



На правах рукописи

Лапук
Семен Евгеньевич

Аморфные активные фармацевтические ингредиенты: получение и кинетическая стабильность по данным классической и сверхбыстрой дифференциальной сканирующей калориметрии

1.4.4. Физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Казань – 2023

Работа выполнена на кафедре физической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

- Научный руководитель:** кандидат химических наук, доцент
Герасимов Александр Владимирович
- Официальные оппоненты:** Доктор химических наук
Суров Артем Олегович
старший научный сотрудник лаборатории полиморфизма одно- и многокомпонентных кристаллов лекарственных соединений Института химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук
- Доктор химических наук, доцент
Князев Андрей Александрович
заведующий кафедрой технологии косметических средств Казанского национального исследовательского технологического университета
- Ведущая организация:** Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования **Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева**

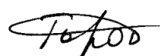
Защита диссертации состоится **6 декабря 2023 года в 14 часов 30 минут** на заседании диссертационного совета 24.1.225.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» по адресу: 420088, г. Казань, ул. Акад. Арбузова, д. 8, ИОФХ им. А.Е. Арбузова – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ИОФХ им. А.Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН и на сайте www.iopc.ru.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах просим присылать по адресу: 420088, г. Казань, ул. Акад. Арбузова, д. 8, ИОФХ им. А.Е. Арбузова, ученому секретарю совета, e-mail: toropchina@iopc.ru

Автореферат разослан «12» октября 2023 года.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук



А.В. Торопчина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Улучшение растворимости лекарственных средств – одно из актуальных направлений современной фармацевтической химии. По различным данным, 40% современных активных фармацевтических ингредиентов (АФИ), а также 80% кандидатов в АФИ, относятся ко второму классу, согласно биофармацевтической классификации лекарств (низкая растворимость, высокая проницаемость) и требуют улучшения своих свойств.

В настоящее время для решения проблемы растворимости АФИ применяются разные подходы. Один из них перевод лекарственных препаратов в аморфную форму, которая лучше растворяется в воде, чем кристаллическая. Существующие подходы можно разделить на две группы: методы на основе плавления, например, экструзия горячего расплава и 3D-печать; методы на основе растворения, например, распылительная сублимационная сушка.

Основным недостатком аморфных форм является их низкая кинетическая и термодинамическая стабильности. Добавление эксципиентов позволяет повысить стабильность. Однако содержание таких добавок может достигать до 80%, это негативно сказывается на желудочно-кишечном тракте и удобстве перорального введения. Уменьшение количества эксципиентов, вплоть до получения чистого аморфного препарата, на сегодняшний день является важной задачей химии и фармацевтики. При этом отсутствуют надежные подходы к воспроизводимому получению аморфных АФИ и исследованию их стабильности. В связи с этим настоящая работа, посвященная исследованию кинетической устойчивости и разработке подходов к получению аморфных форм активных фармацевтических ингредиентов, является актуальной.

Степень разработанности темы исследования. Определение параметров стеклообразующей способности позволяет оценить кинетическую устойчивость аморфного состояния. Основным параметром, определяющим способность вещества образовывать стеклообразное состояние, является критическая скорость охлаждения расплава. Кроме того, находит свое применение параметр кинетической хрупкости, который характеризует отклонение температурной зависимости времени релаксации и вязкости от аррениусовской линейной зависимости. Существует ограниченное число работ, посвященных исследованию быстrokристаллизующихся соединений, в то время как для термически нестабильных соединений такие работы отсутствуют, это связано с невозможностью воспроизводимой реализации высоких скоростей нагрева/охлаждения.

В настоящее время имеется несколько подходов к изучению склонности к кристаллизации аморфных лекарственных форм. Один из распространённых способов – изотермический. Он заключается в определении наличия кристаллической фазы вещества через определенные промежутки времени с помощью различных физических и физико-химических методов. Нужно отметить, что методики, базирующиеся на изотермическом подходе, требуют большого времени для выполнения анализа. Для быстрого определения кинетической устойчивости возможно использование методов неизотермической кинетики. Эти методы основаны на определении кинетических параметров процесса кристаллизации в режиме динамического нагрева. Зная эти параметры, возможно предсказать, насколько стабильно аморфное состояние во времени в широком диапазоне температур. Однако большинство исследователей для описания кинетики процесса холодной кристаллизации использует классические подходы химической кинетики, не учитывающие сложный механизм данного процесса. Необходимо отметить, что многие российские и мировые научные группы работают в области исследования свойств аморфных систем на основе полимеров и неорганических сплавов, в то время как работы, посвященные детальному анализу кинетики процесса холодной кристаллизации относительно малых органических молекул, практически отсутствуют.

Работа выполнена на кафедре физической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, в рамках гранта Министерства науки и высшего образования РФ №14.Y26.31.0019 и субсидии, предоставленной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности, №FZSM-2023-0020, при финансовой поддержке Российского научного фонда – грант №22-23-00312, <https://rscf.ru/project/22-23-00312/> и стипендии Президента РФ № СП-4810.2022.4.

Цель и задачи работы: разработка методики получения и исследования кинетической устойчивости аморфных активных фармацевтических ингредиентов. Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие *задачи*:

- Определение критических скоростей охлаждения расплавов активных фармацевтических ингредиентов (АФИ).
- Определение кинетической хрупкости переохлажденных жидкостей АФИ.
- Определение кинетических параметров процесса кристаллизации активных фармацевтических ингредиентов методами неизотермической и изотермической кинетики.
- Выбор оптимальной модели в рамках подходов неизотермической кинетики для предсказания временной стабильности аморфного состояния.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

Впервые определены оптимальные условия получения полностью аморфного состояния сульфатуанидина, сульфацинда, сульфалена, сульфаметазина, фенацетина, дипиридамола, дофамина гидрохлорида, атенолола, сульфамеразина, сульфаметоксазола, сульфадиазина, оксолиновой кислоты, пипемидовой кислоты и спарфлоксацина с помощью методов классической и сверхбыстрой дифференциальной сканирующей калориметрии.

Разработана методика определения стеклообразующей способности термически неустойчивых активных фармацевтических ингредиентов с помощью метода сверхбыстрой сканирующей калориметрии.

Впервые определена кинетическая хрупкость переохлажденной жидкости ряда активных фармацевтических ингредиентов.

С использованием изоконверсионных и модельных подходов неизотермической кинетики впервые были определены кинетические параметры процесса холодной кристаллизации ряда активных фармацевтических ингредиентов.

Установлено, что модель кристаллизации Накамуры обладает наилучшей предсказательной способностью при определении температурной зависимости кинетической устойчивости ряда аморфных активных фармацевтических ингредиентов. Выбор данной модели был подтвержден многочисленными изотермическими экспериментами.

Теоретическая и практическая значимость работы заключается в разработке методики получения аморфных активных фармацевтических ингредиентов и подходов к определению основополагающих параметров их стеклообразующей способности и кинетической устойчивости. Детальный анализ кинетики холодной кристаллизации трех типов лекарственных соединений (медленнокристаллизующиеся, быстрокристаллизующиеся, термически неустойчивые) позволил выявить универсальную кинетическую модель, описывающую устойчивость полученных аморфных систем в широком диапазоне температур.

Подходы и разработанные методики оценки стабильности аморфных форм активных фармацевтических ингредиентов, предложенные в настоящей диссертационной работе, могут найти применение в фармацевтической промышленности для определения оптимальных условий приготовления и хранения конечных лекарственных форм.

Положения, выносимые на защиту:

Подход к определению оптимальных параметров получения аморфного состояния активных фармацевтических ингредиентов с помощью классической и сверхбыстрой дифференциальной сканирующей калориметрии.

Методы определения и значения критических скоростей охлаждения расплавов и кинетической хрупкости переохлажденных жидкостей медленнокристаллизующихся, быстрокристаллизующихся и термически неустойчивых АФИ.

Методы определения и значения кинетических параметров изотермической и неизотермической кинетики кристаллизации медленнокристаллизующихся, быстрокристаллизующихся и термически неустойчивых АФИ.

Личный вклад автора заключается в получении и обработке экспериментальных данных, представленных в работе, анализе литературных источников, анализе и обобщении полученных результатов, подготовке материалов к публикации.

Достоверность результатов обусловлена воспроизводимостью большого набора экспериментальных данных, полученных с применением современного, прецизионного оборудования, а также согласованностью полученных результатов с имеющимися литературными данными и их интерпретацией на основе современных теоретических представлений. Достоверность результатов подтверждается публикациями в рецензируемых ведущих российских и зарубежных научных журналах по тематике исследований с высоким импакт-фактором, представлением результатов на конференциях.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы были представлены в рамках 7 конференций и семинаров: на международном семинаре «Laehnwitzseminar on Calorimetry 2018» (Германия, г. Росток, 2018 г.), на 3-ем и 4-ом международном семинаре «International Seminar on Advanced Calorimetry» (Казань, 2019, 2021 гг.), на международных конференциях студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2020 и 2022 г.), на IV Всероссийской с международным участием школе-конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Материалы и технологии XXI века» (Казань, 2021 г.), на XXIII международной конференции «International Conference on Chemical Thermodynamics in Russia» (Казань, 2022 г.).

Публикации. Результаты диссертационной работы изложены в 6 статьях, опубликованных в рецензируемых международных и российских изданиях, рекомендованных ВАК РФ, входящих в библиографические базы данных Web of Science и Scopus, а также в 6 тезисах докладов на конференциях российского и международного уровня. Статьи по теме диссертационной работы написаны в соавторстве с к.х.н., доцентом Герасимовым А.В., осуществлявшим руководство исследованием, к.х.н. доцентом Мухаметзяновым Т.А. принимавшим участие в обсуждении результатов, написании статей и подготовке тезисов докладов, д.х.н., профессором Зиганшиным М.А., аспирантом Ларионовым Р.А и м.н.с. Зубайдуллиной Л.С. принимавшими участие в обсуждении результатов классической дифференциальной сканирующей калориметрии, профессором Шиком К.Э.Г., принимавшим участие в обсуждении данных, полученных с помощью сверхбыстрой сканирующей калориметрии.

Объем и структура диссертации.

Представленная работа состоит из следующих разделов: введения, трёх глав, заключения, списка сокращений, списка использованных источников, содержащего 190 источников, и приложения. Работа представлена на 147 страницах и включает 15 таблиц и 45 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе представлен литературный обзор, обобщающий имеющуюся информацию о проблемах получения и исследования стабильности аморфным форм

активных фармацевтических ингредиентов. Рассматриваются вопросы классификации лекарственных средств в зависимости от растворимости и проницаемости. Большое внимание уделено современным способам получения аморфных активных фармацевтических ингредиентов, термодинамическим и кинетическим аспектам процесса кристаллизации, кинетической устойчивости аморфного состояния и стеклообразующей способности лекарственных средств, а также основным подходам к определению кинетических параметров процесса кристаллизации.

Во второй главе представлено описание материалов и методов исследования, применявшихся в данной работе. Третья глава посвящена анализу полученных экспериментальных данных. В ней обсуждаются результаты термического анализа и проводится классификация исследованных соединений по склонности к кристаллизации. Анализируются полученные значения критических скоростей охлаждения расплавов, кинетических хрупкостей переохлажденных жидкостей, кинетические параметры кристаллизации, определенные с помощью неизотермической и изотермической кинетики, обосновывается выбор оптимальной прогностической модели, описывающей времена полупревращения, полученные изотермическим способом.

В качестве объектов исследования были использованы следующие активные фармацевтические ингредиенты (АФИ): **сульфагуанидин, сульфациридин, сульфален, сульфаметазин, фенацетин, дипиридамо, дофамин гидрохлорид, атенолол, сульфамеразин, сульфаметоксазол, сульфадиазин, оксолиновая кислота, пипемидовая кислота, спарфлоксацин.**

1 Результаты синхронного термического анализа АФИ

Для определения термической стабильности исследованных в работе активных фармацевтических ингредиентов (АФИ) был использован метод синхронного термического анализа (термогравиметрия и дифференциальная сканирующая калориметрия (ТГ/ДСК)). Для большинства исследованных АФИ не наблюдается заметной потери массы при плавлении. На кривых нагрева сульфадиазина, оксолиновой кислоты, пипемидовой кислоты и спарфлоксацина отчетливо фиксируется потеря массы, связанная с разложением сразу после начала плавления (рисунок 1).

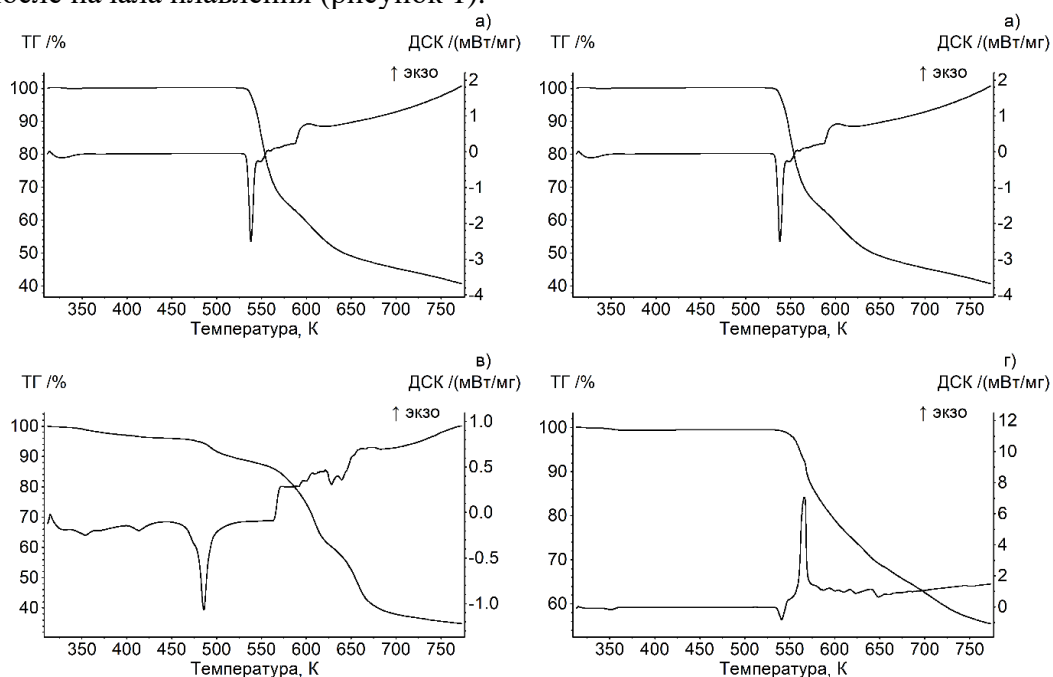


Рисунок 1. Кривые ТГ/ДСК нагрева в динамической атмосфере аргона (75 мл/мин) со скоростью 5 К/мин а) сульфадиазина, б) оксолиновой кислоты, в) пипемидовой кислоты и г) спарфлоксацина.

На основании результатов синхронного термического анализа, исследуемые антибиотики – представители класса хинолонов и сульфадиазин, можно отнести к термически неустойчивым АФИ.

2 Классификация исследованных соединений по склонности к кристаллизации

Для определения класса склонности к кристаллизации исследованных АФИ был использован метод классической дифференциальной сканирующей калориметрии. Для этого образец нагревали до температуры полного расплавления, после этого расплав АФИ охлаждали до комнатной температуры со скоростью 20 К/мин. Затем образец нагревался до полного расплавления со скоростью 10 К/мин.

На кривых охлаждения расплавов сульфагуанидина, сульфапиридина, сульфалена, сульфаметазина не фиксировался экзо–эффект кристаллизации. Однако на последующей кривой нагрева фиксировался экзотермический пик холодной кристаллизации и эндотермический пик плавления. Такие вещества относятся ко 2 классу склонности к кристаллизации (медленнокристаллизующиеся вещества). Они характеризуются высокой (или промежуточной) стеклообразующей способностью и кинетической устойчивостью.

На кривых охлаждения расплавов фенаcetина, дипиридамола, дофамина гидрохлорида, атенолола, сульфамеразина, сульфаметоксазола фиксировался экзотермический пик кристаллизации. На следующем сканировании фиксировался только эндотермический пик плавления. Следовательно, данные АФИ относятся к 1 классу склонности к кристаллизации (быстрокристаллизующиеся вещества). Такие вещества характеризуются низкой стеклообразующей способностью и кинетической устойчивостью.

Таким образом, с помощью методов синхронного термического анализа и классической дифференциальной сканирующей калориметрии все исследованные в настоящей работе активные фармацевтические ингредиенты были разделены на три группы: медленнокристаллизующиеся АФИ (сульфагуанидин, сульфапиридин, сульфален, сульфаметазин), быстрокристаллизующиеся АФИ (фенацетин, дипиридамол, дофамина гидрохлорид, атенолола, сульфамеразин, сульфаметоксазол) и термически неустойчивые АФИ (сульфадиазин, оксолиновая кислота, пипемидовая кислота и спарфлоксацин).

3 Критические скорости охлаждения расплава активных фармацевтических ингредиентов

В настоящей работе метод классической дифференциальной сканирующей калориметрии был использован для определения критических скоростей охлаждения медленнокристаллизующихся АФИ, в то время как метод сверхбыстрой калориметрии был применен для исследования быстрокристаллизующихся и термически неустойчивых АФИ. Критическая скорость охлаждения расплава соответствует минимальной скорости охлаждения, при которой формируется полностью аморфное вещество и соответствует минимальной скорости, при которой зависимость степени кристалличности от предварительной скорости охлаждения выходит на предельное значение. Для всех исследуемых АФИ была определена зависимость степени кристалличности от предварительной скорости охлаждения. Результаты, полученные для всех изученных АФИ, представлены на рисунке 2 и в таблице 1.

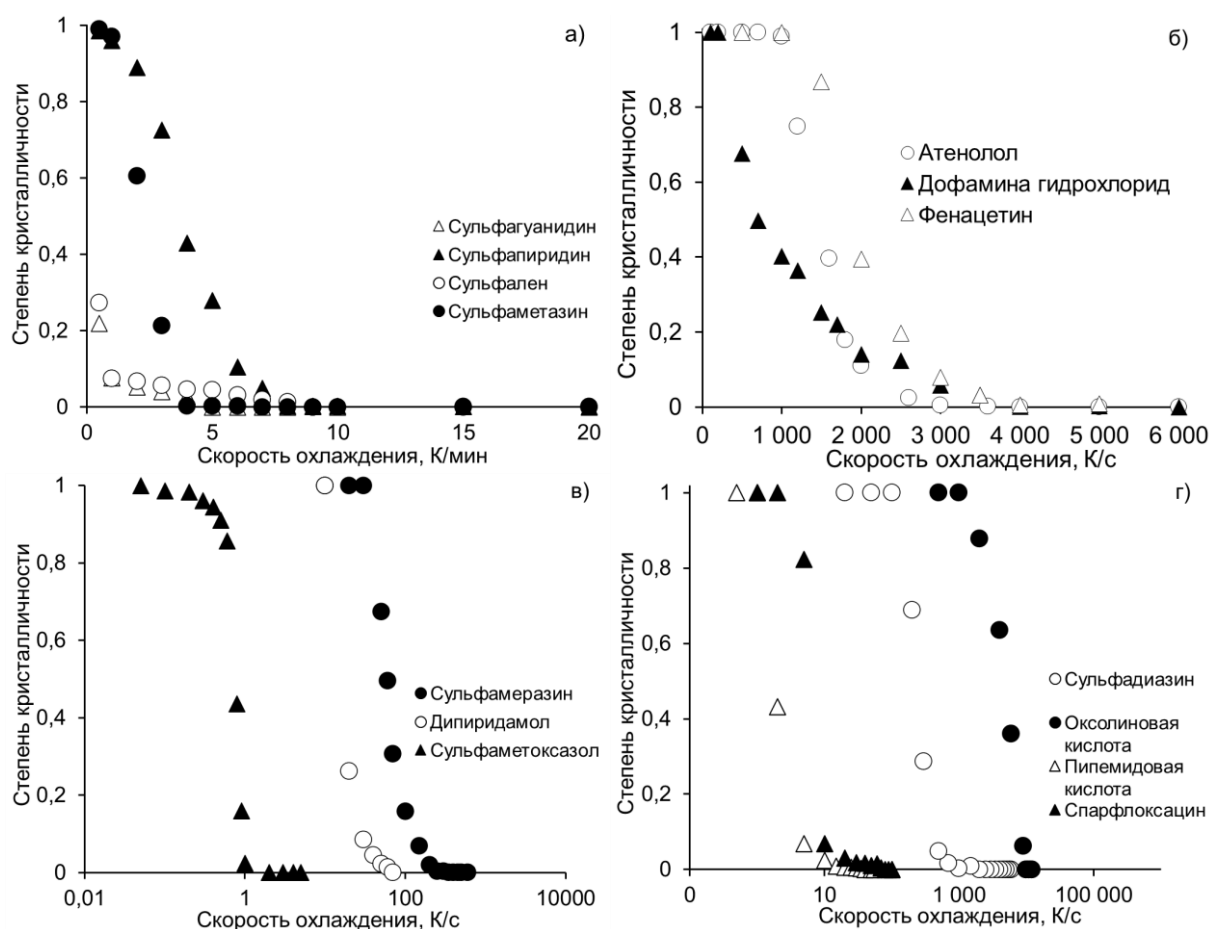


Рисунок 2. Зависимость степени кристалличности от скорости предварительного охлаждения для а) сульфагуанидина, сульфапиридина, сульфалена и сульфаметазина, б) фенацетина, дофамин гидрохлорида, атенолола, в) сульфамеразина, дипиридамола, и сульфаметоксазола, г) сульфадиазина, оксолиновой кислоты, пипемидовой кислоты и спарфлоксацина.

Низкие критические скорости охлаждения медленнокристаллизующихся АФИ свидетельствуют о высокой стеклообразующей способности и устойчивости аморфного состояния исследованных сульфаниламидов. Относительно невысокие критические скорости охлаждения позволят получать аморфное состояние исследованных сульфагуанидина, сульфапиридина, сульфалена и сульфаметазина методом экструзии горячего расплава в мягких режимах охлаждения. Высокие критические скорости охлаждения расплавов фенацетина, дипиридамола, дофамин гидрохлорида, атенолола, сульфамеразина и сульфаметоксазола свидетельствуют об их низких стеклообразующей способности и кинетической устойчивости аморфного состояния. Получение аморфного состояния данных веществ, кроме сульфаметоксазола, возможно только с применением аддитивных технологий или методом распылительной сублимационной сушки. Аморфное состояние сульфаметоксазола возможно получить, используя более мягкие условия охлаждения, например, метод экструзии горячего расплава. Как и в случае быстрокристаллизующихся АФИ, получение аморфного состояния термически неустойчивых антибиотиков из ряда хинолонов и сульфадиазина возможно только с помощью аддитивных технологий или методом сублимационной распылительной сушки. Однако необходимо отметить, что при использовании аддитивных технологий для получения аморфного состояния изучаемых веществ возможны ограничения в связи с низкой термической устойчивостью данных АФИ.

Таким образом, в ходе выполнения работы были определены критические скорости охлаждения расплавов 14 активных фармацевтических ингредиентов.

Таблица 1. Критические скорости охлаждения расплавов изученных активных фармацевтических ингредиентов.

АФИ	Критическая скорость охлаждения, К/с
Сульфагуанидин	0,067
Сульфаметазина	0,083
Сульфапиридин	0,13
Сульфален	0,15
Фенацетин	4000
Дипиридамо́л	70
Дофамина гидрохлорид	4000
Атенолол	3000
Сульфамеразин	350
Сульфаметоксазол	3
Сульфадиазин	2000
Оксолиновая кислота	10000
Пипемидовая кислота	40
Спарфлоксацин	80

Определенные критические скорости охлаждения расплавов АФИ охватывают 5 порядков скоростей охлаждения. Минимальное значение критической скорости охлаждения имеет сульфагуанидин (0,067 К/с), а максимальное оксолиновая кислота (10000 К/с). Необходимо отметить, что для термически неустойчивых АФИ с помощью метода сверхбыстрой дифференциальной сканирующей калориметрии впервые были определены температуры плавления. Значения температур плавления для всех изученных АФИ представлены в таблице 2.

4 Кинетическая хрупкость переохлажденной жидкости активных фармацевтических ингредиентов

Один из параметров стеклообразующей способности веществ является кинетическая хрупкость переохлажденной жидкости. Этот параметр показывает, на сколько сильно изменяются время релаксации и вязкость с изменением температуры.

Для калориметрической оценки времени релаксации (τ) уравнение Фогеля–Фулчера–Таммана ($\tau = \tau_0 \exp \frac{B}{(T-T_0)}$) можно представить как температурную зависимость кажущейся энергии активации стеклования (E_{Tg}), уравнение 1:

$$\frac{E_{Tg}}{R} = - \frac{d \ln q}{d \left(\frac{1}{T_g} \right)}, \quad (1)$$

где R – газовая постоянная. Кажущуюся энергию активации стеклования при температуре стеклования (T_g) можно определить с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии путем нагревания или охлаждения аморфных веществ с различными скоростями (q) и построения графика зависимости $\ln q$ от $1/T_g$. Кинетическая хрупкость переохлажденной жидкости (m), определяется уравнением 2:

$$m = \frac{d \lg \tau}{d \left(\frac{T_g}{T} \right)} = \frac{E_{Tg}}{(\ln 10) R T_g}, \quad (2)$$

Отсюда следуют уравнение 3 для параметра T_0 :

$$T_0 = T_g \left(1 - \frac{m_{min}}{m} \right), \quad (3)$$

где, T_0 – температура Фогеля – температура, при которой время релаксации и, следовательно, барьер вязкого течения увеличивается до бесконечности, m_{min} – минимально возможное значение кинетической хрупкости равно 16.

Для определения кинетической хрупкости был построен график зависимости натурального логарифма скорости нагрева от обратной температуры стеклования рисунок 3.

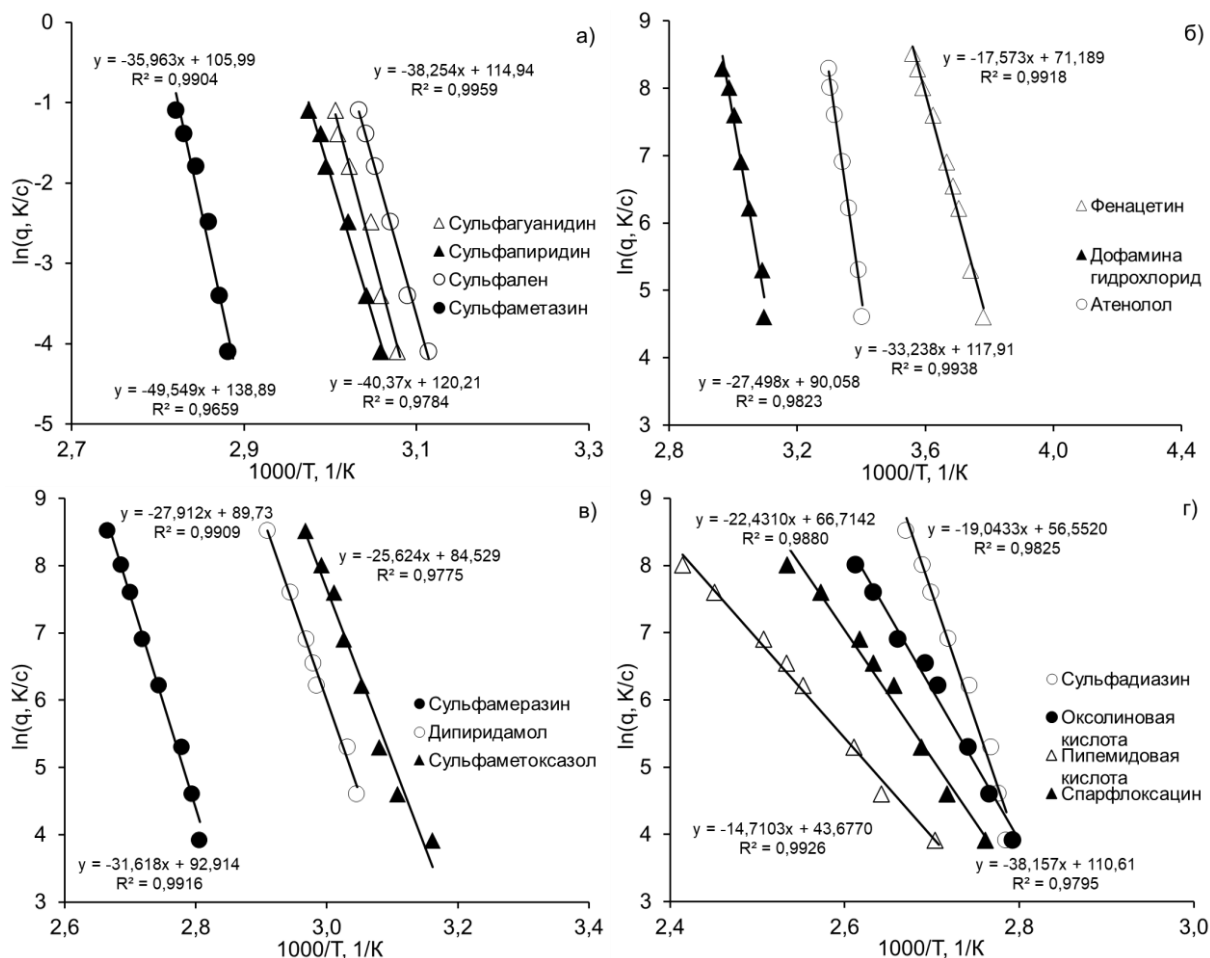


Рисунок 3. Зависимость натурального логарифма скорости нагрева от обратной температуры стеклования а) сульфагуанидина, сульфапиридина, сульфалена и сульфаметазина, б) фенацетина, дофамина гидрохлорида и атенолола, в) сульфамеразина, дипиридамола и сульфаметоксазола, г) сульфадиазина, оксолиновой кислоты, пипемидовой кислоты и спарфлоксацина.

Свое применение для оценки стеклообразующей способности находит параметр силы хрупкости переохлажденной жидкости D , характеризующий температурную зависимость времени релаксации/вязкости, уравнение 5:

$$D = \frac{\ln(10) \cdot m_{min}^2}{(m - m_{min})}, \quad (4)$$

для «сильных» жидкостей параметр D имеет значение >30 , в то время как для «хрупких» жидкостей параметр $D < 10$. Многие фармацевтические стекла являются умеренно «хрупкими» и имеют значения параметра D от 7 до 15. Необходимо отметить, что для «сильных» стеклообразующих веществ $m < 30$, а у «хрупких» $m > 75$. Остальные вещества классифицируются как промежуточно «сильные» или «хрупкие» стеклообразователи.

Используя уравнения 1-4, были рассчитаны кинетические параметры процесса стеклования: энергия активации стеклования, кинетическая хрупкость, параметр силы хрупкости и температура Фогеля, таблица 2.

Таблица 2. Параметры процесса стеклования и температуры плавления исследованных АФИ.

АФИ	ΔE_{T_g} , кДж/моль	T_g , К*	m	D	T_0 , К	T_m , К
Сульфатуанидин	336±25	331	53±4	16±2	231±7	461*
Сульфациридин	299±15	334	47±2	19±1	220±5	449*
Сульфален	318±10	328	51±2	17±1	224±3	447*
Сульфаметазин	412±39	352	61±6	13±2	260±8	469*
Фенацетин	146±5	258	30±1	43±3	118±5	405*
Дипиридамол	232±10	305	40±2	25±2	182±5	440*
Дофамин гидрохлорид	229±14	309	43±3	22±2	174±6	524*
Атенолол	288±10	278	54±2	15±1	196±3	427*
Сульфамеразин	249±6	347	38±1	27±1	200±4	509*
Сульфаметоксазол	242±9	314	40±1	24±1	190±4	438*
Сульфадиазин	295±13	348	44±2	21±1	222±5	531
Оксолиновая кислота	187±8	341	29±1	47±4	150±8	544
Пипемидовая кислота	122±4	361	18±1	349±94	35±11	478
Спарфлоксацин	158±9	354	23±1	80±12	112±13	542

*Значения определены при скорости нагрева 10 К/мин.

Значения температуры Фогеля увеличиваются с увеличением температуры плавления АФИ. В соответствии со значениями параметров m и D , таблица 2, Переохлажденные жидкости медленнокристаллизующихся, быстрокристаллизующихся и термически неустойчивых АФИ относятся к «сильным» и умеренно «сильным» веществам. Данные переохлажденные жидкости характеризуются слабым изменением времени релаксации и вязкости в зависимости от температуры. Для определения кинетической устойчивости полученных аморфных АФИ были использованы методы неизотермической и изотермической кинетики.

5 Результаты исследования кинетики холодной кристаллизации активных фармацевтических ингредиентов с использованием неизотермических подходов

Используя классическую и сверхбыструю дифференциальную сканирующую калориметрию, можно зафиксировать тепловой поток, возникающий в процессе кристаллизации аморфной фазы, а также определить температуру начала и конца данного процесса. Нагревая аморфный образец, возможно зафиксировать явление, называемое холодной кристаллизацией или кристаллизацией на нагреве. Для определения кинетических параметров процесса холодной кристаллизации в работе использовались изоконверсионные подходы и модельные методы неизотермической кинетики. Кинетические параметры процесса холодной кристаллизации рассчитывались с помощью программного пакета NETZSCH Kinetics Neo 2.1.2.2.

Значения энергий активации, определенные с помощью анализа Фридмана и методом Киссинджера–Акахиры–Сунозы (КАС), для всех исследованных АФИ представлены в таблице 3.

С помощью модельных методов (таблица 4) были определены кинетические параметры процесса холодной кристаллизации сульфатуанидина, сульфациридина, сульфалена, сульфаметазина, фенацетина, дипиридамола, дофамин гидрохлорида, атенолола, сульфамеразина, сульфаметоксазола, сульфадиазина, оксолиновой кислоты, пипемидовой кислоты и спарфлоксацина [1-6].

Таблица 3. Значения энергии активации холодной кристаллизации, полученные с помощью анализа Фридмана и метода КАС для всех исследованных АФИ.

АФИ	E_a (Анализ Фридмана), кДж/моль			E_a (Метод КАС), кДж/моль		
	Степень конверсии			Степень конверсии		
	0,1	0,5	0,9	0,1	0,5	0,9
Сульфатуанидин	124±8	118±15	109±26	144±13	136±12	128±14
Сульфациридин	175±10	167±11	126±15	168±9	172±9	167±9
Сульфален	134±7	126±8	90±11	138±10	136±6	129±4
Сульфаметазин	139±10	127±11	91±15	154±8	147±8	137±9
Фенацетин	88±1	80±1	57±6	94±2	90±2	82±2
Дипиридамо́л	84±3	36±2	38±3	126±5	90±1	68±2
Дофамин гидрохлорид	90±5	96±1	69±11	91±4	92±5	89±7
Атенолол	94±3	95±6	79±10	102±3	101±3	97±5
Сульфамеразин	84±10	79±14	50±16	103±8	92±7	81±11
Сульфаметоксазол	68±3	49±5	47±13	84±4	76±2	69±3
Сульфадиазин	84±7	69±15	50±13	103±6	93±9	82±9
Оксилиновая кислота	55±2	55±8	63±20	75±3	67±1	63±7
Пипемидовая кислота	67±5	48±6	44±15	85±1	75±2	65±4
Спарфлоксацин	52±6	43±6	24±1	80±4	71±4	62±4

Для оптимизации модели кристаллизации Накамуры были использованы температуры плавления и стеклования, полученные при нагреве со скоростью 10 К/мин, таблица 2.

Таблица 4. Уравнения модельных методов неизотермической кинетики.

Модель	Уравнение
Вна	$f(\alpha) = \alpha^n (1 - \alpha)^{AutocatOrder}$, где n – порядок реакции по реагенту и $AutocatOrder$ – порядок реакции по продукту
Сnm	$f(\alpha) = (1 - \alpha)^n (1 + AutocatPreExp \cdot \alpha^m)$, где m – порядок реакции по продукту, n – порядок реакции по реагенту, $AutocatPreExp$ – автокаталитический множитель
Аn	$f(\alpha) = n \cdot (1 - \alpha)(-\ln(1 - \alpha))^{\frac{n-1}{n}}$, где параметр n , именуемый как параметр Авраами.
Nk	$\frac{d\alpha}{d\tau} = K(\tau) \cdot n \cdot (1 - \alpha)(-\ln(1 - \alpha))^{\frac{n-1}{n}}$, где функция $K(\tau)$ – неаррениусовская температурная зависимость, n – параметр зародышеобразования. Функция $K(\tau)$, исходя из теории Хоффмана–Лауритцена, имеет вид: $K(\tau) = A \cdot \exp\left(\frac{-U}{R(T-T_\infty)}\right) \exp\left(\frac{K_g}{T\Delta T f}\right)$, где A – предэкспоненциальный множитель, U – универсальный параметр, равный 6,3 кДж/моль, $T_\infty = T_g - 30$ – температура окончания кристаллизации, обычно это температура ниже температуры стеклования, полученной при скорости 10 К/мин, на 30 К, $\Delta T = T_m - T$ – переохлаждение ниже температуры плавления T_m , $f = 2T/(T_m + T)$ – поправочный коэффициент, K_g – кинетический параметр нуклеации.

Энергии активации, определенные с помощью изоконверсионных подходов для термически неустойчивых соединений, имеют близкие значения с соответствующими параметрами для быстрокристаллизующихся АФИ, что в совокупности со значениями кинетической хрупкости и критических скоростей охлаждения позволяет отнести исследованные хинолоны и сульфадиазин к группе быстрокристаллизующихся соединений.

С помощью различных подходов неізотермической кинетики были определены кинетические параметры процесса холодной кристаллизации 14 АФИ. Энергии активации кристаллизации, определённые с помощью изоконверсионных подходов, имеют тенденцию к уменьшению при увеличении степени конверсии. Энергии активации процесса холодной кристаллизации медленнокристаллизующихся АФИ выше, чем у быстрокристаллизующихся и термически неустойчивых. Это говорит о высокой кинетической устойчивости аморфного состояния медленнокристаллизующихся сульфаниламидов.

6 Результаты исследования изотермической кинетики кристаллизации активных фармацевтических ингредиентов

Следуя рекомендациям международной конфедерации термического анализа и калориметрии, для выбора оптимальной прогностической модели необходимо провести не менее одного изотермического эксперимента. Принцип изотермического подхода заключается в исследовании зависимости степени кристалличности вещества от времени изотермической выдержки. Зависимость степени кристалличности от времени выдержки аппроксимировалась с помощью уравнения Колмогорова–Джонсона–Мела–Аврами, уравнение 5:

$$\alpha(t) = (1 - \exp(-\ln 2 (\frac{t}{\tau_c})^{n_c})), \quad (5)$$

где t – время изотермической выдержки, τ_c – время полупревращения кристаллизации, n_c – коэффициент кристаллизации Аврами. Параметры уравнения 5, полученные при аппроксимации зависимости степени кристалличности от времени выдержки для медленнокристаллизующихся АФИ, представлены в таблице 5.

Таблица 5. Кинетические параметры процесса изотермической кристаллизации аморфных сульфагуанидина, сульфапиридина, сульфалена и сульфаметазина.

Параметры	Сульфагуанидин	Сульфапиридин	Сульфален	Сульфаметазин
Температура выдержки, К	353	348	353	379
τ_c , мин	30,66±0,04	96,13±0,02	170,7±0,2	155,2±0,3
n_c	2,9±0,1	2,6±0,1	2,5±0,1	3,1±0,1
R ²	0,9991	0,9994	0,9991	0,9979

Значения параметра Аврами n_c находятся в диапазоне от 2,5 до 3,1, что соответствует сферическому росту кристаллов и спорадическому росту нуклеатов при данной температуре выдержки.

На основании данных неізотермической кинетики для изученных медленнокристаллизующихся сульфаниламидов были спрогнозированы времена полупревращения кристаллизации. Рассчитанные методами неізотермической кинетики времена полупревращения кристаллизации и времена полупревращения кристаллизации, полученные в изотермическом эксперименте, для медленнокристаллизующегося сульфаметазина представлены на рисунке 4.

Из рисунка 4 видно, что значения, рассчитанные на основании модели кристаллизации Накамуры, хорошо соответствуют экспериментальным данным при температурах вблизи температуры стеклования, в отличие от других использованных в настоящей работе подходов неізотермической кинетики. Медленнокристаллизующиеся сульфаниламиды показывают высокую кинетическую стабильность аморфного состояния, что коррелирует с высокой стеклообразующей способностью данных веществ.

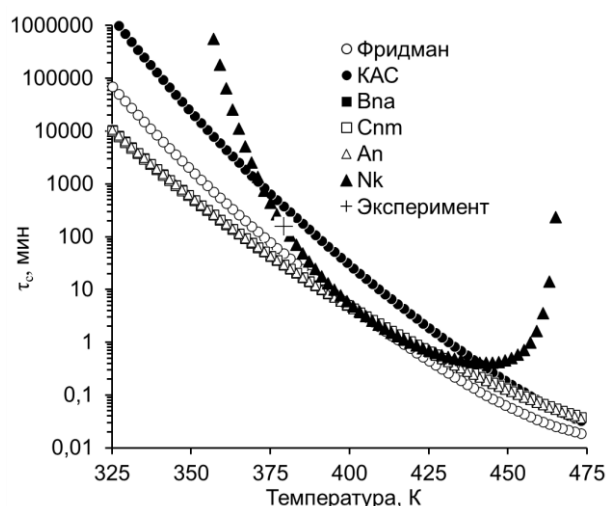


Рисунок 4. Температурная зависимость времени полупревращения кристаллизации, рассчитанная методами неизотермической кинетики и времена полупревращения кристаллизации, полученные в изотермическом эксперименте для сульфаметазина.

Для более детального анализа процесса кристаллизации аморфной фазы был выбран быстрокристаллизующийся АФИ – дипиридамола. Данное вещество несмотря на относительно высокую критическую скорость охлаждения проявляет хорошую временную стабильность аморфного состояния. Температуры выдержки для дипиридамола составили от 322 К до 432 К, а время выдержки от 0,1 до 518000 с. Для дипиридамола на основе результатов неизотермической кинетики были спрогнозированы времена полупревращения кристаллизации. Рассчитанные методами неизотермической кинетики времена полупревращения кристаллизации и времена полупревращения кристаллизации, полученные в изотермической эксперименте, представлены на рисунке 5.

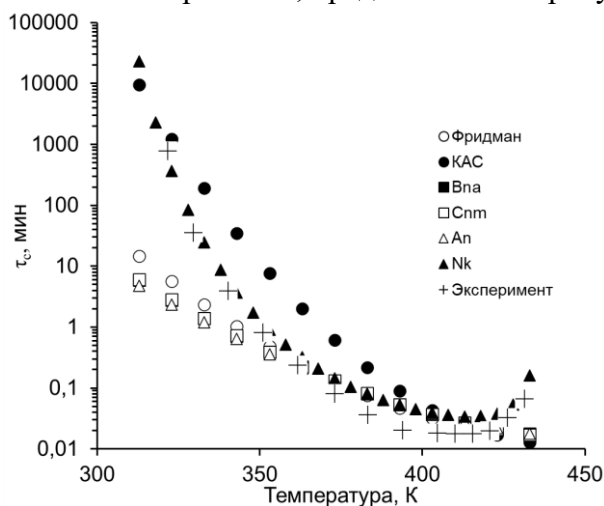


Рисунок 5. Температурная зависимость времени полупревращения кристаллизации, рассчитанных методами неизотермической кинетики, и времен полупревращения кристаллизации, полученных в изотермическом эксперименте для дипиридамола.

В интервале температур 353–433 К все модели, за исключением КАС, адекватно описывают данные, полученные в изотермическом эксперименте. В области более низких температур наблюдается значительное отклонение теоретического времени от экспериментальных значений. В то же время значения, полученные на основании модели Накамуры, хорошо соответствуют экспериментальным данным во всем изученном диапазоне температур, что говорит о возможности использования данной модели для

описания результатов неизотермической кинетики и предсказания временной стабильности аморфных быстрокристаллизующихся АФИ.

Из рисунка 5 видно, что максимальная скорость кристаллизации наблюдается при температуре 415 К. Значения τ_c уменьшаются в диапазоне температур от 322 К до 415 К, что связано с увеличением молекулярной мобильности. При дальнейшем повышении температуры выдержки наблюдается увеличение времени полупревращения, что связано с уменьшением скорости образования зародышей. Таким образом кристаллизация образца в условиях ограниченного числа зародышей должна приводить в росту кристаллитов большего размера по сравнению с кристаллами, полученными при наличии большого числа зародышей (при температурах ниже 415 К). Подтверждение этого факта было получено с помощью метода поляризационной оптической микроскопии. На рисунке 6, видно, что размер кристаллов, выращенных при 322 К имеет меньшие значения по сравнению с кристаллами, выращенными при 415 К.

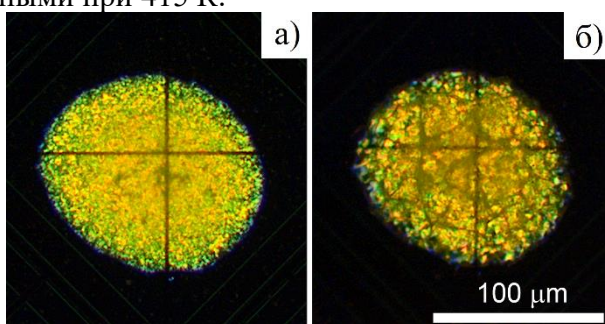


Рисунок 6. Изображения кристаллов дипиридамола, полученные с помощью POM Olympus LC 30: температура выдержки 322 К (а), температура выдержки 415 К (б).

Параметры уравнения 5, полученные при аппроксимации зависимости степени кристалличности от времени выдержки быстрокристаллизующихся и термически неустойчивых АФИ, представлены в таблице 6.

Определенные значения параметра Аврами ($n_c \sim 1$) для процесса изотермической кристаллизации дофамина гидрохлорида свидетельствуют об иглоподобном росте кристаллов и спорадическом механизме нуклеации. Значения параметра Аврами n_c от 1,5 до 2,3 для фенацетина, сульфамеразина и атенолола соответствуют сферическому росту кристаллов и спорадическому росту нуклеатов. Значения параметра Аврами, определённые для сульфаметоксазола, соответствуют спорадическому механизму нуклеации и пучкообразному росту кристаллов. Значения параметра Аврами n_c для сульфадиазина изменяются от 1,5 до 2,3, что соответствует сферическому росту кристаллов и спорадическому росту нуклеатов. В случае хинолонов, для спарфлоксацина и оксолиновой кислоты значения параметра Аврами соответствуют спорадическому механизму нуклеации и иглоподобному росту кристаллов. Для пипемидовой кислоты параметр n_c соответствует спорадическому механизму нуклеации и дископодобному росту кристаллов. Стоит отметить, что при увеличении температуры изотермической выдержки в случае атенолола происходит резкое изменение параметра Аврами с 1,5 до 4, что соответствует спорадическому механизму нуклеации, однако происходит изменение механизма роста кристалла со сферического на пучкообразный.

Для исследуемых быстрокристаллизующихся и термически неустойчивых АФИ были спрогнозированы времена полупревращения изотермической кристаллизации на основе методов неизотермической кинетики.

Зависимости рассчитанных методами неизотермической кинетики времен полупревращения кристаллизации и времен полупревращения кристаллизации, полученных в изотермическом эксперименте для быстрокристаллизующегося фенацетина и термически неустойчивого сульфаметазина, представлены на рисунке 7.

Таблица 6. Кинетические параметры процесса изотермической кристаллизации аморфных: фенацетина, дофамина гидрохлорида, атенолола, сульфамеразина, сульфаметоксазола.

АФИ	Температура изотермической выдержки, К	τ_c , мин	n_c	R^2
Фенацетин	261	60,4±2,2	1,6±0,1	0,9975
	266	3,6±0,1	1,6±0,1	0,9974
	272	1,187±0,008	1,8±0,1	0,9999
Дофамина гидрохлорид	314	219,8±21,5	1,1±0,1	0,9745
	319	80,6±10,8	0,9±0,1	0,9778
	325	9,8±1,1	0,9±0,1	0,9601
Атенолол	279	433,3±46,7	1,6±0,3	0,9711
	282	36,6±3,2	1,5±0,2	0,9857
	285	10,9±1,2	4,0±1,5	0,9796
Сульфамеразин	358	14,0±0,6	1,8±0,2	0,9952
	363	3,3±0,1	2,3±0,2	0,9983
	367	1,35±0,03	2,0±0,1	0,9991
Сульфаметоксазол	330	47,2±0,7	3,8±0,2	0,9999
	334	5,84±0,03	3,5±0,1	0,9999
	338	3,196±0,004	3,1±0,1	0,9999
Сульфадиазин	351	14,6±0,6	1,9±0,2	0,9935
	362	0,95±0,06	2,1±0,5	0,9931
	367	0,49±0,02	2,0±0,2	0,9965
Оксолиновая кислота	370	1,19±0,15	0,5±0,1	0,9879
Пипемидовая кислота	381	88,7±1,1	1,8±0,1	0,9996
Спарфлоксацин	363	36,1±3,0	0,8±0,2	0,9878

Из рисунка 7 видно, что значения, рассчитанные на основании модели кристаллизации Накамуры, хорошо соответствуют экспериментальным данным при температурах вблизи температуры стеклования, в отличие от других использованных в настоящей работе подходов неизотермической кинетики. Быстрокристаллизующиеся и термически неустойчивые АФИ показывают низкую устойчивость аморфного состояния, что коррелирует с низкой стеклообразующей способностью данных веществ.

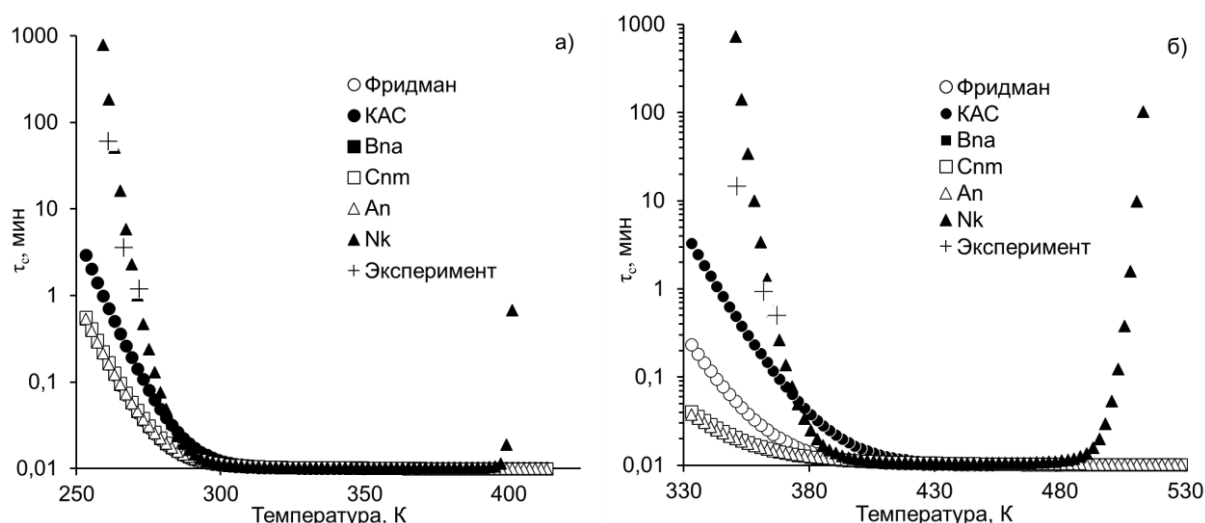


Рисунок 7. Температурная зависимость времен полупревращения кристаллизации, рассчитанных методами неизотермической кинетики, и времен полупревращения кристаллизации, полученных в изотермическом эксперименте, для а) быстрокристаллизующегося фенацетина и б) термически неустойчивого сульфаметазина.

С помощью изотермического подхода были определены времена полупревращения кристаллизации вблизи температуры стеклования медленнокристаллизующихся, быстрокристаллизующихся и термически неустойчивых АФИ. Полученные временные зависимости степени кристалличности были аппроксимированы уравнением Колмогорова–Джонсона–Мела–Аврами. Параметры Аврами, полученные при аппроксимации, принимают значения от 0,5 до 4.

С помощью результатов неизотермических подходов спрогнозированы времена полупревращения кристаллизации при низких температурах. Только в случае модели кристаллизации Накамуры предсказанные времена полупревращения хорошо соответствуют данным, полученным с помощью изотермического подхода.

Используя классическую дифференциальную сканирующую калориметрию, была исследована кинетическая устойчивость и стеклообразующая способность медленнокристаллизующихся АФИ. Низкие критические скорости охлаждения и умеренно «сильная» температурная зависимость времени релаксации и вязкости позволяет получать аморфное состояние в мягких условиях с помощью метода экструзии горячего расплава. С помощью модели кристаллизации Накамуры спрогнозированы времена полупревращения кристаллизации для медленнокристаллизующихся АФИ, которые соответствуют временам полупревращения, полученным с помощью изотермических экспериментов. Времена полупревращения, предсказанные для сульфатуанидина, сульфациридина, сульфалена и сульфаметазина, говорят о высокой кинетической устойчивости аморфного состояния вблизи температуры стеклования, это подтверждает их высокую стеклообразующую способность. Срок хранения аморфного состояния данных медленнокристаллизующихся сульфаниламидов при комнатной температуре составляет более 10 лет.

Используя сверхбыструю сканирующую калориметрию, была исследована кинетическая устойчивость и стеклообразующая способность быстрокристаллизующихся и термически неустойчивых АФИ. Высокие критические скорости и «сильная» температурная зависимость времени релаксации и вязкости позволяет получить эти вещества только с помощью аддитивных технологий и метода распылительной сублимационной сушки. Однако применение методов плавления к получения аморфного состояния сульфадиазина, оксолиновой кислоты, пипемидовой кислоты и спарфлоксацина невозможно в связи с низкой термической устойчивостью.

С помощью модели кристаллизации Накамуры были спрогнозированы времена полупревращения кристаллизации для фенаcetина, дипиридамола, дофамина гидрохлорида, атенолола, сульфамеразина, сульфаметоксазола, сульфадиазина, оксолиновой кислоты, пипемидовой кислоты и спарфлоксацина, которые соответствуют временам полупревращения, полученным в изотермическом эксперименте. Данные вещества имеют низкую кинетическую устойчивость, которая коррелирует с низкой стеклообразующей способностью. Для изученных соединений наблюдается увеличение значений энергии активации стеклования, кинетической хрупкости переохлажденной жидкости и температуры Фогеля, с увеличением энергии активации холодной кристаллизации, определенной с помощью анализа Фридмана и методом КАС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые, используя методы классической и сверхбыстрой дифференциальной сканирующей калориметрии, была разработана методика воспроизводимого получения аморфного состояния 14 активных фармацевтических ингредиентов.

2. Определены критические скорости охлаждения расплавов ряда медленнокристаллизующихся, быстрокристаллизующихся и термически неустойчивых

активных фармацевтических ингредиентов. Полученные значения критических скоростей охлаждения расплавов охватывают более 5 порядков.

3. Впервые определены кинетические хрупкости переохлажденной жидкости 14 активных фармацевтических ингредиентов. В соответствии со значениями кинетической хрупкости, полученные переохлажденные жидкости демонстрируют «сильную» и умеренно «сильную» температурные зависимости времени релаксации и вязкости.

4. Кинетическая устойчивость активных фармацевтических ингредиентов была изучена с привлечением методов изотермической и неизотермической кинетики. Наилучшее соответствие двух подходов было получено с помощью модели кристаллизации Накамуры.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Разработанные подходы и методики могут быть использованы для получения и оценки стабильности аморфных твердых дисперсий, на основе полимерных эксципиентов и активных фармацевтических ингредиентов, сокристаллов и аморфных фармацевтических смесей. Кроме того, определенные кинетические и термодинамические параметры стабильности аморфных активных фармацевтических ингредиентов могут найти свое применение при выявлении соотношений типа «структура-свойства», обеспечивающих значительное расширение возможностей прогностических моделей.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях (статьи):

1. **Lapuk, S. E.** Kinetic stability of amorphous solid dispersions with high content of the drug: A fast scanning calorimetry investigation / S. E. Lapuk, L. S. Zubaidullina, M. A. Ziganshin, T. A. Mukhametzyanov, C. Schick, A. V. Gerasimov // *Int. J. Pharm.* – 2019. – V. 562. – P. 113-123.

2. **Lapuk, S. E.** Kinetic stability of amorphous dipyridamole: A fast scanning calorimetry investigation / S. E. Lapuk, T. A. Mukhametzyanov, C. Schick, A. V. Gerasimov // *Int. J. Pharm.* – 2020. – V. 574. – P. 118890.

3. **Lapuk, S. E.** Crystallization kinetics and glass-forming ability of rapidly crystallizing drugs studied by Fast Scanning Calorimetry / S. E. Lapuk, T. A. Mukhametzyanov, C. Schick, A. V. Gerasimov // *Int. J. Pharm.* – 2021. – V. 599. – P. 120427

4. **Lapuk, S. E.** Differential scanning calorimetry investigation of crystallization kinetics and glass-forming ability of sulfonamides / S. E. Lapuk, M. A. Ziganshin, R. A. Larionov, T. A. Mukhametzyanov, C. Schick, A. V. Gerasimov // *J. Non. Cryst. Solids.* – 2023. – V. 600. – P. 122038.

5. **Lapuk, S. E.** Kinetic Stability and Glass-Forming Ability of Thermally Labile Quinolone Antibiotics / S. E. Lapuk, T. A. Mukhametzyanov, C. Schick, A. V. Gerasimov // *Mol. Pharmaceutics.* – 2023 – V. 20, № 6. – P. 3202–3209.

6. **Лапук, С. Е.** Кинетическая стабильность и стеклообразующая способность фенацетина по данным сверхбыстрой сканирующей калориметрии / С. Е. Лапук, А. В. Герасимов // *Журн. общ. хим.* – 2023. – Т. 93, № 5. – С. 794–800.

Тезисы докладов:

7. **Lapuk, S. E.** Determination of stability of amorphous drug by fast scanning calorimetry/ S. E. Lapuk, A.V. Gerasimov // 3th International Seminar on Advanced Calorimetry (ISAC 2019), – Kazan, October 15-18, 2019. – P.37

8. **Лапук, С. Е.** Кинетическая стабильность аморфного дипиридамола по данным сверхбыстрой калориметрии. [Электронный ресурс] / *Материалы*

Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2020». – Москва, 10–27 ноября 2020.

9. **Lapuk, S. E.** Crystallization kinetics of the active pharmaceutical ingredients from fast scanning calorimetry data / S. E. Lapuk, A. V. Gerasimov, T. A. Mukhametzyanov, C. Schick // 4th International Seminar on Advanced Calorimetry (ISAC 2021), – Kazan, November 10–11, 2021. – P.11

10. **Лапук, С. Е.** Кинетика кристаллизации и стеклообразующая способность медленно кристаллизующихся сульфаниламидов. [Электронный ресурс] / Материалы Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2022», секция «Химия». – Москва, 11–22 апреля 2022.

11. **Lapuk, S. E.** Crystallization kinetics and glass-forming ability of sulfonamides / S. E. Lapuk, C. Schick, T. A. Mukhametzyanov, R. A. Larionov, M. A. Ziganshin, A. V. Gerasimov // XXIII International Conference on Chemical Thermodynamics in Russia, – Kazan, August 22–26, 2022. – P.258

12. **Лапук, С. Е.** Исследование кинетики кристаллизации и стеклообразующей способности сульфаниламидов с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии / С. Е. Лапук, А. В. Герасимов, Т. А. Мухаметзянов, Р. Н. Нагриманов, А. Е. Климовицкий // Тез. докл. V Всероссийской с международным участием школы-конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Материалы и технологии XXI века». – Казань, 30 ноября-2 декабря, 2022. – С.154

13. **Лапук, С. Е.** Кинетика кристаллизации и стеклообразующая способность быстро кристаллизующихся сульфаниламидов / С. Е. Лапук, А. В. Герасимов // Тез. докл. I Региональная научная студенческая конференция с международным участием, посвященная 195-летию А.М. Бутлерова «Актуальные вопросы химии 21 Века». – Казань, 24-27 мая, 2023. – С.177.