej o stosunku substancji leczniczej do substancji pomocniczej wynoszącym 1:9, 3:7, także 1:1, a czasem nawet 7:3). Drugie skupienie stanowiła substancja lecznicza i mieszaniny o wysokiej zawartości substancji leczniczych (najczęściej o stosunku substancji leczniczej do substancji pomocniczej równym 9:1, 7:3, a także 1:1). Natomiast inna organizacja skupień niż opisana wyżej, wskazywała na niezgodności.
5. W przypadku obliczeń PCA, o braku niezgodności pomiędzy składnikami mieszanin wskazywała lokalizacja próbek wzdłuż osi PC1. Jeden ze składników znajdował się

przy najbardziej ujemnej wartości PC1, następnie ułożone były mieszaniny o stopniowo malejącej zawartości pierwszego, a wzrastającej zawartości drugiego składnika, po czym drugi składnik znajdował się przy najbardziej dodatnich wartościach osi PC2. Druga główna składowa o niewielkiej wariancji decydowała o tym, że badane próbki nie były ułożone w linii równoległej do osi PC1. Inne rozmieszczenie próbek na wykresie PC1 względem PC2 niż opisane wyżej wskazywało na niezgodności.

6. W przypadku metody TG, procent wyjaśnianej zmienności przez PC1 dla analizowanych mieszanin mieścił się w przedziale 41,6–78,7%. Natomiast druga główna składowa wyjaśniała od 11,2 do 36,7% zmienności próbek, trzecia 4,2–18,7%. W związku z takim rozkładem zmienności, interpretacje wyników obliczeń PCA przeprowadzono na wykresie dwuwymiarowym, PC1 względem PC2.
7. Procent wyjaśnianej zmienności uzyskany w wyniku wykorzystania PCA do interpretacji widm IR mieścił się w przedziale 50,3–92,8%, PC2 wyjaśniało od 5,6 do 41,9% zmienności, natomiast PC3 od 0,8 do 9,0% zmienności.
8. W przypadku 11. spośród 63. mieszanin, wyniki analizy TG i IR wspomagane wielowymiarowymi technikami eksploracji danych, różniły się oceną potencjalnych interakcji pomiędzy substancją leczniczą i pomocniczą. Analiza TG wspomagana CA i PCA w czterech przypadkach nie została potwierdzona wynikami uzyskanymi za pomocą technik DSC i XRPD. Natomiast analiza IR wspomagana CA i PCA w siedmiu przypadkach dała odmienne wyniki niż DSC i XRPD.
9. Różnice w interpretacji krzywych TG i widm IR za pomocą CA i PCA dotyczyły w większości mieszanin acetazolamidu z substancjami pomocniczymi, a w mniejszym stopniu mieszanin hydrokortyzonu i kofeiny. Najbardziej zgodne wyniki uzyskano dla mieszanin atenololu, teobrominy i teofiliny z substancjami pomocniczymi. Natomiast laktoza, glikokol i stearynian magnezu stanowiły substancje pomocnicze najczęściej generujące rozbieżności w interpretacji wyników CA i PCA. Powodem różnic w interpretacji wyników obu metod może być mniej dokładny odczyt temperatury z krzywej TG w porównaniu do zapisu cyfrowego spektrofotometru IR, również mała liczba danych wyznaczonych z krzywych TG w zakresie 20-300°C. W przypadku widm IR wykorzystano 402. wartości transmitancji do obliczeń CA i PCA.

10. Wyniki obliczeń CA i PCA w oparciu o dane uzyskane z krzywych TG i widm IR zostały potwierdzone za pomocą analiz DSC i dyfrakcyjnej rentgenowskiej analizy proszkowej.
11. W efekcie przeprowadzonych badań opracowano prostą, szybką i powtarzalną procedurę identyfikacji potencjalnych niezgodności fizykochemicznych między składnikami w mieszaninach substancji leczniczych i pomocniczych. Wprowadzenie do interpretacji wyników TG i IR technik analizy wielowymiarowej jest pierwszą udaną próbą wykorzystania technik eksploracji danych jako narzędzi wspomagających potwierdzenie faktu wystąpienia niezgodności między składnikami mieszanin.

BIBLIOGRAFIA

1. Skoog D.A., West D.M., Holler F.J., Crouch S.R., *Podstawy chemii analitycznej*, Tom 1 i 2, PWN, Warszawa 2006.
2. Szczepaniak W., *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, PWN, Wyd. V, Warszawa 2008.
3. McMahon G., *Analytical instrumentation: A guide to laboratory, portable and miniaturized instruments*, J. Wiley & Sons, Chichester 2007.
4. Konieczka P., Namieśnik J., *Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych*, WNT, Warszawa 2009.
5. Farmakopea Polska VII, Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Warszawa 2006.
6. Farmakopea Polska VIII, Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Warszawa 2008.
7. Ford J.L., Timmins P., *Pharmaceutical thermal analysis: Techniques and applications*, Ellis Horwood, Chichester 1989.
8. Gabbott P. (Ed.), *Principles and applications of thermal analysis*, Blackwell Publishing, Oxford 2008.
9. Haines P.J. (Ed.), *Principles of thermal analysis and calorimetry*, Royal Society of Chemistry, Cambridge 2002.
10. Höhne G.W.H., Hemminger W., Flammersheim H.J., *Differential scanning calorimetry, An introduction for practitioners*, Springer-Verlag, Wyd. II, Berlin 2003.
11. Giron D., Goldbronn C., *Use of DSC and TG for identification and quantification of the dosage form*, Journal of Thermal Analysis, 48 (1997) 473-483.
12. Giron D., Goldbronn C., *Use of sub-ambient DSC to complement conventional DSC and TG. The study of water adsorption of drug substances and excipients*, Journal of Thermal Analysis, 49 (1997) 907-912.
13. Giron D., *Thermal analysis, microcalorimetry and combined techniques for the study of pharmaceuticals*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 56 (1999) 1285-1304.
14. Giron D., *Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 68 (2002) 335-357.
15. Glass B.D., Novák Cs., Brown M.E., *The thermal and photostability of solid pharmaceuticals*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 77 (2004) 1013-1036.
16. Bond L., Allen S., Davies M.C., Roberts C.J., Shivji A.P., Tendler S.J.B., Williams P.M., Zhang J., *Differential scanning calorimetry and scanning thermal microscopy analysis of pharmaceutical materials*, International Journal of Pharmaceutics, 243 (2002) 71-82.
17. Grundner C.L., Poiesz K.B., Redman-Furey N.L., *Development and use of a TG-DTA-microscope for evaluation of pharmaceutical materials*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 85 (2006) 91-98.
18. Bruni G., Amici L., Berbenni V., Marini A., Orlandi A., *Drug-excipient compatibility studies. Search of interaction indicators*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 68 (2002) 561-573.
19. McDaid F.M., Barker S.A., Fitzpatrick S., Petts C.R., Craig D.Q.M., *Further investigations into the use of high sensitivity differential scanning calorimetry as a means of predicting drug-excipient interactions*, International Journal of Pharmaceutics, 252 (2003) 235-240.
20. Mura P., Gratteri P., Faucci M.T., *Compatibility studies of multicomponent tablet formulations. DSC and experimental mixture design*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 68 (2002) 541-551.
21. Picker K.M., *The relevance of glass transition temperature for the process of tablet formation*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 73 (2003) 597-605.

22. Rodante F., Vecchio S., Catalani G., Tomassetti M., *Application of TA and kinetic study to compatibility and stability problems in some commercial drug. Remarks on statistical data*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 66 (2001) 155-178.
23. Craig D.Q.M., Kett V.L., Andrews C.S., *Pharmaceutical applications of micro-thermal analysis*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 91 (2002) 1201-1213.
24. Kerč J., Srčić S., *Thermal analysis of glassy pharmaceuticals*, Thermochemica Acta, 248 (1995) 81-95.
25. Price D.M., Reading M., Hammiche A., Pollock H.M., *Micro-thermal analysis: scanning thermal microscopy and localised thermal analysis*, International Journal of Pharmaceutics, 192 (1999) 85-96.
26. Stoch L., *Przegląd metod analizy termicznej*, Materiały konferencyjne, II Szkoła Analizy Termicznej, Zakopane 1998.
27. Gallagher P.K., Brown M., *Handbook of thermal analysis and calorimetry*, Tom 5: Recent advances, techniques and applications, Elsevier B.V., Amsterdam 2008.
28. Wesołowski M., Konarski T., *Metody analizy termicznej w badaniu reakcji substancji leczniczych w fazie stałej*, Farmacja Polska, 59 (1998) 121-135.
29. Wesołowski M., *Współczesne metody analizy termicznej. Podstawowe pojęcia i definicje*, Laboratorium, Przegląd ogólnopolski, 3 (2007) 40-44.
30. Adeyeye M.Ch., Brittain H.G., *Preformulation in solid dosage form development*, Informa Healthcare; Inc., New York 2008.
31. Craig D.Q.M., Reading M., *Thermal analysis of pharmaceuticals*, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton 2007.
32. Gallagher P.K., Brown M., *Handbook of thermal analysis and calorimetry*, Tom 1: Principles and practice, Elsevier B.V., Amsterdam 2008.
33. Klančnik G., Medved J., Mrvar P., *Differential thermal analysis (DTA) and differential scanning calorimetry (DSC) as a method of material investigation*, RMZ-Materials and Geoenvironment, 57 (2010) 127-142.
34. Wesołowski M., *Polimorfizm substancji leczniczych - Fizykochemiczne metody badania*, Farmacja Polska, 56 (2000) 3-19.
35. Wesołowski M., *Różnicowa analiza termiczna (DTA) i różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC) w analizie czystości substancji leczniczych*, Farmacja Polska, 59 (2003) 105-114.
36. Yang J., Roy C., *Using DTA to quantitatively determine enthalpy change over a wide temperature range by the „mass-difference baseline method”*, Thermochemica Acta, 333 (1999) 131-140.
37. Boettinger W.J., Kattner U.R., Moon K.W., *DTA and heat-flux DSC measurements of alloy melting and freezing*, NIST, Washington 2006.
38. Sorai M., *Comprehensive handbook of calorimetry and thermal analysis*, J. Wiley & Sons, Chichester, 2004.
39. Wesołowski M., *Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC) w technologii stałych postaci leków. Wybrane przykłady zastosowań*, Farmacja Polska, 59 (2003) 1007-1020.
40. Agherghinei I., *Thermogravimetry. Analysis of the parameters of the DTG maximum*, Thermochemica Acta, 285 (1996) 57-65.
41. Seungdo K., Park J.K., *Characterization of thermal reaction by peak and height of DTG curves*, Thermochemica Acta, 264 (1995) 137-156.
42. Chen D., Dollimore D., *The possibility of manufacturing a single-pan differential thermal analyzer unit*, Thermochemica Acta, 249 (1995) 259-267.
43. Aggarwal P., Dollimore D., *The use of the temperature signal and its derivative in a TG-DTA simultaneous unit*, Journal of Thermal Analysis, 50 (1997) 719-726.

44. Ando H., Watanabe S., Ohwaki T., Miyake Y., *Crystallization of excipients in tablets*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 74 (1985) 128-131.
45. Bucci R., Magri A.D., Magri A.L., *DSC in the chemical analysis of drugs. Determination of diclofenac in pharmaceutical formulations*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 61 (2000) 369-376.
46. Wesółowski M., *Analysis of drug formulations by thermal decomposition*, Thermochimica Acta, 209 (1992) 223-251.
47. Waterman K.C., Adami R.C., *Accelerated aging: Prediction of chemical stability of pharmaceuticals*, International Journal of Pharmaceutics, 293 (2005) 101-125.
48. Galwey A.K., *Melting and thermal decompositions of solid. An appraisal of mechanistic interpretations of thermal processes in crystals*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 87 (2007) 601-615.
49. Wesółowski M., Konarski T., *Investigation of the thermal decomposition of some calcium salts used in medicine*, Chemical Analysis (Warsaw), 41 (1996) 387-397.
50. Wesółowski M., Kosecka E., Erecińska J., Kobyłczyk K., *The influence of chemical structure of sulfonamides on the course of their thermal decomposition*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 74 (2003) 465-476.
51. Sykuła A., Łodyga-Chruścińska E., Zakrzewski M., *Polimorfizm - jego wpływ na substancje farmaceutyczne. Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej*, Nr 984, Chemia Spożywcza i Biotechnologia, 70 (2006) 93-106.
52. Giron D., *Thermal analysis and calorimetric methods in the characterization of polymorphs and solvates*, Thermochimica Acta, 248 (1995) 1-59.
53. Bernstein J., *Polymorphism in molecular crystals*, University Press, Oxford 2002.
54. Avula S.G., Alexander K., Riga A., *Predicting eutectic behavior of drugs and excipients by unique calculations*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 99 (2010) 655-658.
55. Torrado-Santiago A., Torrado J.J., Cadorniga R., *Effect of different excipients on release characteristics of acetylsalicylic acid from compressed pellets*, Pharmazie, 50 (1995) 476-478.
56. Wissing S., Craig D.Q.M., Barker S.A., Moore W.D., *An investigation into the use of stepwise isothermal high sensitivity DSC as a means of detecting drug-excipient incompatibility*, International Journal of Pharmaceutics, 199 (2000) 141-150.
57. Ceschel G.C., Badiello R., Ronchi C., Maffei P., *Degradation of components in drug formulations: A comparison between HPLC and DSC methods*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 32 (2003) 1067-1072.
58. Harding L., Hill S.Qi.G., Reading M., Craig D.Q.M., *The development of microthermal analysis and photothermal microspectroscopy as novel approaches to drug-excipient compatibility studies*, International Journal of Pharmaceutics, 354 (2008) 149-157.
59. Wakasawa T., Sano K., Hirakura Y., Toyo'oka T., Kitamura S., *Solid-state compatibility studies using a high-throughput and automated forced degradation system*, International Journal of Pharmaceutics, 355 (2008) 164-173.
60. Tita D., Jurca T., Fulas A., Maria E., Tita B., *Compatibility study of the acetylsalicylic acid with different solid dosage forms excipients*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 112 (2013) 407-419.
61. Wytenbach N., Birringer Ch., Alsenz J., Kuentz M., *Drug-excipient compatibility testing using a high-throughput approach and statistical design*, Pharmaceutical Development and Technology, 10 (2005) 499-505.

62. Freire F.D., Aragão C.F.S., de Lima e Moura T.F.A., Raffin F.N., *Compatibility study between chlorpropamide and excipients in their physical mixtures*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 97 (2009) 355-357.
63. Souza F.S., Macedo R.O., Veras J.W.E., *Studies of cimetidine pre-formulated and tablets for TG and DSC coupled to the photovisual system*, Thermochemica Acta, 392-393 (2002) 99-106.
64. Nep E.I., Conway B.R., *Preformulation studies on grewia gum as a formulation excipient*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 108 (2012) 197-205.
65. Lahiani-Skiba M., Boulet Y., Youm I., Bounoure F., Vérité P., Arnaud P., Skiba M., *Interaction between hydrophilic drug and α -cyclodextrins: physico-chemical aspects*, Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 57 (2007) 211-217.
66. Chadha R., Kapoor V.K., Kumar A., *Analytical techniques used to characterize drug-polyvinylpyrrolidone systems in solid and liquid states – An overview*, Journal of Scientific and Industrial Research, 65 (2006) 459-469.
67. Wu Y., Fassihi R., *Stability of metronidazol, tetracycline HCl and famotidine alone and in combination*, International Journal of Pharmaceutics, 290 (2005) 1-13.
68. Oliveira G.G.G., Ferraz H.G., Matos J.S.R., *Thermoanalytical study of glibenclamide and excipients*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 79 (2005) 267-270.
69. Mura P., Furlanetto S., Cirri M., Maestrelli F., Marras A.M., Pinzauti S., *Optimization of glibenclamide tablet composition through the combined use of differential scanning calorimetry and D-optimal mixture experimental design*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 37 (2005) 65-71.
70. Cides L.C.S., Araújo A.A.S., Santos-Filho M., Matos J.R., *Thermal behaviour, compatibility study and decomposition kinetics of glimepiride under isothermal and non-isothermal conditions*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 84 (2006) 441-445.
71. Verma R.K., Garg S., *Selection of excipients for extended release formulations of glipizide through drug-excipient compatibility testing*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 38 (2005) 633-644.
72. Moyano M.A., Broussalis A.M., Segall A.I., *Thermal analysis of lipoic acid and evaluation of the compatibility with excipients*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 99 (2010) 631-637.
73. Zielenkiewicz W., Terekhova I.V., Marcinowicz A., Koźbial M., Poznanski J., *Interactions of native and modified cyclodextrins with some B-vitamins. Calorimetric and 1H NMR study*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 93 (2008) 365-372.
74. Vandelli M.A., Salvioli G., Mucci A., Panini R., Malmusi L., Forni F., *2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin complexation with ursodeoxycholic acid*, International Journal of Pharmaceutics, 118 (1995) 77-83.
75. Santos A.F.O., Basílio Jr I.D., de Souza F.S., Medeiros A.F.D., Pinto M.F., de Santana D.P., Macêdo R.O., *Application of thermal analysis of binary mixtures with metformin*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 93 (2008) 361-364.
76. Corti G., Cirri M., Maestrelli F., Mennini N., Mura P., *Sustained-release matrix tablets of metformin hydrochloride in combination with triacetyl- β -cyclodextrin*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 68 (2008) 303-309.
77. Pani N.R., Nath L.K., Acharya S., Bhuniya B., *Application of DSC, IST, and FTIR study in the compatibility testing of nateglinide with different pharmaceutical excipients*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 108 (2012) 219-226.

78. Pani N.R., Nath L.K., Acharya S., *Compatibility studies of nateglinide with excipients in immediate release tablets*, Acta Pharmaceutica, 61 (2011) 237-247.
79. Malan C.E.P., de Villiers M.M., Lötter A.P., *Application of differential scanning calorimetry and high performance liquid chromatography to determine the effects of mixture composition and preparation during the evaluation of niclosamide-excipient compatibility*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 15 (1997) 549-557.
80. Kalinkova G.N., *Studies of beneficial interactions between active medicaments and excipients in pharmaceutical formulations*, International Journal of Pharmaceutics, 187 (1999) 1-15.
81. Agatonovic-Kustrin S., Markovic N., Ginic-Markovic M., Mangan M., Glass B.D., *Compatibility studies between mannitol and omeprazole sodium isomers*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 48 (2008) 356-360.
82. Martínez L., Uribarri E., Laguna A., *Characterization and compatibility studies between policosanol, a new hypocholesterolemic drug, and tablet excipients using differential scanning calorimetry (DSC)*, Pharmazie, 332 (1999) 439-441.
83. Kedzierewicz F., Villieras F., Zinutti C., Hoffman M., Maincent P., *A 3 year stability study of tolbutamide solid dispersions and β -cyclodextrin complex*, International Journal of Pharmaceutics, 117 (1995) 247-251.
84. Veiga F., Teixeira-Dias J.J.C., Kedzierewicz F., Sousa A., Maincent P., *Inclusion complexation of tolbutamide with β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin*, International Journal of Pharmaceutics, 129 (1996) 63-71.
85. Desai S.R., Shaikh M.M., Dharwadkar S.R., *Preformulation compatibility studies of etamsylate and fluconazole drugs with lactose by DSC*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 71 (2003) 651-658.
86. Lerdkanchanaporn S., Dollimore D., Alexander K.S., *A thermogravimetric study of ascorbic acid and its excipients in pharmaceutical formulations*, Thermochimica Acta, 284 (1996) 115-126.
87. Cavatur R., Vemuri N.M., Chrzan Z., *Use of isothermal microcalorimetry in pharmaceutical preformulation studies. Part III. Evaluation of excipient compatibility of a new chemical entity*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 78 (2004) 63-72.
88. Duda-Seiman C., Vlase T., Vlase G., Duda-Seiman D., Albu P., Doca N., *Thermal analysis study of amlodipine as pure compound and in binary mixture*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 105 (2011) 677-683.
89. Pyramides G., Robinson J.W., Zito S.W., *The combined use of DSC and TGA for the thermal analysis of atenolol tablets*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 13 (1995) 103-110.
90. Ficarra R., Ficarra P., Di Bella M.R., Raneri D., Tommasini S., Calabrò M.L., Villari A., Coppolino S., *Study of the inclusion complex of atenolol with β -cyclodextrins*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 23 (2000) 231-236.
91. Marini A., Berbenni V., Moiola S., Pegoretti M., Bruni G., Cofrancesco P., Sinistri C., Villa M., *Drug-excipient compatibility studies by physico-chemical techniques. The case of atenolol*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 73 (2003) 547-561.
92. Freitas M.N., Alves R., Matos J.R., Marchetti J.M., *Thermal analysis applied in the osmotic tablets preformulation studies*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 87 (2007) 905-911.

93. Nikolić V., Nikolić L., Stanković M., Kapor A., Popsavin M., Cvetković D., *A molecular inclusion complex of atenolol with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin; the production and characterization thereof*, Journal of the Serbian Chemical Society, 72 (2007) 737-746.
94. Thomas V.H., Naath M., *Design and utilization of the drug-excipient chemical compatibility automated system*, International Journal of Pharmaceutics, 359 (2008) 150-157.
95. Bonferoni M.C., Rossi S., Ferrari F., Bettinetti G.P., Caramella C., *Characterization of a diltiazem-lambda carrageenan complex*, International Journal of Pharmaceutics, 200 (2000) 207-216.
96. Rezende R.L.O., Santoro M.I.R.M., Matos J.R., *Stability and compatibility study on enalapril maleate using thermoanalytical techniques*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 93 (2008) 881-886.
97. Balestrieri F., Magri A.D., Magri A.L., Marini D., Sacchini A., *Application of differential scanning calorimetry to the study of drug-excipient compatibility*, Thermochimica Acta, 285 (1996) 337-345.
98. Verma R.K., Garg S., *Compatibility studies between isosorbide mononitrate and selected excipients used in the development of extended release formulations*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 35 (2004) 449-458.
99. Stulzer H.K., Rodrigues P.O., Cardoso T.M., Matos J.S.R., Silva M.A.S., *Compatibility studies between captopril and pharmaceutical excipients used in tablets formulations*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 91 (2008) 323-328.
100. Yoshida M.I., Oliveira M.A., Gomes E.C.I., Mussel W.N., Castro W.V., Soares C.D.V., *Thermal characterization of lovastatin in pharmaceutical formulations*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 106 (2011) 657-664.
101. Filho R.O.C., Franco P.I.B.M., Conceição E.C., Leles M.I.G., *Stability studies on nifedipine tablets using thermogravimetry and differential scanning calorimetry*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 93 (2008) 381-385.
102. Yang X., Ke W., Zi P., Liu F., Yu L., *Detecting and identifying the complexation of nimodipine with hydroxypropyl- β -cyclodextrin present in tablets by Raman spectroscopy*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 97 (2007) 2702-2719.
103. Macêdo R.O., Nascimento T.G., Veras J.W.E., *Compatibility and stability studies of propranolol hydrochloride binary mixtures and tablets for TG and DSC-photovisual*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 67 (2002) 483-489.
104. Lee H.-K., Hajdu J., McGoff P., *Propranolol; methacrylic acid copolymer binding interaction*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 80 (1991) 178-180.
105. Neubert R., Fritsch B., Dongowski G., *Interactions between food components and drugs. Part 3: Interactions between pectin and propranolol*, Pharmazie, 50 (1995) 414-416.
106. Roumeli E., Tsiapranta A., Pavlidou E., Vourlias G., Kachrimanis K., Bikiaris D., Chrissafis K., *Compatibility study betweentrandolapril and natural excipients used in solid dosage forms*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 111 (2013) 2109-2115.
107. Nunes R.S., Semaan F.S., Riga A.T., Cavalheiro E.T.G., *Thermal behavior of verapamil hydrochloride and its association with excipients*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 97 (2009) 349-353.
108. Duda-Seiman C., Vlase T., Vlase G., Cinca R., Anghel M., Doca N., *Thermal behavior of verapamil in pure and in solid dosage forms*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 105 (2011) 851-858.

109. Ribeiro A., Figueiras A., Santos D., Veiga F., *Preparation and solid-state characterization of inclusion complexes formed between miconazole and methyl- β -cyclodextrin*, American Association of Pharmaceutical Scientists, 9 (2008) 1102-1109.
110. Lira A.A.M., Nanclares D.M.A., Neto A.F., Marchetti J.M., *Drug-polymer interaction in the all-trans retinoic acid release from chitosan microparticles*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 87 (2007) 899-903.
111. Mura P., Maestrelli F., Cirri M., Furlanetto S., Pinzauti S., *Differential scanning calorimetry as an analytical tool in the study of drug-cyclodextrin interactions*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 73 (2003) 635-646.
112. Al-Hallak M.H.D.K., Xu Z., Ghaffari F., Löbenberg R., *The effect of compression forces on the stability of dibasic calcium phosphate dihydrate tablets in the presence of glutamic acid hydrochloride monitored by isothermal calorimetry*, Thermochimica Acta, 467 (2008) 86-90.
113. Terada K., Masuda T., Yoshihashi Y., Yonemochi E., *Application of microcalorimetry to the formulation study*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 85 (2006) 675-680.
114. Cavalli R., Peira E., Caputo O., Gasco M.R., *Solid lipid nanoparticles as carriers of hydrocortisone and progesterone complexes with β -cyclodextrins*, International Journal of Pharmaceutics, 182 (1999) 59-69.
115. Júlio T.A., Zâmara I.F., Garcia J.S., Trevisan M.G., *Compatibility of sildenafil citrate and pharmaceutical excipients by thermal analysis and LC-UV*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 111 (2013) 2037-2044.
116. Preiss A., Mehnert W., Fromming K.-H., *Penetration of hydrocortisone into excised human skin under the influence of cyclodextrins*, Pharmazie, 50 (1995) 121-126.
117. Neto H.S., Novák Cs., Matos J.R., *Thermal analysis and compatibility studies of prednicarbate with excipients used in semi solid pharmaceutical form*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 97 (2009) 367-374.
118. Medeiros A.C.D., Cervantes N.A.B., Gomes A.P.B., Macêdo R.O., *Thermal stability of prednisone drug and tablets*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 64 (2001) 745-750.
119. Barboza F., Vecchia D.D., Tagliari M.P., Silva M.A.S., Stulzer H.K., *Differential scanning calorimetry as a screening technique in compatibility studies of acyclovir extended release formulations*, Pharmaceutical Chemistry Journal, 43 (2009) 363-368.
120. Gasheva L.M., Kalinkova G., Minkov E., Krestev V., *IR spectroscopic investigations of amoxicillin trihydrate included in the technological models sirup granules in ethylcellulose*, Journal of Molecular Structure, 115 (1984) 323-326.
121. Rodante F., Vecchio S., Catalani G., Tomassetti M., *Compatibility between active components of a commercial drug*, Il Farmaco, 57 (2002) 833-843.
122. Abbas D., Kaloustian J., Orneto C., Piccerelle P., Portugal H., Nicolay A., *DSC and physico-chemical properties of a substituted pyridoquinoline and its interaction study with excipients*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 93 (2008) 353-360.
123. Rohrs B.R., Thamann T.J., Gao P., Stelzer D.J., Bergren M.S., Chao R.S., *Tablet dissolution affected by a moisture mediated solid-state interaction between drug and disintegrant*, Pharmaceutical Research, 16 (1999) 1850-1856.
124. Singh A.V., Nath L.K., *Evaluation of compatibility of tablet excipients and novel synthesized polymer with lamivudine*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 108 (2012) 263-267.

125. Singh A.V., Nath L.K., *Evaluation of compatibility of lamivudine with tablet excipients and a novel synthesized polymer*, Journal of Materials and Environmental Science, 2 (2011) 243-250.
126. Singh A.V., Nath L.K., *Synthesis, characterization, and compatibility study of acetylated starch with lamivudine*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 108 (2012) 307-313.
127. Pinto M.F., de Moura E.A., de Souza F.S., Macêdo R.O., *Thermal compatibility studies of nitroimidazoles and excipients*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 102 (2010) 323-329.
128. Kiss D., Zelkó R., Novák Cs., Éhen Zs., *Application of DSC and NIRS to study the compatibility of metronidazole with different pharmaceutical excipients*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 84 (2006) 447-451.
129. Sanganwar G.P., Sathigari S., Babu R.J., Gupta R.B., *Simultaneous production and co-mixing of microparticles of nevirapine with excipients by supercritical antisolvent method for dissolution enhancement*, European Journal of Pharmaceutical Sciences, 39 (2010) 164-174.
130. Guyot M., Fawaz F., Bildet J., Bonini F., Laguény A.-M., *Physicochemical characterization and dissolution of norfloxacin/cyclodextrin inclusion compounds and PEG solid dispersions*, International Journal of Pharmaceutics, 123 (1995) 53-63.
131. Soares M.F.L.R., Soares-Sobrinho J.L., da Silva K.E.R., Alves L.D.S., Lopes P.Q., Correia L.P., de Souza F.S., Macêdo R.O., Rolim-Neto P.J., *Thermal characterization of antimicrobial drug ornidazole and its compatibility in a solid pharmaceutical product*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 104 (2011) 307-313.
132. Misra M., Misra A.K., Panpalia G.M., *Interaction study between pefloxacin mesilate and some diluents using DSC supported with isothermal method*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 89 (2007) 803-808.
133. Kawashima Y., Lin S.Y., Takenaka H., *Polymorphism and drug release behavior of spray-dried microcapsules of sulfamethaxazole with polysaccharide gum and colloidal silica*, Drug Development and Industrial Pharmacy, 9 (1983) 1445-1463.
134. Araújo A.A.S., Storpirtis S., Mercuri L.P., Carvalho F.M.S., Santos Filho M., Matos J.R., *Thermal analysis of the antiretroviral zidovudine (AZT) and evaluation of the compatibility with excipients used in solid dosage forms*, International Journal of Pharmaceutics, 260 (2003) 303-314.
135. Schmitt E.A., Peck K., Sun Y., Geoffroy J.-M., *Rapid, practical and predictive excipient compatibility screening using isothermal microcalorimetry*, Thermochemica Acta, 380 (2001) 175-183.
136. Singh B.N., Kim K.H., *Characterization and relevance of physicochemical interactions among components of a novel multiparticulate formulation for colonic delivery*, International Journal of Pharmaceutics, 341 (2007) 143-151.
137. Green A.R., Miller E.S., Guillory J.K., *Physical properties of the complexes formed between heptakis (2,6-di-O-methyl)- β -cyclodextrin, β -cyclodextrin, and chlorambucil*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 80 (1991) 186-189.
138. Łaszcz M., Kosmacińska B., Korczak K., Śmigielska B., Glice M., Maruszak W., Groman A., Beczkowicz H., Żelazko Ł., *Study on compatibility of imatinib mesylate with pharmaceutical excipients*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 88 (2007) 305-310.
139. Lira A.M., Araújo A.A.S., Basílio I.D.J., Santos B.L.L., Santana D.P., Macedo R.O., *Compatibility studies of lapachol with pharmaceutical excipients for the development of topical formulations*, Thermochemica Acta, 457 (2007) 1-6.

140. Cunha-Filho M.S.S., Martínez-Pacheco R., Landín M., *Compatibility of the antitumoral β -lapachone with different solid dosage forms excipients*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 45 (2007) 590-598.
141. Aigner Z., Heinrich R., Sipos E., Farkas G., Ciurba A., Berkesi O., Szabó-Révész P., *Compatibility studies of aceclofenac with retard tablet excipients by means of thermal and FT-IR spectroscopic methods*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 104 (2011) 265-271.
142. Ammar H.O., El-Nahhas S.A., *Improvement of some pharmaceutical properties of drugs by cyclodextrin complexation. I. Allopurinol*, Pharmazie, 50 (1995) 49-51.
143. Cutrignelli A., Denora N., Lopodota A., Trapani A., Laquintana V., Latrofa A., Trapani G., Liso G., *Comparative effects of some hydrophilic excipients on the rate of gabapentin and baclofen lactamization in lyophilized formulations*, International Journal of Pharmaceutics, 332 (2007) 98-106.
144. Abdelkader H., Abdalla O.Y., Salem H., *Formulation of controlled-release baclofen matrix tablets II: Influence of some hydrophobic excipients on the release rate and in vitro evaluation*, American Association of Pharmaceutical Scientists, 9 (2008) 675-683.
145. Monajjemzadeh F., Hassanzadeh D., Valizadeh H., Siahi-Shadbad M.R., Mojarrad J.S., Robertson T., Roberts M., *Assessment of feasibility of Maillard reaction between baclofen and lactose by liquid chromatography and tandem mass spectrometry, application to pre formulation studies*, American Association of Pharmaceutical Scientists, 10 (2009) 649-659.
146. Abdelkader H., Abdalla O.Y., Salem H., *Formulation of controlled-release baclofen matrix tablets: Influence of some hydrophilic polymers on the release rate and in vitro evaluation*, American Association of Pharmaceutical Scientists, 8 (2007) 1-11.
147. Radke R.S., Jadhav J.K., Chajeed M.R., *Formulation and evaluation of orodispersible tablets of baclofen*, International Journal of ChemTech Research, 1 (2009) 517-521.
148. Bozdağ-Pehlivan S., Subasi B., Vural I., Uniü N., Capan Y., *Evaluation of drug-excipient interaction in the formulation of celecoxib tablets*, Acta Poloniae Pharmaceutica/Drug Research, 68 (2011) 423-433.
149. Pasquali I., Bettini R., Giordano F., *Thermal behaviour of diclofenac, diclofenac sodium and sodium bicarbonate compositions*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 90 (2007) 903-907.
150. Sipos P., Szűcs M., Szabó A., Erős I., Szabó-Révész P., *An assessment of the interactions between diclofenac sodium and ammonio methacrylate copolymer using thermal analysis and Raman spectroscopy*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 46 (2008) 288-294.
151. Bratu I., Hernanz A., Gavira J.M., Bora G.H., *FT-IR spectroscopy of inclusion complexes of β -cyclodextrin with fenbufen and ibuprofen*, Romanian Journal of Physics, 50 (2005) 1063-1069.
152. Lerdkanchanaporn S., *A thermal analysis study of ibuprofen and starch mixtures using simultaneous TG-DTA*, Thermochimica Acta, 340-341 (1999) 131-138.
153. Lerdkanchanaporn S., Dollimore D., *The evaporation of ibuprofen from ibuprofen-starch mixtures using simultaneous TG-DTA*, Thermochimica Acta, 357-358 (2000) 71-78.
154. Lerdkanchanaporn S., Dollimore D., Evans S.J., *Phase diagram for the mixtures of ibuprofen and stearic acid*, Thermochimica Acta, 367-368 (2001) 1-8.
155. Novoa G.A.G., Heinämäki J., Mirza S., Antikainen O., Colarte A.I., Paz A.S., Yliruusi J., *Physical solid-state properties and dissolution of sustained-release matrices of polyvinylacetate*, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 59 (2005) 343-350.

156. Tita B., Fulias A., Szabadai Z., Rusu G., Bandur G., Tita D., *Compatibility study between ibuprofen and excipients in their physical mixtures*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 105 (2011) 517-527.
157. Marini A., Berbenni V., Moioli S., Bruni G., Cofrancesco P., Margheritis C., Villa M., *Drug-excipient compatibility studies by physico-chemical techniques. The case of indomethacin*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 73 (2003) 529-545.
158. El-Monem A., Foda S.S., *Effect of complexation of indomethacin with calcium glycerophosphate on its bioavailability, ulcerogenicity and anti-inflammatory activity in rats*, Pharmaceutical Industry, 53 (1991) 94-97.
159. Imai T., Shiraishi S., Saito H., Otagiri M., *Interaction of indomethacin with low molecular weight chitosan, and improvements of some pharmaceutical properties of indomethacin by low molecular weight chitosans*, International Journal of Pharmaceutics, 67 (1991) 11-20.
160. Büyüktimkin S., Büyüktimkin N., Rytting J.H., *Interaction of indomethacin with a new penetration enhancer, dodecyl 2-(N,N-dimethylamino) propionate (DDAIP): Its effect on transdermal delivery*, International Journal of Pharmaceutics, 127 (1996) 245-253.
161. Kawashima Y., *Spherical crystallization and pharmaceutical systems*, Pharmacy International, 5 (1984) 40-43.
162. Tirkkonen S., Urtti A., Paronen P., *Buffer controlled release of indomethacin from ethylcellulose microcapsules*, International Journal of Pharmaceutics, 124 (1995) 219-229.
163. Hosny E.A., Al-Angary A.A., *Bioavailability of sustained release indomethacin suppositories containing polycarbophil*, International Journal of Pharmaceutics, 113 (1995) 209-213.
164. Shakhtshneider T.P., Danède F., Capet F., Willart J.F., Descamps M., Paccou L., Surov E.V., Boldyreva E.V., Bolyrev V.V., *Grinding of drugs with pharmaceutical excipients at cryogenic temperatures. Part II. Cryogenic grinding of indomethacin-polyvinylpyrrolidone mixtures*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 89 (2007) 709-715.
165. Taylor L.S., Zografi G., *Spectroscopic characterization of interactions between PVP and indomethacin in amorphous molecular dispersions*, Pharmaceutical Research, 14 (1997) 1691-1698.
166. Mura P., Manderioli A., Bramanti G., Furlanetto S., Pinzauti S., *Utilization of differential scanning calorimetry as a screening technique to determine the compatibility of ketoprofen with excipients*, International Journal of Pharmaceutics, 119 (1995) 71-79.
167. Ammar H.O., El-Nahas S.A., *Improvement of some pharmaceutical properties of drugs by cyclodextrin complexation. 2. Colchicine*, Pharmazie, 50 (1995) 269-272.
168. Tantishaiyakul V., Kaewnopparat N., Ingkatawornwong S., *Properties of solid dispersions of piroxicam in polyvinylpyrrolidone K-30*, International Journal of Pharmaceutics, 143 (1996) 59-66.
169. Bertoluzza A., Rossi M., Taddei P., Redenti E., Zanol M., Ventura P., *FT-Raman and FT-IR studies of 1 : 2,5 piroxicam : β -cyclodextrin inclusion compound*, Journal of Molecular Structure, 480-481 (1999) 535-539.
170. Hees T.V., Piel G., Evrard B., Otte X., Thunus L., Delattre L., *Application of supercritical carbon dioxide for the preparation of a piroxicam- β -cyclodextrin inclusion compound*, Pharmaceutical Research, 16 (1999) 1864-1869.
171. Drebuschak V.A., Shakhtshneider T.P., Apenina S.A., Drebuschak T.N., Medvedeva A.S., Safronova L.P., Boldyrev V.V., *Thermoanalytical investigation of drug-excipient interaction. Part I. Piroxicam*,

- cellulose and chitosan as starting materials*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 84 (2006) 643-649.
172. Drebuschak V.A., Shakhtshneider T.P., Apenina S.A., Drebuschak T.N., Medvedeva A.S., Safronova L.P., Boldyrev V.V., *Thermoanalytical investigation of drug-excipient interaction. Part II. Activated mixtures of piroxicam with cellulose and chitosan*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 86 (2006) 303-309.
 173. Shakhtshneider T.P., Danède F., Capet F., Willart J.F., Descamps M., Myz S.A., Boldyreva E.V., Bolyrev V.V., *Grinding of drugs with pharmaceutical excipients at cryogenic temperatures. Part I. Cryogenic grinding of piroxicam-polyvinylpyrrolidone mixtures*. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 89 (2007) 699-707.
 174. Stulzer H.K., Tagliari M.P., Cruz A.P., Silva M.A.S., Laranjeira M.C.M., *Compatibility studies between piroxicam and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms*, Pharmaceutical Chemistry Journal, 42 (2008) 215-219.
 175. Wu K., Li J., Wang W., Winstead D.A., *Formation and characterization of solid dispersions of piroxicam and polyvinylpyrrolidone using spray drying and precipitation with compressed antisolvent*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 98 (2008) 2422-2431.
 176. Jadhay G.S., Patel A.R., Vavia P.R., Malde A.K., Coutinho E.C., *Interaction of valdecoxib with β -cyclodextrin: Experimental and molecular modeling studies*. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 56 (2006) 261-273.
 177. Cao Q-R., Choi Y-W., Cui J-H., Lee B-J., *Formulation, release characteristics and bioavailability of novel monolithic hydroxypropylmethylcellulose matrix tablets containing acetaminophen*, Journal of Controlled Release, 108 (2005) 351-361.
 178. Tomassetti M., Catalani A., Rossi V., Vecchio S., *Thermal analysis study of the interactions between acetaminophen and excipients in solid dosage forms and in some binary mixtures*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 37 (2005) 949-955.
 179. Giordano F., Rossi A., Bettini R., Savioli A., Gazzaniga A., Novák Cs., *Thermal behavior of paracetamol-polymeric excipients mixtures*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 68 (2002) 575-590.
 180. Ammar H.O., Ghorab M., El-Nahhas S.A., Omar S.M., Ghorab M.M., *Improvement of some pharmaceutical properties of drugs by cyclodextrin complexation. 4. Chlorpromazine hydrochloride*, Pharmazie, 50 (1995) 805-808.
 181. Chaves L.L., Rolim L.A., Gonçalves M.L.C.M., Vieira A.C.C., Alves L.D.S., Soares M.F.R., Soares-Sobrinho J.L., Lima M.C.A., Rolim-Neto P.J., *Study of stability and drug-excipient compatibility of diethylcarbamazine citrate*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 111 (2013) 2179-2186.
 182. Wirth D.D., Baertschi S.W., Johnson R.A., Maple S.R., Miller M.S., Hallenbeck D.K., Gregg S.M., *Maillard reaction of lactose and fluoxetine hydrochloride, a secondary amine*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 87 (1998) 31-39.
 183. Bruni G., Berbenni V., Milanese Ch., Girella A., Marini A., *Drug-excipient compatibility studies in binary and ternary mixtures by physico-chemical techniques*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 102 (2010) 193-201.
 184. Mura P., Faucci M.T., Manderioli A., Bramanti G., Ceccarelli L., *Compatibility study between ibuprofen and pharmaceutical excipients using differential scanning calorimetry, hot-stage*

- microscopy and scanning electron microscopy*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 18 (1998) 151-163.
185. Mura P., Zerrouk N., Faucci M.T., Maestrelli F., Chemtob Ch., *Comparative study of ibuprofen complexation with amorphous β -cyclodextrin derivatives in solution and in the solid state*, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 54 (2002) 181-191.
 186. Gohel M.C., Patel T.M., *Compatibility study of quetiapine fumarate with widely used sustained release excipients*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 111 (2013) 2103-2108.
 187. Sousa e Silva J.P., Sousa Lobo J.M., *Compatibility studies between nebicapone, a novel COMT inhibitor, and excipients using stepwise isothermal high sensitivity DSC method*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 102 (2010) 317-321.
 188. Swamivelmanickam M., Manavalan R., Valliappan K., *Selection of excipients for orally disintegrating tablets of olanzapine through drug-excipient compatibility testing*, Journal of Pharmacy Research, 4 (2011) 1056-1059.
 189. Peres-Filho M.J., Gaeti M.P.N., Oliveira S.R., Marreto R.N., Lima E.M., *Thermoanalytical investigation of olanzapine compatibility with excipients used in solid oral dosage forms*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 104 (2011) 255-260.
 190. Brown M.E., Antunes E.M., Glass B.D., Lebet M., Walker R.B., *DSC screening of potential prochlorperazine-excipient interactions in preformulation studies*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 56 (1999) 1317-1322.
 191. Bernardi L.S., Oliveira P.R., Murakami F.S., Silva M.A.S., Borgmann S.H.M., Cardoso S.G., *Characterization of venlafaxine hydrochloride and compatibility studies with pharmaceutical excipients*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 97 (2009) 729-733.
 192. Maximiano F.P., Novack K.M., Bahia M.T., de Sá-Barreto L.L., da Cunha-Filho M.S.S., *Polymorphic screen and drug-excipient compatibility studies of the antichagasic benzimidazole*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 106 (2011) 819-824.
 193. Bertol C.D., Cruz A.P., Stulzer H.K., Murakami F.S., Silva M.A.S., *Thermal decomposition kinetics and compatibility studies of primaquine under isothermal and non-isothermal conditions*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 102 (2010) 187-192.
 194. Ammar H.O., El-Nahhas S.A., *Improvement of some pharmaceutical properties of drugs by cyclodextrin complexation. 3. Bromhexine hydrochloride*, Pharmazie, 50 (1995) 408-410.
 195. Dong Z., Choi D.S., *Hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate: potential drug-excipient incompatibility*, American Association of Pharmaceutical Scientists, 9 (2008) 991-997.
 196. Rachnev N., Kalinkova G., Toneva-Balucheva R., Kretev V., *Some investigations of interactions between dextrans-promethazine hydrochloride and pectins-promethazine hydrochloride*, Pharmacia, 36 (1986) 20-25.
 197. Thumma S., Repka M.A., *Compatibility studies of promethazine hydrochloride with tablet excipients utilizing thermal and non-thermal methods*, Pharmazie, 64 (2009) 183-189.
 198. Zaroni M., Ramos D.T., Murakami F.S., Carvalho Filho M.A.S., Janissek P.R., Andrezza I.F., Sato M.E.O., *Thermal behavior and interaction studies of theophylline with various excipients*, Latin American Journal of Pharmacy, 27 (2008) 191-196.

199. Ceballos A., Cirri M., Maestrelli F., Corti G., Mura P., *Influence of formulation and process variables on in vitro release of theophylline from directly-compressed Eudragit matrix tablets*, *II Farmaco*, 60 (2005) 913-918.
200. Lin S.Y., Liao Ch.M., Hsiue G.H., Liang R.Ch., *Study of a theophylline-Eudragit L mixture using a combined system of microscopic Fourier-Transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry*, *Thermochimica Acta*, 245 (1995) 153-166.
201. Asada M., Takahashi H., Okamoto H., Tanino H., Danjo K., *Theophylline particle design using chitosan by the spray drying*, *International Journal of Pharmaceutics*, 270 (2004) 167-174.
202. Ndlebe V.J., Brown M.E., Glass B.D., *The thermal stability of triprolidine hydrochloride and its mixture with cyclodextrin and glucose*, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 77 (2004) 445-457.
203. Madhavi B.R., Durga Devi N.K., Rani A.P., *Preparation and characterization of zafirlukast- β -cyclodextrin complexes using solid dispersion techniques*, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 4 (2010) 88-93.
204. Forni F., Coppi G., Iannuccelli V., Vandelli M.A., Cameroni R., *The grinding of the polymorphic forms of chloramphenicol stearic ester in the presence of colloidal silica*, *Acta Pharmaceutica Suecica*, 25 (1988) 173-180.
205. Holgado M.A., Fernandez-Arevalo M., Alvarez-Fuentes J., Caraballo I., Llera J.M., Rabasco A.M., *Physical characterization of carteolol: Eudragit[®] L binding interaction*. *International Journal of Pharmaceutics*, 114 (1995) 13-21.
206. Ahmed F., Gutch P.K., Ganesan K., Vijayaraghavan R., *N,N'-dichloro-bis[2,4,6-trichlorophenyl] urea (CC2) and suspending agents used for the preparation of decontamination formulation against chemical warfare agents. A study of comparibility by thermoanalytical techniques*, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 107 (2012) 141-147.
207. Mora P.C., Cirri M., Mura P., *Differential scanning calorimetry as a screening technique in compatibility studies of DHEA extended release formulations*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 42 (2006) 3-10.
208. Mura P., Bettinetti G.P., Faucci M.T., Manderioli A., Parrini P.L., *Differential scanning calorimetry in compatibility testing of picotamide with pharmaceutical excipients*, *Thermochimica Acta*, 321 (1998) 59-65.
209. Gutch P.K., Jitendra S., Alankar S., Anurekha J., Ganesan K., *Thermal analysis of interaction between 2-PAM chloride and various excipients in some binary mixtures by TGA and DSC*, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 111 (2013) 1953-1958.
210. Pharmindex 2011. *Kompendium leków*, UBM Medica, Warszawa 2011.
211. Zejc A., Gorczyca M., *Chemia leków*, PZWL, Warszawa 2002.
212. Resor S.R.Jr., Resor L.D., Woodbury D.M., Kemp J.W., *Acetazolamide*, in: Levy R.H., Mattson R.H., Meldrum B.S. (Eds), *Antiepileptic drugs*, Raven Press, Wyd. IV, New York 1995.
213. Lund W., *The Pharmaceutical codex*, The Pharmaceutical Press, Wyd. XII, London 2004.
214. *British Pharmacopeia 2004*, The Stationery Office, London 2004.
215. *The United States Pharmacopeia USP 30*, The National Formulary NF 25, The US Pharmacopeial Convention, Rockville 2006.

216. *Farmakopea Polska VI*, Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Warszawa 2002.
217. *Encyklopedia techniki*. Chemia, WNT, Warszawa 1993.
218. *Poradnik fizykochemiczny*, WNT, Warszawa 1974.
219. Silverstein R.M., Webster F.X., Kiemle D.J., *Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych*, PWN, Warszawa 2007.
220. Morrison R.T., Boyd R.N., *Chemia organiczna*, PWN, Warszawa 1997.
221. Esteves de Castro R.A., Canotilho J., Barbosa R.M., Redinha J.S., *Infrared spectroscopy of racemic and enantiometric forms of atenolol*, *Spectrochimica Acta, Part A*, 67 (2007) 1194-1200.
222. Vrečer F., Vrbinc M., Meden A.: *Characterization of piroxicam crystal modifications*, *International Journal of Pharmaceutics*, 256 (2003) 3-15.
223. Gunasekaran S., Sankari G., Ponnusamy S., *Vibrational spectral investigation on xanthine and its derivatives - theophylline, caffeine and theobromine*, *Spectrochimica Acta, Part A*, 61 (2005) 117-127.
224. Uçun F., Sağlam A., Güçlü V., *Molecular structures and vibrational frequencies of xanthine and its methyl derivatives (caffeine and theobromine) by ab initio Hartree-Fock and density functional theory calculations*, *Spectrochimica Acta, Part A*, 67 (2007) 342-349.
225. Chufán E.E., Pedregosa J.C., Ferrer S., Borrás J., *Spectroscopic behavior of metal-drug complexes. Infrared spectra of Cu (II) dimer complexes with acetazolamide (H₂acm) and an analogue sulfonamide (B-H₂ats)*, *Vibrational Spectroscopy*, 20 (1999) 35-45.
226. Baraldi C., Gamberini M.C., Tinti A., Palazzoli F., Ferioli V., *Vibrational study of acetazolamide polymorphism*, *Journal of Molecular Structure*, 918 (2009) 88-96.
227. Pandeewaran M., Elango K.P., *Spectroscopic studies on the molecular complex of the drug atenolol with iodine*, *Journal of Solution Chemistry*, 38 (2009) 1558-1572.
228. <http://homepage.ntlworld.com/bhandari/Imperial/Atenolol/Spectroscopy.htm>
229. Jain S., Jain N.K., Pitre K.S., *Electrochemical analysis and analgesic behavior of Zn (II)-baclofen complex*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 31 (2003) 1035-1039.
230. Jivani R.R., Patel Ch.N., Patel D.M., Jivani N.P., *Development of a novel floating in-situ gelling system for stomach specific drug delivery of the narrow absorption window drug baclofen*, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 9 (2004) 359-368.
231. Yazdi M.T., Arabi H., Faramarzi M.A., Ghasemi Y., Amini M., Shokravi S., Mohseni F.A., *Biotransformation of hydrocortisone by a natural isolate of Nostoc muscorum*, *Phytochemistry*, 65 (2004) 2205-2209.
232. Tantishaiyakul V., Songkro S., Suknuntha K., Permkum P., Pipatwarakul P., *Crystal structure transformations and dissolution studies of cimetidine-piroxicam coprecipitates and physical mixtures*, *AAPS PharmSciTech*, 10 (2009) 789-795.
233. Nafisi S., Shamloo D.S., Mohajerani N., Omid A., *A comparative study of caffeine and theophylline binding to Mg (II) and Ca (II) ions: studied by FTIR and UV spectroscopic methods*, *Journal of Molecular Structure*, 608 (2002) 1-7.
234. Rojek B., Wesolowski M., *Rozkład termiczny wybranych substancji pomocniczych stosowanych w technologii stałych postaci leków*, *Farmaceutyczny Przegląd Naukowy*, 5 (2010) 34-39.

235. Rojek B., Wesołowski M., *Analiza termiczna wybranych substancji pomocniczych stosowanych w procesie formułacji produktów leczniczych*, Farmaceutyczny Przegląd Naukowy, 9 (2010) 45-50.
236. Mothé C.G., Rao M.A., *Thermal behavior of gum arabic in comparison with cashew gum*, Thermochemica Acta, 357-358 (2000) 9-13.
237. Rowe R.C., Sheskey P.J., Quinn M.E., *Handbook of pharmaceutical excipients*, American Pharmaceutical Association, Pharmaceutical Press, Wyd. VI, London 2009.
238. Kibbe H., *Handbook of pharmaceutical excipients*, American Pharmaceutical Association, Pharmaceutical Press, Wyd. III, London 2000.
239. Kreft K., Kozamernik B., Urleb U., *Qualitative determination of polyvinylpyrrolidone type by near-infrared spectrometry*, International Journal of Pharmaceutics, 177 (1999) 1-6.
240. Kitts D.D., Wu C.H., Kopec A., Nagasawa T., *Chemistry and genotoxicity of caramelized sucrose*, Molecular Nutrition and Food Research, 50 (2006) 1180-1190.
241. Jiang B., Liu Y., Bhandari B., Zhou W., *Impact of caramelization on the glass transition temperature of several caramelized sugars. Part I: Chemical analyses*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56 (2008) 5138-5147.
242. Yang L., Weng S., Ferraro J.R., Wu J., *Far infrared study of some mono- and disaccharides*, Vibrational Spectroscopy, 25 (2001) 57-62.
243. Zieliński W., Rajca A., *Metody spektroskopowe i ich zastosowanie do identyfikacji związków organicznych*, WNT, Łódź 2006.
244. Kumar S., Rai A.K., Singh V.B., Rai S.B., *Vibrational spectrum of glycine molecule*, Spectrochimica Acta, Part A, 61 (2005) 2741-2746.
245. Ibrahim M., Alaam M., El-Haes H., Jalbout A.F., de Leon A., *Analysis of the structure and vibrational spectra of glucose and fructose*, Eclética Química, 31 (2006) 15-21.
246. Mohsin M., Hossin A., Haik Y., *Thermomechanical properties of poly(vinyl alcohol) plasticized with varying ratios of sorbitol*, Materials Science and Engineering A, 528 (2011) 925-930.
247. Basu S., Shivhare U.S., Singh T.V., Beniwal V.S., *Rheological, textural and spectral characteristics of sorbitol substituted mango jam*, Journal of Food Engineering, 105 (2011) 503-512.
248. Gaffour H.M., Bouterfas M., Bekhti N., Derrar S.N., Rahal M.S., *Harmonic dynamics of α -D-lactose in the crystalline state*, Journal of Molecular Imaging and Dynamics, 1 (2011) 3-7.
249. Kačuráková M., Mathlouthi M., *FTIR and laser-Raman spectra of oligosaccharides in water: Characterization of the glycosidic bond*, Carbohydrate Research, 284 (1996) 145-157.
250. Nada A.M.A., Hassan M.L., *Thermal behavior of cellulose and some cellulose derivatives*, Polymer Degradation and Stability, 67 (2000) 111-115.
251. Zhbankov R.G., Firsov S.P., Bulov D.K., Nikonenko N.A., Marchewka M.K., Ratajczak H., *Structural physico-chemistry of cellulose macromolecules. Vibrational spectra and structure of cellulose*, Journal of Molecular Structure, 614 (2002) 117-125.
252. Kačuráková M., Capek P., Sasinková V., Wellner N., Ebringerová A., *FTIR study of plant cell wall model compounds: Pectic polysaccharides and hemicelluloses*, Carbohydrate Polymers, 43 (2000) 195-203.

253. Santha N., Sudha K.G., Vijayakumari K.P., Nayar V.U., Moorthy S.N., *Raman and infrared spectra of starch samples of sweet potato and cassava*, Indian Academy of Sciences (Chemical Science), 102 (1990) 705-712.
254. Shu X., Liu X., Fu Ch., Liang Q., *Extraction, characterization and antitumor effect of the polysaccharides from star anise (Illicium verum Hook. f.)*, Journal of Medicinal Plants Research, 4 (2010) 2666-2673.
255. Viera R.G.P., Filho G.R., de Assunção R.M.N., Meireles C.S., Vieira J.G., de Oliveira G.S., *Synthesis and characterization of methylcellulose from sugar cane bagasse cellulose*, Carbohydrate Polymers, 67 (2007) 182-189.
256. Somboonpanyakul P., Wang Q., Cui W., Barbut S., Jantawat P., *Malva nut gum. (Part I): Extraction and physicochemical characterization*, Carbohydrate Polymers, 64 (2006) 247-253.
257. Madhavi B.R., Devi N.K.D., Rani A.P., *Preparation and characterization of zafirlukast- β -cyclodextrin complexes using solid dispersion techniques*, International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 4 (2010) 88-93.
258. Caddeo C., Manconi M., Valenti D., Pini E., Sinico Ch., *Photostability and solubility improvement of β -cyclodextrin-included tretinoin*, Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 59 (2007) 293-300.
259. Gupta P., Bansal A.K., *Molecular interactions in celecoxib-pvp-meglumine amorphous system*, Journal of Pharmacy and Pharmacology, 57 (2005) 303-310.
260. Jia Z., Shen D., Xu W., *Synthesis and antibacterial activities of quaternary ammonium salt of chitosan*, Carbohydrate Research, 333 (2001) 1-6.
261. Ko Y.G., Sung B.H., Choi U.S., *Electrorheological properties of aminated chitosans*, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 305 (2007) 120-125.
262. Tantishaiyakul V., Kaewnopparat N., Ingkatawornwong S., *Properties of solid dispersion of piroxicam in polyvinylpyrrolidone K30*, International Journal of Pharmaceutics, 143 (1996) 59-66.
263. Kaewnopparat N., Kaewnopparat S., Jangwang A., Maneenaun D., Chuchome T., Panichayupakaranant P., *Increased solubility, dissolution and physicochemical studies of curcumin-polyvinylpyrrolidone K30 solid dispersions*, World Academy of Science, Engineering and Technology, 55 (2009) 229-234.
264. Koo Ch.M., Ham H.T., Choi M.H., Kim S.O., Chung I.J., *Characteristics of polyvinylpyrrolidone-layered silicate nanocomposites prepared by attrition ball milling*, Polymer, 44 (2003) 681-689.
265. Liu H.G., Lee Y.I., Qin W.P., Jang K., Feng X.S., *Studies on composites formed by europium complexes with different ligands and polyvinylpyrrolidone*, Materials Letters, 58 (2004) 1677-1682.
266. Siva M.F., da Silva C.A., Fogo F.C., Pineda E.A.G., Hechenleitner A.A.W., *Thermal and FTIR study of polyvinylpyrrolidone/lignin blends*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 79 (2005) 367-370.
267. Brittain H.G., *Analytical profiles of drug substances and excipients*, Tom 23, Academic Press, Inc., San Diego 1994.
268. Mazurkiewicz R., Rajca A., Salwińska E., Skibiński A., Suwiński J., Zieliński W. *Metody spektroskopowe i ich zastosowanie do identyfikacji związków organicznych*. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 2000, 13-37, 323-350.
269. Nursten H.E., *The Maillard reaction: chemistry, biochemistry, and implications*, The Royal Society of Chemistry, London 2005.

270. Flemming A., Picker-Freyer K.M., *Compaction of lactose drug mixtures: Quantification of the extent of incompatibility by FT-Raman spectroscopy*, 68 (2008) 802-810.
271. Borrelli R.C., Mennella C., Barba F., Russo G.L., Kromke K., Erbersdobler H.F., Faist V., Fogliano V., *Characterization of coloured compounds obtained by enzymatic extraction of bakery products*, Food and Chemical Toxicology, 41 (2003) 1367-1374.
272. Stadler R.H., Blank J., Varga N., Robert F., Hau J., Guy P.A., Robert M.C., Riediker S., *Acrylamide from Maillard reaction products*, Nature, 419 (2002) 449-450.
273. Crowley P., Martini L.G., *Drug-excipient interactions*, Pharmaceutical Technology Europe, 13 (2001) 26-31.
274. Bharate S.S., Bharate S.B., Bajaj A.N., *Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review*, Journal of Excipients and Food Chemistry, 1 (2010) 3-25.
275. Fathima N., Mamatha T., Qureshi H.K., Anitha N., Rao J.V., *Drug-excipient interaction and its importance in dosage form development*, Journal of Applied Pharmaceutical Science, 1 (2011) 66-71.

STRESZCZENIE

Ze względu na fakt, iż w skład preparatów farmaceutycznych wchodzi substancje o różnych właściwościach fizykochemicznych, istnieje duże prawdopodobieństwo pojawienia się interakcji. Efektem oddziaływań pomiędzy składnikami produktu leczniczego mogą być zmiany właściwości chemicznych, fizycznych lub aktywności farmakologicznej czynnego składnika. Reakcje zobojętniania, hydrolizy, utleniania-redukcji lub reakcje kombinacji prowadzą do niezgodności chemicznych. Natomiast niezgodności fizyczne uwidaczniają się w postaci zmiany rozpuszczalności, adsorpcji substancji leczniczej na substancji pomocniczej lub tworzenia eutektyku. Niekorzystne zmiany mogą ujawniać się od razu, stopniowo lub dopiero po pewnym czasie.

Biorąc powyższe pod uwagę, poszukuje się skutecznych metod wykrywania niezgodności pomiędzy aktywnym składnikiem farmaceutycznym a substancjami pomocniczymi na etapie preformulacji. Wybór metod pomocnych w wykrywaniu niezgodności fizykochemicznych jest ograniczony, m.in. ze względu na długi czas trwania analiz i ich pracochłonność. Najczęściej polecane do tego typu badań są techniki analizy termicznej, tj. DSC, DTA, TG i DTG oraz metody spektroskopowe z zakresu IR i rentgenografia proszkowa. Stosowany bywa również test izotermicznego stresu w połączeniu z DSC. Najwięcej problemów sprawia jednak interpretacja wyników uzyskiwanych za pomocą analizy termogravimetrycznej i spektrofotometrii w zakresie IR. W związku z tym, w niniejszej rozprawie doktorskiej zaprezentowano nowy sposób interpretacji krzywych TG i widm IR poprzez wykorzystanie zaawansowanych metod analizy wielowymiarowej.

Głównym celem pracy była ocena przydatności zaawansowanych, statystycznych metod wielowymiarowych: analizy skupień (CA) i analizy głównych składowych (PCA), jako metod wspomagających analizę krzywych TG i widm IR pod kątem wykrywania niezgodności pomiędzy substancjami leczniczymi i pomocniczymi.

Aplikacja wyżej wymienionych technik eksploracyjnych do interpretacji krzywych TG i widm IR jest nowym, dotychczas nie stosowanym sposobem w interpretacji danych nie tylko w termogravimetrii i spektrofotometrii IR, ale także stanowi nowe podejście przy badaniu niezgodności na etapie opracowywania składu preparatów farmaceutycznych.

Interpretacja wyników badań przeprowadzonych za pomocą TG i IR w zakresie identyfikacji niezgodności nie dostarcza jednoznacznych danych. Z kształtu krzywych TG można jedynie wnioskować o zmianie masy (ubytkach masy) podczas reakcji termicznych oraz wskazać zakresy temperatur, w których te reakcje zachodzą. Jednakże na podstawie krzywych TG nie uzyskuje się pełnej informacji o rodzaju procesu termicznego. Wielkości

ubytków masy zależą, m.in. od stechiometrii reakcji zachodzących podczas ogrzewania i towarzyszą im efekty endo lub egzotermiczne, które można rejestrować za pomocą krzywych DTA lub DSC. W związku z tym na podstawie kształtu krzywej TG trudno jest ocenić zdolność do wzajemnego mieszania się składników. Ponadto, metoda TG umożliwia obserwację interakcji pomiędzy substancją leczniczą i pomocniczą w wyższych temperaturach, w związku z tym nie uzyskuje się informacji o tym, czy niezgodność zachodzi w temperaturze pokojowej. Wyższa temperatura działa jak katalizator, przyspieszając przebieg danej reakcji. Stąd też nie wiadomo, czy dana reakcja zachodzi natychmiast, czyli po zmieszaniu składników w temperaturze pokojowej, czy po pewnym czasie, a wyższa temperatura tylko przyspiesza jej przebieg. Na to pytanie częściowo uzyskano odpowiedź poprzez zastosowanie spektrofotometrii IR, w przypadku której pomiary są prowadzone w temperaturze pokojowej. Jednakże złożoność widm IR, a także fakt nakładania się na siebie charakterystycznych pasm absorpcji różnych grup funkcyjnych w przypadku analizy mieszanin, utrudnia interpretację widm IR, a tym samym identyfikację niezgodności. Aby pokonać trudności związane z przypisaniem określonym grupom chemicznym charakterystycznych pasm absorpcji w widmie IR, jak również z powiązaniem zmian masy na krzywej TG mieszanin z rozkładem określonych składników, po raz pierwszy zastosowano wielowymiarowe techniki eksploracyjne jako metody wspomagające interpretację krzywych TG i widm IR.

Badania realizowane w ramach niniejszej pracy polegały na wykonaniu, przy zastosowaniu programu komputerowego Statistica 10, analizy chemometrycznej krzywych TG i widm IR 63. dwuskładnikowych układów fizycznych zawierających acetazolamid, atenolol, baklofen, hydrokortyzon, piroksydam, kofeinę, teofilinę i teobrominę jako substancje lecznicze oraz glikokol, glukozę, mannitol, sorbitol, laktozę, sacharozę, celulozę mikrokrystaliczną, skrobię rozpuszczalną, metylocelulozę, β -cyklodekstrynę, gumę arabską, megluminę, chitosan, poliwinylpiperolidon K-30, stearynian magnezu i talk jako substancje pomocnicze. Każdy badany układ składał się z pięciu lub dziewięciu mieszanin dwuskładnikowych, zawierających substancję leczniczą i pomocniczą w określonych proporcjach. Do analizy wybrano losowo wyżej wymienione substancje lecznicze, należące do różnych grup anatomiczno-terapeutyczno-chemicznych jako substancje modelowe. Natomiast substancje pomocnicze to substancje chemiczne powszechnie stosowane w formulacji stałych postaci leków.

Przeprowadzone badania wykazały, że w przypadku obliczeń CA, najbardziej użyteczna okazała się hierarchiczna aglomeracja Warda z euklidesową miarą odległości,

natomiast w przypadku PCA, algorytm - varimax znormalizowany. Ponadto w metodzie CA, do wyodrębnienia statystycznie istotnych skupisk użyto indeksu Sneatha na poziomie 33 i 66% maksymalnej miary odległości. Na brak interakcji pomiędzy składnikami wskazywały dwa duże skupienia na dendrogramie CA, z których jedno grupowało substancję pomocniczą i mieszaniny fizyczne o dużej zawartości substancji pomocniczej (najczęściej o stosunku substancji leczniczej do substancji pomocniczej wynoszącym 1:9, 3:7, także 1:1, a czasem nawet 7:3). Drugie skupienie stanowiła substancja lecznicza i mieszaniny o wysokiej zawartości substancji leczniczych (najczęściej o stosunku substancji leczniczej do substancji pomocniczej równym 9:1, 7:3, a także 1:1). Natomiast inna organizacja skupień niż opisana wyżej, wskazywała na niezgodności. Na podstawie obliczeń PCA, na brak interakcji wskazuje fakt, że składniki i ich mieszaniny fizyczne nie tworzą wyraźnych klasterów w dwuwymiarowym układzie, PC1 względem PC2. Wszystkie próbki zlokalizowane są natomiast wzdłuż osi PC1, rozpoczynając od jednego składnika znajdującego się przy najbardziej ujemnej wartości PC1, poprzez kolejne mieszaniny o stopniowo malejącej zawartości pierwszego, a wzrastającej zawartości drugiego składnika, aż do drugiego składnika umiejscowionego przy najbardziej dodatnich wartościach osi PC2. Druga główna składowa o niewielkiej wariancji decydowała o tym, że badane próbki nie były ułożone w linii równoległej do osi PC1. Ułożenie próbek na wykresie PC1 względem PC2 odbiegające od powyższego schematu wskazywało na niezgodności.

Analizując krzywe TG mieszanin za pomocą PCA stwierdzono, że największa część zmienności jaką wyjaśniała PC1 to 78,7%. Natomiast druga główna składowa wyjaśniała do 36,7% zmienności w badanej macierzy danych, a trzecia do 18,7%. Z kolei analizując widma IR za pomocą PCA, uzyskano wartości PC1 w granicach 50,3–92,8% zmienności, wartości PC2 od 5,6 do 41,9% zmienności i wartości PC3 od 0,8 do 9,0% zmienności.

Wyniki uzyskane na podstawie interpretacji krzywych TG i widm IR w oparciu o wielowymiarowe techniki eksploracji danych wykazały, iż w jedenastu przypadkach interpretacja krzywych TG i widm IR różniła się, t.j. w przypadku krzywych TG stwierdzono interakcję, a widma IR tego nie potwierdzały, lub odwrotnie. Zastosowanie DSC jako metody polecanej do szybkiej identyfikacji interakcji pomiędzy składnikami mieszanin oraz proszkowej dyfrakcji rentgenowskiej (XRPD) pozwoliło zweryfikować wyniki uzyskane za pomocą metod TG i IR. I tak wyniki interpretacji krzywych TG w czterech przypadkach nie zostały potwierdzone za pomocą technik DSC i XRPD, natomiast wyniki interpretacji widm IR w siedmiu przypadkach nie zostały potwierdzone za pomocą technik DSC i XRPD. Należy podkreślić, iż laktoza i glikokol stanowiły substancje pomocnicze najczęściej generujące

rozbieżności w interpretacji wyników CA i PCA. Również w przypadku stearynianu magnezu, w mieszaninach z substancją leczniczą częściej obserwowane były różnice w wynikach CA i PCA niż w mieszaninach z pozostałymi substancjami pomocniczymi.

Przyczyną błędów w interpretacji wyników uzyskanych z krzywych TG może być mniej dokładny odczyt temperatury ubytków masy w porównaniu do zapisu cyfrowego spektrofotometru IR. Również mała liczba danych wyznaczonych z krzywych TG w zakresie 20-300°C i użyta do analizy za pomocą wielowymiarowych technik eksploracji danych może być powodem niewłaściwej interpretacji wyników. W przypadku widm IR do obliczeń CA i PCA wykorzystano 402. wartości transmitancji. Widmo IR zawiera wiele różnych pasm odpowiadających drganiom rozciągającym i deformacyjnym. Większość grup funkcyjnych daje charakterystyczne pasma absorpcji, które znajdują się w widmie w zbliżonym zakresie liczb falowych. W związku z tym fakt nakładania się pasm absorpcji i złożoność widm IR może utrudniać ich interpretację.

Przeprowadzone badania wykazały, że wielowymiarowe techniki eksploracji danych – analiza skupień i analiza głównych składowych są przydatne jako metody wspomagające interpretację wyników analizy termogravimetrycznej i spektrofotometrycznej IR podczas wykrywania niezgodności pomiędzy substancjami leczniczymi i pomocniczymi.

Wyniki obliczeń CA i PCA w oparciu o dane uzyskane z krzywych TG i widm IR, w przypadku większości mieszanin zostały potwierdzone wynikami analizy DSC i dyfrakcyjnej rentgenowskiej analizy proszkowej. To dowodzi, że metody eksploracji danych są metodami wiarygodnymi, które mogą być pomocne w technologii farmaceutycznej.

ABSTRACT

Due to the fact that substances of various physicochemical properties are included in the composition of pharmaceutical preparations, there is every likelihood of the appearance of the interaction. The effect of the interactions among ingredients of a drug product may lead to the change of chemical and physical properties or to pharmacological activity of its active ingredient. Reactions of acid-base, hydrolysis, oxidation-reduction as well as the combination reactions lead to the chemical incompatibilities, whereas physical incompatibilities reveal in the form of change of solubility, drug adsorption on the excipients or the creation of eutectic. Adverse changes may appear immediately, gradually or after a certain amount of time.

Taking the abovementioned into consideration, effective methods of detecting the incompatibilities between an active pharmaceutical ingredient and excipients at the preformulation stage are sought. The selection of methods helpful in the detection of physicochemical incompatibilities is limited, *inter alia* due to the long period of the analyses and their labour intensity. For these types of tests the most commonly recommended are the techniques of thermal analysis, i.e. DSC, DTA, TG and DTG and spectroscopic methods in IR and X-ray crystallography. Isothermal stress test in connection with DSC is also used. However, the interpretation of results obtained by means of thermogravimetric and spectrophotometric IR analysis causes the most problems. With relation to this, in this PhD dissertation a new method of interpretation of TG curves and IR spectra with the use of advanced method of multivariate analysis has been presented.

The main aim of the study was the assessment of the usefulness of advanced, statistical multivariate methods: cluster analysis (CA) and principal component analysis (PCA) as a method supporting the TG curve analysis and IR spectra analysis paying attention to the detection of incompatibilities between drug and excipients.

The application of the abovementioned exploratory techniques to the interpretation of TG curves and IR spectra is a new and to date not applied method in the interpretation of data not only in thermogravimetry and IR spectrophotometry, but it also constitutes a new approach towards the examination of incompatibilities at the stage of formulation the composition of pharmaceutical preparations.

The interpretation of the results of the examination conducted by means of TG and IR in the scope of identification of incompatibilities does not provide unequivocal data. What may be concluded from the shape of TG curves is the change of mass (mass loss) during the thermal reactions and the range of temperatures within which the reactions occur may be indicated. However, on the basis of TG curves full information concerning the type of thermal process is not obtained. The scopes of mass loss depend *inter alia* on stoichiometry of the

reactions occurring during heating and are accompanied by endothermic and exothermic effects, which may be recorded by means of DTA and DSC. Therefore, it is difficult to assess the capability of mutual mixing of the ingredients on the basis of the shape of TG curve. Moreover, TG method enables the observation of the interactions between drugs and excipients in higher temperatures; however, information whether incompatibility occurs in room temperature is not obtained. Higher temperature functions as a catalyst, accelerating the course of a given reaction. Therefore, it is unknown whether a given reaction occurs immediately, that is after the mixing of the ingredients in a room temperature, or after certain time, and a higher temperature only accelerates its course. This question was answered partially by using IR spectrophotometry, in case of which measurements are conducted in a room temperature. However, the complexity of IR spectra, and the fact of overlapping of characteristic absorption bands of various functional groups in case of mixture analysis, hinders the interpretation of IR spectra, and also the identification of incompatibilities. In order to overcome the difficulties connected with the fact that certain chemical group are assigned to characteristic absorption bands in IR spectrum and the change of mass on TG curve of the mixtures is assigned to the decomposition of certain ingredients, multivariate exploratory techniques as methods supporting the interpretation of TG curves and IR spectra were applied for the first time.

The research realized within the framework of this PhD dissertation consisted in conducting, by means of the computer program Statistica 10, chemometric analysis of TG curves and IR spectra 63 of two-component physical systems including acetazolamide, atenolol, baclofen, hydrocortisone, piroxicam, caffeine, theobromine and theophylline as drugs and glicocol, glucose, mannitol, sorbitol, lactose, saccharose, cellulose, starch, methylcellulose, β -cyclodextrin, Arabic gum, meglumine, chitosan, polyvinylpyrrolidone K-30, magnesium stearate and talc as excipients. Each studied system consisted of five or nine two-component mixtures, including a drug and an excipient in specific proportions. For the analysis the abovementioned drugs which belong to various anatomic, therapeutic and chemical groups were selected as model substances, whereas excipients are chemical substances commonly used in formulation of solid forms of medicines.

The conducted research showed that in case of CA calculations, Ward's hierarchical agglomeration with the Euclidean distance turned out to be the most useful, and in case of PCA, algorithm – standardized varimax. Furthermore, in CA method, in order to isolate the statistically essential clusters, the Sneath index at the level of 33 and 66% of the maximum distance was applied. Lack was interactions between the ingredients was indicated by two

large clusters on CA dendrogram, from which one grouped excipients and physical mixtures with a high content of excipients (usually the ratio of drug to excipient amounted to 1:9, 3:7, also 1:1 and sometimes even 7:3). The second cluster was the drug and mixtures of high content of drug (usually the ratio of drug to excipient equaled 9:1, 7:3 and 1:1). However, other organization of clusters than the one described above indicated the incompatibilities. On the basis of PCA calculations, lack of interactions is indicated by the fact that the ingredients and their physical mixtures do not form the distinct clusters in a two-component system, PC1 versus PC2. All samples located along PC1 axis, starting from one ingredient located by the most negative value of PC1, through next mixtures with gradually decreasing values of the first ingredient and increasing values of the second one, to the second ingredient located by the most positive values of PC2 axis. The second principal component with lower variability decided on the fact that studied samples were not placed in a parallel line to PC1 axis. The location of samples on the graph of PC1 versus PC2 diverging from the above scheme indicated the incompatibilities.

While analyzing TG curves of the mixtures by means of PCA it was stated that the greatest variability which PC1 was explaining was 78,7%. However, the second principal component was explaining 36,7% of variability in a studied matrix of data and the third - up to 18,7%. In turn, while analyzing IR spectra by means of PCA, the values of PC1 in the range of 50,3-92,8% of variability, the value PC2 from 5,6% to 41,9% of variability and PC3 from 0,8 to 9,0% of variability were obtained.

The results obtained on the basis of the interpretation of TG curves and IR spectra with aid of multivariate exploratory techniques indicated that in eleven cases the interpretation of TG curves and IR spectra varied, i.e. in case of TG curves an interaction was confirmed, however, IR spectra did not confirm that or vice versa. The application of DSC as a method recommended for a fast identification of interaction between ingredients of mixtures and X-ray Power Diffraction (XRPD) allowed for a verification of results obtained by means of TG and IR methods. In four cases the results of interpretation of TG curves were not confirmed by means of DSC and XRPD techniques, and the results of interpretation of IR spectra were not confirmed by means of DSC and XRPD techniques in seven cases. It should be emphasized that lactose and glycol constituted excipients most commonly generating the divergence in the results interpretation of CA and PCA. Also, in case of magnesium stearate, in mixtures with drug the differences in results of CA and PCA were more often observed than in mixtures with other excipients.

The reason for the mistakes in the interpretation of results obtained from TG curves may be a less accurate reading of the temperature of mass loss in comparison with the digital record of IR spectrophotometer. Moreover, little amount of data determined from TG curves in the scope of 20-300°C and the use of multivariate exploratory techniques may be the reason for the improper interpretation of the results. In case of IR spectra, 402 values of transmittance were used for the calculations of CA and PCA. IR spectra contains a variety of bands corresponding to stretching and deformative vibrations. Majority of functional groups gives characteristic absorption bands, which are located in the spectrum in similar range of wavenumbers. Due to this, the fact of overlapping of absorption bands and the complexity of IR spectra may hinder their interpretation.

The conducted study showed that multivariate exploratory techniques of data – the cluster analysis and principal component analysis are useful as methods supporting the interpretation of results of thermogravimetical analysis and IR spectrophotometrical analysis during the detection of incompatibilities between drugs and excipients.

The results of CA and PCA calculations on the basis of the data obtained from TG curves and IR spectra in case of majority of mixtures were confirmed by the results of DSC analysis and XRPD. It proves that the methods of data exploration are reliable and may be helpful in pharmaceutical technology.