

# 8. Povrchová analýza

## Dynamická sorpce par

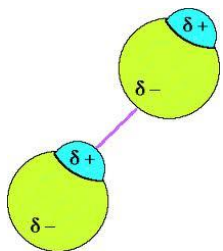


*Příprava předmětu byla podpořena  
projektem OPPA č. CZ.2.17/3.1.00/33253*



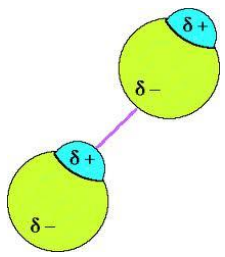
Evropský sociální fond  
Praha & EU: Investujeme do vaší budoucnosti

# Intramolekulární síly



- existují ve všech skupenstvích a jsou za tato skupenství zodpovědná (např. voda)
- od klasických vazebných interakcí se liší menší energií
- tyto síly mohou být popsány různými atomárními a molekulárními jevy
- velikost těchto interakcí velmi závisí na vzdálenosti ( $r$ ) mezi molekulami
- Van der Waalsovy síly zahrnují řadu interakcí:
  - fluktuující dipóly (Londonovy disperzní síly)
  - dipól-indukovaný dipól (Debyeovy síly)
  - dipól-dipól interakce (Keesomovy síly)

# Intramolekulární síly

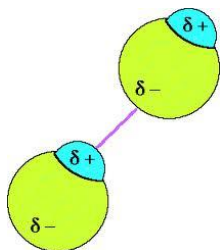


- elektronový oblak kolem jádra atomu vykazuje fluktuace, které vedou k tvorbě dočasných dipólů
- dočasné dipóly indukují dipóly v sousedních atomech, což vede k interakci těchto atomů
- tyto interakce se nazývají Londonovy disperzní síly a jsou přítomny ve všech atomech a jejich síla roste s počtem elektronů, neboť roste i pohyblivost elektronového oblaku
- London v roce 1930 navrhl, že potenciální energie mezi dvěma neutrálními molekulami může být popsána následující rovnicí:

$$U(r) = \frac{-3\alpha^2 h\nu}{4(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}$$

kde  $\alpha$  je polarizovatelnost,  $\epsilon_0$  je permitivita vakua,  $h$  je Planckova konstanta,  $\nu$  je frekvence fluktuace,  $r$  je vzdálenost molekul

# Intramolekulární síly



- pro případ vzniku intramolekulárních sil mezi molekulou s permanentním dipólem a neutrální molekulou Debye navrhl v roce 1912 vztah potenciální energie:

$$U(r) = \frac{\alpha \mu^2}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}$$

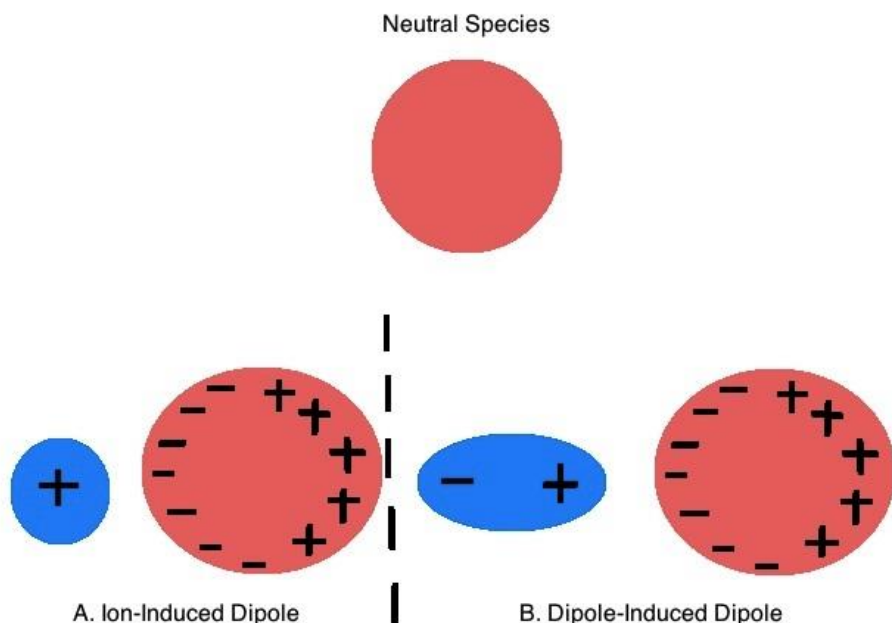
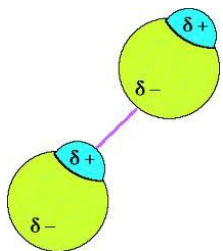


Schéma interakce dipól-indukovaný dipól

# Intramolekulární síly



- pro dvě molekuly s permanentním dipólem Keesom navrhl v roce 1921 vztah popisující potenciální energii:

$$U(r) = \frac{\mu_1^2 \mu_2^2}{3(4\pi\epsilon_0)^2 kTr^6}$$

$\mu$  – dipólový moment

$k$  – Boltzmannova konstanta

$T$  – teplota v Kelvinech

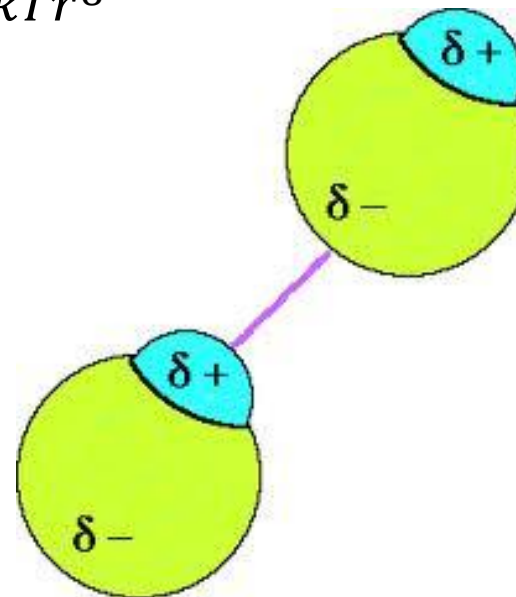
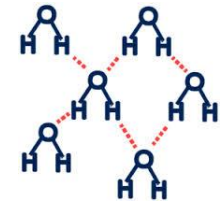


Schéma interakce dipól-dipól

# Vodíková vazba



- představuje specifický typ chemické interakce na krátkou vzdálenost
- je tvořena elektronově chudým atomem vodíku vázaným na atom s volným elektronovým párem (O, N, F) a elektronově bohatým atomem (O, N, F)
- vodíková vazba je silnější než dipól-dipól interakce, ale působí na mnohem kratší vzdálenost
- lze ji považovat za částečnou chemickou vazbu
- vznik vodíkových vazeb v krystalu má zásadní vliv na jeho strukturu a uspořádání

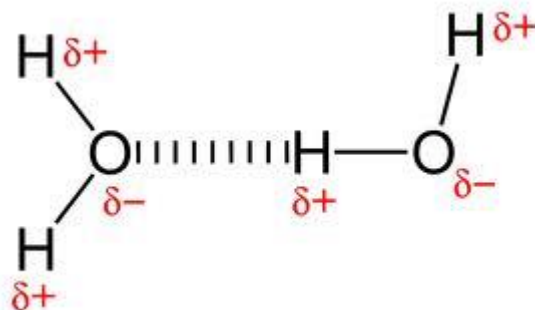


Schéma tvorby vodíkové vazby ve vodě

# Pevný stav

- farmaceutické pevné látky se mohou nacházet v různých stavech, např. jako krystalické, amorfní, hydráty, solváty a tyto jednotlivé stavy se mohou měnit během jejich zpracování nebo skladování. Možnost kvantifikovat, kontrolovat a předpovídat tyto změny je v současné době v popředí akademických a průmyslových zájmů
- podmínky krystalizace jako je stupeň přesycení, rozpouštědlo a teplota ovlivňují výsledné vlastnosti krystalových struktur

# Pevný stav

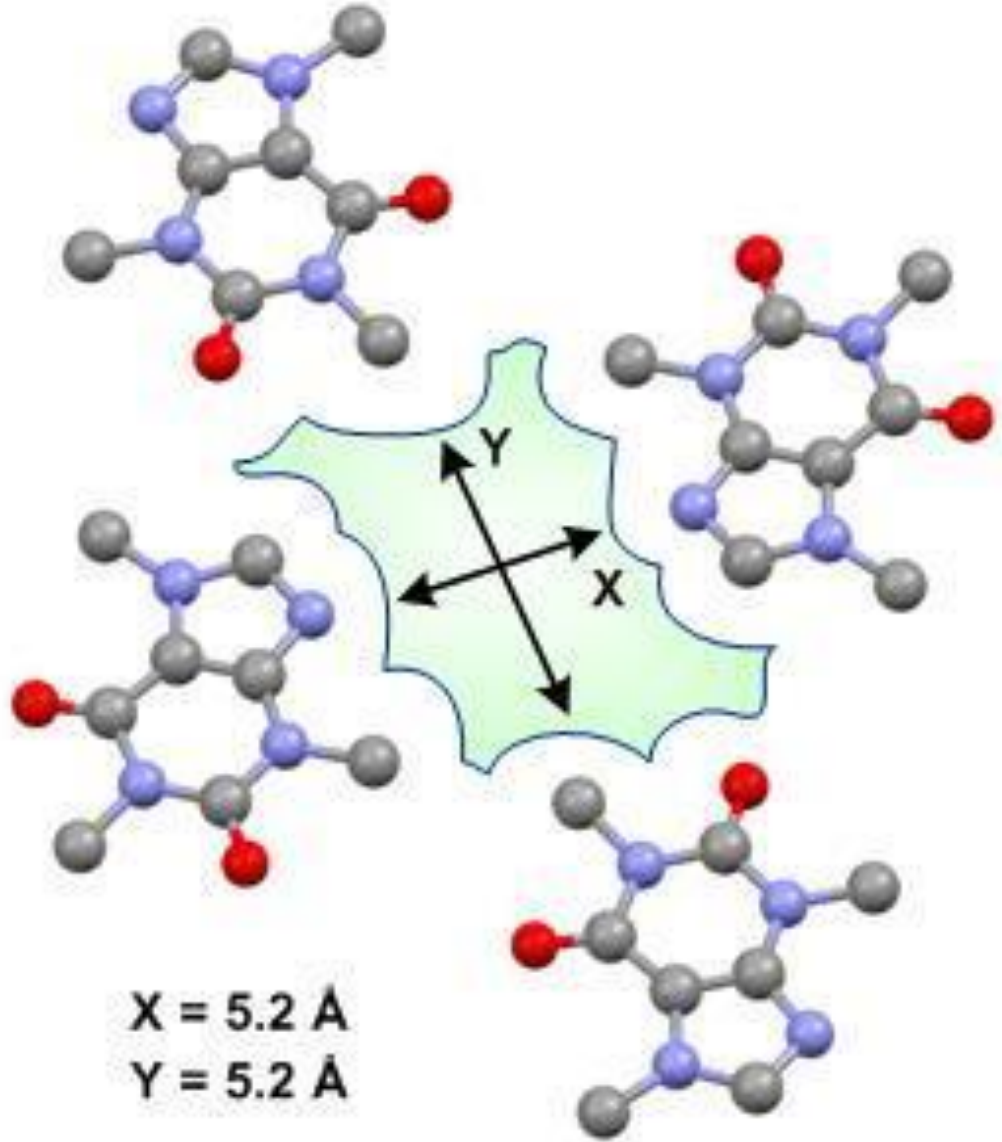
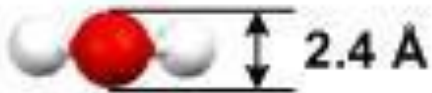
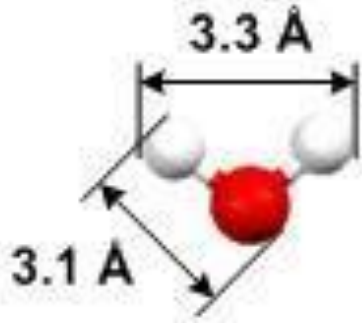
- chemicky identické molekuly mohou krystalovat v různých krystalických formách za vzniku polymorfů. Ve farmaceutické praxi je známá celá řada polymorfů API, které lze rozdělit do jednotlivých tříd, jako jsou barbituráty, sulfonamidy a steroidy, které mají různou termodynamickou stabilitu
- v závislosti na teplotě mohou vykazovat rozdílné enantiotropické chování např. kofein, který se vyskytuje ve dvou polymorfních bezvodých formách ( $\beta$  je stabilní při 25 °C a při 141 °C přechází na formu  $\alpha$ )
- pokud za daného tlaku existuje pouze jeden stabilnější polymorf, pak je označován jako monotropní



# Pevný stav

- molekuly vody se mohou díky své velikosti a schopnosti tvořit vodíkové vazby inkorporovat do krystalových struktur a to jak na povrch, tak do krystalové mřížky
- obsah vody může být stechiometrický nebo nestechiometrický
- nestechiometrické hydráty existují díky schopností molekul vody tvořit vodíkové vazby a spojovat se do sítí, které jsou pravděpodobně tetrahedrálně koordinované. Takovéto útvary nejsou součástí krystalových mřížek a vyplňují jejich prostory. Jsou známy pod označením kanálové hydráty

# Pevný stav

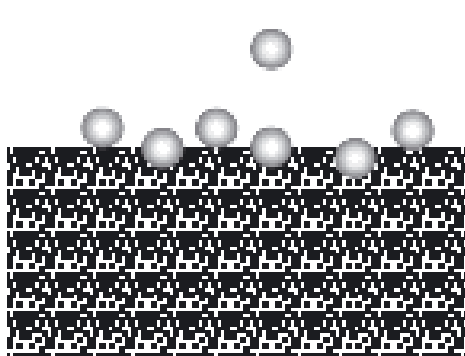


# Pevný stav

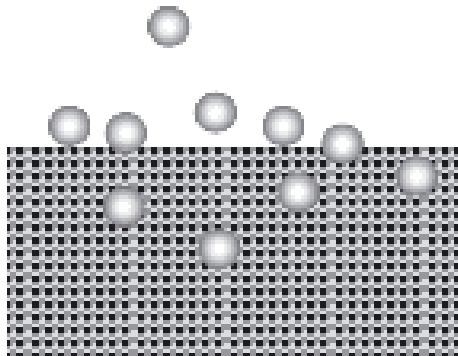
- inkluze molekul vody významně mění intramolekulární síly v krystalu, entalpii i entropii a z toho vyplývající stabilitu krystalu
- hydráty jsou stabilní za specifických podmínek (vlhkost, teplota)
- přechody mezi hydráty jsou studovány pomocí sorpčních/desorpčních studií, kde se sleduje změna hmotnosti vzorku, ze které se následně vypočítá stechiometrie
- studie hydrátů farmaceutických látek lze také provádět pomocí Ramanovy spektroskopie, NMR a izotermické mikrokolorimetrie

# Pevný stav

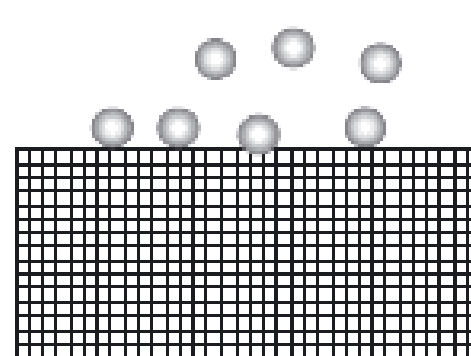
- mechanické zpracování léčiva může v některých případech vést ke vzniku nestabilních amorních fází
- amorní fáze není termodynamicky v rovnováze a její stabilita závisí na čase, teplotě, vlhkosti a teplotě skelného přechodu
- nad teplotou skelného přechodu přechází látky ze skelného stavu do stavu kaučkovitého



Amorphous-  
Glassy Solid  
 $T < T_g$   
Surface and local  
bulk adsorption  
*Fast elution*



Amorphous-  
Rubbery Solid  
 $T > T_g$   
Deep bulk sorption  
*Slow elution*



Crystalline  
No  $T_g$   
Surface adsorption  
*Fast elution*

# Pevný stav

- rekrytalizace amorfních fází může být urychlena přítomností vlhkosti
- teplota skelného přechodu odpovídá zhruba 0,7-0,85 násobku teploty tání
- pro charakterizaci amorfních látek s obsahem nad 10 % lze využít DSC, XRPD, IČ spektroskopii
- pro zjištění amorfního obsahu 1 – 10 % lze využít vysokorychlostní DSC, dielektrickou spektroskopii nebo TSDC
- tyto techniky poskytují informace o celém vzorku
- 0,5 % a výše lze stanovit pomocí IM
- další technikou vhodnou pro stanovení velmi malých obsahů amorfní formy (i 0,05 %) je dynamická sorpce par (DVS)



# Sorpce par a povrchová analýza

- pro charakterizaci termodynamiky povrchů a studium fyzikálně-chemických vlastností povrchů lze použít sorpci molekul v plynném stavu
- tato technika má oproti tradičním analytickým a spektroskopickým technikám řadu výhod:
  - vzorek může být studován za normálních podmínek
  - molekulární sondy mohou být vybrány podle požadovaných chemických vlastností a požadované informace
  - vhodné sondy mohou difundovat do materiálu a poskytovat informace o intramolekulární struktuře

# Dynamická sorpce par



- sorpce vodních par na povrch pevných materiálů, včetně aktivních látek, excipientů, formulací a charakterizace tohoto procesu se v dnešní době stává nezbytná
- tato technika je extrémně citlivá povrchové (sub-monomolekulární pokrytí částic)
- lze změřit kinetická a rovnovážná termodynamická data



Přístroj pro sorpci par

# Dynamická sorpce par



Základní otázky týkající se interakce vody a pevných látek:

- Kolik vody je přítomno ve vzorku?
- Jak moc silně je voda vázána ve vzorku?
- Jaká je kinetika transportu vody?
- Jak velká hystereze je přítomna v sorpční izotermě?
- Kde je voda obsažena: na povrchu, v objemu, v kanálech, v pórech, v poruchách apod.?
- Jaká je stabilita vzorku při různé vlhkosti a teplotě?



# Dynamická sorpce par



## Detailnější otázky:

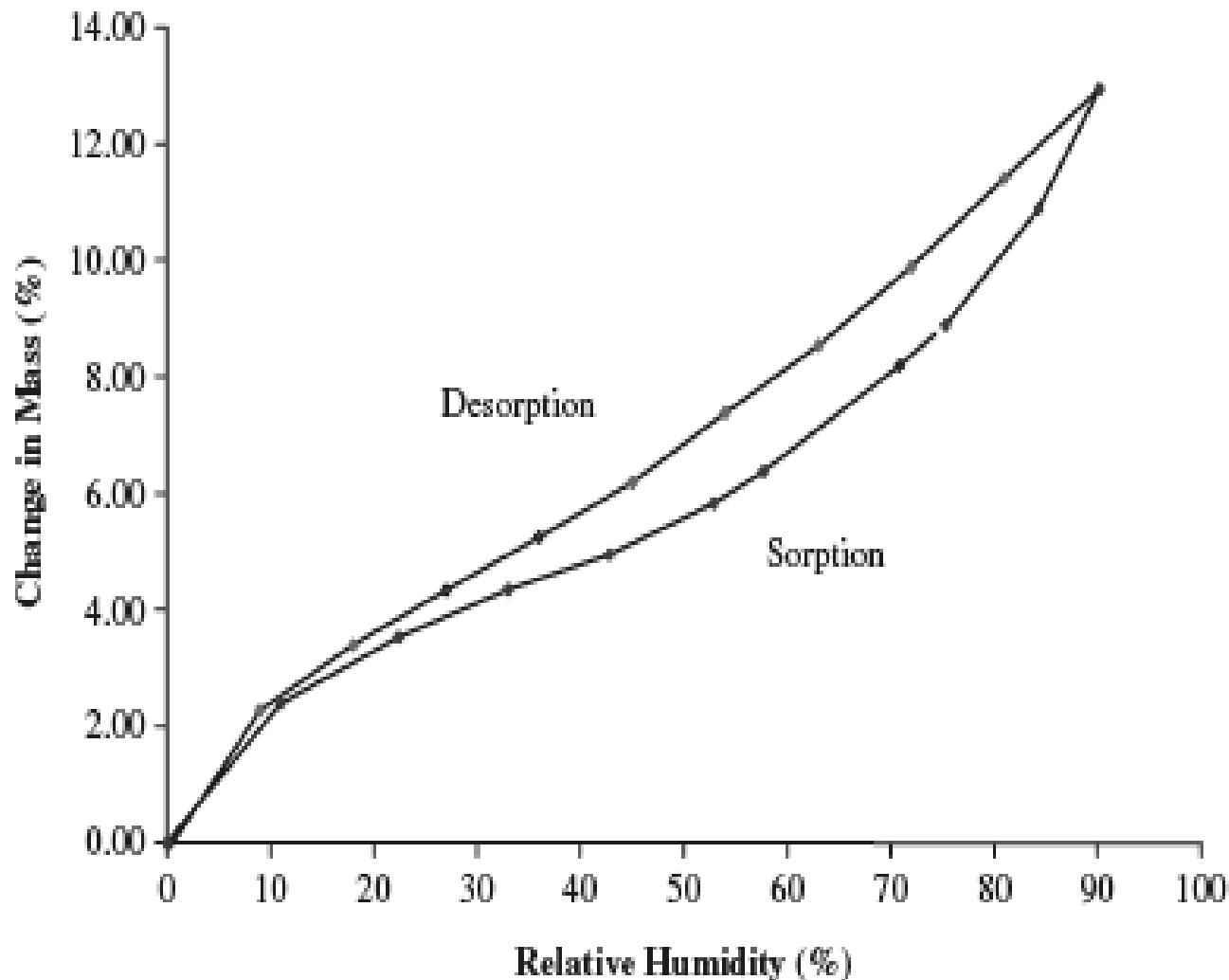
- Kolik vody je na povrchu částic?
- Je voda přítomna v pórech nebo kanálech? Pokud ano, jaká je jejich velikost?
- Kondenzují molekuly vody mezi částicemi vlivem kapilární kondenzace?
- Je voda sorbovaná nebo rozpuštěná v celém objemu vzorku?
- Je voda součástí chemických reakcí, jako je například vznik hydrátů?

# Dynamická sorpce par



- izoterma sorpce vody popisuje základní vztah mezi koncentrací sorbovaných par nebo jejich tlakem a množstvím sorbovaným na pevnou látku
- při její konstrukci se vynáší množství (objem nebo hmotnost) sorbovaných vodních par (vztažené na jednotku hmotnosti nebo povrchu látky) v závislosti na koncentraci páry
- většinou je používána vodní pára, ale obecně lze využít jakákoliv těkavá rozpouštědla, například ethanol nebo hexan
- koncentrace par může být vyjádřena poměrem tlaku par a tlaku nasycených par ( $p_A/p_A^0$ ) při dané teplotě, v případě vody jsou uváděna procenta relativní vlhkosti nebo aktivita vody ( $a_w$ )

# Dynamická sorpce par



Sorpce vody pro typický excipient

# Dynamická sorpce par



- klíčovým rysem izotermy je přítomnost sorpční a desorpční větve. Rozdíl mezi větvemi je označován jako hysterze a je způsoben řadou jevů, jako je například plnění pórů, rozpouštění v objemu studované látky nebo smáčení povrchu pevné látky
- v některých vzorcích se při sorpci uplatňuje více než jeden mechanismus, v takovýchto případech je výsledná izoterma váženým průměrem jednotlivých příspěvků
- v následující tabulce jsou uvedeny kinetické a rovnovážné údaje pro vodu v různých typech vzorků

# Dynamická sorpce par



- v tabulce jsou uvedeny kinetické a rovnovážné údaje pro vodu v různých typech látek

Vapour uptake mechanism	Kinetics	Apparent hysteresis	% Mass Uptake	Types of Sample
<b>Surface Adsorption</b>	Fast -minutes	Very Low	<1	All materials
<b>Bulk Sorption</b>	Slow-hours	High	0–25	Normally amorphous
<b>Hydration or Reaction</b>	Variable	Very High	0–100	Any material potentially
<b>Pore filling</b>	Typically slow	High	0–30	Any porous material
<b>Morphology Change</b>	Non-monotonic	'Negative'	0–25	Normally amorphous
<b>Solution/Deliquescence</b>	Slow-Depends on %RH	High	5–500	Any material potentially



# Dynamická sorpce par – instrumentace

- gravimetrická dynamická sorpce par (DVS) je od roku 1990 komerčně používaná metoda
- v počátečních studiích byla získána data pro mikrokrystalickou celulózu, bezvodý síran měďnatý, hydrogenfosforečnan sodný. Data ukázala velkou přesnost a až 10x vyšší rychlost těchto měření v porovnání s běžnými metodami založenými na sušení vzorku ve vakuu

## **Mezi výhody patří:**

- není potřeba provádět korekce vztlakových sil na rozdíl od metod založených na měření ve vakuu
- díky symetrickému uspořádání je minimalizován vliv vztlakové síly



# Dynamická sorpce par – instrumentace

## Mezi výhody patří:

- malé množství vzorku (10 mg) umožňuje rychlé ustanovení sorpční rovnováhy
- dynamický tok plynu s danou vlhkostí minimalizuje vznik gradientu vlhkosti v testované oblasti
- obsah vlhkosti může být rychle a přesně nastavován
- v porovnání s vakuovými metodami lze optimálně nastavovat množství přijatého a odvedeného tepla
- nehrozí, že by vlivem vakua docházelo ke změnám morfologie vzorku
- měření lze snadno automatizovat

# Dynamická sorpce par – instrumentace

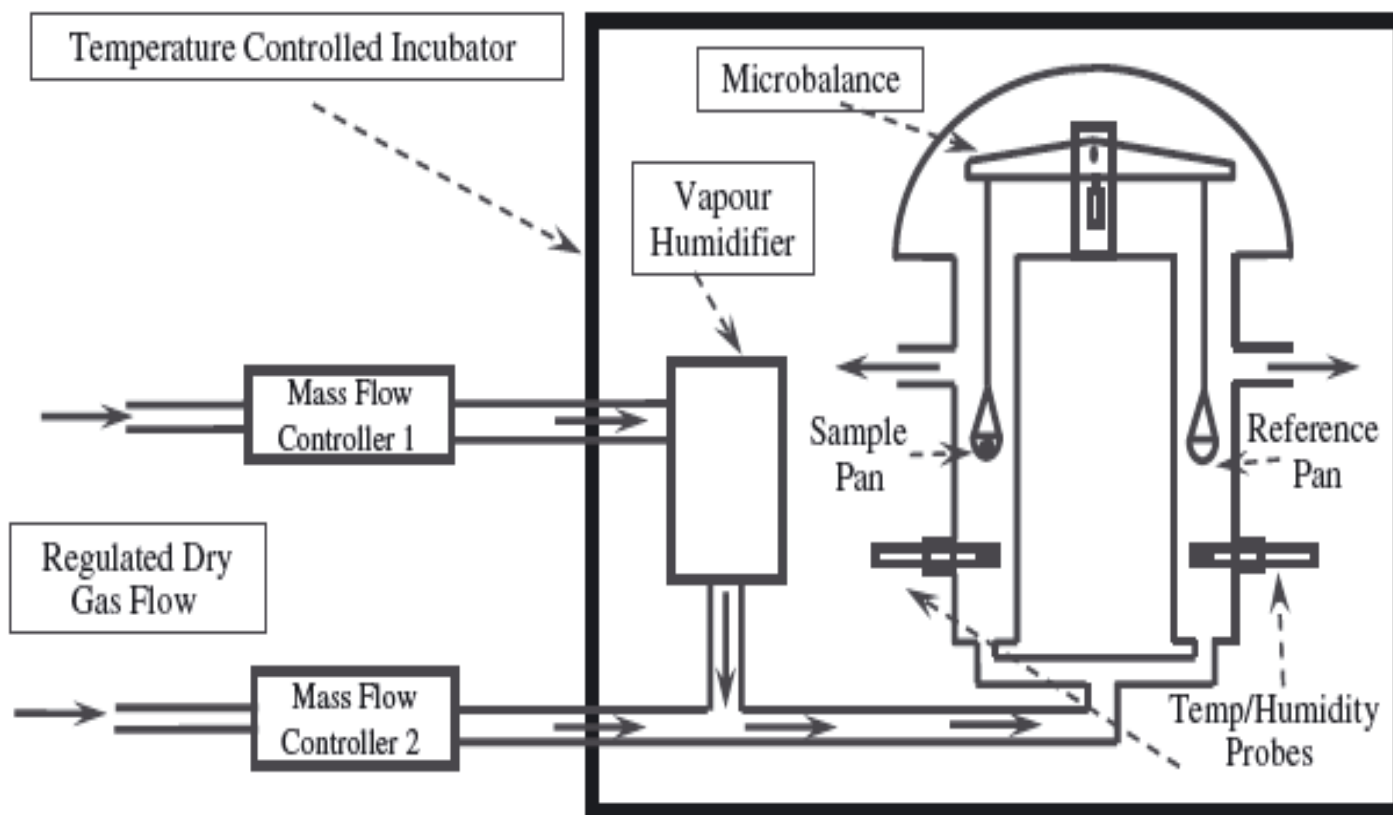




Schéma zařízení pro měření dynamické sorpce par, šipky ukazují směr přiváděného plynu





# Charakterizace materiálů v pevném stavu

- ke studiu sorpce vody na farmaceuticky použitelné pevné látky lze kromě DVS použít i DSC, TGA a IR
- od roku 1986 se gravimetrická sorpce par vody využívá pro farmaceuticky použitelné pevné látky, jako první byly studovány barbituráty
- studuje se vliv vlhkosti na teplotu skelného přechodu
- sledují se reakce vody s krystalickými látkami (vznik stechiometrických hydrátů) i amorfními látkami (vznik nestechiometrických hydrátů)
- studuje se sorpce vody na prášcích, granulích a tabletách různých farmaceutických látek
- studuje se vliv vlhkosti a teploty na stabilitu excipientů i výsledných léčiv



# Charakterizace materiálů v pevném stavu

## Příklady využití DVS:

- studium hydratace amorfní threhalózy, albuterol sulfátu, indomethacinu, rafinózy, PVP a mikrokrytalické celulózy za účelem změření termodynamických a fyzikálně chemických vlastností
- charakterizace poruch v krystalové mřížce revatropátu hydrobromidu
- studium adsorpce vodní páry v závislosti na velikosti a zpracování vzorků mikrokrytalické celulózy a chitosanu

Výsledky byly porovnány řadou nezávislých technik, jako jsou mikroskopické techniky, NMR, TGA, DSC, IR a RTG.

Naměřená data vykazovala ve všech případech dobrou shodu.

# Dynamická sorpce par



Pro vyšší přesnost a lepší pochopení probíhajících procesů byla DVS zkombinována s řadou spektroskopických technik:

- spojení DVS s NIR umožnilo detailně studovat vliv vodní páry na vlhkostí indukovanou krystalizaci bezvodé amorfní laktózy s mezí detekce amorfní složky 0,7 % v krystalickém vzorku
- stejnou kombinací metod byla také studována derivatizovaná mikrokrytalická celulóza a komerční mikrokrytalická celulóza a byly zjištěny důležité parametry pro pochopení rozdílného chování těchto látek
- pomocí DVS-NIR byl také objeven nový fázový přechod theofylinu a byly charakterizovány různé hydráty rafinózy (mono-, di-, tri-, tetra- a penta-)

# Dynamická sorpce par

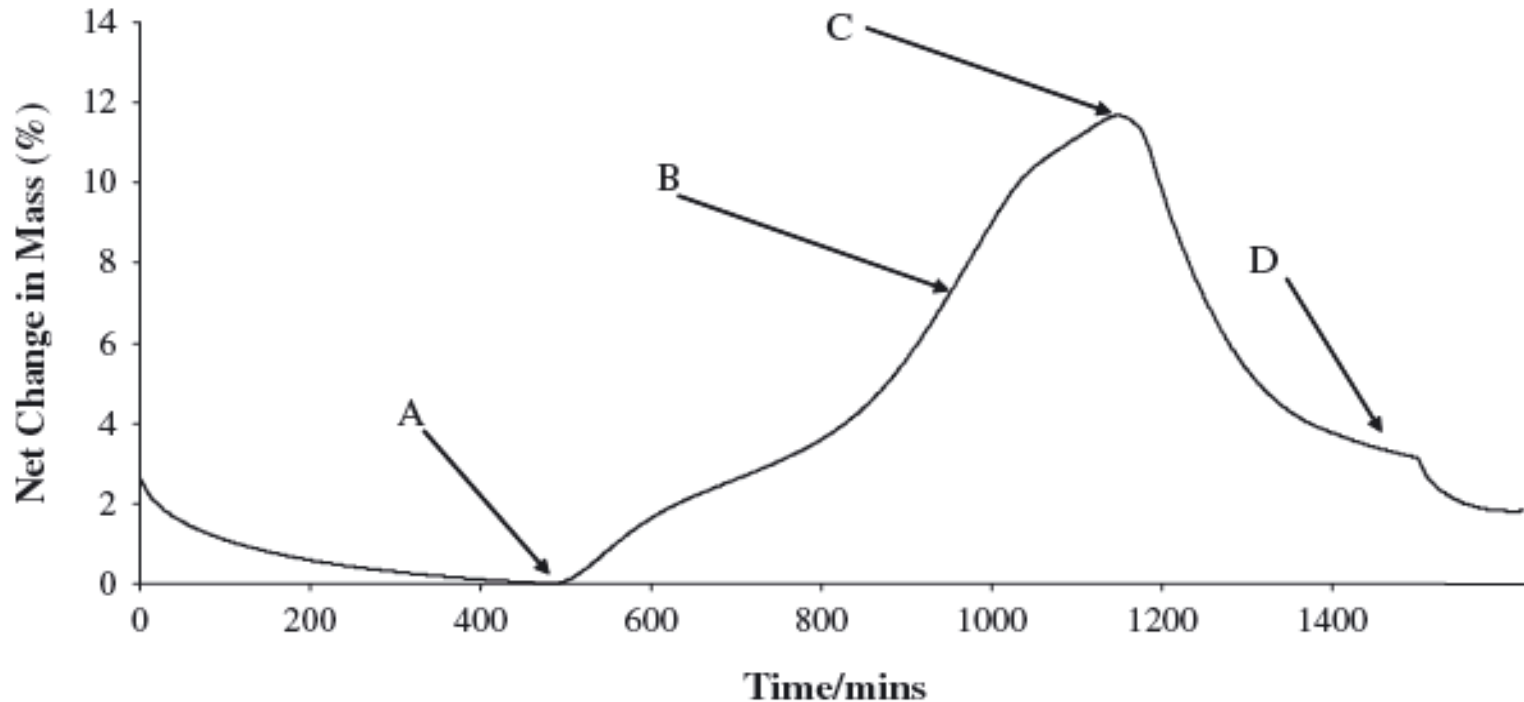
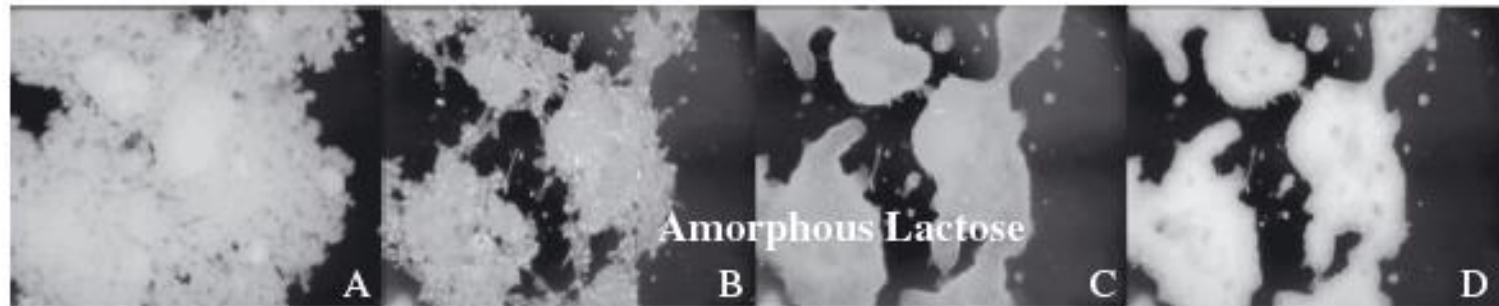


## Další využití:

- studium vlivu přítomnosti alkylnpolyglykosidů (detegrent) na krystalizaci amorfní formy salbutamol sulfátu pomocí DVS-NIR
- spojení DVS-NIR také umožňuje od sebe rozpoznat pevné látky připravené různými způsoby
- častým používaným spojením je kombinace DVS s videomikroskopií
- toto spojení je užitečné pro studium krystalizace a rozpouštění hygroskopických látek
- na následujícím obrázku je snímek krystalizace amorfní laktózy vlivem zvýšení obsahu vlhkosti



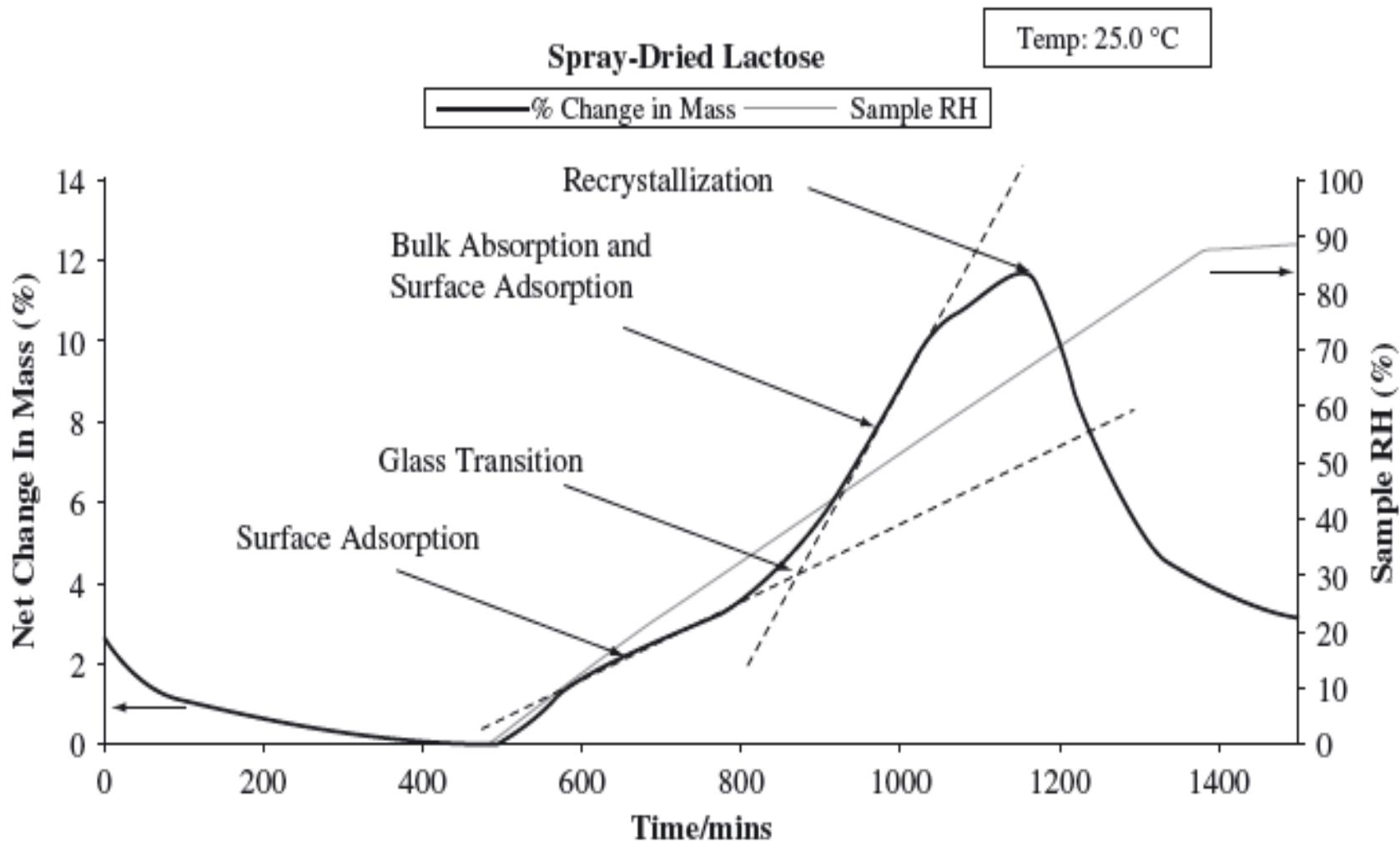
# Studium amorných materiálů



DVS-videomikroskopie amorní laktózy, nárůst vlhkosti v rozsahu 0 % - 90 % relativní vlhkosti



# Studium amorných materiálů



Sorpce vody pro amorní laktózu v závislosti relativní vlhkosti



# Studium amorfních materiálů

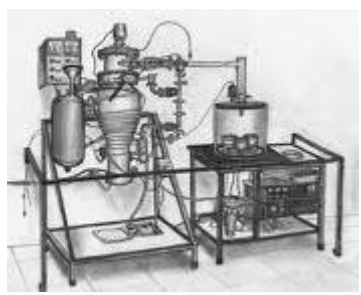
- v posledních 10 letech převládá snaha o detekci a kvantifikaci obsahu amorfních složek v krystalických materiálech
- nejčastěji vnikají tyto amorfní složky při zpracování krystalických materiálů, například mletím
- i velmi nízké zastoupení amorfní složky (< 1 %) na povrchu může významně ovlivnit vlastnosti materiálu
- ukázalo se, že DVS je jednou z nejcitlivějších metod pro stanovení obsahu amorfních složek
- například se pomocí DVS podařilo určit v krystalické  $\alpha$ -laktóze amorfní obsah již od 0,1 %; studie byla prováděna při 60% vlhkosti a nízká mez detekce byla dosažena z důvodu velké afinity vody k amorfní laktóze oproti krystalické



# Studium amorfních materiálů

- DVS spolu s AFM byla použita ke studiu vlivu vlhkosti na aerosolizaci amorfního sabutamolu; bylo potvrzeno větší zastoupení amorfní složky na povrchu mletého krystalického materiálu než na povrchu jinak připravených krystalů
- byla provedena studie obsahu amorfních forem API pomocí DVS a izotermické mikrokolorimetrie s mezí detekce amorfní složky 0,2 % bez nutnosti rekrystalizace vzorků pomocí par vody, místo toho byly využity páry acetonu
- DVS lze také použít ve spojení s MS a detekovat tak plyny, které se uvolňují ze studovaného materiálu





# Měření tlaku par pomocí Knudsenovy efuze

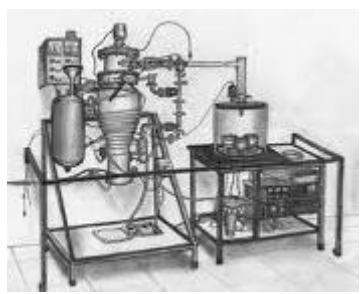
- všechny materiály (včetně pevných) jsou v rovnováze se svými parami, ačkoli pro pevné látky jsou tlaky těchto par velmi malé
- z tlaku par lze například vypočítat entalpie sublimace a mřížkové energie
- tyto veličiny umožňují zjišťovat stabilitu materiálu a polymorfní přechody
- jednou z technik na měření tlaku par je Knudsenova efuzní technika

# Měření tlaku par pomocí Knudsenovy efuze



Přístroj na efuzi (unikání) byl poprvé popsán roku 1909 Knudsenem. Jedná se o poměrně jednoduchou a přímočarou metodu, kdy je malé množství vzorku umístěno do malé cely s otvorem v jedné stěně. Vzorek po zahřátí sublimuje a po nasycení prostoru cely mohou páry tímto otvorem unikat ven a úbytek hmoty je měřen pomocí mikrovah.





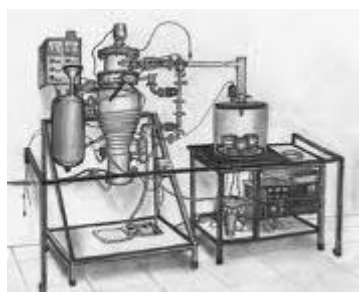
# Měření tlaku par pomocí Knudsenovy efuze

Tlak lze vyjádřit pomocí Knudsenovy rovnice:

$$P = \frac{\Delta m}{\Delta t} \frac{1}{Aw_0} \sqrt{\frac{2\pi RT}{MW}}$$

$P$  je tlak par,  $\Delta m$  je změna hmotnosti,  $\Delta t$  čas experimentu,  $A$  plocha otvoru ve stěně,  $w_0$  faktor účinnosti,  $MW$  molekulová hmotnost vzorku,  $R$  univerzální plynová konstanta,  $T$  je teplota. Tato rovnice je založena na dvou předpokladech:

- molekuly které projdou otvorem ve stěně cely se nevrací zpět (proto se experiment provádí ve vakuu)
- otvor v cele je malý ( $< 500 \mu\text{m}$ )



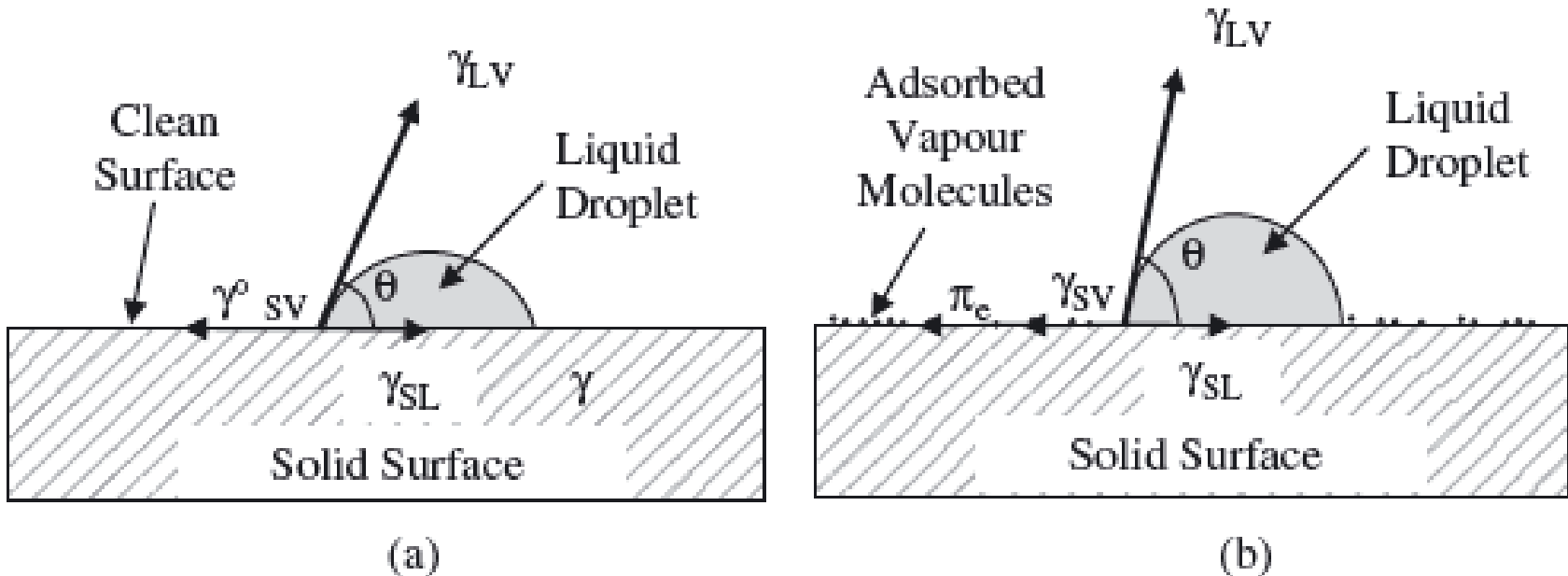
# Měření tlaku par pomocí Knudsenovy efuze

- Knudsenova efuze byla použita na určení tlaku par řady organických farmaceutických substancí, jako je kofein, ibuprofen, kyselina benzoová, 3-fenylpropanová kyselina, benzanthron, acetylsalicylová kyselina
- tato technika je testována také pro studium polymorfismu, jejich přeměn a rozlišení mezi enantiotropními a monotropními polymorfy
- použitelnost metody byla demonstrována rozlišením dvou polymorfů kofeinu

# Rovnováha šíření tlaku

Snížení povrchové energie vlivem sorpce molekul na povrch je známo pod pojmem šíření tlaku  $\pi_e$ . Po doplnění do Youngovy rovnice dostaneme její následující tvar:

$$\gamma_{SV}^{\circ} + \pi_e = \gamma_{SL} + \gamma_{LV} \cdot \cos\theta_e ,$$



# Rovnováha šíření tlaku

- měření šíření tlaku však není jednoduché, nicméně pomocí DVS lze pomocí této veličiny určit povrchovou energii pevných látek. Pro určení disperzní povrchové energie paracetamolu byl použit dodekan v rozsahu 0 až 96 %  $p/p^0$
- hodnota povrchové energie činila 48 mJ/m<sup>2</sup>
- v praxi se ale většinou zanedbává

# Literatura

<https://www.youtube.com/watch?v=CxW89ph-kxc>

<https://www.youtube.com/watch?v=Wtd6Nbsi44I>