

UNIVERZITA PARDUBICE  
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2022

Veronika Barnetová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Růst krystalů v amorfních léčivech  
Bakalářská práce

2022

Veronika Barnetová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2021/2022

## **ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Veronika Barnetová**  
Osobní číslo: **C19005**  
Studijní program: **B0531A130012 Farmakochemie a medicínální materiály**  
Téma práce: **Růst krystalů v amorfních léčivech**  
Téma práce anglicky: **Crystal Growth In Amorphous Drugs**  
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

### **Zásady pro vypracování:**

1. Proved'te literární rešerši týkající se zadaného tématu.
2. Pomocí optické mikroskopie změřte rychlosti růstu krystalů ve vybraném amorfním léčivu.
3. Naměřená data analyzujte.
4. Získané výsledky předložte ve formě bakalářské práce.

Rozsah pracovní zprávy:  
Rozsah grafických prací:  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Veškerá dostupná odborná literatura.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Jaroslav Barták, Ph.D.**  
Katedra fyzikální chemie

Datum zadání bakalářské práce: **28. února 2022**

Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

**prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.** v. r.  
děkan

L.S.

**prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.** v. r.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února

**Prohlašuji:**

Práci s názvem Růst krystalů v amorfních léčivech jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 29. 6. 2022

Veronika Barnetová, v. r.

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce, panu Ing. Jaroslavu Bartákovi, Ph.D., za jeho cenné rady, poskytnuté materiály, pomoc při experimentálním měření.

Poděkování patří také mé rodině, která mě po celou dobu studia velmi podporovala.

Děkuji rovněž Centru materiálů a nanotechnologií (FChT, UPa) za provedení SEM analýz za finanční podpory MŠMT prostřednictvím projektu LM2018103.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce se zaměřuje na studium rychlosti růstu krystalů v amorfních léčivech v závislosti na teplotě. Předmětem zkoumání je léčivo tadalafil, které se používá k léčbě erektilní dysfunkce a zmírnění příznaků benigní hyperplazie prostaty. Růst krystalů v amorfní formě tadalafilu v oblasti podchlazené taveniny byl sledován pomocí optického mikroskopu.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

tadalafil, amorfní léčiva, růst krystalů, mikroskopie

## **TITLE**

Crystal Growth In Amorphous Drugs

## **ANNOTATION**

This bachelor thesis focuses on the study of crystal growth rate in amorphous drugs as a function of temperature. The subject of this research is the drug tadalafil, which is used to treat erectile dysfunction and alleviate the symptoms of benign prostatic hyperplasia. Crystal growth in the amorphous form of tadalafil in the undercooled melt region was monitored using an optical microscope.

## **KEYWORDS**

tadalafil, amorphous drugs, crystal growth, microscopy

## Obsah

Úvod.....	11
1. Teoretická část.....	12
1.1. Sklo.....	12
1.2. Krystalizace.....	14
1.2.1. Metody studia růstu krystalů v amorfních materiálech.....	15
1.3. Amorfni formy léčiv.....	20
1.4. Tadalafil.....	21
1.4.1. Farmakokinetické vlastnosti.....	23
1.4.2. Nežádoucí účinky.....	25
2. Experimentální část.....	27
2.1. Příprava vzorků.....	27
2.2. Rentgenová analýza.....	28
2.3. Mikroskopie.....	28
2.3. Vyhodnocení rychlosti růstu krystalů.....	30
3. Výsledky a diskuze.....	32
4. Závěr.....	40
5. Seznam použité literatury.....	41



## Seznam ilustrací a tabulek

Obrázek 1: závislost změny objemu sklotvorné taveniny na teplotě.....	13
Obrázek 2: DTA křivka .....	18
Obrázek 3: TMA křivka.....	20
Obrázek 4: strukturní vzorec tadalafilu .....	21
Obrázek 5: příprava amorfních vzorků TADA.....	27
Obrázek 6: optický mikroskop OLYMPUS BX51 s kamerou DP72 a temperačním stolem Linkam.....	29
Obrázek 7: snímky vzorku při teplotě 200 °C a 100násobném zvětšení v čase: a) 2, b) 3, c) 4 a d) 5 min od začátku měření a názorná ukázka měření velikosti krystalů.....	30
Obrázek 8: grafická závislost velikosti krystalů na době temperace při teplotě 200 °C .....	31
Obrázek 9: snímky krystalů: a) snímek řetězkových krystalů, b) snímek hvězdicových krystalů, c) detailní snímek rozvětvených řetězovitých krystalů, d) detailní snímek lamel tvořících daný krystal hvězdicového tvaru Měřítka na snímku a) označuje velikost 100 μm, b) 200 μm. ....	33
Obrázek 10: snímky krystalů ve tvaru: a) listu kapradí při teplotě 200 °C, b) vláknitá hvězda při teplotě 170 °C a c) vláknitá hvězda při teplotě 180 °C. Měřítka na snímku a) označuje velikost 50 μm, b) 200 μm a c) 50 μm.....	34
Obrázek 11: XRD difraktogramy zakrystalizovaných vzorků TADA, reference odpovídá krystalickému vzorku TADA z databáze PDF (Powder Diffraction File) [23].....	35
Obrázek 12: závislost velikosti krystalů rostoucích při teplotě 190 °C na čase, kde je patrné zřetelné zpomalení růstu krystalů.....	36
Obrázek 13: grafická závislost rychlosti růstu krystalů na teplotě. Čárkované čáry naznačují dva možné trendy rychlosti růstu, nicméně slouží pro vedení oka a nemají žádný fyzikální smysl.....	38
Obrázek 14: určení aktivační energie růstu krystalů .....	39
Tabulka 1: nežádoucí účinky CIALIS.....	25
Tabulka 2: data rychlosti růstu a směrodatné odchylky rychlosti růstu za dané teploty.....	37

## Seznam použitých symbolů

$A$	předexponenciální faktor
$c_{\max}$	maximální plazmatická koncentrace léčiva
$D$	difuzní koeficient
$E_A$	aktivační energie
$f_{\text{objektiv}}$	ohnisková vzdálenost objektivu
$f_{\text{okulár}}$	ohnisková vzdálenost okuláru
$\Delta G$	změna Gibbsovy energie
$l_o$	vzdálenost oka od předmětu
$q$	rychlost chlazení
$R$	univerzální plynová konstanta
$R_{s.m.}$	rozlišovací schopnost mikroskopu
$T$	teplota
$T_g$	teplota skelného přechodu
$T_m$	teplota tání
$T_R$	teplota standardu
$T_S$	teplota vzorku
$u$	rychlost růstu krystalů
$V_d$	distribuční objem
$Z_{\text{mikroskop}}$	zvětšení mikroskopu
$Z_{\text{objektiv}}$	zvětšení objektivu
$Z_{\text{okulár}}$	zvětšení okuláru
$\Delta$	optický interval
$\xi$	koeficient v exponenciální závislosti rychlosti růstu na viskozitě
$\eta$	viskozita

## **Seznam použitých zkratk**

cGMP	cyklický guanosin-monofosfát
DSC	diferenční skenovací kalorimetrie
DTA	diferenční termická analýza
ED	erektilní dysfunkce
EM	elektronový mikroskop
IR	infračervený
NÚ	nežádoucí účinky
SEM	skenovací elektronový mikroskop
TADA	tadalafil
TMA	termomechanická analýza

## Úvod

Bylo zjištěno, že amorfní formy látek jsou lépe rozpustné, a díky tomu dojde k rychlejšímu nástupu účinku léčiva obsahující tyto látky než při podání léčiv krystalických. Nevýhodou je však nižší fyzikální a chemická stabilita těchto forem. Termodynamická nestabilita amorfních látek vyvolává jejich tendenci přecházet ve stabilnější krystalické podoby, proto je nutné je stabilizovat či skladovat v inertním prostředí. Tato nežádoucí krystalizace je předmětem bádání mnoha vědců.

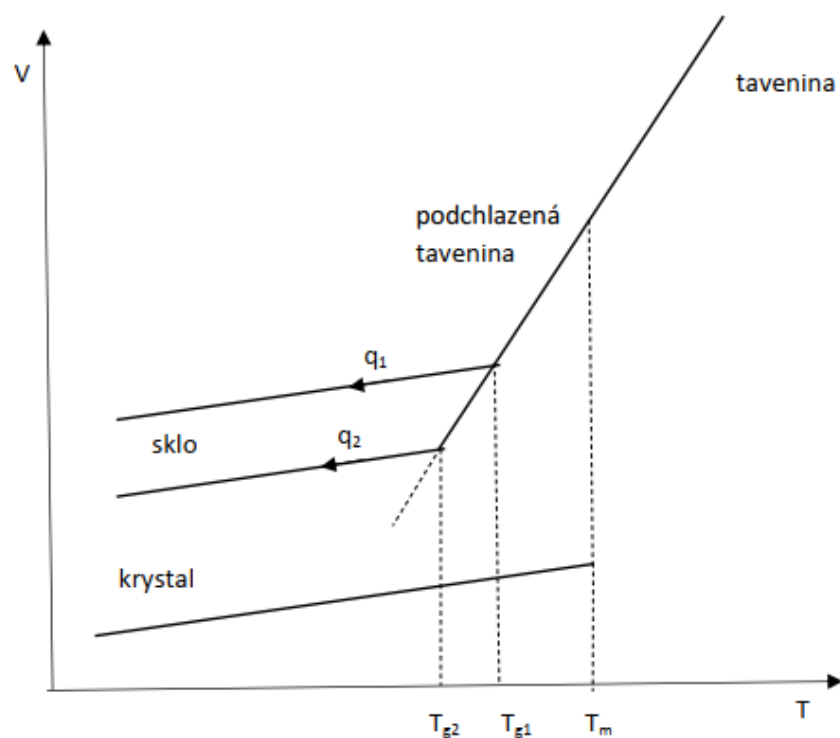
# 1. Teoretická část

## 1.1. Sklo

Sklo je amorfni materiál. Jedním ze způsobů přípravy je rychlé zchlazení taveniny, aniž by došlo k tvorbě krystalů. Rychlost ochlazení taveniny musí být vyšší, než je rychlost nukleace a následný růst krystalů. Pokud dodržíme jmenované podmínky chlazení, lze skla připravit téměř z jakéhokoliv materiálu. [1]

Sklo je považováno za metastabilní materiál. Skelná fáze tedy není v termodynamické rovnováze, ale je poměrně stabilní, jelikož ji od rovnovážného stavu odděluje velká energetická bariéra. Lze využít přechodu skla do stavu rovnováhy nebo do jiných metastabilních stavů, a to buď jeho krystalizací či relaxací do stavu blíže k rovnováze. Tyto přechody lze urychlit zahřátím, působením světla nebo dokonce elektrickým polem. [1]

Charakteristickou vlastností skel je teplota skelného přechodu ( $T_g$ ). Nad touto teplotou se skla chovají jako taveniny, pod ní jako pevné látky mající větší objem, než který by odpovídal danému krystalu, jak je ukázáno na obrázku 1.  $T_g$  nelze považovat za materiálovou termodynamickou konstantu, jelikož je závislá na rychlosti chlazení (obrázek 1) a stupni relaxace skla. V oblasti podchlazené taveniny, tzn. nad hodnotou  $T_g$ , ale pod teplotou tání  $T_m$ , může dojít k přeuspořádání amorfni struktury na krystalickou. [1]



Obrázek 1: závislost změny objemu sklotvorné taveniny na teplotě

Grafická závislost na obrázku 1 znázorňuje, že při příliš pomalém ochlazování taveniny dojde při dosažení teploty tání ( $T_m$ ) ke skokové změně objemu díky přeuspořádání strukturních jednotek do pravidelné krystalové mřížky. Pokud ovšem budeme taveninu chladit dostatečně rychle, nebude mít dostatek času k přeuspořádání strukturních jednotek a dostaneme podchlazenou taveninu. Pokud budeme podchlazenou taveninu dále chladit, bude v ní narůstat viskozita až do doby, kdy se při  $T_g$  přemění na tuhé sklo. Jak můžeme vidět v obrázku 1, při změně rychlosti chlazení ( $q_1 > q_2$ ), dochází k přípravě skla v různých termodynamických stavech, což je dáno posunem  $T_g$  [1].

## 1.2. Krystalizace

Růst krystalů začíná tvorbou zárodků v metastabilní matečné fázi, tzv. nukleací. Rozlišujeme dva typy nukleace: homogenní a heterogenní.

Pokud nukleační centra vznikají zcela náhodně v celém objemu látky, hovoříme o homogenní nukleaci. Matečná fáze by měla být chemicky, strukturně i energeticky homogenní, bez jakýchkoli defektů. Jelikož ale každá fáze obsahuje nějaké poruchy – např. rozhraní zrn, nečistoty, rýhy, je tedy pravděpodobnost vzniku homogenní nukleace v praxi poměrně malá. [2]

O heterogenní nukleaci hovoříme v případě, kdy k nukleaci dochází na energeticky výhodných místech, jako jsou již výše zmíněná rozhraní zrn, dislokace nebo rýhy, poruchy materiálu či dokonce jeho povrch. [2]

Po vzniku stabilního nuklea dochází k jeho růstu. Rychlost růstu lze ovlivnit odvodem tepla na fázovém rozhraní, rychlostí transportu stavebních jednotek nebo i rychlostí zabudovávání jednotek do krystalové mřížky. [2]

Rychlost růstu krystalů  $u$  lze obecně popsat součinem termodynamického členu  $f(T)$  a kinetického členu  $u_{kin}(T)$ ,

$$u = u_{kin}(T) \cdot f(T) \quad (1)$$

kde je termodynamický člen dán následující rovnicí,

$$f(T) = 1 - e^{\left(-\frac{\Delta G}{RT}\right)} \quad (2)$$

kde  $\Delta G$  je změna Gibbsovy energie mezi amorfní a krystalickou fází,  $R$  je univerzální plynová konstanta. [2]

Kinetický člen je popsán následovně:

$$u_{kin} = D \approx \eta^{-1} \quad (3)$$

Standardní modely předpokládají spojitost  $u_{kin}$  s procesem přesunu materiálu z kapalně fázové rozhraní podchlazená tavenina-krystal – tzv. vnitřní difúze. Při pouze malém podchlazení lze teplotní závislost difúzního koeficientu  $D$  snadno nahradit převrácenou hodnotou viskozity  $\eta$ , jež vyjadřuje Stokes-Einsteinův vztah. [3]

S čím dál větším podchlazením však dochází ke změně úměrnosti mezi viskozitou a difúzním koeficientem  $D$ . Proto je při výpočtu  $u_{kin}$  u velmi podchlazených látek používán koeficient  $\zeta$ , jak je zobrazeno následujícím vztahem: [3]

$$u_{kin} \approx \eta^{-\xi} \quad (4)$$

Rychlost růstu krystalů je značně závislá na teplotě. Závislost v úzkém teplotním intervalu vystihuje Arrheniova rovnice:

$$u = A \cdot e^{-\frac{E_A}{RT}} \quad (5)$$

kde  $u$  je rychlost růstu krystalů,  $A$  je předexponenciální faktor.  $E_A$  představuje aktivační energii, bariéru, kterou musí atomy překročit, aby došlo k jejich zabudování do krystalu a tím k jeho růstu.  $R$  je univerzální molární plynová konstanta.

### 1.2.1. Metody studia růstu krystalů v amorfních materiálech

Znalost kinetiky růstu krystalů v amorfních léčivech je důležitá jak pro jejich přípravu, tak pro jejich uchovávání a stabilizaci. Amorfní léčiva mají totiž mnohem lepší rozpustnost než krystalická. Mají ovšem tendenci přecházet ve stabilnější krystalické formy, což je jejich velká nevýhoda. Nežádoucí krystalizaci lze zamezit stabilizací či skladováním látek v inertním prostředí. [5]

Krystalizaci amorfních látek lze sledovat mnohými experimentálními technikami. Nejzákladnější dělení je na metody přímé a nepřímé. [1]

#### 1.2.1.1. Přímé metody

Mezi přímé metody patří mikroskopie. Jestliže má krystalická a amorfní fáze v podchlazené tavenině odlišné optické vlastnosti, můžeme pomocí optické mikroskopie sledovat velikost krystalů, jejich množství, tvary, rychlost růstu a také to, zda se krystaly nachází na povrchu nebo v objemu sledovaného vzorku. [2, 6]

První optický mikroskop byl sestaven již v roce 1590 panem Zachariášem Jansenem a od té doby vědci vyvinuli mnoho různých typů mikroskopů. Existuje mikroskopie optická, elektronová, infračervená, nebo také mikroskopie atomárních sil. [6]



Klasický optický mikroskop se skládá ze dvou spojitých čoček – objektiv a okulár. Námi zkoumaný předmět se umísťuje mezi jednoduchou a dvojnásobnou ohniskovou vzdálenost objektivu a tím nám vzniká obraz. Obraz, který sledujeme okulárem, je vytvořený objektivem za jeho dvojnásobnou obrazovou ohniskovou vzdáleností a je skutečný, zvětšený a převrácený. Při tvorbě obrazu může dojít k tzv. ohybovým jevům, jejichž následkem je zhoršení rozlišovací schopnosti mikroskopu. Rozlišovací schopnost ( $R_{s.m.}$ ) vyjadřuje schopnost poukazovat se zvětšováním obrazu preparátu i nové podrobnosti o jeho struktuře a je definována jako převrácená hodnota vzdálenosti dvou odlišitelných bodů na sledovaném preparátu. [6]

Zvětšení mikroskopu ( $Z_{mikroskopu}$ ) lze vypočítat pomocí následujícího vztahu:

$$Z_{mikroskopu} = Z_{objektiv} \cdot Z_{okulár} = \frac{\Delta \cdot l_o}{f_{objektiv} \cdot f_{okulár}} \quad (6)$$

Kde  $\Delta$  je tzv. optický interval, vzdálenost mezi zadní ohniskovou rovinou objektivu a přední okuláru;  $l_o$  je vzdálenost oka od předmětu;  $f_{objektiv}$  je ohnisková vzdálenost objektivu;  $f_{okulár}$  je ohnisková vzdálenost okuláru;  $Z_{objektiv}$  značí zvětšení objektivu a  $Z_{okulár}$  zvětšení okuláru.

Čím větší použijeme zvětšení mikroskopu, tím menší bude hloubka ostrosti – menší hloubku preparátu uvidíme ostře. [6]

Další nedílnou součástí optického mikroskopu je osvětlovací zařízení. Průhledné preparáty můžeme osvětlovat světlem procházejícím – lomem. Neprůhledné látky ale musíme osvětlit světlem dopadajícím z vrchu, tedy odrazem. Oba způsoby osvětlení umožňují pozorování v tmavém nebo světlém poli. K osvětlení se nejčastěji využívá vnější zdroj záření, jež na předmět zkoumání vyzařuje potřebné množství světla. [6]

Infračervený (IR) mikroskop užívaný v IR mikroskopii je velmi podobný optickému, avšak liší se tím, že obraz vzorku je viděn prostřednictvím detekce infračerveného záření pomocí detektoru. Toto záření o vlnové délce 0,7–2  $\mu\text{m}$  je buď přenášeno skrze vzorek, nebo je odraženo zpět. Výhodou IR mikroskopie je, že vzorky není před zkoumáním potřeba složitě připravovat. Infračervená mikroskopie napomáhá zjistit prostorově odlišné vlastnosti vzorku, umožňuje také sledovat vrstevnaté struktury vzorku. [7]

Dalším typem mikroskopů, jež lze použít ke sledování krystalů, jsou elektronové mikroskopy (EM). EM se od optického liší v mnoha ohledech. Například v tom, že zvětšený obraz sledovaného vzorku vzniká díky interakci s proudem elektronů, nikoli proudem fotonů. Čočky jsou zde elektromagnetické v podobě cívek. Zvětšovací schopnost těchto cívek lze snadno regulovat změnou procházejícího elektrického proudu. Pomocí EM můžeme dosáhnout vysokého rozlišení. [8] Lze sledovat kovové nebo polovodivé vzorky ve vakuu. Případně je nutné nevodivé vzorky pokovovat, což je velkou nevýhodou této techniky. [9] Můžeme sledovat jak vnitřní strukturní uspořádání vzorku, díky transmisnímu EM, tak povrchové detaily vzorku s vysokou hloubkou ostrosti pomocí skenovacího EM. Jelikož jsou elektrony ve vzorku silně rozptylovány, lze pomocí transmisního EM pozorovat pouze tak tenké vzorky, aby byly elektrony schopny projít skrze ně, čili velmi tenké vzorky do tloušťky cca 100 nm. [8]

Mikroskopie atomárních sil umožňuje sledovat rozložení atomárních sil na povrchu měřeného vzorku. Tyto síly jsou důsledkem těsného přiblížení hrotu k povrchu, čímž dochází ke vzniku přitažlivé či odpudivé síly, jež způsobí ohyb raménka s hrotem. Ohnutí raménka je detekováno citlivým detekčním zařízením. Můžeme snímat mnohá data, například konstantní sílu hrotu vůči povrchu vzorku, změnu rezonanční frekvence a ohyb raménka. Tímto typem mikroskopie lze sledovat povrchy vzorků vodivých i nevodivých, se speciálním skenerem lze pracovat i se vzorky v kapalném prostředí. [10]

### **1.2.1.2. Nepřímé metody**

Proces krystalizace lze sledovat také pomocí nepřímých metod, jako jsou například metody termické analýzy. Při termické analýze lze sledovat procesy probíhající ve vzorku při jeho zahřívání nebo ochlazování, hovoříme o dynamických procesech; nebo procesy při konstantní teplotě měření v závislosti na čase  $t$ , tzv. statické procesy. Podle sledované veličiny rozlišujeme různé typy metod termické analýzy. [6]

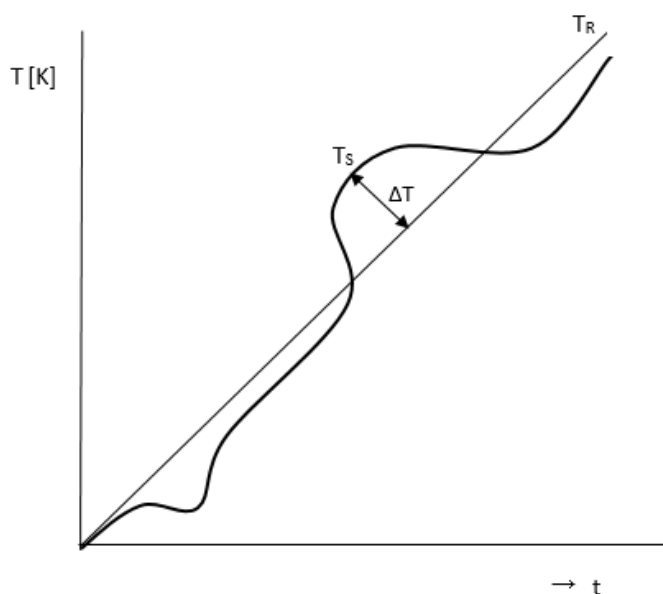
Jednou z nejvýznamnějších a hojně využívaných technik je diferenční termická analýza (DTA) a také diferenční skenovací kalorimetrie (DSC). Tyto dvě metody patří mezi metody termické analýzy sledující změnu tepelných vlastností zkoumané látky. [6]

## Diferenční termická analýza

DTA se většinou využívá k primárnímu určení krystalizačních vlastností zkoumané amorfní látky anebo jiného procesu doprovázeného tepelným zbarvením. [2]

Principem této metody je měření rozdílu teplot mezi zkoumaným vzorkem a standardem při definovaném ohřevu vzorku, jež je důsledkem dějů probíhajících ve zkoumaném vzorku. Referenční vzorek (standard) zvolíme takový, aby byl v intervalu teplot měření inertní. Námi naměřená data vypovídají o tepelném zbarvení dějů proběhlých v analyzovaném vzorku. [6]

Výsledkem měření pomocí DTA je teplotní rozdíl zaznamenaný v závislosti na čase a teplotě.  $\Delta T$  vůči teplotě standardu ( $T_R$ ) a vzorku ( $T_S$ ) znázorňuje následující DTA křivka na obrázku 2. [6]



Obrázek 2: DTA křivka

Diference  $\Delta T$  je rovna rozdílu  $T_S - T_R$ . Pokud je hodnota  $\Delta T$  menší než 0, čili teplota vzorku  $T_S$  je menší než teplota standardu  $T_R$ , jedná se o endotermní děj. Pokud je tomu naopak, jedná se o děj exotermní. [6]

## Diferenční skenovací kalorimetrie

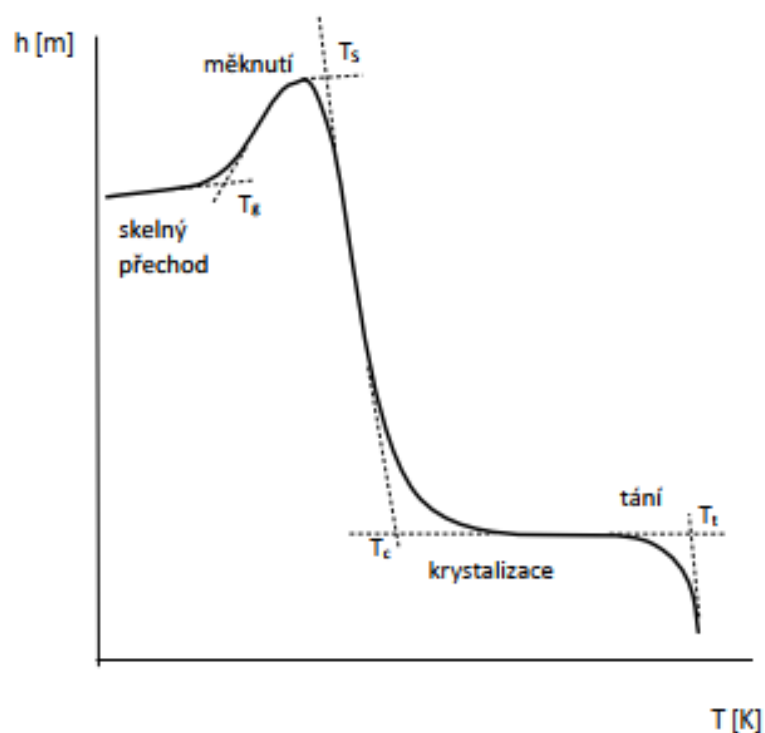
Principem DSC je udržování shodné teploty ve zkoumaném vzorku i referentní látce a měření energie (tepelného toku [2]), kterou je nutno dodat buď do vzorku nebo referentní látky. Do zkoumaného vzorku dodáváme energii v případě, že je v něm probíhající děj endotermní, tedy spotřebovává energii. Pokud je ale děj ve vzorku exotermní, pak energii dodáváme do srovnávací látky. Výsledkem měření pomocí DSC je závislost tepelného toku potřebného k vyrovnávání teploty vzorku a referentní látky na teplotě. Přesnost záznamů z DSC je oproti DTA mnohem vyšší. Výhodou DSC je také to, že k měření postačí malé množství vzorku, řádově jednotky mg. [6]

DSC je hojně využívána ke stanovení čistoty látek, k měření tepelné vodivosti nebo také ke sledování kinetiky reakcí a fázových přeměn probíhajících ve vzorku. Jestliže ve vzorku nedochází k dějům spojených s výrazným tepelným zabarvením, dokážeme pomocí DSC zjistit tepelnou kapacitu vzorku. [6]

## Termomechanická analýza

Mezi metody termické analýzy spojené se změnou jiných fyzikálních veličin, než je tepelné zabarvení, spadá termomechanická analýza (TMA), jež hodnotí stupeň deformace vzorku při zatížení v závislosti na teplotě. Deformace je měřena pomocí změny výšky vzorku. [6] V závislosti na zvoleném režimu měření TMA umožňuje určit například měknutí vzorku, koeficienty teplotní roztažnosti a jejich změny, bobtnání vzorku v rozpouštědlech, a také teploty charakterizující daný tepelný efekt. Lze zjistit i výšky deformačních kroků (rozsah deformace), počátek krystalizace vzorku nebo hodnoty viskozity. [7]

Typický tvar TMA křivky skelného materiálu při ohřevu zobrazuje obrázek 3. Při ohřevu dochází vlivem teplotní roztažnosti k nárůstu výšky. Od bodu skelného přechodu, v oblasti podchlazené taveniny, křivka roste strměji díky změně hodnoty koeficientu délkové roztažnosti. Díky této změně můžeme určit  $T_g$  vzorku. Následně dochází k poklesu viskozity vzorku, k deformaci vzorku vlivem působící síly a při teplotě měknutí ( $T_s$ ) se vzorek začne roztékat. Vzorek se roztéká až do doby, než dojde ke krystalizaci. Vzniklé krystaly jsou důvodem zastavení poklesu výšky vzorku. Se zvýšením teploty lze dosáhnout až teploty tání vzorku. [6]



Obrázek 3: TMA křivka

### 1.3. Amorfní formy léčiv

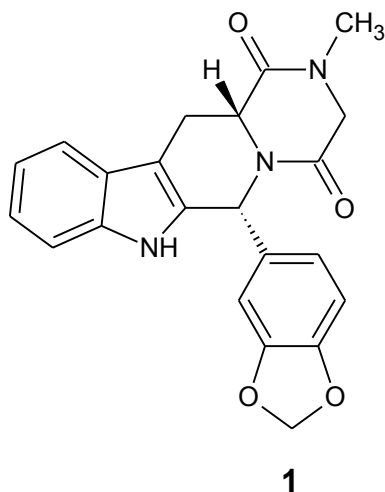
Amorfní pevné látky lze připravit například rychlým ochlazením taveniny, odpařováním roztoků nebo kondenzací par, avšak tak, aby nedošlo ke krystalizaci. [12]

Bylo zjištěno, že amorfní formy léčiv jsou lépe rozpustné, a díky tomu dojde k rychlejšímu nástupu účinku léčiva než při podání léčiv krystalických. Vědci odhadují, že rozpustnost krystalické formy může být 10 až 1600krát nižší než rozpustnost amorfní podoby. [13] Amorfní léčiva jsou více hygroskopická než krystalická a mají vyšší molekulovou mobilitu. Díky tomu mají bohužel kratší dobu expirace než krystalická. Nevýhodou je také nižší fyzikální a chemická stabilita těchto forem. Termodynamická nestabilita amorfních látek vyvolává jejich tendenci přecházet ve stabilnější krystalické podoby. Nežádoucí krystalizaci můžeme zabránit pomocí stabilizace nebo uchováním látky v inertním prostředí, například v dusíku. [5]

Důvodem, proč firmy vyrábí amorfní léčiva či pomocné látky, je také fakt, že tak mohou obejít patentovou ochranu na určitý lék. [5]

## 1.4. Tadalafil

Tato práce je zaměřena na studium růstu krystalů léčivé látky tadalafil **1** (TADA), proto bude další kapitola věnována právě tomuto léčivu. Jedná se o heterocyklickou (obrázek 4) bílou krystalickou látku [14] s bodem tání 301 °C [15].



Obrázek 4: strukturní vzorec tadalafilu

Tadalafil je zkoumán a užíván pro léčbu erektilní dysfunkce (ED) a také k léčbě příznaků dolních močových cest spojených se stavem zvaným benigní hyperplazie prostaty. [16]

Mechanismem účinku je reverzibilní inhibice fosfodiesterázy typu 5 (PDE 5) specifické pro cyklický guanosin-monofosfát (cGMP). PDE5 je enzym, jež se nachází v hladkém svalstvu topořivého tělíska (corpus cavernosum), viscerální hladké svalovině a hladkém svalstvu cév, také v kosterních svalech, krevních destičkách, ledvinách, plicích či v mozečku. Bylo zjištěno, že TADA působí na tento typ fosfodiesterázy mnohem více než na kterýkoli jiný, tudíž je silně selektivní. Zatímco při sexuální stimulaci dochází k uvolnění oxidu dusnatého (NO), inhibice PDE5 tadalafilem vede ke zvýšení hladiny cGMP v corpus cavernosum, což vede k uvolnění hladkého svalstva, přítoku krve do tkání penisu a tím k erekci. [17, 18]

## **EREKTILNÍ DYSFUNKCE**

Erektilní dysfunkce (ED) je porucha, při které nedochází při sexuálním vzrušení ke ztopoření pohlavního údu nebo je toto ztopoření nedostačující pro pohlavní styk. [16] ED je velmi častým problémem mužů po celém světě. [19] Bylo zjištěno, že nyní v České republice trpí tímto problémem až 54 % mužů starších 35 let. [20], což je 500-800 000 mužů, a každým rokem toto číslo roste o 40 000. [21] Tito muži by měli zahájit léčbu, je-li neúspěšnost pokusů o uspokojivou erekci více než čtvrtinová, avšak je známo, že ED léčí pouze 10–15 % z nich. [20]

Muži trpící hypertenzí, zvýšenou hladinou cholesterolu v krvi, cukrovkou nebo ischemickou chorobou srdeční mají často problémy s cévami, které pak mohou být příčinou vzniku ED. [20] K lokálnímu poškození cév, v oblasti pánve, může dojít při rozsáhlém chirurgickém zákroku – např. operace nádorů močového měchýře, prostaty anebo konečníku. [21] Další problémy přičiňující ED mohou být neurologického charakteru, např. roztroušená skleróza, Parkinsonova choroba; nebo se může jednat o poranění nervů při pánevních operacích a úrazech, karcinom prostaty či úraz míchy. Typickou kombinací neurogenních a vaskulárních problémů jsou diabetici. [20] Příčiny vzniku ED mohou být i psychického rázu – např. stres, deprese či přepracování; nebo se může jednat o nežádoucí účinek léků na tyto psychické problémy. Až 25 % případů ED je způsobeno poruchami funkce hormonů. Porucha štítné žlázy, nadledvin nebo příštítných tělísek jsou také jedny z mnoha faktorů, které mají vliv na vznik ED. Negativní vliv na erekci má také kouření, jelikož nikotin obsažený v cigaretách má vliv na cévy v těle, tedy i v penisu. [21]

U přípravku TADALAFIL ACCORD 5 mg bylo prokázáno, že dokáže výrazně zlepšit schopnost dosáhnout ztopoření nutného k pohlavní aktivitě. Přípravek napomáhá relaxaci cév v penisu a díky tomu tak umožní dostatečný přísun krve. Výsledkem je zlepšené ztopoření. Požadovaného účinku přípravku TADALAFIL ACCORD je ovšem možné dosáhnout pouze při současném sexuálním dráždění. [16]

## **BENIGNÍ HYPERPLAZIE PROSTATY**

Bylo zjištěno, že prostata se s přibývajícím věkem zvětšuje. Příznakem zvětšené prostaty může být potíže se zahájením močení, pocit nedokonalého vyprázdnění močového měchýře či častější nutkání močit. Jelikož díky užívání tadalafilu dochází ke zlepšení průtoku krve, dochází tak k uvolnění svalstva prostaty a močového měchýře, což má za následek zlepšení příznaků benigní hypertenze prostaty. [16]

### 1.4.1. Farmakokinetické vlastnosti

Při zkoumání farmakokinetických vlastností látek sledujeme chování léčiva v organismu. Nejdůležitějšími procesy jsou absorpce látky v organismu, její distribuce, následná biotransformace a konečná eliminace. Tyto procesy budou stručně popsány v následujících odstavcích. [22]

#### Absorpce

Tadalafil se po perorálním užití rychle vstřebává a průměrné maximální plazmatické koncentrace ( $c_{max}$ ) je dosaženo průměrně za 2 hodiny po podání. [19] Hodnoty absolutní biologické dostupnosti po perorálním užití CIALIS zatím nebyly stanoveny. Rychlost a rozsah absorpce tadalafilu není závislý na příjmu potravy, je tedy možné léčivo užívat nalačno nebo i s jídlem. Bylo také zjištěno, že na rychlost a rozsah absorpce nemá příliš velký vliv doba podání léku, je jej tedy možné užívat buď ráno nebo večer, a je dosaženo stejného účinku. [17]

#### Distribuce

Distribuci léčiv lze považovat za tzv. transport léčiva z krve do tkání a zpět. Charakter, rychlost a rozsah distribuce závisí na fyzikálně-chemických vlastnostech léčiva, které mohou ovlivnit schopnost prostupovat přes biologické membrány a schopnosti vazby v krvi a různých tkáních. Také záleží na rychlosti krevní cirkulace v orgánech a tkáních. Distribuce může ovlivnit i výslednou koncentraci léčiva v různých částech organismu a tím jeho účinek. [22]

Rozsah distribuce léčiv v organismu je obvykle zjišťován nepřímou. Měříme koncentraci léčiva v krevní plazmě a poté vypočteme tzv. zdánlivý distribuční objem ( $V_d$ ). Zdánlivý distribuční objem je pouze hypotetický, jeho hodnoty jsou často nereálné. Udává objem organismu, ve kterém by se muselo léčivo stejnoměrně distribuovat, abychom dosáhli stejné koncentrace léčiva jako v krevní plazmě. [22]

Průměrný distribuční objem TADA je přibližně 63 l, z toho vyplývá, že se distribuuje především do tkání. Bylo zjištěno, že 94 % tadalafilu je při terapeutických koncentracích vázáno na plazmatické proteiny. [17]



## **Biotransformace**

Během biotransformace léčiva v těle dochází postupně k přeměně léčiva na méně účinný nebo zcela neúčinný metabolit, který je následně eliminací vyloučen z těla. K metabolizaci léčiva dochází již při tzv. efektu prvního průchodu (first pass effect), kdy léčivo prochází játry a trávicí trubici, zejména tenkým střevem. V tenkém střevě jsou hojně zastoupeny biotransformační enzymy, které se podílejí na metabolizaci. Biotransformace léčiv a xenobiotik se dělí na dvě fáze. V první fázi probíhají děje vedoucí k vytvoření volné, polární funkční skupiny ve struktuře látky. Tato funkční skupina je pak ve druhé fázi metabolizace využita k připojení dalšího zbytku jiné molekuly, vedoucí ke vzniku ještě polárnější (hydrofilní) látky. Díky polaritě je pak metabolit snáze odstranitelný. [22]

TADA je metabolizován převážně pomocí isoformy 3A4cytochromu P450 (CYP). Hlavním cirkulujícím metabolitem je metylcatecholglukuronid. Tento metabolit má více než 13000krát menší účinnost na PDE5 než TADA. [17]

## **Eliminace**

Metabolity 2.fáze metabolismu, hydrofilní látky, jsou snadno eliminovány z krve ledvinami. Léčiva však mohou být eliminována i játry, potem, dechem, stolicí. Eliminaci usnadňuje jejich náboj a výrazně větší molekulová hmotnost, než jakou mají nemetabolizovaná léčiva. Rychlost eliminace, tj. odstraněné množství léčiva z těla eliminačními ději za jednotku času, se u různých léčiv liší. Základní farmakokinetický parametr popisující rychlost eliminace látky, je clearance. Jedná se o poměr rychlosti eliminace léčiva a koncentrací léčiva v krevní plazmě, tedy jaký objem plazmy je již zbaven léčiva za jednotku času všemi eliminačními pochody. Dalším parametrem je biologický poločas eliminace, což je čas potřebný ke snížení aktuální plazmatické koncentrace léčiva na polovinu. [22]

Výzkumy bylo zjištěno, že průměrná clearance TADA u zdravých jedinců je 2,5 l/h [17] a průměrný eliminační poločas je 17,5 h. [17, 19]

## 1.4.2. Nežádoucí účinky

Nejčastěji hlášenými nežádoucími účinky (NÚ) po dobu studií přípravku CIALIS, u pacientů s ED nebo benigní hyperplazií prostaty, byly bolest hlavy, dyspepsie, bolest zad a svalů. Se zvyšující se dávkou léčiva výskyt těchto nežádoucích účinků rostl. Následující tabulka 1 zobrazuje frekvenci NÚ. Jako velmi časté jsou označeny ty, jež hlásilo více než 1/10 pacientů, časté  $\geq 1/100$  až  $<1/10$ ; méně časté  $\geq 1/1000$  až  $<1/100$ ; vzácné NÚ hlásilo  $<1/10000$  až  $<1/1000$  a velmi vzácné NÚ byly hlášeny méně než 1/10000 pacienty. [17]

Tabulka 1: nežádoucí účinky CIALIS

	velmi časté	časté	méně časté	vzácné
Poruchy imunitního systému			hypersenzitivní reakce	angioedém
Poruchy nervového systému		bolest hlavy	závratě	cévní mozková příhoda (včetně krvácivých příhod), synkopa, tranzitorní ischemické ataky, migréna, epileptické záchvaty, přechodná amnézie
Poruchy oka			rozmazané vidění, pocity popisované jako bolest oka	poruchy zorného pole, otok víček, hyperémie spojivek, nearterická přední ischemická neuropatie optiku, retinální vaskulární okluze
Poruchy ucha a labyrintu			tinnitus	náhlá ztráta sluchu
Srdeční poruchy			tachykardie, palpitace	infarkt myokardu, nestabilní angina pectoris, ventrikulární arytmie
Cévní poruchy		návaly	hypotenze, hypertenze	
Respirační, hrudní a mediastinální poruchy		zduření nosní sliznice	dyspnoe, epistaxe	

*Pokračování Tabulky 1*

	velmi časté	časté	méně časté	vzácné
Gastrointestinální poruchy		dyspepsie	bolest břicha, zvracení, nauzea, gastroezofageální reflux	
Poruchy kůže a podkožní tkáň			vyrážka	kopřivka, Stevens- Johnsonův syndrom, exfoliativní dermatitida, hyperhidróza (pocení)
Poruchy svalové a kosterní soustavy a pojivové tkáň		bolest zad, svalů, končetin		
Poruchy ledvin a močových cest			hematurie	
Poruchy reprodukčního systému a prsu			prodloužení erekce	priapismus, krvácení z penisu, hematospermie
Celkové poruchy a reakce v místě aplikace			bolest na hrudi, periferní edém, únava	faciální edém, náhlá srdeční smrt

## 2. Experimentální část

V experimentální části mé práce se budeme zabývat způsobem přípravy vzorků a technikou, která byla využita pro měření a vyhodnocení rychlosti růstu krystalů.

### 2.1. Příprava vzorků

K přípravě vzorků tadalafilu (>98 % čistoty HPLC, Sigma Aldrich) byl potřeba temperační stolek, obrázek 5, zahřátý nad teplotu tání tadalafilu ( $T_m \approx 301 \text{ }^\circ\text{C}$ ), konkrétně na  $325 \text{ }^\circ\text{C}$ . Na stolek bylo položeno obdélníkové podložní sklíčko a na něj nadávkováno velmi malé množství krystalického vzorku tadalafilu. Vzorek byl rychle roztaven, překryt krycím sklíčkem a následně prudce zchlazen na chladícím kovovém bloku, čímž byl získán TADA ve skelné formě. Po zchlazení bylo sejmuto krycí sklíčko s amorfním vzorkem a rozřezáno na několik dílků.



Obrázek 5: příprava amorfních vzorků TADA

## 2.2. Rentgenová analýza

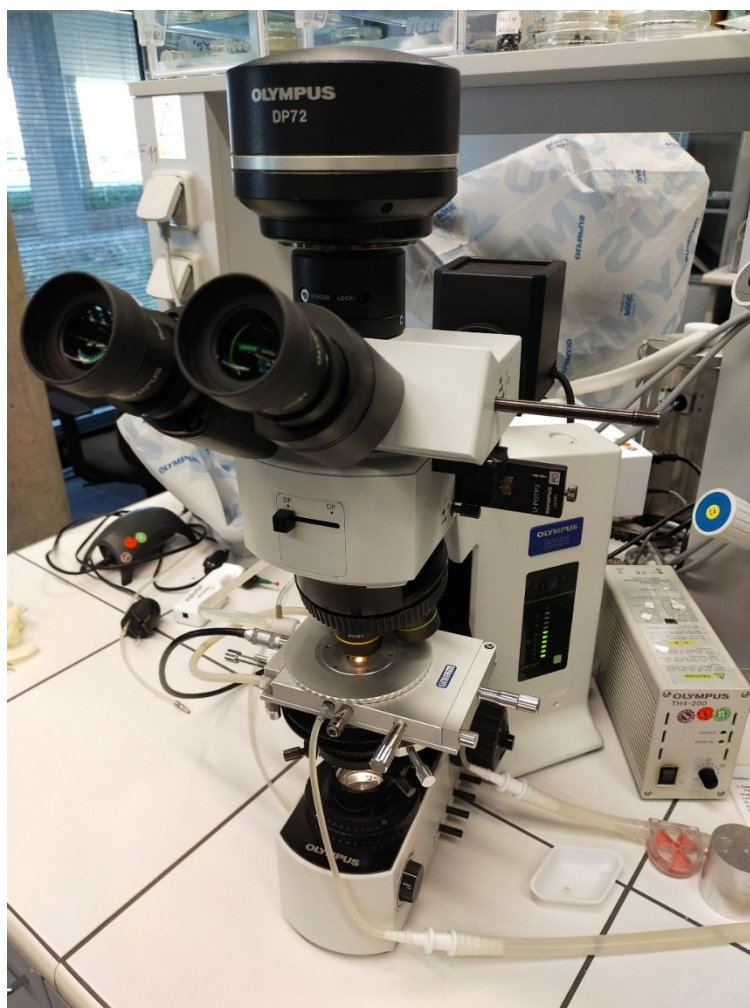
Amorfní charakter připravených vzorků tadalafilu a zároveň struktura rostoucích krystalů byla ověřena pomocí rentgenové difrakční analýzy (XRD). Pro analýzu byl využit přístroj pro práškovou analýzu Rigaku MiniFlex 600 s Bragg-Brentano  $\theta$ - $2\theta$  geometrií. Během měření bylo použito  $\text{CuK}_\alpha$  záření ( $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ ,  $U = 40\text{kV}$ ,  $I = 15 \text{ mA}$ ) a data byla zaznamenávána pomocí ultra rychlého detektoru Detex ultra v rozsahu úhlů  $2\theta = 4 - 40^\circ$  s úhlovým krokem  $0,02^\circ$ .

## 2.3. Mikroskopie

Ke studiu růstu krystalů v amorfním TADA byl využit optický mikroskop OLYMPUS BX51 s kamerou DP72 a se zabudovaným temperačním stolkem Linkam (obrázek 6). Veškeré vzorky byly sledovány in-situ (během temperace) v procházejícím světle.

Každý vzorek byl temperován v temperačním stolku dle zvoleného teplotního programu nastaveného v programu LINKSYS 32. Ten byl volen tak, aby byl vzorek co nejrychleji vytemperován na zvolenou teplotu (rychlost ohřevu  $150^\circ\text{C}/\text{min}$ ) a po dosažení dané hodnoty byla teplota udržována konstantní po celou dobu experimentu.

Růst krystalů byl studován v intervalu teplot  $160\text{--}250^\circ\text{C}$ . Během temperace při zvolené teplotě byl vzorek snímán pomocí programu QuickPHOTO Industrial 2.3., ve zvoleném časovém intervalu. Byly získány fotografie vznikajících krystalů a fotografie zachycující jejich růst. Od rychlosti růstu při zvolené teplotě se odvíjela doba sledování růstu krystalů. Pohybovala se od 20 vteřin pro teplotu  $250^\circ\text{C}$  až po 170 min pro měření při teplotě  $160^\circ\text{C}$ .

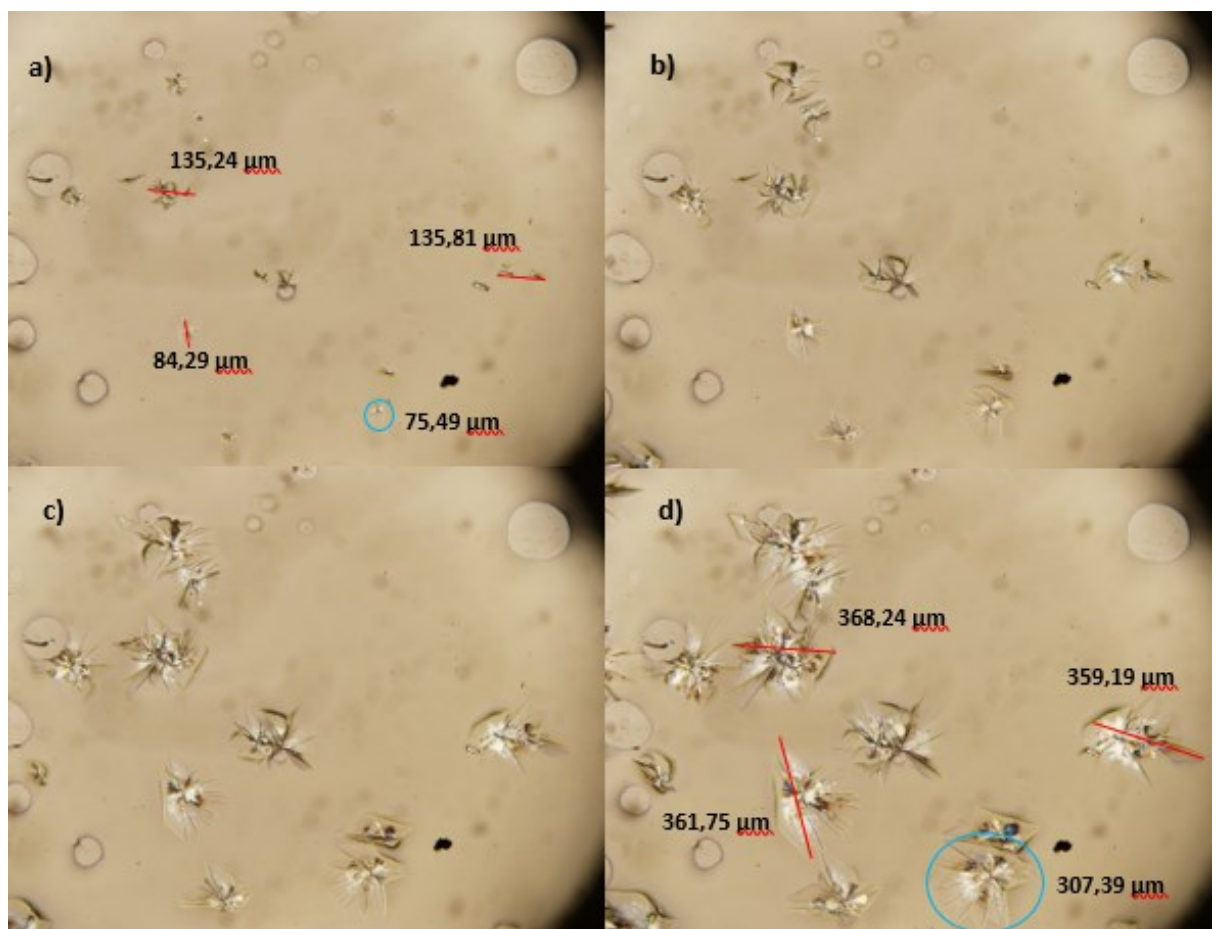


*Obrázek 6: optický mikroskop OLYMPUS BX51 s kamerou DP72 a temperačním stolkem Linkam*

Detailní struktura rostoucích krystalů v podchlazené tavenině TADA byla zkoumána pomocí SEM LYRA3 od firmy Tescan s urychlovacím napětím 10kV. Pro lepší vodivost byly vzorky před měřením pouhličeny.

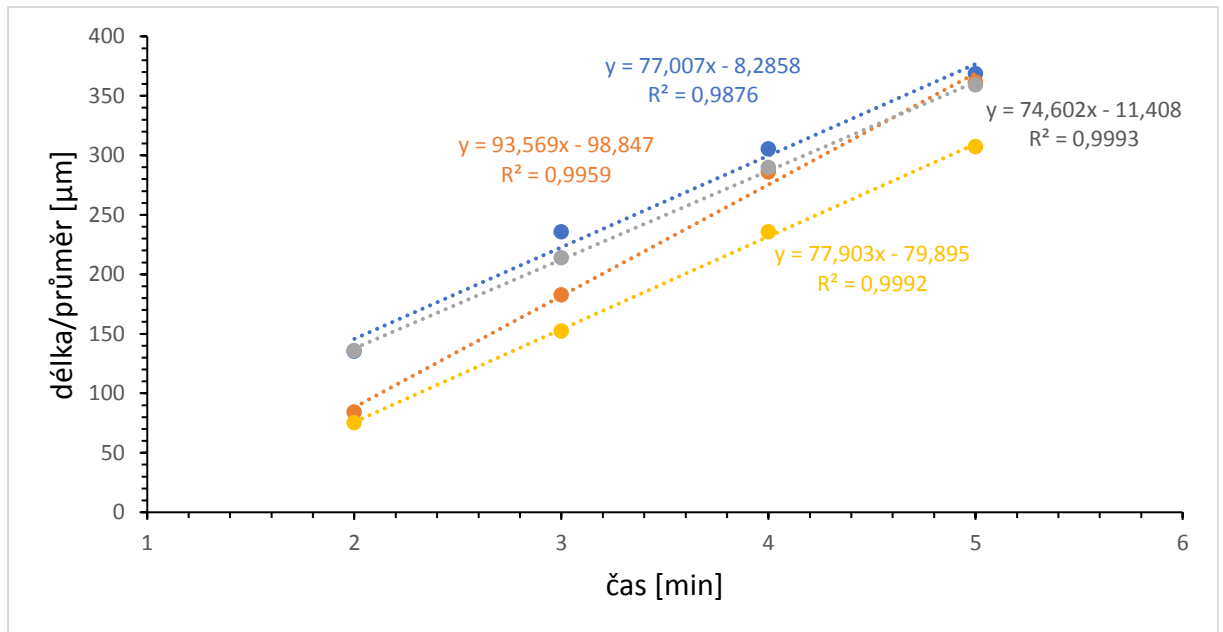
### 2.3. Vyhodnocení rychlosti růstu krystalů

Růst krystalů byl pozorován přímo během temperace. Vybrané pořízené snímky pro měření při určité teplotě, obvykle 10 snímků, byly vyhodnocovány nejčastěji pomocí programu Image J. Velikost vybraných krystalů byla měřena více způsoby. Jedním z nejpoužívanějších je měření pomocí úsečky, kdy je měřen největší rozměr krystalu. Druhým způsobem určení velikosti symetrických krystalů je měření pomocí kružnice a stanovení jejího průměru. Pomocí úsečky byly měřeny krystaly, jež rostly nerovnoměrně různými směry. Jestliže krystal rostl stejnoměrně všemi směry a vrcholy paprsků bylo možné opsat kružnicí, byla jeho velikost měřena pomocí průměru kružnice. Velikosti krystalů byly následně vyneseny do grafu v závislosti na čase temperace. Lineární část růstu krystalů byla proložena přímkou, jejíž směrnice nám udává rychlost růstu krystalů. Snímky krystalů tadalafilu při 100násobném zvětšení a teplotě 200 °C v čase: a) 2, b) 3, c) 4 a d) 5 min od zahájení měření a názornou ukázkou měření velikosti krystalů zobrazuje následující obrázek 7.



Obrázek 7: snímky vzorku při teplotě 200 °C a 100násobném zvětšení v čase: a) 2, b) 3, c) 4 a d) 5 min od začátku měření a názorná ukázkou měření velikosti krystalů

Závislost velikosti krystalů na době temperace při 200 °C a 100násobném zvětšení je znázorněna na obrázku 8. Pro každý krystal byly vyneseny hodnoty zvlášť a proloženy přímkou, jejíž směrnice udává rychlost růstu krystalu. Výsledná rychlost růstu pro danou teplotu byla pak určena jako průměr rychlostí růstu několika krystalů.



Obrázek 8: grafická závislost velikosti krystalů na době temperace při teplotě 200 °C

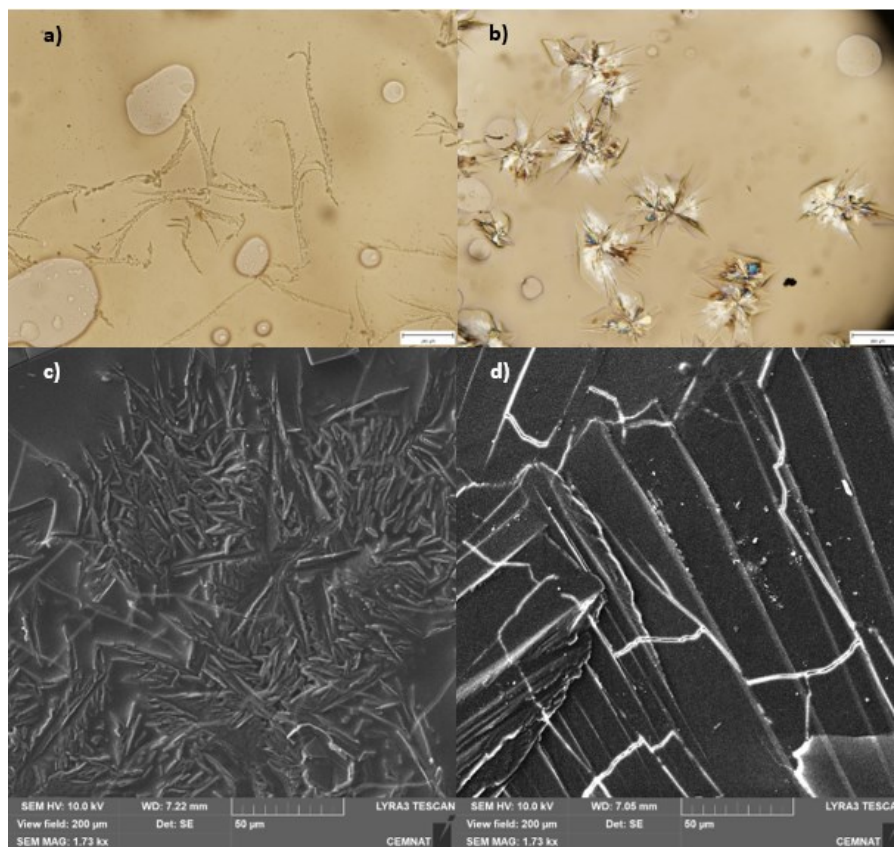


### 3. Výsledky a diskuze

Růst krystalů v amorfních vzorcích tadalafilu a jejich velikost v závislosti na době temperace při dané teplotě byl studován přímo pomocí optické mikroskopie.

Při nízkých teplotách temperace, 160-170 °C, rostly krystaly velmi pomalu. Obvykle vzniklo malé množství nukleí dál od sebe, která následně rostla. Při teplotách vyšších než 180 °C docházelo k rychlému růstu mnoha nukleí náhodně v celém prostoru vzorku, což můžeme popsat jako homogenní nukleaci. V některých případech měření však docházelo i k nukleaci na jednom místě, či blízko sebe. Jelikož k nukleaci v převážné většině případů dochází na energeticky výhodných místech, jedná se o tzv. heterogenní nukleaci, velké množství nukleí blízko sebe značí, že na onom místě vzorku byla dislokace, porušení vzorku či rýha. V některých případech docházelo ke vzniku nových nukleí i v průběhu temperace.

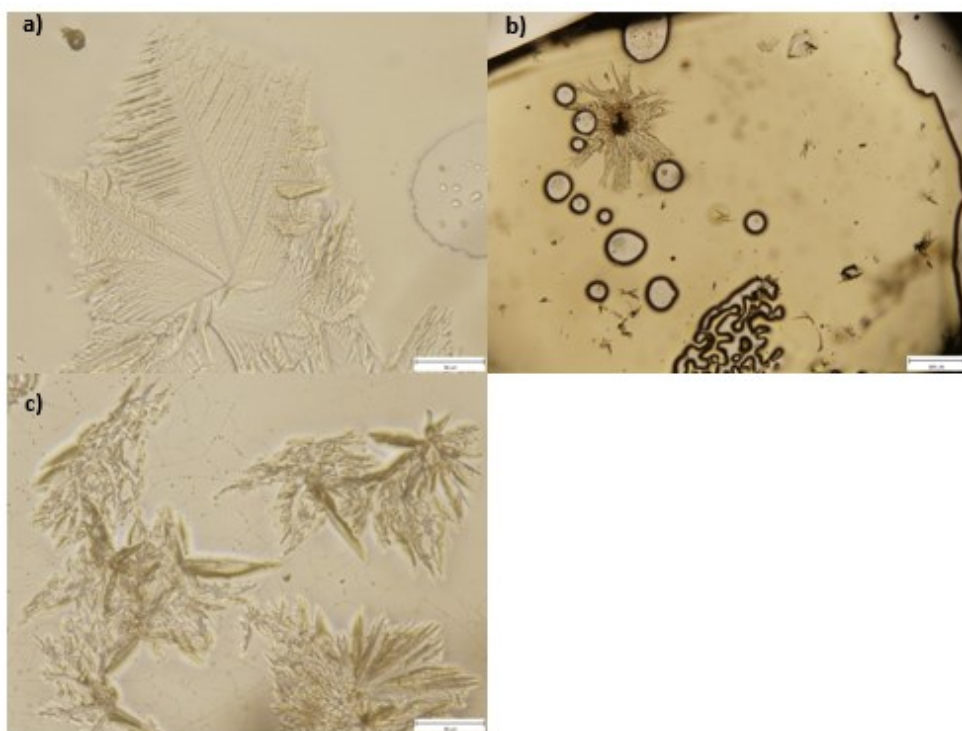
Ačkoliv byly amorfní vzorky tadalafilu připravovány vždy před měřeními a vždy stejným způsobem, docházelo ke vzniku více typů krystalů. Při nízkých teplotách (160, 170 °C) vznikaly dlouhé rozvětvené řetízky. Snímek těchto řetízků z optického mikroskopu při 200násobném zvětšení je možné vidět na obrázku 9 a) a detailní strukturu na snímku pořízeného pomocí SEM na obrázku 9 c). Při teplotách nad 180 °C rostly krystaly pravidelného i nepravidelného hvězdovitého tvaru, s úzkými, ale i širokými paprsky/lamelami, jež postupně prorůstaly další vrstvou krystalů. V sekci b) obrázku 9 pořízeného pomocí optického mikroskopu při 100násobném zvětšení je možné vidět tyto hvězdy a detail krystalů je zobrazen v části d).



*Obrázek 9: snímky krystalů:*

- a) snímek řetězkových krystalů, b) snímek hvězdicových krystalů,*
  - c) detailní snímek rozvětvených řetězovitých krystalů,*
  - d) detailní snímek lamel tvořících daný krystal hvězdicového tvaru*
- Měřítko na snímku a) označuje velikost 100 μm, b) 200 μm.*

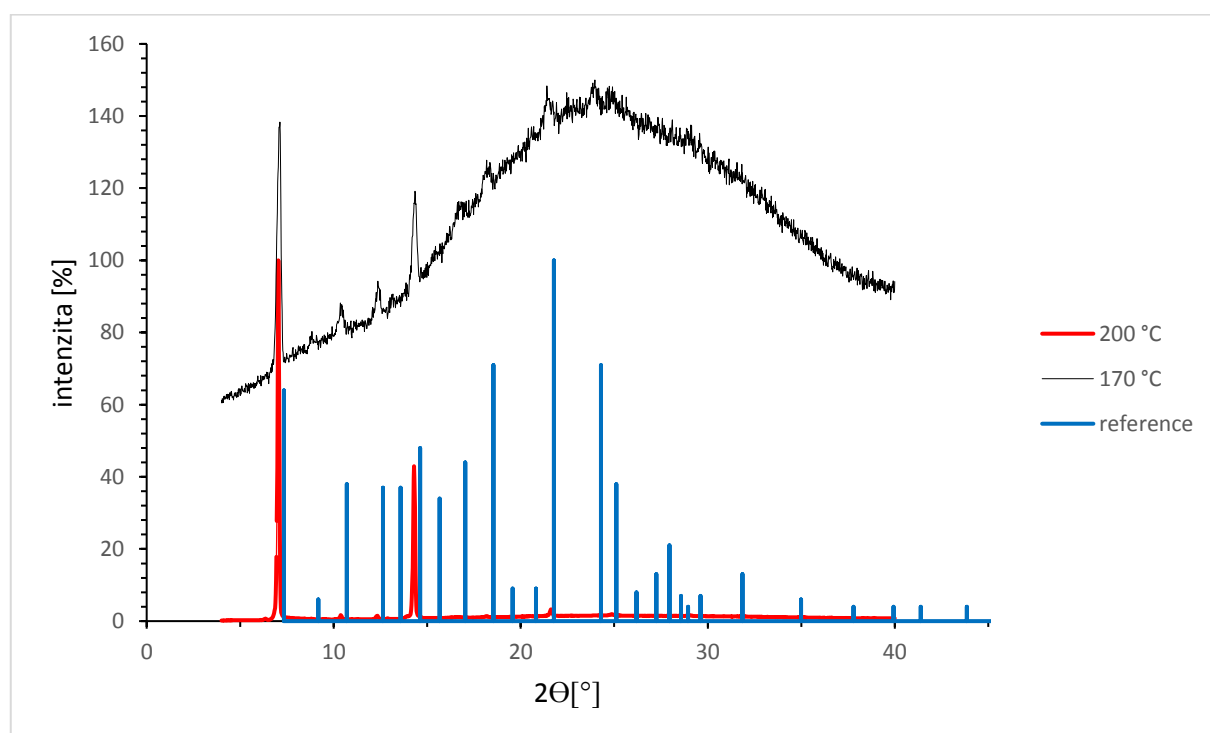
Sledovány byly i krystaly strukturou podobné listu kapradí, obrázek 10 a), či vláknité hvězdice, obrázek 10 b), c).



*Obrázek 10: snímky krystalů ve tvaru: a) listu kapradí při teplotě 200 °C, b) vláknitá hvězda při teplotě 170 °C a c) vláknitá hvězda při teplotě 180 °C. Měřítka na snímku a) označuje velikost 50 μm, b) 200 μm a c) 50 μm*

Jelikož docházelo k růstu odlišných krystalů, byly vzorky tadalafilu analyzovány pomocí XRD, pro ověření, zda se jedná o stejnou krystalickou fázi. Byly proměřeny dva vzorky. První byl temperován při teplotě 200 °C, kdy vznikaly velké srostlice krystalů s lamelární strukturou (obrázek 9 b, d). Druhý vzorek byl temperován při teplotě 170 °C, kdy vznikaly rozvětvené vláknité krystaly (obrázek 9 a, c).

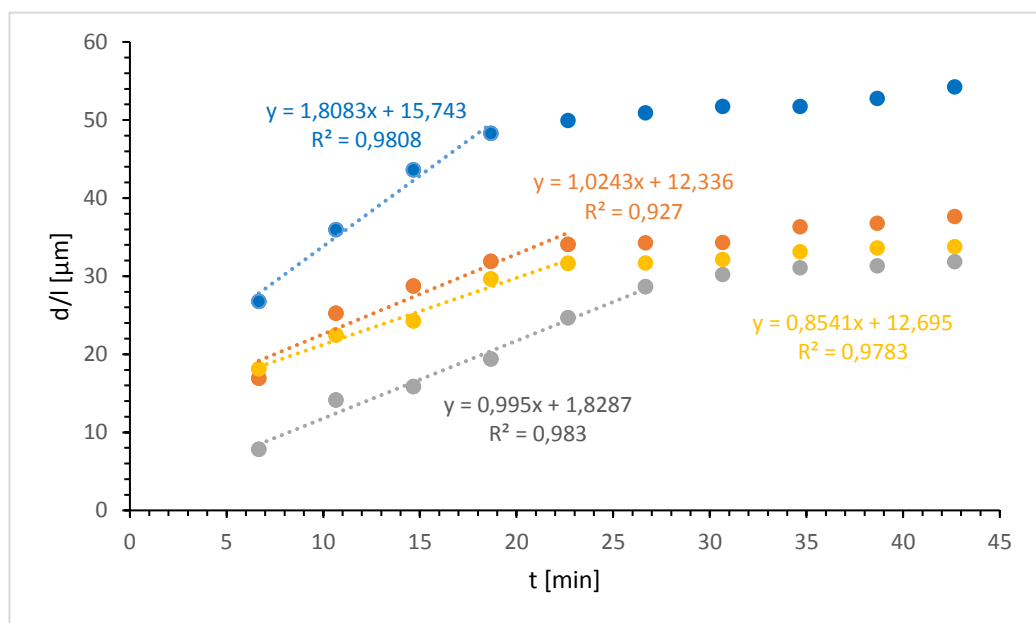
Výsledkem měření bylo zjištění, že ačkoliv při různých teplotách temperace rostou krystaly tadalafilu různého tvaru, mají všechny stejnou krystalografickou strukturu. Naměřené XRD difraktogramy jednotlivých vzorků jsou uvedeny v obrázku 11.



Obrázek 11: XRD difraktogramy zakrytalizovaných vzorků TADA, reference odpovídá krystalickému vzorku TADA z databáze PDF (Powder Diffraction File) [23]

Černá křivka znázorňující měření vzorku při 170 °C je posunuta nahoru o 50 % z důvodu vizualizace, aby se jednotlivé křivky nepřekrývaly a byly dobře patrné jednotlivé difrakční linie. Červená křivka znázorňuje měření vzorku při 200 °C. Modré čáry značí referenci nalezenou v databázi PDF (Powder Diffraction File) a bylo zjištěno, že odpovídají krystalickému TADA. [23] Jsou však patrné malé rozdíly difrakčních linií, což může být způsobeno mírnou deformací struktury, či přednostní orientací krystalů v tenké vrstvě měřeného vzorku. Wei a kol. [24] ukázali ve své studii, že je struktura krystalického TADA značně ovlivněna metodou přípravy vzorku.

Během temperace amorfních vzorků tadalafilu při zvolené teplotě mnohdy docházelo k postupné tvorbě velkých shluků těchto krystalů. Počáteční rychlost růstu krystalů byla lineární s časem. V důsledku spojení více krystalů ve větší celky, postupného úbytku vzorku nebo v důsledku pravděpodobného poklesu rychlosti transportu strukturních jednotek na rozhraní krystal-podchlazená tavenina, následně docházelo ke zpomalování růstu krystalů (obrázek 12). Proto byly rychlosti růstu pro jednotlivé krystaly určeny vždy z nejstrmější části křivky závislosti velikosti krystalu na době temperace, jak je naznačeno v obrázku 12. Ta totiž odpovídá nejvyšší rychlosti růstu krystalu.



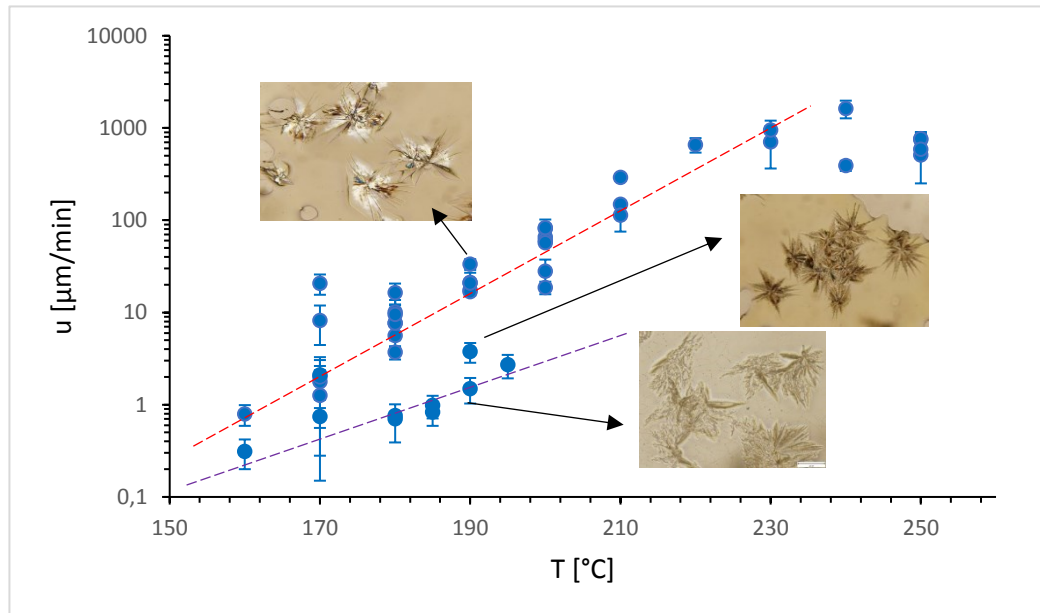
Obrázek 12: závislost velikosti krystalů rostoucích při teplotě 190 °C na čase, kde je patrné zmatelné zpomalení růstu krystalů

Ačkoliv byly v amorfních vzorcích TADA pozorovány různé typy rostoucích krystalů, byla u všech studována rychlost jejich růstu a následně analyzována. Ze směrnic lineárních závislostí velikosti krystalů na době temperace byly následně získány hodnoty rychlostí růstu při daných teplotách. Ty byly zapsány do tabulky spolu se směrodatnými odchylkami rychlosti růstu, tabulka 2.

Tabulka 2: data rychlosti růstu a směrodatné odchylky rychlosti růstu za dané teploty

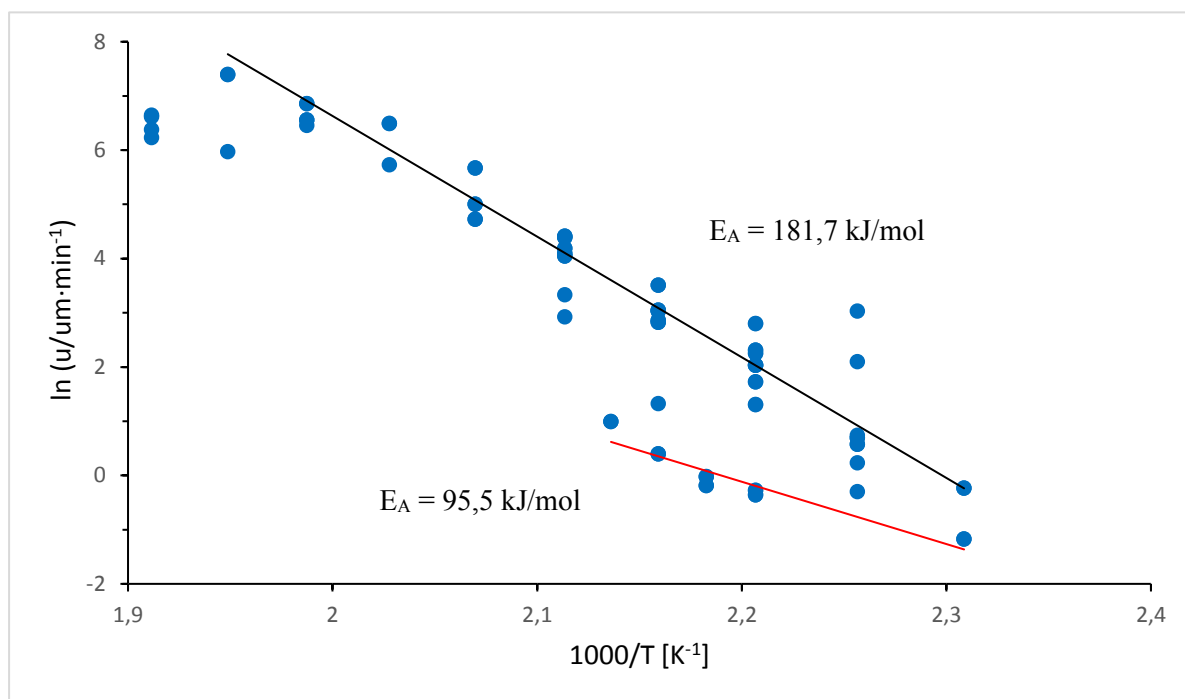
T [°C]	u [μm/min]	u sm.odch. [μm/min]	T [°C]	u [μm/min]	u sm.odch. [μm/min]
160	0,3	0,1	190	33	4
160	0,8	0,2	190	21	2
170	0,7	0,2	195	2,7	0,8
170	1	1	200	81	7
170	2	1	200	19	3
170	21	5	200	66	13
170	8	4	200	60	3
170	2	2	200	28	9
170	2	0,6	200	83	19
180	0,7	0,3	200	57	3
180	0,8	0,1	210	290	21
180	10	2	210	149	13
180	3,7	0,6	210	113	38
180	5,6	0,4	220	308	24
180	8	3	220	659	118
180	16	4	230	635	130
180	8	3	230	704	340
180	10	4	230	951	251
185	0,9	0,3	240	1626	353
185	0,8	0,2	240	392	49
190	3,8	0,9	250	744	161
190	1,5	0,5	250	509	258
190	17	1	250	767	108
190	17	1	250	587	84
190	21	6			

Struktura rostoucích krystalů se výrazně lišila, ačkoliv se dle XRD jednalo o stejnou krystalovou modifikaci. Díky tomu docházelo k velkému rozptylu hodnot rychlostí růstu, jak je vidět v obrázku 13. I přesto je ale patrný dvojitý trend růstu krystalů, jež je pro vizualizaci naznačen čárkovanými čarami.



Obrázek 13: grafická závislost rychlosti růstu krystalů na teplotě. Čárkované čáry naznačují dva možné trendy rychlosti růstu, nicméně slouží pro vedení oka a nemají žádný fyzikální smysl

Dvojí trend rychlostí růstu krystalů vede k předpokladu, že je růst krystalů pravděpodobně řízen dvěma různými mechanismy, jejichž určení je však experimentálně velmi náročné a přesahuje rámec této bakalářské práce. Aktivační energie růstu krystalů byla určena s pomocí rovnice 5 a z naměřených dat. Byla určena pouze aktivační energie růstu krystalů pro tyto dva předpokládané mechanismy, obrázek 14.



Obrázek 14: určení aktivační energie růstu krystalů

Hodnoty aktivačních energií růstu krystalů se pohybují v rozmezí 95-182 kJ/mol. Vzhledem k tomu, že se dle dostupné literatury jedná o prvotní práci zaměřující se na růst krystalů a vůbec kinetiku krystalizace v amorfním TADA, nebylo možné hodnoty aktivačních energií srovnat s literárními daty.



## 4. Závěr

V této bakalářské práci byl studován růst krystalů v amorfni formě léčiva tadalafil. Výsledky této práce lze shrnout do následujících bodů:

- Přestože byly amorfni vzorky TADA připravovány vždy stejným způsobem a před vlastním měřením, při různých teplotách temperace docházelo k růstu různých typů krystalů. Pomocí XRD bylo zjištěno, že se jednalo o stejnou krystalografickou strukturu.
- Počáteční rychlost růstu krystalů byla obvykle lineární s časem, ovšem s tvorbou shluků, nebo v důsledku úbytku vzorku či pravděpodobného poklesu rychlosti transportu buněk na rozhraní krystal-podchlazená tavenina, docházelo mnohdy ke zpomalování růstu krystalů. Pomocí optické mikroskopie a grafické závislosti velikosti krystalu na čase za dané teploty temperace, byly ze směrnic lineárních závislostí určeny rychlosti růstu krystalů při různých teplotách, vždy z nejstrmější části křivky.
- Díky odlišným typům krystalů docházelo k velkému rozptylu hodnot rychlostí růstu, avšak byl pozorován jejich pravděpodobný dvojitý trend. Dvojitý trend rychlostí růstu krystalů TADA vede k předpokladu, že krystalaly rostou dvěma odlišnými mechanismy. Pomocí Arrheniovy závislosti rychlosti růstu na teplotě byla určena aktivační energie růstu krystalů těchto předpokládaných mechanismů. Hodnoty aktivační energie růstu krystalů jsou 95,5 kJ/mol pro první a 181,7 kJ/mol pro druhý mechanismus.

## 5. Seznam použité literatury

- [1] FRUMAR, M. *Chemie pevných látek*. Pardubice: VŠCHT, **1992**, ISBN 80-85113-41-4.
- [2] STRNAD, Z. *Skelně krystalické materiály*, Praha: Státní nakladatelství technické literatury, **1983**.
- [3] EDIGER, M.D.; HARROWELL, P. a LIAN, Y. Crystal growth kinetics exhibit a fragility-dependent decoupling from viscosity. *The Journal of Chemical Physics*. **2008**, 128 (3).
- [4] NOVÁK, J. a kolektiv. *Fyzikální chemie bakalářský kurz*. VŠCHT Praha, **2008**.
- [5] KRATOCHVÍL, B.; SEILEROVÁ, L.; SLÁDKOVÁ, V. a ŠIMEK, M. *Chemie a fyzika pevných léčiv*. VŠCHT Praha, **2020**. ISBN 978-80-7592-075-1.
- [6] ŠULCOVÁ, P. a BENEŠ, L. *Experimentální metody v anorganické technologii*. Pardubice: Univerzita Pardubice, **2002**. ISBN 80-7194-420-3.
- [7] WAGNER, M. *Thermal Analysis in Practise, Fundamental Aspect*. Munich: Hanser Publishers, **2018**. e-Book ISBN: 978-1-56990-644-6.
- [8] LICARDI, J.; J. a ENLOW, L. R. *Hybrid Microcircuit Technology Handbook, Materials, Processes, Design, Testing and Production*. 2nd edition. New Jersey: Noyes Publications, **1998**. ISBN: 0-8155-1423-9.
- [9] HÁJKOVÁ, Z.; BAUEROVÁ, P., FEJFAR, A. a ŠLOUF, M. Elektronový mikroskop klíč k odhalení tajemství mikro a nanosvěta. *Chemické listy*. **2018**, 112, 128-134.
- [10] HOŠEK, J. Přehled klasických a moderních mikroskopických metod. Dostupné z: <http://users.fs.cvut.cz/jan.hosek/clanky/Mikroskopie.pdf>
- [11] KUBÍNEK, R.; VŮJTEK, M. a HOLUBOVÁ, R. Mikroskopie atomárních sil. Dostupné z: <http://atmilab.upol.cz/texty/mfi.pdf>
- [12] SUN, Y.; ZHU, L.; WU, T.; CAI, T.; GUNN, E.; M. a YU, L. The AAPS Journal, **2012**, 14 (3), 380-388.
- [13] RIIKONEN, J.; XU, W. a LEHTO, V. P. *International Journal of Pharmaceutics*, **2018**, 536 (1), 178-186.
- [14] BARVE, Indrajeet J.; CHIU, Wei-Jung; LIN, Yan-Liang a SUN, Chung-Ming. Diastereospecific Synthesis of Tetrahydroisoquinolines via Radical Cyclization: Application in the Synthesis of ent-Tadalafil. *Advanced Synthesis and Catalysis*, **2021**, 363 (16), 4041-4046.

- [15] ALVANI, Amin; JOUYBAN, Abolghasem a SHAYANFAR, Ali. The effect of surfaktant and polymer on solution stability and solubility of tadalafil-methylparaben cocrystal. *Journal of Molecular Liquids*, **2019**, 281, 86-92.
- [16] TADALAFIL ACCORD. *SÚKL, státní ústav pro kontrolu léčiv* [online] Praha: SÚKL, ©2010. [cit. 2. 5. 2022]. Dostupné z:  
<https://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0242191&tab=texts>
- [17] CIALIS. *SÚKL, státní ústav pro kontrolu léčiv* [online] Praha: SÚKL, ©2010. [cit. 2. 5. 2022]. Dostupné z:  
<https://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0029255&tab=texts>
- [18] GIULIANO, F. a VARENESE, L. Tadalafil: a novel treatment for erectile dysfunction. *European Heart Journal Supplements*. **2002**, 4 (H), H24-H31.
- [19] FORGUE, S. T.; PATTERSON, B. E.; BEDDING, A. W.; PAYNE, C. D.; PHILLIPS, D. L.; WRISHKO, R. E. a MITCHELL, M. I. Tadalafil pharmacokinetics in healthy subjects. *British Journal of Clinical Pharmacology*. **2006**, 61 (3), 280-288.
- [20] ŠRÁMKOVÁ, Taťána. Erektální dysfunkce, její kardiovaskulární riziko a současné možnosti léčby. *Praktické lékařství*. **2012**, 8 (2), 66-69.
- [21] ZÁMEČNÍK, L. a DVORÁČEK, J.. Tadalafil-moderní možnost v léčbě erektilní dysfunkce. *Urologie pro praxi*. **2004**, 5, 206-209.
- [22] ŠVIHOVEC, Jan; BULTAS, Jan; ANZENBACHER, Pavel; CHLÁDEK, Jaroslav; PŘÍBORSKÝ, Jan; SLÍVA, Jiří a VOTAVA, Martin. *Farmakologie*. Praha: Grada Publishing, **2018**. ISBN: 978-80-247-5558-8
- [23] ABDEL-AZIZ, A., et al., Standard X-ray diffraction powder patterns, PDF card no. 03-065-0792.
- [24] WEI, Y.; LING, Y.; SU, M.; QIN, J.; GAO, Y. a QIAN, S. Characterization and Stability of Amorphous Tadalafil and Four Crystalline Polymorphs. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. **2018**, 66, 1114-1121.