

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2023

Lenka Bílková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Termická stabilita nimesulidu
Bakalářská práce

2023

Lenka Bílková

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Thermal stability of Nimesulide
Bachelor thesis

2023

Lenka Bílková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lenka Bílková**
Osobní číslo: **C19006**
Studijní program: **B0531A130012 Farmakochemie a medicínální materiály**
Téma práce: **Termická stabilita nimesulidu**
Téma práce anglicky: **Thermal stability of nimesulide**
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Zásady pro vypracování

1. Provedte literární rešerši na téma "termická stabilita léčiva nimesulid".
2. Pomocí termogravimetrie proveďte neizotermní měření rozkladu tohoto léčiva.
3. Získaná data popište pomocí vhodného matematického modelu.
4. Výsledky zpracujte formou závěrečné práce v souladu se Směrnicí UPCE č. 7/2019 "Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací" v platném znění.

Rozsah pracovní zprávy: **doporučený rozsah 35 stran**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:
veškerá dostupná odborná literatura

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Alena Komersová, Ph.D.**
Katedra fyzikální chemie
Konzultant bakalářské práce: **Ing. Roman Svoboda, Ph.D.**
Katedra fyzikální chemie
Datum zadání bakalářské práce: **28. února 2023**
Termín odevzdání bakalářské práce: **30. června 2023**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

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

V Pardubicích dne 28. února 2023

PROHLÁŠENÍ AUTORA

Prohlašuji:

Práci s názvem Termická stabilita nimesulidu 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 odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Lenka Bílková v. r.

PODĚKOVÁNÍ

Touto cestou bych ráda poděkovala paní doc. Ing. Aleně Komersové, PhD., za vedení mé bakalářské práce. Dále bych chtěla velmi poděkovat Ing. Romanu Svobodovi, PhD., za vřelou pomoc a ochotu při spolupráci v laboratoři. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině, která mě po celou dobu studia podporovala a motivovala.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá tepelnou stabilitou léčiva nimesulidu. Tepelná degradace nimesulidu byla studována v závislosti na různých rychlostech ohřevu pomocí kombinace termogravimetrie (TG) a diferenční termické analýzy (DTA). Při měření tepelného chování nimesulidu bylo použito devět rychlostí ohřevu. Hlavní cíl práce spočíval v popisu kinetiky tepelné degradace léčiva na základě TG křivek s důrazem na stanovení aktivační energie pro tento děj. Aktivační energie procesu degradace byla určena pomocí Kissingerovy metody a pomocí Ozawa-Flynn-Wallovovy metody. Celková kinetika tepelné degradace byla popsána na základě Šesták-Berggrenova modelu, na jehož základě jsme vypočítali kinetické predikce. Následně byly kinetické predikce rozkladu léčiva nimesulidu diskutovány s ohledem na praktické zpracování tohoto léčiva v teplotním rozmezí 150–250 °C.

KLÍČOVÁ SLOVA

termogravimetrie, termální analýza, degradace, nimesulid

ANNOTATION

This Bachelor thesis deals with the thermal stability of the pharmaceutical nimesulide. Nimesulide was studied as a function of different heating rates using thermogravimetry (TG) in combination with differential thermal analysis (DTA). Nine heating rates were used to measure the thermal behaviour of nimesulide. The main goal of this work was to describe the kinetics of thermal degradation of the pharmaceutical based on TG curves with emphasis on the determination of the activation energy for this process. The activation energy of the degradation process was determined using the Kissinger method and the Ozawa-Flynn-Wall method. The overall kinetics of thermal degradation was described based on the Sestak-Berggren model, based on which kinetic predictions were calculated. Subsequently, the kinetic predictions for the degradation of nimesulide were discussed with respect to the practical processing of this drug in the temperature range of 150–250 °C.

KEYWORDS

thermogravimetry, thermal analysis, degradation, nimesulide

OBSAH

| | |
|---|-----------|
| SEZNAM ILUSTRACÍ A OBRÁZKŮ | 11 |
| SEZNAM TABULEK | 13 |
| SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ | 14 |
| 1 ÚVOD | 16 |
| 2 TEORETICKÁ ČÁST | 17 |
| 2.1 Nimesulid..... | 17 |
| 2.1.1 Popis substance | 17 |
| 2.1.2 Mechanismus účinku..... | 18 |
| 2.1.3 Toxikologie | 19 |
| 2.1.4 Ekotoxikologie | 20 |
| 2.1.5 Použití a dávkování nimesulidu | 21 |
| 2.2 Termická analýza | 22 |
| 2.2.1 Termogravimetrie..... | 22 |
| 2.2.2 Diferenční termická analýza | 24 |
| 2.2.3 Diferenční skenovací kalorimetrie | 27 |
| 2.3 Kinetická analýza..... | 29 |
| 2.4 Ramanova spektroskopie | 32 |
| 2.5 Termokinetické chování nimesulidu | 35 |
| 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 37 |
| 3.1 Příprava vzorku | 37 |
| 3.2 Postup měření..... | 37 |
| 4 VÝSLEDKY | 40 |
| 4.1 Efekt rychlostí ohřevu q^+ | 41 |
| 4.2 Ramanova spektroskopie | 43 |
| 5 DISKUSE | 45 |
| 6 ZÁVĚR | 54 |
| 7 SEZNAM LITERATURY | 55 |

SEZNAM ILUSTRACÍ A OBRÁZKŮ

| | |
|---|----|
| Obrázek 1: Struktura nimesulidu..... | 16 |
| Obrázek 2: Tři základní uspořádání termogravimetrických experimentů..... | 22 |
| Obrázek 3: Termogravimetrická křivka pro nimesulid zaznamenaná v DTA grafu při teplotním programu 5 °C/min pod inertní atmosférou dusíku..... | 23 |
| Obrázek 4: Schématický obrázek DTA systému..... | 24 |
| Obrázek 5: Grafické znázornění DTA křivky nimesulidu při různých teplotních programech..... | 25 |
| Obrázek 6: Schématický náčrt DSC s tepelným tokem..... | 28 |
| Obrázek 7: Schématický náčrt DSC s kompenzací příkonu..... | 28 |
| Obrázek 8: Příklad DSC-křivky a určení charakteristických teplot..... | 29 |
| Obrázek 9: Ramanovo spektrum pro neznámý fluoreskující vzorek..... | 32 |
| Obrázek 10: Disperzní Ramanův spektrometr s CCD detektorem..... | 33 |
| Obrázek 11: Nedisperzní Ramanův spektrometr s Fourierovou transformací..... | 33 |
| Obrázek 12: Tepelná degradace nimesulidu..... | 36 |
| Obrázek 13: Plastová nádoba s práškovým nimesulidem..... | 37 |
| Obrázek 14: Vlevo – termogravimetrický analyzátor; vpravo nahoře – termostat vah; vpravo dole – vyhřívání zařízení bránící kondenzaci odváděných plynů..... | 38 |
| Obrázek 15: Analytické pětimístné váhy s otevřeným kelímkem..... | 39 |
| Obrázek 16: Vertikální uspořádání termovah uvnitř termogravimetrického analyzátoru..... | 39 |
| Obrázek 17: Termogravimetrická křivka a křivka diferenční termické analýzy pro léčivo nimesulid při rychlosti ohřevu 15 °C/min v prostředí plynného dusíku (50 ml/min)..... | 40 |
| Obrázek 18: Termogravimetrické křivky, které popisují závislost hmotnostního úbytku látky na teplotě..... | 41 |
| Obrázek 19: DTG křivky pro rychlost ohřevu 3 °C/min..... | 42 |
| Obrázek 20: Odstupňované DTG křivky pro rychlost ohřevu 3 °C/min..... | 43 |
| Obrázek 21: Ramanovo spektrum pro látku nimesulid..... | 44 |
| Obrázek 22: Závislost Kissingerovy metody..... | 45 |

| | |
|--|----|
| Obrázek 23: Závislost Ozawa-Flynn-Wallové metody..... | 47 |
| Obrázek 24: Odchylka aktivační energie při Ozawa-Flynn-Wallově metodě..... | 47 |
| Obrázek 25: Závislost kinetického parametru \log na rychlosti ohřevu q^+ | 48 |
| Obrázek 26: Závislost kinetického exponentu M na rychlosti ohřevu q^+ | 49 |
| Obrázek 27: Závislost kinetického exponentu N na rychlosti ohřevu q^+ | 49 |
| Obrázek 28: Kinetická predikce při 150 °C..... | 50 |
| Obrázek 29: Kinetická predikce při 200 °C..... | 51 |
| Obrázek 30: Kinetická predikce při 250 °C..... | 52 |

SEZNAM TABULEK

| | |
|--|----|
| Tabulka 1: Fyzikální a chemické vlastnosti nimesulidu..... | 17 |
| Tabulka 2: Vedlejší hepatotoxické účinky zaznamenané u vybraných nesteroidních antiflogistik v porovnání s ibuprofenem..... | 20 |
| Tabulka 3: Přehled metod termické analýzy, jejich zkratk a sledovaných fyzikálních vlastností..... | 21 |
| Tabulka 4: Příklady dějů, které jsou způsobeny endoeffekty a exoeffekty..... | 28 |
| Tabulka 5: Přehled symbolů a jejich popis pro rovnice 3–14..... | 31 |
| Tabulka 6: Rozdíly mezi disperzními a nedisperzními spektrometry..... | 34 |
| Tabulka 7: Porovnání spekter při Ramanově a IR spektroskopii..... | 34 |
| Tabulka 8: Softwarová teplotní maxima a vlastní teplotní maxima pro jednotlivé rychlosti ohřevu... | 45 |

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

| | |
|-----------------|---|
| A | před-exponenciální faktor |
| α | stupeň konverze |
| AC | autokatalytický Šesták-Berggrenův model |
| AOP | pokročilé oxidační procesy |
| β | rychlost ohřevu |
| CCD | charge-coupled deviced kamery |
| COX | cyklooxygenáza |
| CHMP | Výbor pro humánní léčivé přípravky |
| DSC | diferenční skenovací kalorimetrie |
| DTA | diferenční termická analýza |
| DTG | diferenční termogravimetrie |
| E_A | aktivační energie |
| EMA | Evropská léková agentura |
| ϕ | specifické teplo |
| $f(\alpha)$ | reakční model pro vyjádření cesty degradace |
| FT | Fourierova transformace |
| FWO | Ozawa-Flynn-Wallová metoda |
| $\Delta_{fus}H$ | entalpie tání |
| ΔH_c | celková entalpie krystalizačního procesu |
| Δm | změna hmotnostního úbytku látky |
| HPLC | vysokotlaká kapalinová chromatografie |
| JMA | nukleační růstový model (John-Mehl-Avrami) |
| K | konstanta úměrnosti |
| $k(T)$ | Arrheniova rychlostní konstanta |
| $\log A$ | logaritmická hodnota před-exponenciálního faktoru |
| M | exponent – kinetický parametr AC modelu |
| m | hmotnost vzorku v daném časovém okamžiku |
| m_0 | výchozí hmotnost látky |
| N | reakční řád – kinetický parametr AC modelu |
| n | exponent – kinetický parametr JMA modelu |
| NIM | nimesulid |

| | |
|---------------|--------------------------------|
| NSAID | nesteroidní antiflogistika |
| OFW | Ozawa-Flynn-Wallová metoda |
| pKa | disociační konstanta |
| q^+ | rychlost ohřevu |
| R | univerzální plynová konstanta |
| RS | Ramanova spektroskopie |
| SÚKL | Státní úřad pro kontrolu léčiv |
| T | teplota |
| t | čas |
| TA | termická analýza |
| TD | tepelná degradace |
| TG | termogravimetrie |
| T_m | teplota tání |
| T_{ONset} | teplota na počátku píku |
| T_{ENDset} | teplota na konci píku |
| TNF- α | tumor nekrotizující faktor |
| T_s | teplota vzorku |
| T_r | teplota reference |
| XRPD | rentgenová prášková difrakce |

1 ÚVOD

Nimesulid je léčivem druhé volby, který má širokospektré využití jako antiflogistikum, analgetikum a antipyretikum. Poprvé byl uveden na trh v roce 1985 a již řadu let se používá k léčbě akutní bolesti, horečky a revmatických onemocnění. V současné době se ovšem v některých zemích Evropské unie ustupuje od jeho užívání kvůli četným nežádoucím hepatotoxickým účinkům.

Studium tepelné degradace léčiv se v dnešní době neodmyslitelně řadí mezi základní části farmaceutického výzkumu. Informace o tepelné stabilitě léčiv a o hodnotách kritických teplot, při kterých dochází k jejich degradaci, jsou nedocenitelné pro farmaceutickou technologii. Konkrétně jsou tyto limity důležité pro zpracování léčiv nad jejich bodem tání (případně v jeho těsné blízkosti). Příkladem může být třeba extruze z taveniny, ať už samotného léčiva (za účelem získání jeho amorfní formy) nebo jako přípravy směsi v podobě tuhé disperze. Studium kinetiky degradace léčiva umožní na základě několika rychlých měření, provedených obvykle za pomoci neizotermních teplotních programů, odhadnout průběh jeho pomalé dlouhodobé tepelné degradace při výrazně nižších teplotách, kdy je experimentální měření nemožné nebo extrémně náročné. Pokud se na základě takové kinetické predikce ukáže, že při těchto teplotách (blízkých bodu tání) dochází k zanedbatelné degradaci, může pak být léčivo zpracováno bez obav z ovlivnění jeho funkcionality nebo tvorby potenciálně zdraví škodlivých produktů tepelného rozkladu.

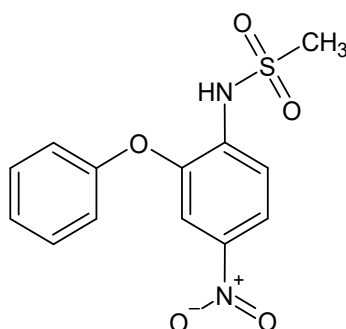
Tato bakalářská práce se zabývá tepelnou stabilitou léčiva nimesulidu, která byla zkoumána pomocí základní metody termické analýzy – termogravimetrie (TG). Díky termogravimetrickým křivkám lze popsat, jakou rychlostí a při jaké teplotě se bude léčivo termicky rozkládat nebo při jaké teplotě je léčivo naopak stabilní. Tato znalost termokinetických vlastností léčiva je zásadní pro správné zacházení během výroby a zpracování léčiva.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Nimesulid

2.1.1 Popis substance

Nimesulid (Obr. 1), systematickým názvoslovím 4-nitro-2-fenoxymethan-sulfonanilid, patří do skupiny léčiv, která se souhrnně nazývají nesteroidní antiflogistika (NSAID). Nimesulid (NIM) disponuje protizánětlivými, analgetickými a antipyretickými účinky. První zmínky o přípravě a protizánětlivých vlastnostech nimesulidu jsou datovány od poloviny 20. století. Přesto byl uveden poprvé na trh až v roce 1985 v Itálii. [1-7]



Obrázek 1: Struktura nimesulidu.

Nimesulid je žlutá krystalická látka, která se řadí mezi polymorfní léčiva. To znamená, že je pro toto léčivo známo několik polymorfů. Krystalické polymorfy mají shodné chemické složení, ale liší se uspořádáním své krystalové křížky, a tedy i svými fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Polymorfismus byl u NIM prokázán na základě jeho rozpouštění v řadě organických rozpouštědel, odkud byly identifikovány dvě polymorfní formy. Forma I, také nativní forma, se běžně využívá ve farmaceutickém průmyslu. Forma II vykazuje nižší teplotu tání, a jelikož je nestabilní, ve farmacii se prakticky nevyužívá. [1, 2, 5, 8-10]

Základní fyzikální a chemické vlastnosti NIM jsou uvedeny v následující Tabulce 1.

Tabulka 1: Chemické a fyzikální vlastnosti nimesulidu.

| | |
|--|--|
| Molekulový vzorec: | $C_{13}H_{12}N_2O_5S$ ^[1, 2] |
| Hustota (g/cm ³): | 1,533 ^[8] |
| Relativní molekulová hmotnost (g/mol): | 308,31 ^[2] |
| Rozpustnost: | rozpustný v acetonu a chloroformu; omezeně rozpustný v ethanolu a dimethylsulfoxidu; špatně rozpustný ve vodě ^[2, 6] |
| Teplota tání (°C): | 143–144,5 ^[1] |
| Hodnota disociační konstanty pKa: | 6,5 ^[9] |
| Metabolismus: | jaterní |

Z Tabulky 1 je zřejmé, že nimesulid patří mezi látky, které jsou špatně rozpustné ve vodě. Velmi nízká rozpustnost léčiva způsobuje problémy ve farmaceutickém vývoji nejen při vývoji orálních a parenterálních forem, ale i z hlediska velmi nízké biologické dostupnosti. Navíc je rychlost rozpouštění léčiva ovlivněná i již zmíněným polymorfismem a velikostí krystalů. Nízká biologická dostupnost léčiva značí z ekonomického hlediska problém kvůli vyšším výrobním nákladům. Velká část léčiva totiž zůstává biologicky nedostupná, tudíž je při výrobě zapotřebí použít větší množství léčivé látky. ^[6, 9, 10]

2.1.2 Mechanismus účinku

Farmakologická aktivita nimesulidu se projevuje prostřednictvím různých mechanismů, např. uvolňuje tumor nekrotizující faktor (TNF- α) nebo inhibuje fosfodiesterázu typu IV. Hlavní mechanismus účinku však spočívá v blokádě enzymu cyklooxygenázy. Cyklooxygenáza (COX) je důležitý enzym, který zajišťuje přeměnu kyseliny arachidonové na prostaglandiny a jiné eikosanoidy. COX se vyskytuje ve dvou různých formách – COX-1 a COX-2. ^[1, 2, 5, 6, 12]

COX-1 se tvoří ve většině tkání, zejména v krevních destičkách, buňkách žaludeční sliznice a ledvinách. Tato forma zodpovídá za produkci eikosanoidů, které jsou důležitými mediátory bolesti a zánětu a mimo jiné vedou ke zvýšenému vnímání bolesti pomocí nociceptorů a horečky. Naopak COX-2 je indukovatelná forma, která se tvoří během zánětlivých procesů v buňkách endotelu a makrofázích. Nimesulid dokáže působit na obě COX formy, ale jeho afinita vůči COX-2 je dominantnější. ^[1, 2, 5, 6, 12]

Nimesulid se řadí mezi lipofilní léčiva, která skvěle prostupují přes buněčnou membránu a následně vstupují do mitochondrií. Tam negativně působí na mnohé buněčné procesy, např. na buněčné dýchání nebo β -oxidaci mastných kyselin. Mimoto dokáže potlačovat klíčové enzymy např. pro biosyntézu estrogenu v buňkách rakoviny prsu prostřednictvím mitochondrií, a urychlovat apoptózu buněk. [4, 13]

2.1.3 Toxikologie

Nimesulid je obecně dobře snášeným léčivem, přesto se mohou vyskytovat vedlejší účinky při jeho užívání. Mezi časté vedlejší účinky se řadí bolest hlavy, ospalost, gastrointestinální potíže a nevolnost. Dále může způsobovat hypersenzitivní reakce organismu. [14]

Francouzskými vědci byly v roce 1997 prokázány negativní účinky nimesulidu na žaludeční sliznici, kterou poškozují za vysokých koncentrací. V porovnání s jinými neselektivními antiflogistiky, jako je např. ibuprofen nebo diklofenak, je nejbezpečnější z hlediska gastrointestinálního systému, ovšem při krátkodobém užívání. Obava z jeho hepatotoxicity je ale v posledních dvaceti letech vysoká. Hepatotoxicita se nejčastěji projevuje příznaky akutní hepatitidy, odumřením jaterních buněk a může vést až k selhání jater. [1–6, 15]

V roce 2002 bylo v Evropě zahájeno hodnocení bezpečnosti nimesulidu ze stran hepatotoxicity. Ve Finsku a Španělsku se tehdy objevily první případy rozsáhlého jaterního poškození u pacientů, kteří užívali nimesulid zejména k léčbě osteoporózy. Na základě těchto událostí bylo jeho užívání ve jmenovaných zemích zcela zakázáno. [3–5, 16]

Dle studií Evropské lékové agentury (EMA) bylo prokázáno, že podíl jaterních nežádoucích účinků ve vztahu k celkovému počtu hlášených nežádoucích účinků byl v porovnání s jinými NSAID nejvyšší u nimesulidu (viz Tabulka 2). V roce 2002 bylo ze 597 zaznamenaných případů toxicity 42 případů (tj. 7 %) jaterních. Za předpokladu, že celkový počet případů toxicity odrážel relativní frekvenci předepisování, byla u nimesulidu 6,4krát vyšší pravděpodobnost vzniku hepatotoxicity v porovnání s ibuprofenem a 2krát vyšší než u diklofenaku. I přesto poměr přínosů a rizik léčby touto látkou byl příznivý a frekvence závažných hepatálních nežádoucích účinků byla dle výsledků studií nízká. [15, 16]

Tabulka 2: Vedlejší hepatotoxické účinky zaznamenané u vybraných nesteroidních antiflogistik v porovnání s ibuprofenem.

| Nesteroidní antiflogistika | Počet případů s vedlejšími účinky: | | Porovnání s ibuprofenem |
|-------------------------------|------------------------------------|--------|----------------------------|
| | hepatotoxickými | jinými | |
| nimesulid | 42 | 555 | 6,4 |
| diklofenak | 1 152 | 31 394 | 3,1 |
| ibuprofen | 295 | 25 111 | 1,0 |

V roce 2002 byly přezkoumány účinky nimesulidu i v České republice Státním ústavem pro kontrolu léčiv (SÚKL). Na základě jejich výsledků byl nimesulid zařazen mezi léčiva, která musí podstupovat přísnou kontrolu z hlediska bezpečnosti. [3–5]

O pět let později otevřela EMA spolu s Výborem pro humánní léčivé přípravky (CHMP) opět téma hepatotoxicity u nimesulidu na základě dalších případů hepatotoxického účinku. Po podrobném přezkoumání vydaly tyto organizace vyjádření, že poměr přínosů a rizik přípravků s nimesulidem zůstává i nadále příznivý, ale je nutné omezit jeho užívání, aby se snížilo riziko vzniku jaterního poškození. Doba užívání byla stanovena na maximálně 15 dní. EMA se navíc rozhodla odebrat nimesulidu indikaci k léčbě osteoporózy. [3–5, 16]

Jakým způsobem nimesulid vyvolává jaterní onemocnění, není stále známo. Jedna varianta je založena na průběhu idiosynkratické reakce v průběhu metabolismu léčiva na meziprodukt, který se nazývá 4-hydroxynimesulid. Druhá varianta pracuje s možností, že na základě poškození jaterních buněk je narušena i biotransformace xenobiotik, která je zprostředkována pomocí cytochromu P450. Právě nahromaděné množství cizorodých látek může negativně působit na játra. [6, 14, 15]

Při léčbě nimesulidem je kontraindikováno současné užívání jiných potenciálně hepatotoxických látek. Dále nesmí být podán lidem s poruchou funkce jater a lidem závislým na alkoholu či drogách. [16]

2.1.4 Ekotoxikologie

Nimesulid vykazuje řadu negativních účinků i na životní prostředí. Dokáže se akumulovat v přírodě, a jakožto škodlivá znečišťující látka se často objevuje v odpadních vodách, ale i jiných vodních zdrojích. Tento aspekt je potenciální hrozbou pro vodní a suchozemské organismy. [17]

Obecně se přítomnost NIM nejčastěji zjišťuje za pomoci kapalinové chromatografie, spektrofotometrie, kapilární zónové elektroforézy a elektrochemických metod. Z hlediska ekologie poskytují elektrochemické metody nejlepší výsledky pro detekci klinických vzorků v přírodě. [7, 17]

Nesteroidní antiflogistika se z odpadních vod odstraňují velmi obtížně, navíc nelze dosáhnout jejich úplného odstranění. V posledních desetiletích se ale vědcům podařilo rychle vyvinout techniku fotokatalytické degradace, která je mimořádně účinná při čištění kontaminované vody. Tato technika je spíše známa pod názvem *Pokročilé oxidační procesy* (AOP). Fotokatalytické reakce pracují na principu rozrušení chemické struktury organických látek prostřednictvím reaktivních látek, jako jsou např. peroxid vodíku, hydroxylový radikál nebo superoxidový radikál. Velká výhoda AOP spočívá v totální degradaci NSAID. AOP tak nachází využití nejen v analytické chemii, ale lze za jejich pomoci rozkládat širokou škálu farmaceutických odpadních látek. ^[17]

2.1.5 Použití a dávkování nimesulidu

Nimesulid bývá předepisován jako léčivo druhé volby. Lze ho podávat systémově nebo lokálně. Systémově ho mohou užívat osoby starší 12 let a děti ve věku od 6 do 12 let ke krátkodobé léčbě při zánětech, horečce a akutní bolesti. Dále ho lze užívat k léčbě revmatických onemocnění nebo k léčbě primární dysmenorrhoe. Lék je podáván v dávce 2x denně 100 mg. U dětí je tato dávka poloviční, tzn. 2x denně 50 mg. V případě systémového podání ho lze užívat perorálně, ve formě tablet nebo granulí, anebo rektálně ve formě čípků. Co se týče lokální aplikace, je možné ho využít ve formě gelu při poranění měkkých tkání, např. při vymknutí či naražení. ^[1, 2, 5, 12, 16, 18]

Přípravky s obsahem nimesulidu se na českém trhu vyskytují pod názvy Aulin, Mesulid, Coxtral a Nimesil. Na evropském trhu se můžeme setkat s názvy Nexen či Guaxan. V Americe jsou všechna léčiva s obsahem nimesulidu nedostupná. ^[1, 14, 16]

2.2 Termická analýza

Termická analýza (TA) je charakterizována jako skupina technik, při kterých je měřena změna fyzikálních vlastností látky v závislosti na teplotě. Při izotermických dějích se fyzikální vlastnosti zaznamenávají jako funkce času. Termické analýzy jsou středně rychlé, ale destruktivní metody. Značná výhoda TA spočívá v malé spotřebě vzorku při analytickém měření. [19, 20]

Metody, které se využívají v TA, jsou rozděleny dle předmětu jejich měření a jsou uvedeny níže v Tabulce 3.

Tabulka 3: Přehled metod termické analýzy, jejich zkratk a sledovaných fyzikálních vlastností. [19, 20]

| Metody termické analýzy | Zkratka techniky | Sledovaná fyzikální vlastnost |
|-----------------------------------|------------------|-------------------------------|
| Termogravimetrie | TG | hmotnost |
| Diferenční termická analýza | DTA | teplotní rozdíl |
| Diferenční skenovací kalorimetrie | DSC | rychlost tepelného toku |
| Termodilatometrie | TD | objem, délka |
| Termomechanická analýza | TMA | deformace vzorku |
| Emanační termická analýza | ETA | uvolněné sytící plyny |
| Diferenční tlaková analýza | DPA | tlak |
| Analýza uvolněných plynů | EGA | plynné produkty |
| Termomikroskopie | HSM | změny vzhledu |

Ve farmaceutickém výzkumu se dbá na vysokou čistotu látek a výsledných produktů. Jednotlivé šarže i meziprodukty jsou přísně kontrolovány a hodnotí se pomocí TA, pomocí které lze odhalit nežádoucí fyzikálně-chemické změny. Účinné látky mohou být negativně ovlivněny vlhkostí, jejich vlastní nestabilitou nebo nevhodným skladováním. Pro hodnocení kvality těchto látek se nejvíce využívají termogravimetrie (TG), diferenční termická analýza (DTA) a diferenční skenovací kalorimetrie (DSC). [7, 20]

2.2.1 Termogravimetrie

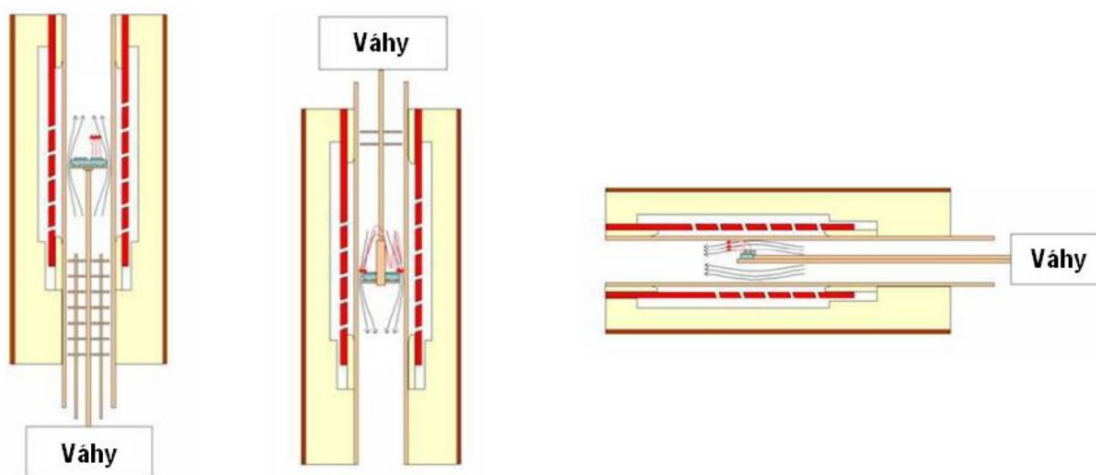
Termogravimetrie (TG) je základní metoda termické analýzy, která se zabývá sledováním úbytků hmotnosti vzorku způsobených vlivem teploty. Díky TG lze komplexně prostudovat konkrétní léčivo a stanovit jeho kompatibilitu v jedné formě nebo v přítomnosti dalších excipientů. Tato metoda se začala hojně využívat na počátku 20. století po objevu termovah firmou Honda. [7, 20–22]

Aparatura pro termogravimetrické měření se skládá z elektrické pece, termováhy, nosičů vzorků, zařízení pro měření a registračního zařízení, kterým je počítač. Termováhy jsou opatřeny vážicím

mechanismem a regulátorem teploty. Jejich citlivost se udává v řádu od jednoho mikrogramu do stovek miligramů. [19–21, 23]

Jako nosiče vzorků se nejčastěji volí kovové nebo keramické nádoby, do kterých jsou vzorky rovnoměrně nanášeny. Nosiče jsou následně umístěny na váhy a jsou uspořádány jedním způsobem ze tří uvedených: [20, 21, 23]

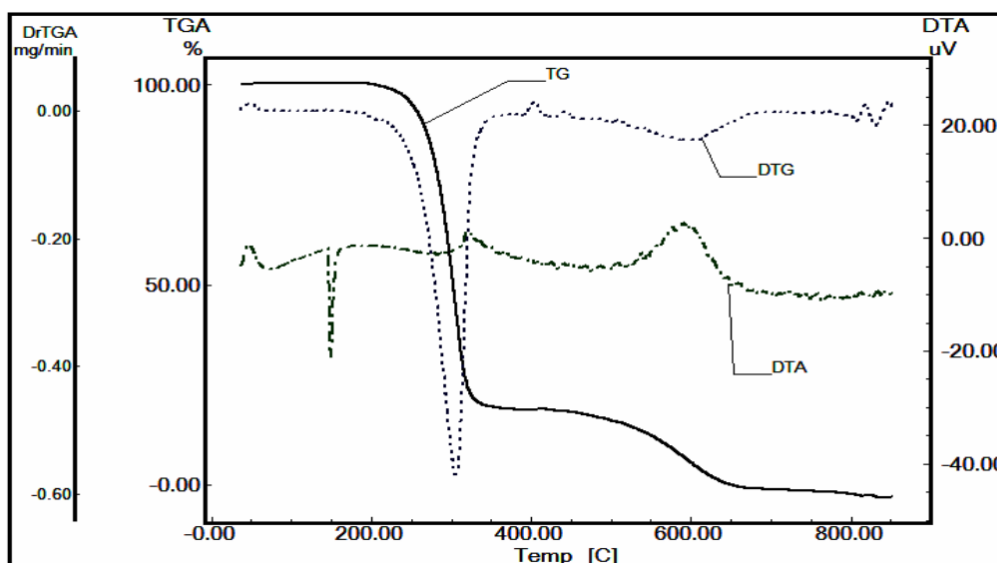
- a) vertikálně se vzorkem položeným na termováhách
- b) vertikálně se zavěšeným vzorkem na termováhách
- c) horizontálně



Obrázek 2: Tři základní uspořádání termogravimetrických experimentů, převzato z: [21]

Všechna uvedená uspořádání (Obr. 2) pracují na kompenzačním principu. To znamená, že vzorek se v peci po celou dobu měření nachází na stejném místě a jeho ohřev probíhá podle nastaveného teplotního programu. Pokud dojde ke změně hmotnosti měřeného vzorku, termováhy zaznamenají a následně ihned vykompenzují jeho polohu pohybem do protisměru, aby se opět nacházel na pozici před hmotnostní změnou. [20, 21]

Obecně lze měření provádět dynamickým (neizotermním) nebo statickým (izotermním) způsobem. Při dynamickém způsobu narůstá teplota kontinuálně, kdežto u statického způsobu se teplota nemění. Výsledek měření popisuje termogravimetrická křivka (Obr. 3), jejíž tvar je ovlivňován rychlostí ohřevu vzorku a typem nosiče. [20]



Obrázek 3: Termogravimetrická křivka pro nimesulid zaznamenaná v DTA grafu při teplotním programu 5 °C/min pod inertní atmosférou dusíku, převzato z: [7]

Derivační termogravimetrie

Derivační termogravimetrie (DTG) je pomocná metoda termogravimetrie (prakticky většinou založená na softwarovém zpracování klasických termogravimetrických dat). Tato metoda sleduje rychlost změn hmotnosti vzorku v závislosti na teplotě. DTG křivka následně vzniká grafickou či numerickou derivací TG křivky. Díky derivaci TG křivky lze nejspíše určit teplotní intervaly sledovaných procesů, mezi které se např. řadí: [24, 25]

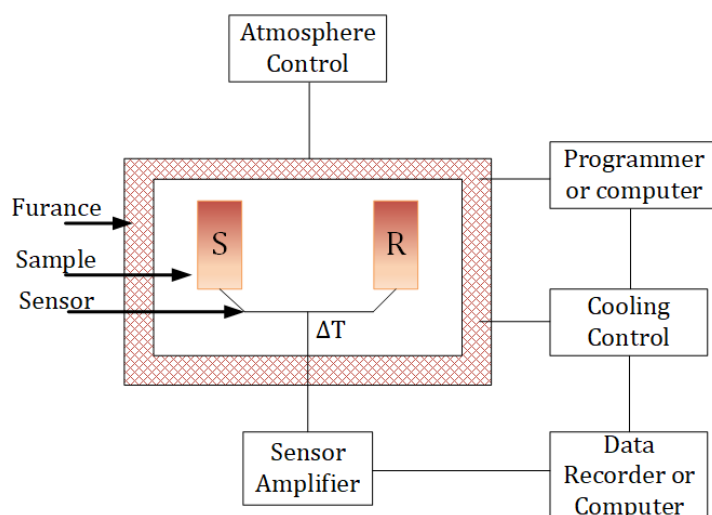
- tepelný rozklad
- odpařování
- oxidace
- spalování
- sublimace
- dehydratace
- desolvatace

2.2.2 Diferenční termická analýza

Diferenční termická analýza (DTA) patří mezi nejstarší termické metody. Díky objevu termoelektrického článku, který uskutečnil T. J. Seebeck roku 1821, a zavedení diferenčního termoelektrického článku, o který se zasloužil W. C. Roberts-Austen roku 1891, se tato metoda stala populární. [24, 25]

DTA je dynamická analytická metoda, při které se sledují teplotní efekty zkoumaného vzorku, které souvisí s jeho fyzikálně-chemickými změnami. Pomocí této metody lze měřit teplotní rozdíl mezi zkoumaným a referenčním vzorkem. Referenční látka neboli standard musí vykazovat při zvolených podmínkách svou inertnost. Nejčastěji se využívá oxid hlinitý pro anorganické materiály a silikonový olej pro vzorky organického charakteru. [19–21]

Základ systému DTA tvoří pec, teplotní programátor, držáky a nosiče vzorků a záznamový systém, nejčastěji ve formě počítače (Obr. 4). Držák vzorku je tvořen termočlánkem, na který je umístěn nosič. Jako nosiče vzorků se využívají kovové misky zhotovené z platiny či mědi, anebo keramické kelímky. Nádoby pojmu navážku vzorku od 5 do 200 mg. Teplotní rozmezí pro laboratorní měření se obvykle pohybuje od laboratorní teploty do 1500 °C. Měření je ovlivněno rychlostí ohřevu, hmotností vzorku a tlakem v peci. [19, 20, 23, 24]



Obrázek 4: Schématický obrázek DTA systému, převzato z: [25]

Grafický záznam diferenční termické analýzy je popsán pomocí DTA křivky (Obr. 5), která znázorňuje závislost rozdílu teplot mezi vzorky na teplotě systému, příp. na čase. Na křivce rozlišujeme dvě oblasti – oblast nulových hodnot a píky. Oblast nulových hodnot je oblast, ve které nedochází k žádnému termickému ději, tedy teplotní rozdíl ΔT zůstává konstantní (ideálně nulový). [19, 21, 24]

Pokud nastane endotermický proces, mezi které se řadí např. tání, teplota vzorku T_s začne zaostávat za teplotou reference T_r . Tento děj lze vyjádřit rovnicí 1.

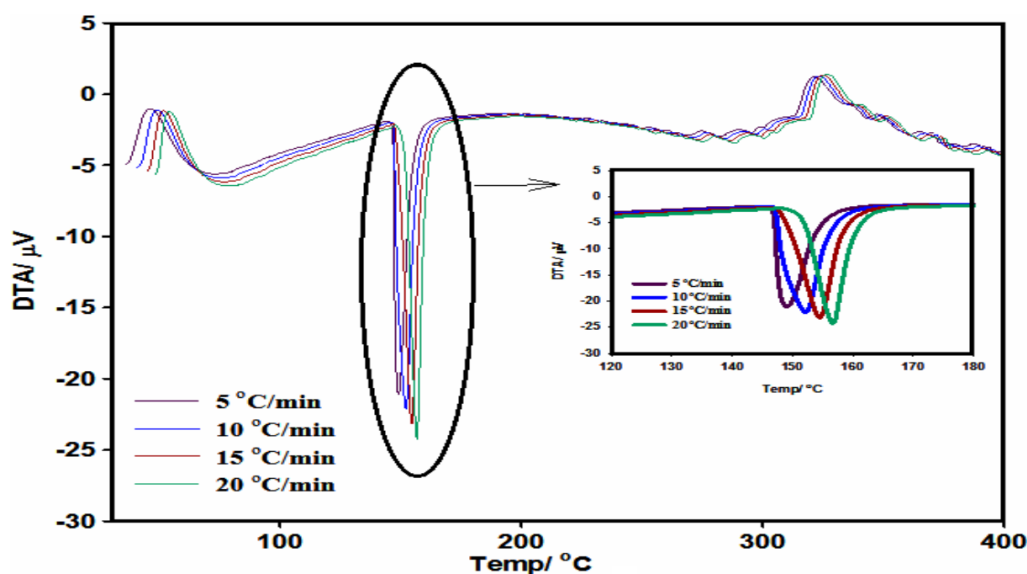
$$\Delta T = T_s - T_r \quad (1)$$

Teplotní rozdíl se stává negativní, tudíž dochází k tvorbě negativního píku (směřujícího do záporných hodnot) na DTA křivce. Naopak při exotermických procesech dochází ke vzniku píku v opačném

směru. Plocha píku souvisí se dvěma veličinami, s tepelnou změnou ΔQ neboli specifickou entalpií ΔH a s hmotností vzorku. Tento vztah je popsán rovnicí 2. [19, 21, 24]

$$\Delta H \cdot m = K \int \Delta T \cdot dt \quad (2)$$

kde m je hmotnost vzorku, ΔH je entalpie reakce a K je konstanta úměrnosti, která vždy závisí na teplotě vzorku i nádoby. [19]



Obrázek 5: Grafické znázornění DTA křivky nimesulidu při různých teplotních programech, převzato z: [7]

Energetické změny, ke kterým dochází při změně teploty vzorku, lze měřit pomocí různých metod. Ty se od sebe vzájemně liší způsobem, jakým zaznamenávají teplotu vzorku. Nejčastěji používané metody jsou [24]:

a) Přímý záznam křivky ohřevu a ochlazování

Tento záznam spočívá v přímém měření teploty vzorku, který je plynule ohříván nebo ochlazován při lineárním teplotním programu. Teplota je funkcí času $T = f(t)$ a udává přímý tvar křivky, pokud sledovaný vzorek nepodléhá žádné změně. V momentě, kdy dojde k procesu provázanému s exotermním nebo endotermním efektem, se tvar křivky změní.

b) Záznam inverzní křivky rychlosti

Tento záznam spočívá v hodnocení času, který je potřeba pro růst či pokles teploty vzorku o určitý stálý přírůstek teploty. Může se např. jednat o 1 K. Křivka je následně dána vztahem $dt/dT = f(T,t)$.

c) Záznam diferenčně termické křivky

Tento záznam slouží k plynulému zaznamenání rozdílu teplot zkoumaného a referenčního vzorku. Při experimentálním postupu dochází k současnému ohřívání či ochlazování obou vzorků při současném zaznamenávání teplotního rozdílu mezi vzorky a okolní teploty systému.

Metoda DTA vykazuje mnoho výhod. Mezi nejzásadnější patří jednoduchost provedení a umožnění simultánního záznamu veškerých změn hmotnosti vzorku. Dále je DTA díky své podstatě měření vhodná pro materiály, které se intenzivně rozkládají (např. elastomery), anebo se jedná o látky těkavé. Také je pomocí DTA usnadněna interpretace výsledků pomocí rentgenové difrakce, chemické analýzy nebo mikroskopie. [26]

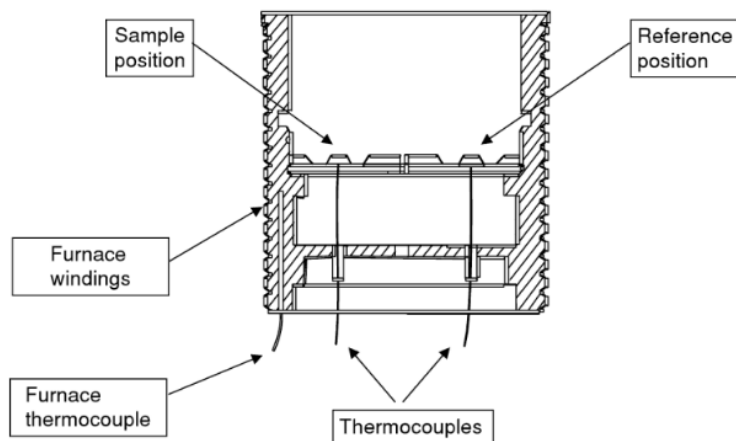
2.2.3 Diferenční skenovací kalorimetrie

Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC) byla vyvinuta z DTA na začátku šedesátých let minulého století. Pomocí DSC lze zaznamenávat změny teplot a energie, ke kterým dochází při zahřátí či ochlazení. Díky změnám energie je možné charakterizovat materiál např. pro proces tavení či měření skelných přechodů. [20, 27, 28]

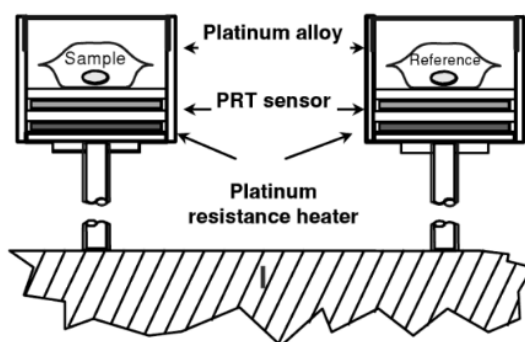
Rozlišujeme dva typy DSC metod – s tepelným tokem a s kompenzací příkonu (Obr. 6, 7). [20, 27, 28]

Základem konstrukce pro DSC s tepelným tokem je kalorimetrická cela, ve které jsou umístěny studovaný a referenční vzorek na samostatných teplotních čidlech. Dohromady jsou propojeny pomocí tepelného mostu. Při měření je zaznamenáván rozdíl teplot mezi vzorky pomocí měření rozdílu termoelektrických napětí článků. Tato napětí se dále převádí na tepelný tok na základě kalibrace přístroje. [20, 21, 27]

Naopak přístroj s kompenzací příkonu tvoří dvě samostatné kalorimetrické cely. Jedna cela slouží pro studovaný vzorek, druhá cela pro referenční vzorek. Toto uspořádání umožňuje citlivě a velmi rychle měnit teploty při analýze, proto je vhodné zejména pro izotermní děje. [20, 21, 27]



Obrázek 6: Schématický náčrt DSC s tepelným tokem, převzato z: [28]



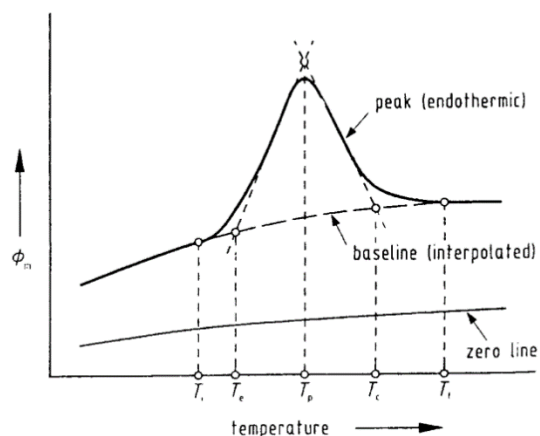
Obrázek 7: Schématický náčrt DSC s kompenzací příkonu, převzato z: [28]

Výsledek diferenční skenovací kalorimetrie popisuje DSC křivka (Obr. 8). Proti sobě jsou vynášeny tepelný tok (v jednotkách $mW \approx mJ/s$) a teplota, případně čas. Za typické teploty jednotlivých dějů, které jsou na křivce provázeny exo nebo endoeфекty (Tabulka 4), jsou považovány extrapolované počátky jednotlivých píků. [21]

Tabulka 4: Příklady dějů, které jsou svázány s endoeфекty a exoeфекty.

| Endoeфекty | Exoeфекty |
|------------------|--------------|
| desolvatace | oxidace |
| termický rozklad | krystalizace |
| tání | spalování |

Hlavní výhoda DSC spočívá v dávkování malého množství vzorku a v jeho snadné přípravě. Díky tomu lze rychle a hladce provést analýzu pomocí této metody. [21]



Obrázek 8: DSC křivka a určení charakteristických teplot, převzato z: [21]

2.3 Kinetická analýza

Popis kinetiky pevnofázových chemických reakcí a fázových přeměn je obvykle založena na sérii rovnic využívajících veličiny a symboly souhrnně uvedené v Tabulce 5. Základní trojice rovnic platných pro DTA a DSC data ^[29] je uvedena zde:

- rychlost kinetického procesu da/dt je úměrná specifickému teplu, které je normalizováno na hmotnost vzorku (v jednotkách W/g), viz rovnice 3

$$\frac{d\alpha}{dt} = \frac{\phi}{\Delta H_c} \quad (3)$$

kde ΔH_c odpovídá celkové krystalizační entalpii charakterizované pro celkovou plochu píku.

- rychlost kinetického procesu je možné vyjádřit jako součin konstanty $k(T)$ a α závislé funkce $f(\alpha)$, viz rovnice 5

$$\left(\frac{d\alpha}{dt}\right) = k(T) \cdot f(\alpha) \quad (4)$$

- Arrheniova konstanta vyjádřena dle rovnice 6

$$k(T) = A \cdot \exp\left(\frac{-E_A}{R \cdot T}\right) \quad (5)$$

kde před-exponenciální faktor a aktivační energie nezávisí na teplotě a stupni konverze.

V případě termogravimetrických dat je rovnice 3 nahrazena následujícím výrazem:

$$\frac{d\alpha}{dt} = \frac{1}{m_0} \cdot \frac{dm}{dt} \quad (6)$$

kde dm/dt označuje rychlost úbytku/nárůstu hmotnosti a m_0 je počáteční hmotnost vzorku. Co se týče vhodných kinetických funkcí $f(\alpha)$, pevnofázová kinetika často používá fyzikálně smysluplný nukleačně-růstový Johnson-Mehl-Avramiho model (JMA)^[30] (rovnice 7) a empirický autokatalytický Šesták-Berggrenův model (AC)^[29] (rovnice 8):

$$f(\alpha) = n(1 - \alpha) \cdot [-\ln(1 - \alpha)]^{1-1/n} \quad (7)$$

$$f(\alpha) = \alpha^M \cdot (1 - \alpha)^N \quad (8)$$

kde n , M a N jsou kinetické exponenty daných kinetických modelů. Za zmínění stojí, že fyzikálně-chemický základ JMA modelu je vyvážen jeho rigiditou, což v praxi znamená, že lze tento model použít jen pro velmi omezené množství případů pevnofázových procesů. Na druhé straně stojí AC model, který postrádá ověřený fyzikální základ, ale je velmi flexibilní a dokáže popsat naprostou většinu termo-kinetických dat.

Pro neizotermní data je ještě důležitým vztahem rovnice, která vyjadřuje určení stupně přeměny z teplotně závislých dat:

$$\alpha = \frac{1}{\Delta H_c \cdot \beta} \int_{T_0}^T \phi dT \quad (9)$$

kde T_0 odpovídá začátku aproximace základní linie $\phi T_0 = 0$.

Tabulka 5: Přehled symbolů a jejich popis pro rovnice 3–12.

| Symbol | Slovní popis |
|-------------------|---|
| t : | čas |
| ϕ : | tepelný tok |
| $k(T)$: | Arrheniova rychlostní konstanta |
| $f(\alpha)$: | reakční model pro vyjádření cesty degradace |
| α : | stupeň konverze |
| A : | před-exponenciální faktor |
| β : | rychlost ohřevu |
| E_A : | aktivační energie |
| R : | univerzální plynová konstanta (8, 31447 JK ⁻¹ mol ⁻¹) |
| T : | teplota (v jednotkách K) |
| n, M, N, B, C : | konstanty |

Podstatou kinetické analýzy je vyčíslení rovnic 3–9. Tím nejzásadnějším parametrem je zde aktivační energie E_A . Pro určení této veličiny bylo odvozeno mnoho metod, mezi tři nejznámější patří Kissingerova^[31] (rovnice 10), Friedmanova^[32] (rovnice 11) a Ozawa-Flynn-Wallová (OFW)^[33] (rovnice 12) metoda:

$$\ln\left(\frac{\beta}{T_p^2}\right) = -\frac{E_A}{R \cdot T_p} + C \quad (10)$$

$$\ln\left(\beta \frac{d\alpha}{dT}\right) = \ln[A \cdot f(\alpha)] - \frac{E_A}{R \cdot T} \quad (11)$$

$$\ln \beta = -1,052 \cdot \frac{E_A}{R \cdot T_\alpha} + C \quad (12)$$

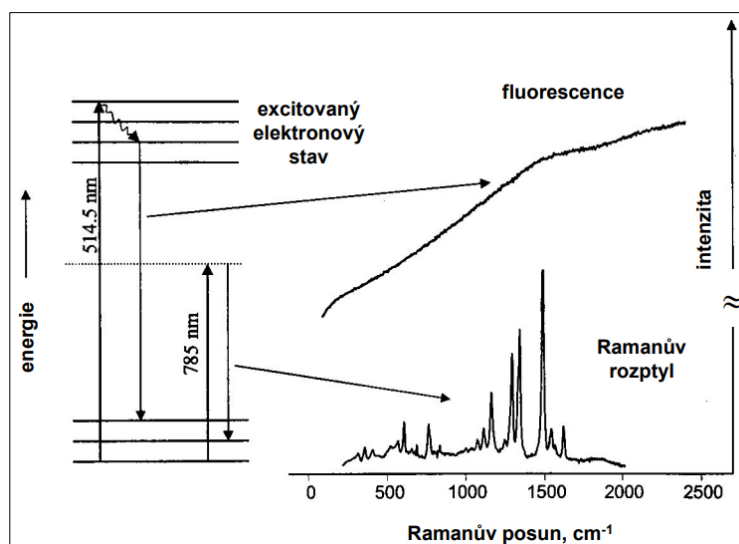
Zatímco Kissingerova metoda patří mezi metody pracující pouze s teplotou odpovídající maximu kinetického píku (maximu rychlosti stupně přeměny), druhé dvě metody se řadí mezi tzv. izokonverzní metody, které poskytují závislost aktivační energie E_A na stupni konverze α .

2.4 Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie (RS) je rozptylová, nedestruktivní technika, která slouží k analýze vibračního a rotačního chování molekul materiálů. RS je založena na Ramanově rozptylu, který je definován jako frekvence malého zlomku rozptýleného záření, která je odlišná od frekvence dopadajícího monochromatického záření. RS může být použita pro kvalitativní i kvantitativní analýzu. Pomocí zaznamenávání frekvence rozptýleného záření lze provést kvalitativní analýzu. V případě kvantitativní analýzy se měří intenzita rozptýleného záření. [22, 34–38]

Ramanova spektroskopie nese název po svém vynálezci C. V. Ramanovi, který za pomoci K. S. Krishnana publikoval v roce 1928 první článek o této technice. O dva roky později Raman obdržel za svůj objev Nobelovu cenu. Svůj objev tehdy uskutečnil pomocí filtrovaného slunečního záření jako zdroje fotonů, barevného filtru jako monochromátoru a lidského oka jako detektoru. Po vynálezu laseru se tato technika zdokonalovala a stala se široce užívanou v mnoha odvětvích. [35, 38]

Princip RS spočívá v osvětlení vzorku pomocí laserového paprsku. Pomocí čočky dochází ke sběru rozptýleného světla z osvětleného bodu. Světlo následně prochází přes monochromátor, a nakonec se analyzuje pomocí detektoru např. fotonásobičem či CCD (charge-coupled device) kamerou. Toto rozptýlené světlo je základem Ramanových spekter. Ramanova spektra (Obr. 9) se tvoří v důsledku nepružné srážky mezi dopadajícím zářením a molekulami vzorku a odráží tak jeho molekulovou strukturu. [22, 35, 36, 38]

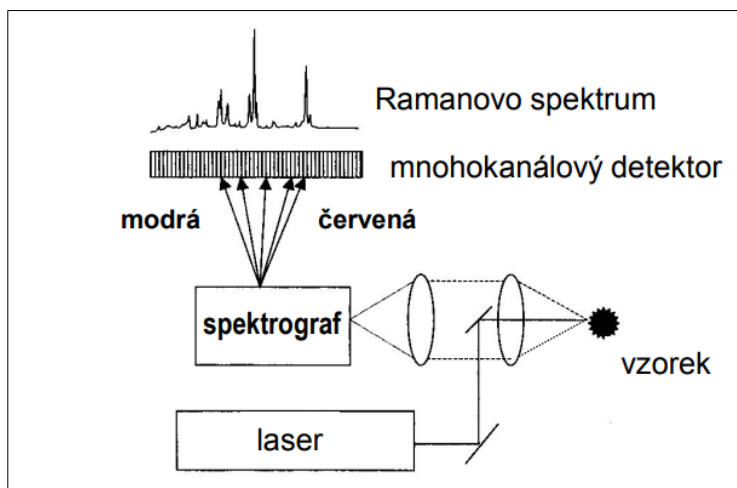


Obrázek 9: Ramanovo spektrum pro neznámý fluoreskující vzorek, převzato z: [41]

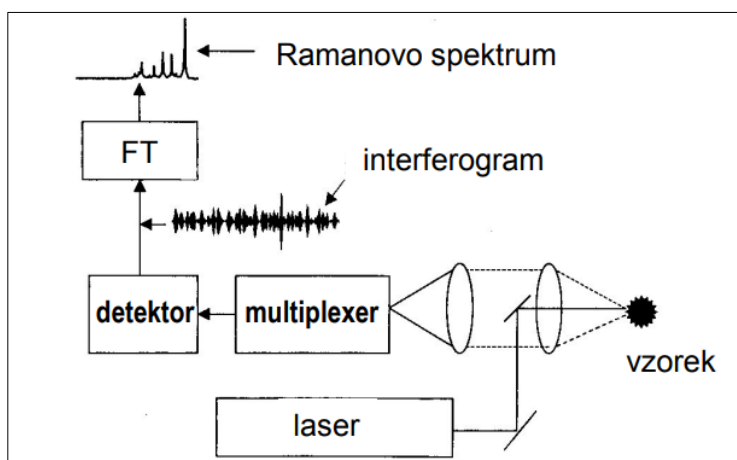
Fotony rozptýleného světla mohou být vyzářeny dvojím způsobem – elasticky a neelasticky. V případě elastické emitace nabývá rozptýlený foton stejnou frekvenci jako vlastní dopadající foton.

Tomuto jevu se přezdívá Rayleighův rozptyl. Pokud ale rozptýlený foton má odlišnou frekvenci než foton dopadající, vykazuje neelastickou emisi a tento proces se nazývá Ramanův rozptyl. [22, 35–39]

RS se provádí pomocí spektrometrů, které mohou být dvojího typu – disperzní a nedisperzní. Disperzní spektrometr (Obr. 10) využívá hranol nebo holografické difrakční mřížky. Naopak nedisperzní spektrofotometr (Obr. 11) používá interferometr s Fourierovou transformací (FT). [35, 39]



Obrázek 10: Disperzní Ramanův spektrometr s CCD detektorem, převzato z: [40]



Obrázek 11: Nedisperzní Ramanův spektrometr s Fourierovou transformací, převzato z: [40]

Hlavní rozdíl mezi těmito spektrometry spočívá v tom, že interferometr s FT dokáže přijímat informace z celého rozsahu spektra během každého kroku skenování na rozdíl od mřížkového spektrometru, který obdrží informace z velmi úzkého pásu spektra. Další rozdíly mezi spektrometry jsou uvedeny v Tabulce 6. [27, 41]

Tabulka 6: Rozdíly mezi disperzními a nedisperzními spektrometry.

| Spektrometr | Výhody | Nevýhody |
|-------------|---|---|
| disperzní | <ul style="list-style-type: none"> • vyšší citlivost detektoru • vyšší poměr signál/šum • $\lambda_{exc} = 200\text{--}800\text{ nm}$ (dle CCD) | <ul style="list-style-type: none"> • více fluorescence • nestálé spektrální rozlišení |
| nedisperzní | <ul style="list-style-type: none"> • vysoká přesnost určení frekvence • vyšší světelnost • bez fluorescence • $\lambda_{exc} = 1064\text{ nm}$ | <ul style="list-style-type: none"> • horší poměr signál/šum • vysoký výkon laseru • špatná citlivost detektoru |

Ramanovu spektroskopii v analýze vzorků doplňuje infračervená (IR) spektroskopie, oproti které je RS výhodnější a poskytuje jednodušší spektra. V Tabulce 7 jsou uvedeny další rozdíly mezi těmito technikami. [35, 36]

Tabulka 7: Porovnání spekter při Ramanově a IR spektroskopii.

| Ramanova spektroskopie | Infračervená spektroskopie |
|--|--|
| intenzita pásu úměrná druhé mocnině změny polarizovatelnosti při vibraci | intenzita pásu úměrná druhé mocnině změny dipolového momentu při vibraci |
| slabé pásy vibrací polárních vazeb (C=O, O-H) | intenzivní pásy vibrací polárních vazeb (C=O, O-H) |
| intenzivní pásy vibrací nepolárních vazeb (C=C, N-N) | žádné pásy vibrací nepolárních vazeb (C=C) |
| snadná příprava vzorku | náročná příprava vzorku |
| možnost měření vodných roztoků | obtížnější měření v roztocích |

RS se těší své oblíbenosti zejména díky objektivitě a jednoduchosti analýzy a její rychlosti provedení. RS nachází své uplatnění v mnoha oborech, jako jsou např. mikrobiologie, biomedicína nebo farmacie. Ve farmaceutickém výzkumu lze pomocí této techniky mapovat pevné, např. dispergovaná léčiva v polymerních maticích. [34, 36–41]

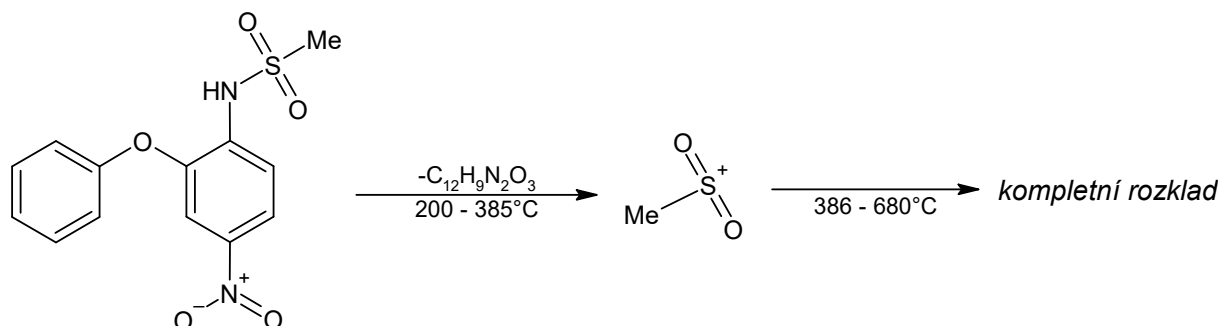
2.5 Termokinetické chování nimesulidu

V roce 2013 byla provedena brazilskými vědci studie, která se zabývala termickým chováním nimesulidu a jeho produktů, které byly získány rekrystalizací z různých alkoholů. Krystalický nimesulid byl zakoupen od společnosti *Sigma Aldrich* a byl použit v 98%ní čistotě. Rekrystalizace byly provedeny na základě rozpuštění 0,5 g vzorku v 60 ml různých alkoholů. Mezi použité alkoholy patřil methanol, ethanol, 1-propanol a 2-propanol. Směsi byly dále zahřívány až do úplného rozpuštění krystalů a následně byly ochlazeny na laboratorní teplotu. Měření byla prováděna metodou TG a metodou DSC. Při analýze bylo použito 5 mg vzorku léčiva, který byl vložen do otevřeného hliníkového kelímku a byl zahříván rychlostí 20 °C/min. Měření pro čistý NIM bylo realizováno v prostředí inertního dusíku při průtoku 50 ml/min. Rekrystalizované produkty byly měřeny na vzduchu. Pomocí DSC byly provedeny dva cykly ohřevu v teplotním rozmezí 0–165 °C rychlostí 10 °C/min. V první fázi byla zaznamenána teplota tání nimesulidu ($T_m = 149\text{ °C}$) při entalpii tání $\Delta_{fus}H = 33,9\text{ kJ/mol}$. Při druhé fázi byla teplota tání potvrzena. Dále ve druhé fázi byla stanovena teplota skelného přechodu 25 °C a entalpii tání $\Delta_{fus}H = 33\text{ kJ/mol}$ a krystalizace NIM při teplotě 78 °C. Při měřeních nebyla prokázána existence polymorfů tohoto léčiva. V případě měření rekrystalizovaných produktů NIM se ukázalo, že vykazují shodný tepelný profil jako čisté léčivo. [42]

Nimesulid a jeho rekrystalizační produkty byly podrobeny termické analýze, která měla charakterizovat jejich tepelnou stabilitu jednak na vzduchu, jednak v dusíkové atmosféře. Díky grafickým záznamům bylo odhaleno, že vykazují prakticky shodné tepelné chování. Díky DSC křivkám byla stanovena teplota tání nimesulidu a entalpie tání. Dále byla stanovena tepelná stabilita NIM, která sahá až ke 210 °C.

O devět let později, v roce 2022, se Mohamed a spol. rozhodl více prostudovat tepelné chování a kinetiku rozkladu léčiva nimesulid. Jejich výzkum byl proveden za neizotermních podmínek při různých rychlostech ohřevu. [7] Nimesulid byl pro výzkumná měření zakoupen od společnosti *Pharaonia Company* a byl použit v krystalické formě s 99,36%ní čistotou. Měření byla prováděna metodou TG pomocí termogravimetrického analyzátoru a metodou DTA. Odvození kinetiky rozkladu léčiva bylo možné za využití TG/DTG křivek a pomocí kinetických modelů, Friedmanova a Ozawa-Flynn-Wallova modelu, bylo možné vyhodnotit tepelné chování NIM. Při DTA bylo použito 5 mg vzorku, který byl vložen do platinového kelímku v prostředí suchého dusíku při průtoku 30 ml/min. Měření byla prováděna při různých rychlostech ohřevu od laboratorní teploty do 800 °C při rychlostech ohřevu 5, 10, 15 a 20 °C/min. Pomocí TG/DTG grafů bylo zjištěno, že tepelná degradace nimesulidu probíhá ve dvou krocích, viz Obr. 12. V prvním kroku došlo ke ztrátě $C_{12}H_9N_2O_3$, což odpovídalo úbytku hmotnosti vzorku 74,35 %. Tento krok probíhal při teplotě od 210 °C do 385 °C a byl doprovázen tvorbou exotermního píku na DTG křivce při 305 °C ($T_{peak\ DTG} = 305\text{ °C}$). Druhá

fáze rozkladu probíhala v teplotním rozmezí 386–680 °C a vykazovala hmotnostní úbytek 25,65 %. Toto zjištění nasvědčovalo úplnému rozkladu NIM.



Obrázek 12: Tepelná degradace nimesulidu.

Při měřeních byly zaznamenány na TG/DTG křivkách teplotní jevy. Endotermický pík se objevil při teplotě 145 °C a odpovídal tání nimesulidu. Naopak exotermické píky se na křivkách objevily 2krát. Poprvé exotermický jev nastal v první fázi rozkladu při teplotě 305 °C, druhý exotermický jev se objevil v důsledku totální pyrolýzy nimesulidu při teplotě 610 °C.

NIM byl za účelem sledování tepelné stability vystaven měření v inertní dusíkové atmosféře za neizotermních podmínek. Byla provedena kinetická analýza pro odhad aktivační energie tepelné degradace. Dle výsledků studie bylo možné konstatovat, že NIM vykazuje vysokou tepelnou stabilitu až do 210 °C, poté nastává jeho degradace. K výpočtům hodnot kinetických parametrů byla použita Friedmanova metoda. Na základě měření bylo stanoveno, že tepelný rozklad NIM probíhá ve dvou fázích.

Termická stabilita nimesulidu byla dále studována pomocí skenovací elektronové mikroskopie v kombinaci s diferenční skenovací kalorimetrií, kde autoři zjistili teplotu tání 143,5 °C. [43, 44] Teplota skelného přechodu amorfního NIM byla studována v [45, 46, 47] pomocí DSC a byla stanovena na hodnotu 20,85 °C. Krystalizačním chováním NIM se autoři zabývali ve studiích [8, 45], kde pro provedení analytických testů využívali různá organická rozpouštědla, např. ethanol, aceton a tetrahydrofuran. Vzniklé krystaly byly analyzovány pomocí rentgenové práškové difrakce (XRPD). [8, 10] Mikroskopickým růstem krystalů v nimesulidu se také zabývaly studie [46, 48, 49]. Existence polymorfů u léčiva nimesulid byla prokázána v řadě studií pomocí XRPD nebo Ramanovy spektroskopie. [8, 10, 46, 48–50] Ve studii [50] se autoři zabývali čistotou polymorfních vzorků, které analyzovaly pomocí TG a vysokotlaké kapalinové chromatografie (HPLC).

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Příprava vzorku

Nimesulid byl zakoupen od společnosti *Sigma Aldrich*. Žlutobílý prášek, jehož čistota činila 98 %, nebyl pro experimentální měření dále upravován a byl použit ve své krystalické formě. Nimesulid byl skladován v uzavřené plastové nádobě při teplotě 8–10 °C.



Obrázek 13: Plastová nádoba s práškovým nimesulidem.

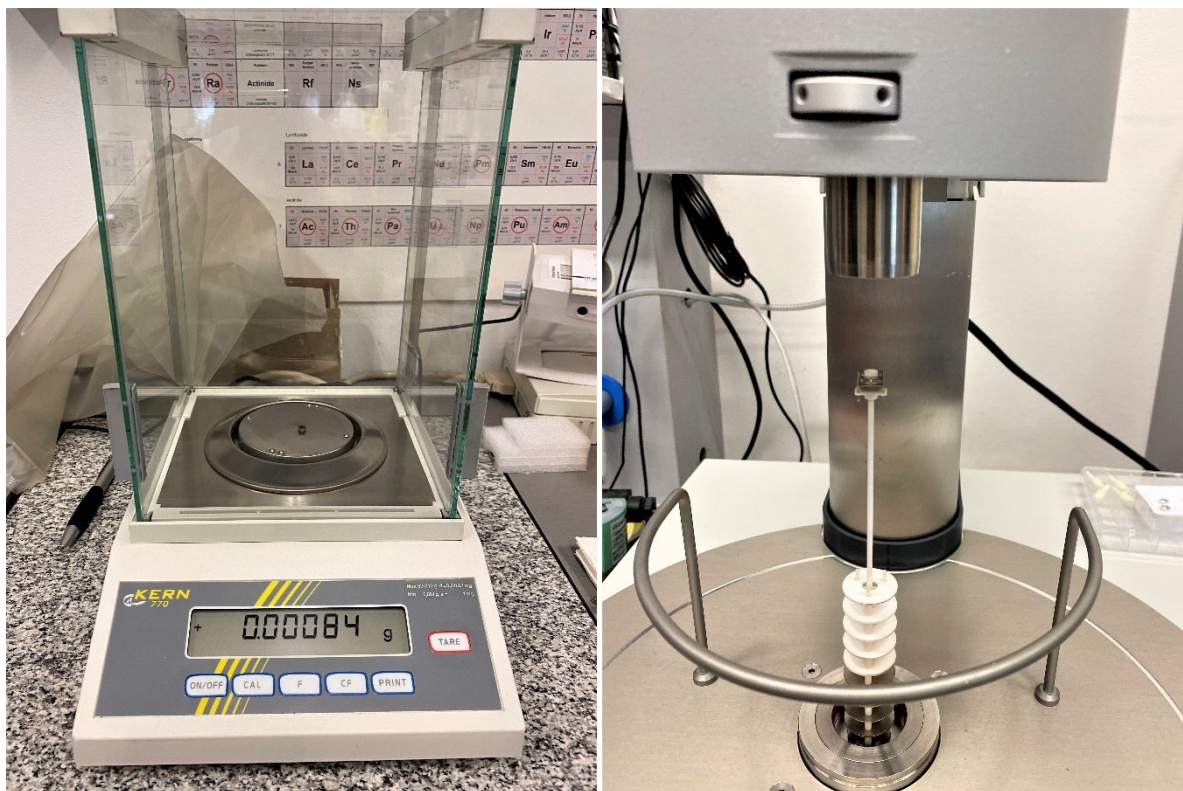
3.2 Postup měření

Termogravimetrická měření byla prováděna pomocí termogravimetrického analyzátoru NETZSCH (STA 449 F5 Jupiter), který byl opatřen termostatem vah a vyhřívacím zařízením, který bránil nežádoucí kondenzaci odváděných plynů. Jednotlivé vzorky byly navažovány na pětimístných analytických vahách v otevřených kelímcích, které byly zhotoveny z Al_2O_3 . Navážka vzorků se pohybovala v rozmezí 2–4 mg s přesností na tři desetinná místa. Kelímky se vzorky byly pomocí pinzety vertikálně položeny na termováhy a uzavřeny do elektrické pece TG analyzátoru. Následně byly definovány parametry měření vzorku – typ měření, identifikace, navážka. Dále byly stanoveny parametry teplotního programu. Elektrická pec byla přehřátá na laboratorní teplotu 30 °C. Pec byla proplachována pomocí dusíku s rychlostí průtoku 50 ml/min a plášť pece byl proplachován dusíkem rychlostí 20 ml/min. Následně byly definovány parametry dynamiky měření – konečná teplota,

rychlost ohřevu a hustota sběru dat. Dále byla stanovena teplota při nouzovém resetování na 525 °C a akceptovatelná odchylka 20 °C od startovní teploty. Na závěr byla vytárována hmotnost (TG signál).



Obrázek 14: Vlevo – termogravimetrický analyzátor; vpravo nahoře – termostat vah; vpravo dole – vyhřívací zařízení bránící kondenzaci odváděných plynů.

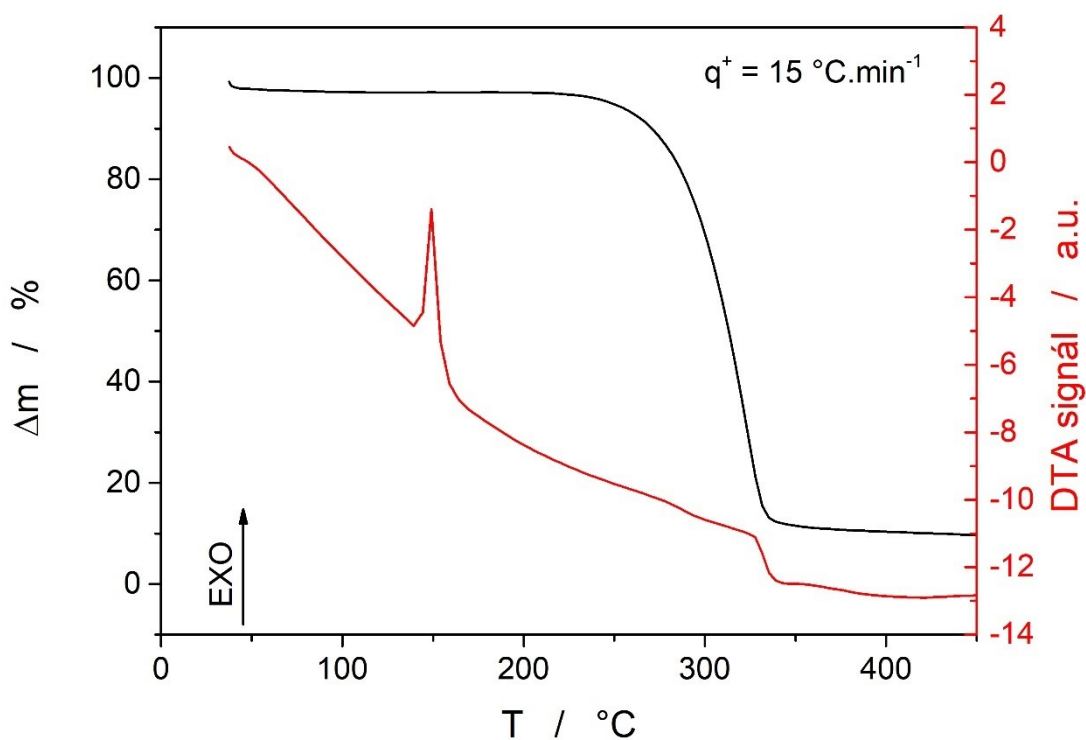


Obrázek 15, 16: Vlevo – analytické pětimístné váhy s otevřeným kelímkem; vpravo – vertikální uspořádání termovah uvnitř termogravimetrického analyzátoru.

Měření byla prováděna za neizotermních podmínek. Každá série měření byla provedena s novým vzorkem s různou rychlostí ohřevu (1; 2; 3; 5; 7; 10; 15; 20; 30 °C/min). Rozmezí teplot se při měření pohybovalo mezi 30–500 °C. V případě všech vzorků došlo k téměř 100%ní ztrátě hmotnosti. Pro každý vzorek při různé rychlosti ohřevu byla získána TG křivka, která byla zaznamenána pomocí počítačového programu NETZSCH *Proteus Thermal Analysis*. TG křivky byly v počítačovém programu podrobeny grafické derivaci pro získání DTG křivek. Nakonec byly DTG křivky vyhlazeny pro lepší identifikaci maximálních bodů píků.

4 VÝSLEDKY

Tepelná stabilita léčiva nimesulidu byla studována pomocí termické analýzy, především za pomoci termogravimetrie a diferenční termické analýzy. Termoanalytické křivky, které popisují teplotní chování nimesulidu při rychlosti ohřevu 15 °C/min v prostředí plynného dusíku, jsou demonstrovány na Obrázku 17. Černá křivka odpovídá termogravimetrickému záznamu, zatímco červená křivka a osa odpovídají DTA signálu.



Obrázek 17: Termogravimetrická křivka a křivka diferenční termické analýzy pro léčivo nimesulid při rychlosti ohřevu 15 °C/min v prostředí plynného dusíku (50 ml/min).

Z průběhu TG křivky je patrné, že práškový nimesulid byl pro danou rychlost ohřevu termicky stabilní až do teploty 200 °C . Následně došlo ke ztrátě hmotnosti léčiva v teplotním rozmezí přibližně $250\text{--}340\text{ °C}$. Na DTA křivce bylo možné popsat endotermické píky, které se v průběhu zvyšování teploty objevily. Pozice prvního ostrého DTA píku se nacházela při teplotě 150 °C s přibližnými hodnotami počátku a konce: $T_{ONset} = 147\text{ °C}$ a $T_{ENDset} = 152\text{ °C}$. Tento pík představoval charakteristický bod tání nimesulidu. Při následném zvyšování teploty došlo dále k zaznamenání plochého píku s obtížně identifikovatelným maximálním bodem, kdy mírné zvlnění signálu pravděpodobně naznačuje překryv dvou endotermních píků. Maximum tohoto píku odpovídalo zhruba

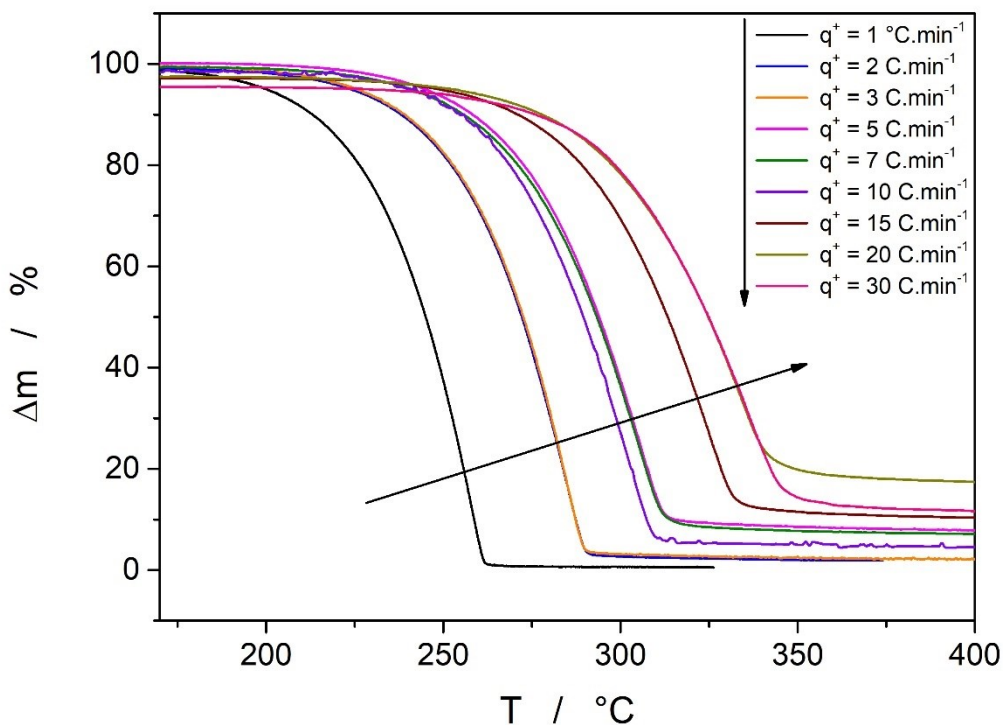
teplotě 330 °C. Tento pík byl spojován se ztrátou hmotnosti léčiva na TG křivce v identickém teplotním rozmezí.

4.1 Efekt rychlostí ohřevu q^+

Obrázek 18 znázorňuje devět charakteristických termogravimetrických křivek, které byly výsledkem mého měření, při již zmiňovaných rychlostech ohřevu. Měření byla provedena za neizotermních podmínek jako teplotní závislost hmotnostního úbytku látky Δm , který definujeme jako:

$$\Delta m = \frac{m}{m_0} \times 100 \% \quad (13)$$

kde m_0 je výchozí hmotnost vzorku a m je hmotnost vzorku v daném časovém okamžiku.



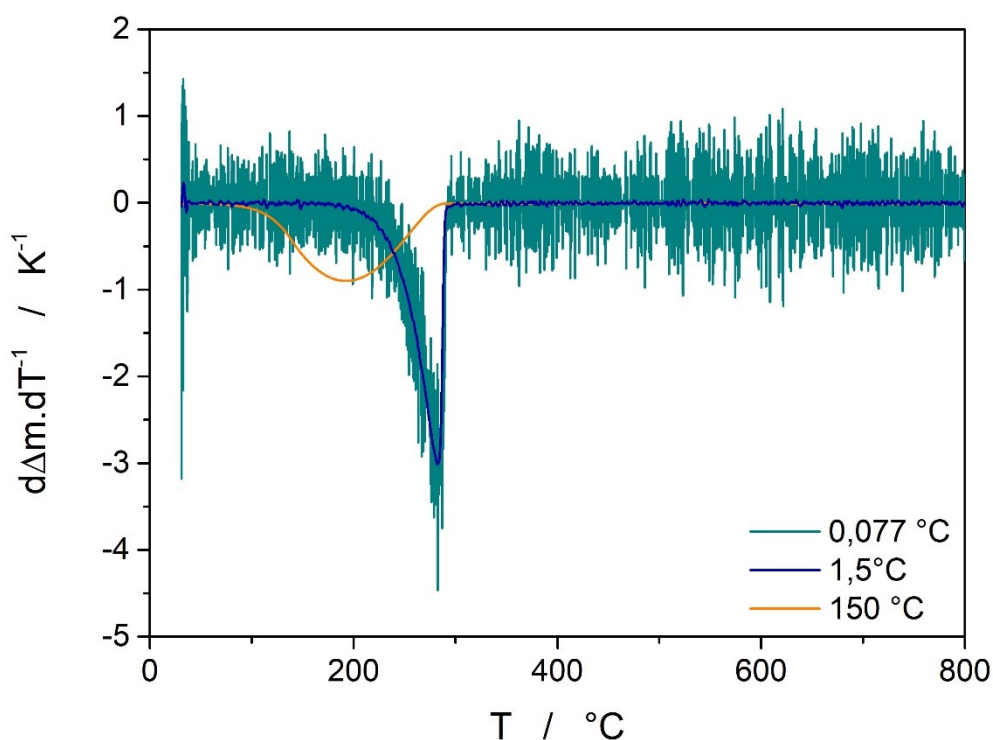
Obrázek 18: Termogravimetrické křivky, které popisují závislost hmotnostního úbytku látky na teplotě.

Z Obr. 18 je patrné, že termická stabilita nimesulidu závisí na rychlosti ohřevu a že kinetika rozkladu nimesulidu není stejná při nízkých a vysokých rychlostech ohřevu. Při nízkých rychlostech ohřevu (1–3 °C/min) dochází k první ztrátě hmotnosti léčiva již při teplotách 170–200 °C. Ovšem při navyšování rychlostí ohřevu se posouvala jeho tepelná stabilita, např. při $q^+ = 30 \text{ } ^\circ\text{C}/\text{min}$ byl nimesulid stabilní až do teploty 252 °C. Dále si můžeme povšimnout, že za vysokých rychlostí ohřevu

(20 a 30 °C/min) nedošlo k úplnému rozkladu látky na plynné produkty. Vedle hlavních produktů rozkladu uvolněných do plynné fáze jsem zaznamenala ještě vznik vedlejších produktů rozkladu, které svou podobou připomínaly černý dehet a které by se při dalším zahřívání zcela rozložily.

Veškeré TG křivky by se v ideálním případě měly odvíjet od hodnoty 100%ního úbytku hmotnosti vzorku. U některých TG křivek odskočených o cca 3 % byly demonstrovány typické chyby, které se mohou v průběhu měření objevit. Jedná se o chyby způsobené např. špatnou kalibrací přístroje, nedostatečným ustálením přístroje (temperací vah), zvýšeným obsahem vlhkosti ve vzorku nebo nepřesným navažováním vzorku. Avšak tyto malé odchylky neměly prakticky žádný vliv na kinetické výpočty.

Dále byly pro TG záznam, změřené pro jednotlivé rychlosti ohřevu provedeny numerické derivace hmotnostního úbytku vzorku v závislosti na celkové teplotě měření. Výsledkem byly derivované TG křivky, které nám usnadnily odvození teplotního intervalu pro tepelný rozklad nimesulidu. Na Obrázku 19 jsou znázorněny tři DTG křivky pro rychlost ohřevu 3 °C/min.

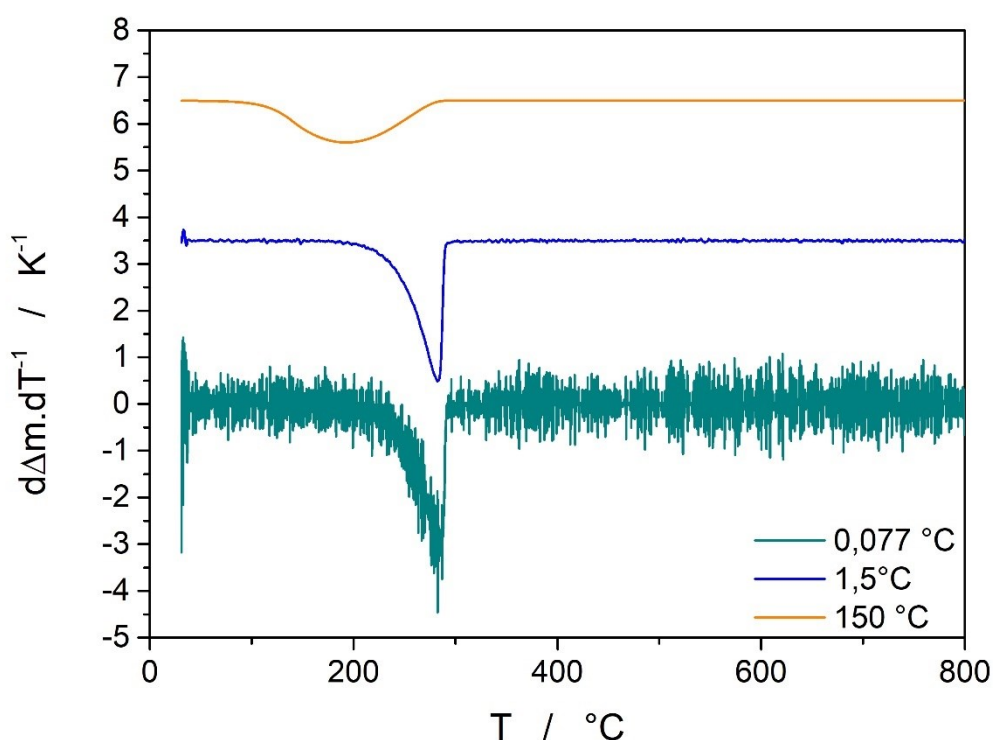


Obrázek 19: DTG křivky pro rychlost ohřevu 3 °C/min.

Tmavě zelená křivka byla derivována přes každých 10 po sobě následujících bodů, kdy tento interval odpovídal cca 0,077 °C. Jelikož se jednalo o velice zašuměnou křivku se špatně

identifikovatelnou maximální teplotou píku, byla tato křivka dále vyhlazována. Následně vyhlazená modrá křivka byla derivována přes 150 bodů a odpovídala průměrnému intervalu cca 1,5 °C. Pro tuto křivku bylo nejvhodněji stanoveno teplotní maximum píku, které se rovnalo hodnotě 282,13 °C.

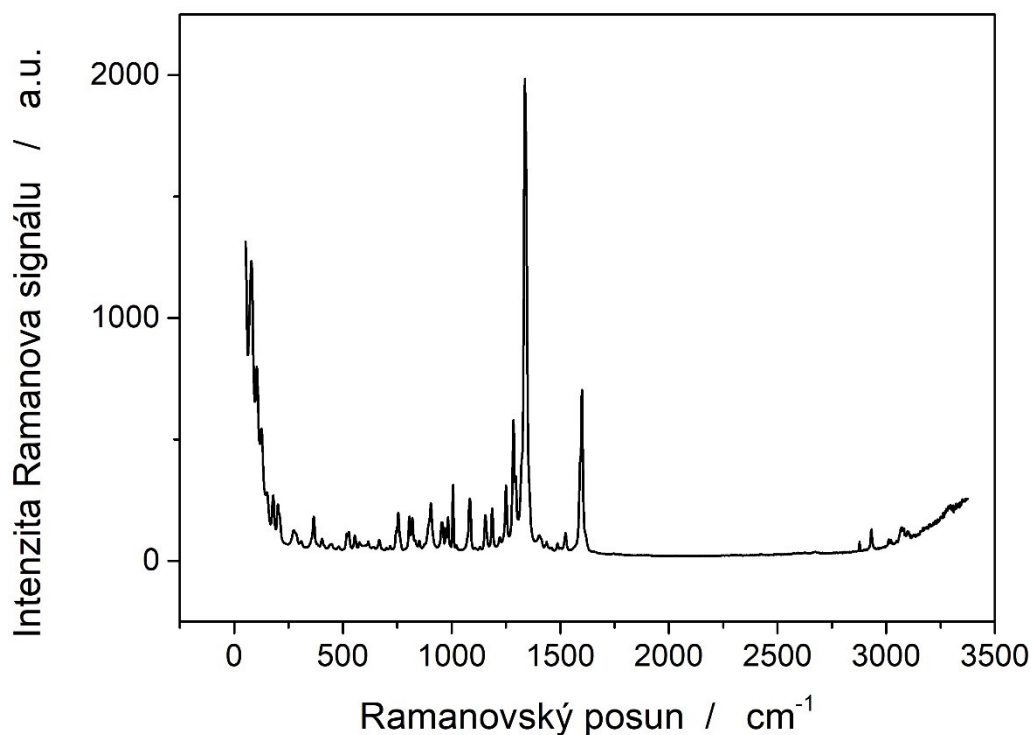
Dále byla ještě vypočítána oranžová křivka, která byla derivována přes 5000 bodů s odpovídajícím teplotním intervalem cca 150 °C. Z průběhu oranžové křivky je ale patrné, že došlo k naprosté distorzi kinetického píku, nyní ohraničeného teplotami $T_{ONset} = 80\text{ °C}$ a $T_{ENDset} = 278\text{ °C}$. Tato křivka byla pro další analýzu nevhodná a slouží pouze k demonstračním účelům. Kvůli lepší názornosti byly od sebe křivky z Obr. 19 odstupňovány a převedeny na Obr. 20.



Obrázek 20: Odstupňované DTG křivky pro rychlost ohřevu 3 °C/min.

4.2 Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie (RS) byla využita k získání informace o struktuře léčiva nimesulid a identifikaci případné výchozí polymorfní fáze. Na následujícím Obrázku 21 je zobrazeno Ramanovo spektrum pro látku nimesulid, kde je vynesena závislost intenzity Ramanova signálu na Ramanovském posunu.

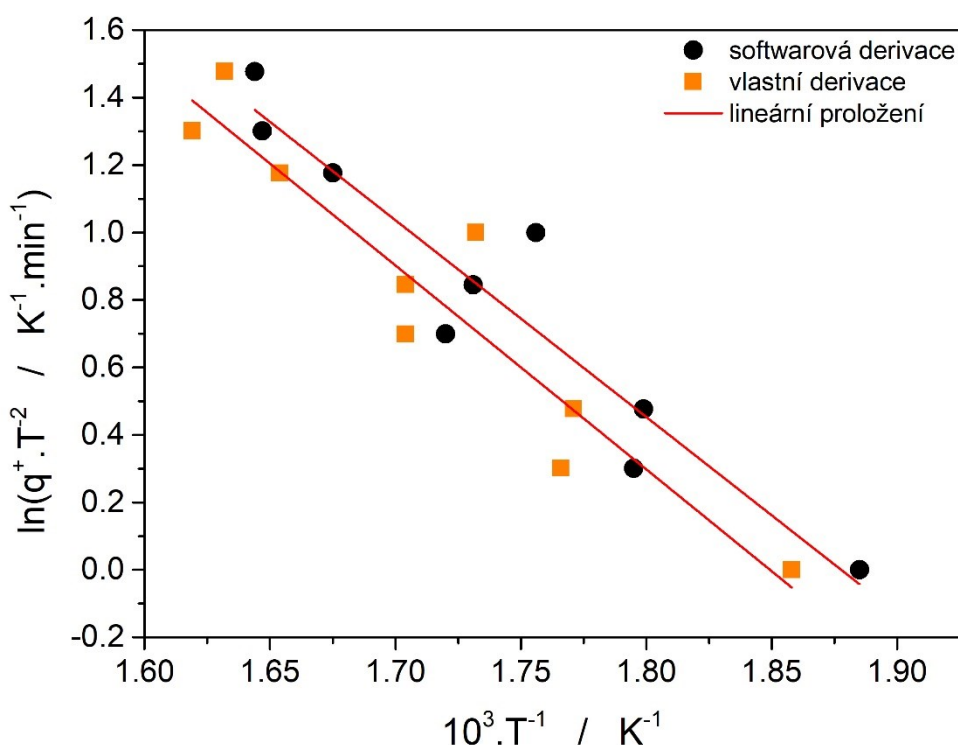


Obrázek 21: Ramanovo spektrum pro látku nimesulid.

Vzorek nimesulidu byl nanesen do otevřeného kelímku a pomocí pinzety vložen do Ramanova mikroskopu. Pomocí mikrošroubu ovládajícího posuvný stolek byl obraz zaostřen na jedno zrno prášku. Ramanovo spektrum bylo získáno při vlnové délce laseru 785 nm a výkonu laseru 20 mW s použitím expozičního času 3 s, který se 50krát opakoval. Intenzita laserového paprsku mohla být nastavena na vysokou hodnotu z důvodu užití bílé čisté farmakologické látky, u které je minimální riziko spálení vzorku nebo výskytu fluorescence. Pomocí literární rešerše bylo zjištěno, že nimesulid se vyskytuje ve dvou polymorfních formách s teplotami tání 143 a 147 °C. ^[51] Získané Ramanovo spektrum vyobrazené na Obrázku 21 potvrzuje, že se nimesulid použitý pro mou studii vyskytuje ve své dominantní polymorfní formě, a toto spektrum odpovídalo Ramanovu spektru, které bylo publikováno ve studii [52].

5 DISKUSE

Hlavním cílem práce bylo popsat kinetiku dekompozice léčiva nimesulidu. Rozklad nimesulidu byl popsán na základě rovnice 5 v kombinaci s některými kinetickými modely, které byly uvedeny v kapitole (2.3). K numerické determinaci aktivační energie E_A byla využita Kissingerova metoda (rovnice 10) a Ozawa-Flynn-Wallova metoda (rovnice 12). V následujících textech bude nejprve uvedena závislost spojená s Kissingerovou metodou, která byla počítána ze dvou sad dat. Princip Kissingerovy metody spočívá v určení teploty související s maximální rychlostí přeměny, při které lze předpokládat identický stupeň konverze.



Obrázek 22: Závislost Kissingerovy metody.

Závislost Kissingerovy metody, která byla pro obě sady dat spočítána pro hodnoty teplot T odpovídající maximální rychlosti změny stupně konverze (viz Tabulka 8) na základě jejich závislosti na rychlosti ohřevu q^+ , je demonstrována na Obrázku 22. Černé body popisují závislost, která byla získána za pomoci softwarového vyhodnocení (použit program *Thermokinetics*). Druhá závislost, která je v grafu vymezena oranžovými body, byla určena na základě vlastní derivace hodnot (příklady v Obrázcích 19 a 20). U obou závislostí se jednalo o velmi podobný lineární průběh, který byl podmíněn především daty získanými při nižších q^+ , jež nebyla ovlivněna teplotními gradienty. Pomocí

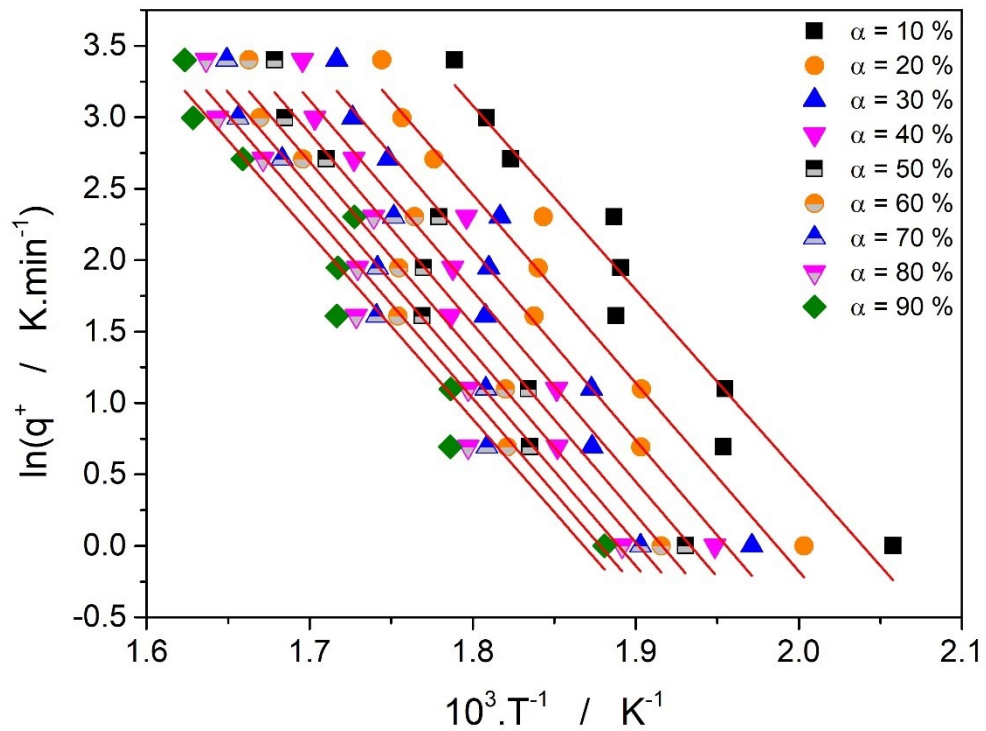
této metody byly získány dvě hodnoty aktivační energie, které se téměř shodovaly a pohybovaly se okolo 103 kJ/mol.

Tabulka 8: Softwarová teplotní maxima a vlastní teplotní maxima pro jednotlivé rychlosti ohřevu.

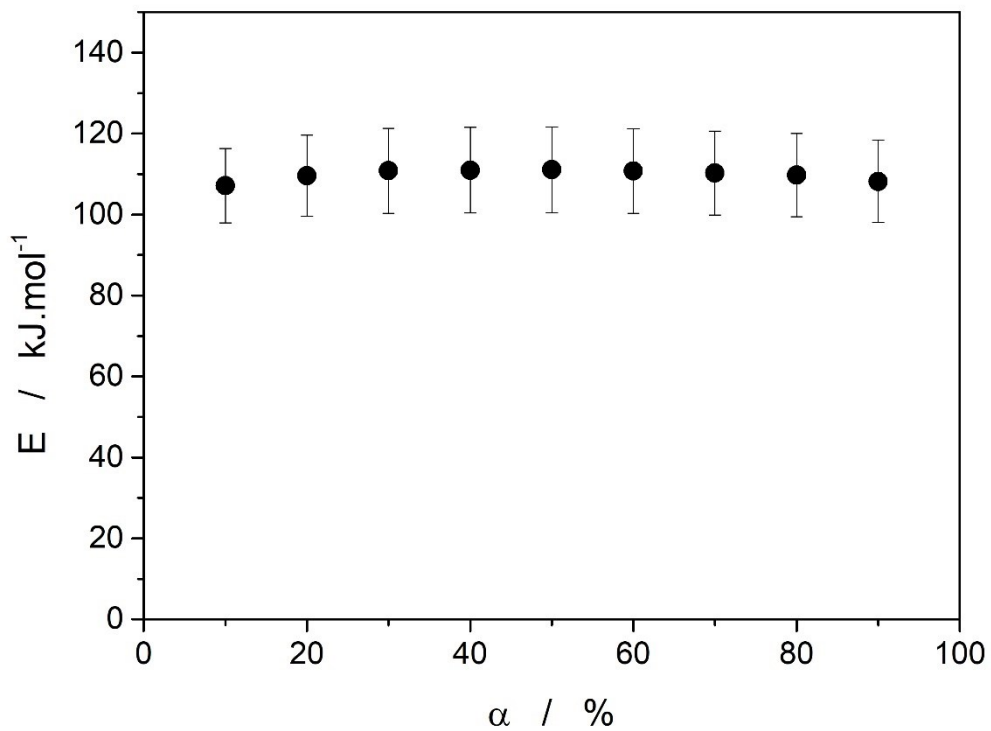
| Rychlost ohřevu (°C/min) | Softwarová maxima (°C) | Vlastní maxima (°C) |
|--------------------------|------------------------|---------------------|
| 1 | 257,49 | 256,52 |
| 2 | 283,90 | 283,65 |
| 3 | 282,64 | 282,13 |
| 5 | 308,19 | 303,45 |
| 7 | 304,57 | 303,52 |
| 10 | 296,35 | 294,31 |
| 15 | 323,79 | 320,65 |
| 20 | 333,87 | 333,46 |
| 30 | 335,16 | 328,51 |

Jak již bylo zmíněno výše, dále byla využita pro výpočet aktivační energie izokonverzní Ozawa-Flynn-Wallova metoda. Obrázek 23 obsahuje devět závislostí, které odpovídají různým arbitrárně zvoleným hodnotám stupně konverze α , které jsou vzájemně barevně odlišeny. Na Obr. 23 si můžeme povšimnout, že při vyšších hodnotách α (60–90 %) jsou zaznamenané body těsně vedle sebe, což nasvědčuje nejintenzivnější přeměně látky. Na základě směrnic přímk jsme vyhodnotili aktivační energii pro každý stupeň konverze dle rovnice 12 a stanovili její průměrnou hodnotu na 101,9 kJ/mol.

OFW aktivační energie je znázorněna prostřednictvím Obrázku 24, ve kterém byly proti sobě vynášeny hodnoty aktivační energie E_A v závislosti na stupni konverze α . Hodnoty α se pohybovaly v rozmezí 0–1, resp. 0–100 %. Z Obr. 24 je patrné, že chyby měly stejnou velikost po celý průběh procesu, a i hodnota E_A se prakticky neměnila. Průměrná odchylka OFW aktivační energie od Kissingerovy metody činila 1,1 kJ/mol, tedy přibližně 1 %, a potvrdila tak danou hodnotu aktivační energie. V dalších kinetických výpočtech byla dále využívána hodnota E_A získaná z Kissingerovy metody, která odpovídá maximu rychlosti přeměny látky.

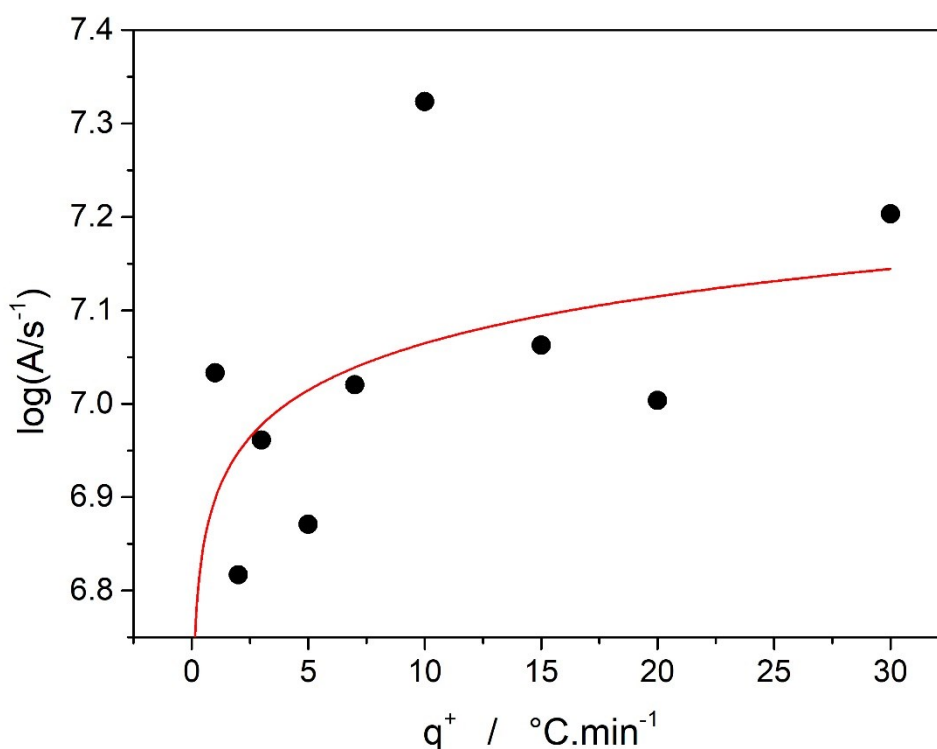


Obrázek 23: Závislost Ozawa-Flynn-Wallové metody.

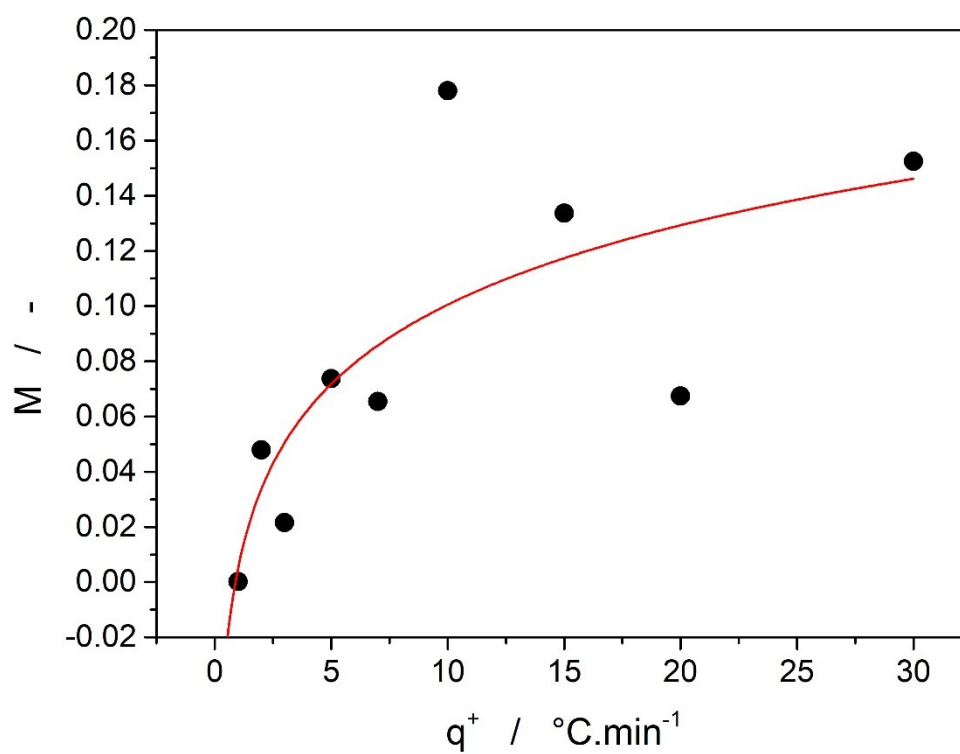


Obrázek 24: Odchylka aktivační energie při Ozawa-Flynn-Wallově metodě.

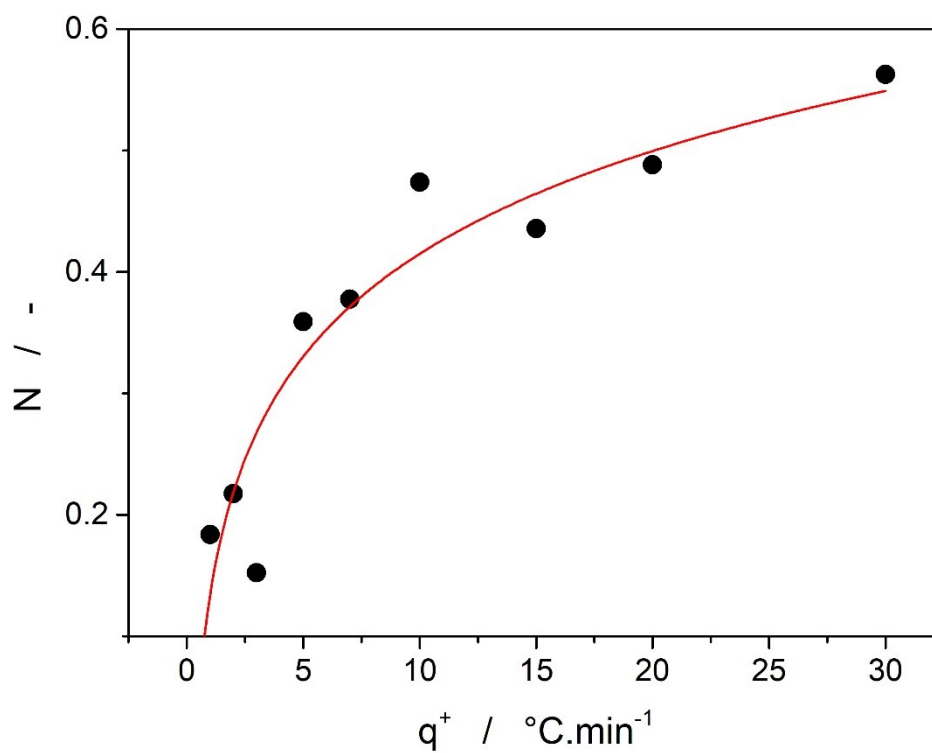
Následující trojice obrázků (Obr. 25–27) popisuje závislosti kinetických parametrů ($\log A$, M , N) na rychlosti ohřevu q^+ . Pro jejich získání bylo zapotřebí importovat data z textového souboru exportovaného STA přístrojem do softwaru *Thermokinetics* a použít nelineární optimalizaci se zafixovanou hodnotou aktivační energie, která byla získána pomocí Kissingerovy metody. Optimalizována byla každá křivka zvlášť. Pro stanovení kinetiky dekompozice bylo využito flexibilního Šesták-Berggrenova modelu (rovnice 8), který byl již diskutován v kapitole (2.3). Jednotlivé body byly na závěr proloženy logaritmickou křivkou, která ale slouží pouze pro vedení očí.



Obrázek 25: Závislost kinetického parametru $\log A$ na rychlosti ohřevu q^+ .



Obrázek 26: Závislost kinetického exponentu M na rychlosti ohřevu q^+ .

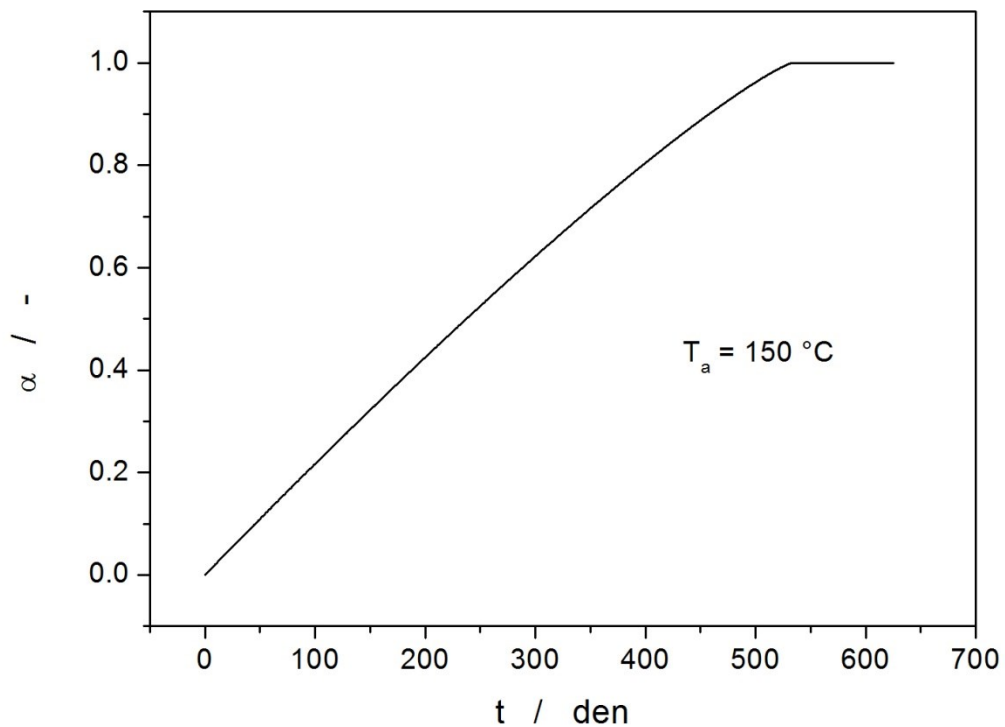


Obrázek 27: Závislost kinetického exponentu N na rychlosti ohřevu q^+ .

Při softwarovém stanovení aktivační energie byl zároveň vypočten i průměrný kinetický parametr $\log A$, jeho hodnota byla $7,19 \text{ A/s}^{-1}$. Ovšem dle našich výsledků měření se tento parametr měnil v závislosti na rychlosti ohřevu a jeho hodnota konvergovala zhruba k $6,95 \text{ A/s}^{-1}$. Tato nižší hodnota byla použita v dalších výpočtech. V případě kinetických exponentů Šesták-Berggrenova modelu byly limity jejich hodnot stanoveny na $M = 0$ a $N = 0,15$. Křivky jsem ve všech třech případech extrapolovala k nízkým hodnotám rychlosti ohřevu, které nejlépe odpovídají kinetickému chování při dlouhodobých izotermních experimentech při nižších teplotách ^[53]. Právě tyto hodnoty byly použity pro další výpočty, a to konkrétně pro stanovení kinetických predikcí pro sérii teplot nižších než rozsah experimentálně měřených dat.

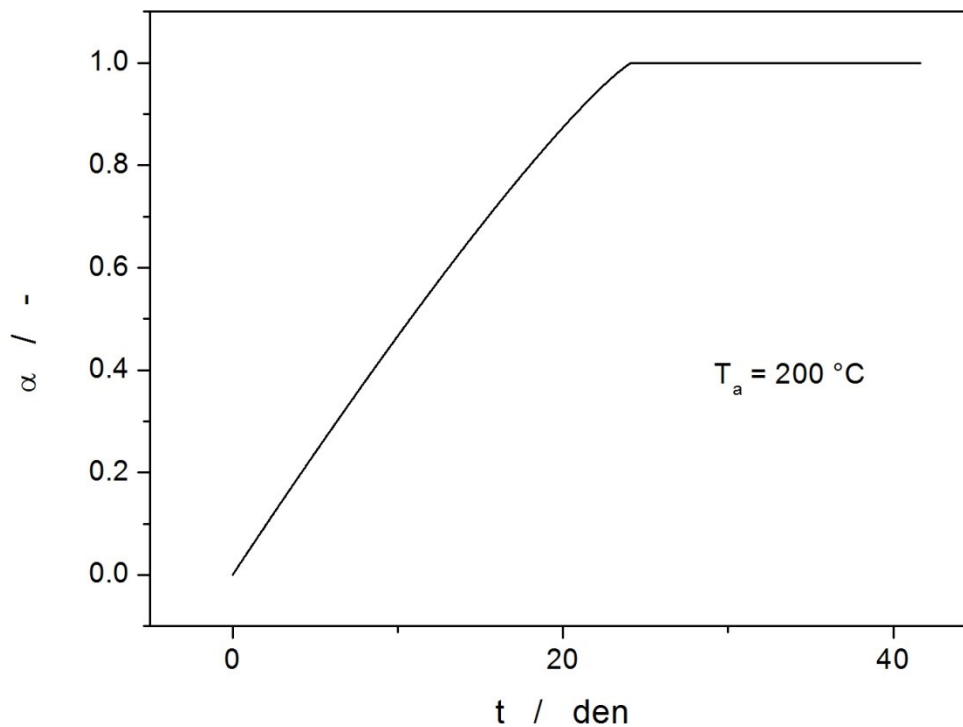
V závěru práce byly jako její hlavní cíl vypočítány pomocí softwaru *Thermokinetics* kinetické predikce, díky kterým jsme získali prakticky použitelné informace o tepelné stabilitě léčiva nimesulidu. Tyto predikce nám posloužily ke stanovení podmínek, za nichž můžeme léčivo zpracovávat např. metodami extruze nebo přímého přetavení, dokud se tepelně nerozloží a nezdegraduje. Kinetické predikce byly počítány pro teploty 150; 200; 250 °C jako závislosti stupně přeměny látky α na čase t . Vyobrazeny jsou na Obrázcích 28–30.

Na základě pozvolného nárůstu predikční křivky je z Obrázku 28 patrné, že tepelný rozklad nimesulidu by probíhal při nízkých teplotách blízkých teplotě tání velmi pomalu. Pokud bychom léčivo udržovali při teplotě 150 °C, jeho rozklad by trval cca 520 dní, než by nastala jeho totální degradace. Doba odpovídající rozkladu 1 % nimesulidu při 150 °C je pak přibližně 4,5 dne. Tato extrémně dlouhá doba rozkladu nasvědčovala tomu, že nimesulid je u teploty tání velmi stabilní. Díky této predikci bylo zjištěno, že s léčivem nimesulid můžeme pohodlně pracovat u jeho teploty tání, což je pro laboratorní užití důležité.



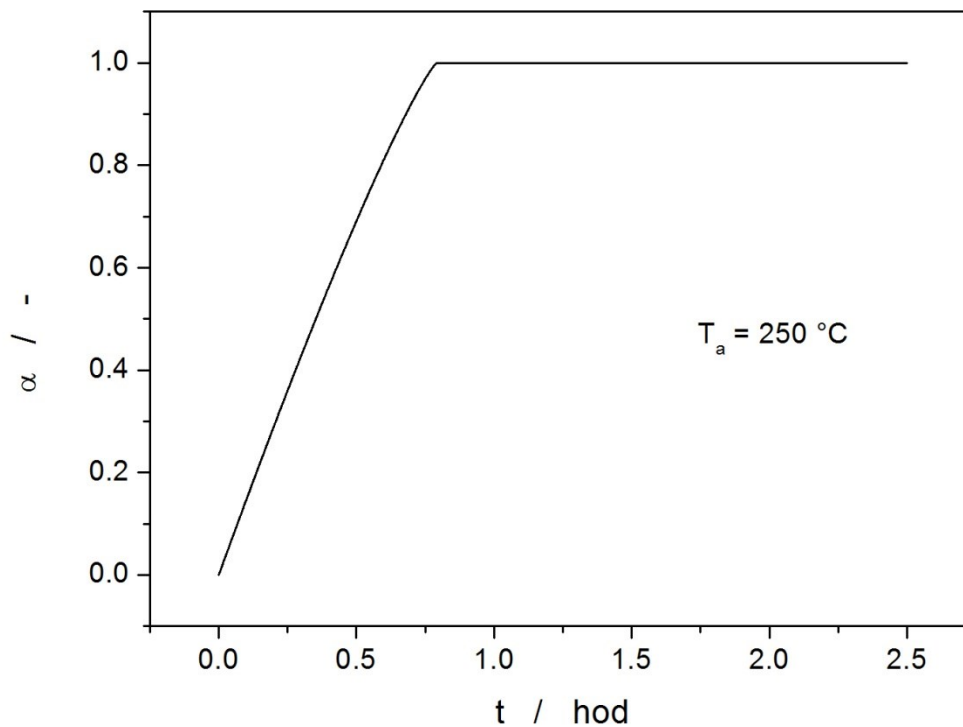
Obrázek 28: Kinetická predikce při 150 °C.

Pokud bychom léčivo izotermně temperovali při pracovní teplotě navýšené o 50 °C na teplotu 200 °C, jeho totální degradace by nastala odhadem za 23 dní (viz Obr. 29). K rozkladu jednoho (prvního) procenta látky by pak došlo přibližně po 5ti hodinách. I přes navýšení teploty o 50 °C se při této teplotě nimesulid chová relativně stabilně. Kombinace první a druhé predikce nám zároveň naznačuje teplotní rozmezí, ve kterém je možné nimesulid bez problémů zpracovávat, aniž by hrozila jeho degradace.



Obrázek 29: Kinetická predikce při 200 °C.

V mnohých literárních rešerších bylo uvedeno, že nimesulid je tepelně stabilní látka až do teploty 210 °C. Toto tvrzení můžeme na základě našeho výzkumu potvrdit. Tato teplota je ovšem skutečně limitní. Při teplotě nimesulidu při teplotě 250 °C (viz Obr. 30) trval jeho tepelný rozklad nejkratší dobu, a to pouhých 48 minut. Z Obrázku 30 je patrné, že stupeň konverze se rychle měnil a projevil se nejstrmějším průběhem křivky ze všech výše zmiňovaných predikcí. K rozkladu jednoho procenta látky došlo za méně než půl minuty. Tato doba by nepostačovala ke zpracování nimesulidu pomocí extruze ani k pouhému přetavení látky.



Obrázek 30: Kinetická predikce při 250 °C.

Na základě těchto výsledků bylo určeno, že s léčivem nimesulid lze v jeho kapalně formě nejefektivněji pracovat v rozmezí teplot 150–200 °C, kde pravděpodobnost jeho tepelné degradace je extrémně nízká. Pokud bychom mohli u procesu zpracování předpokládat možnost mírného lokálního přehřátí, pak je třeba adekvátně snížit nejvyšší teplotu průměrně dosahovanou v celém objemu materiálu. Není doporučeno nimesulid vystavovat vysokým teplotám nad cca 220 °C, protože zde už rychle podléhá procesu degradace.

6 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce byl popis kinetiky tepelné degradace léčiva nimesulidu.

V první části je nejdříve představeno léčivo nimesulid, jeho mechanismus účinku, fyzikálně-chemické vlastnosti a jeho využití. Dále byl popsán princip termogravimetrie (TG) a průběh TG křivek, které tvořily základ pro studium kinetiky rozkladu za neizotermních podmínek v závislosti na rychlosti ohřevu. Pomocí experimentálních dat byla určena aktivační energie procesu degradace. Aktivační energie byla určena pomocí Kissingerovy metody a pomocí Ozawa-Flynn-Walloy metody.

Dále byla využita Ramanova spektroskopie (RS), pomocí které jsme získali strukturní informace o léčivu nimesulid a identifikovali jeho polymorfní fázi. Na závěr byla popsána celková kinetika dekompozice na základě Šesták-Berggrenova modelu pomocí kinetických křivek. Po jejich extrapolaci k nízkým hodnotám rychlosti ohřevu byly tyto hodnoty využity pro stanovení kinetických predikcí při zvolených teplotách (150–250 °C). Ty nám posloužily ke stanovení metod, které můžeme u léčiva nimesulidu během farmaceutického výzkumu využívat, dokud se tepelně nerozloží a nezdegraduje. Jedná se zejména o metody extruze neboli protlačování léčiva přes matrici nebo přímého přetavení, které jsou při zkoumání léčiv nejvyužívanější. Díky tomu jsme také získali informace o možnostech využívání této látky v laboratoři.

7 SEZNAM LITERATURY

- [1] FRIDERICHS, E., CHRISTOPH, T. a BUSCHMANN, H. Analgesics and Antipyretics, 2. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. In: ELVERS, B., ed. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. 7th completely rev. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2011, s. 295–326. Vol. 3. ISBN: 978-3-527-32943-4.
- [2] Product Information. *Tocris and Biotechne brand* [online]. ©2020 [cit. 2023-02-26]. Dostupné z: https://documents.tocris.com/pdfs/tocris_coa/2470_1_coa.pdf?1677425045&_ga=2.217853718.1665141241.1677425049-700057184.1677231543
- [3] ČERVENÝ, P. Polékové poškození jater. *Praktické lékařství*. **2013**, 9 (3), s. 123–126.
- [4] SLÍVA, J. Hepatotoxicitá léčiv se zaměřením na paracetamol a NSA. *Medicína pro praxi*. **2013**, 10 (1), s. 26–27.
- [5] SLÍVA, J. Současné postavení nimesulidu v paletě neopioidních analgetik. *Neurologie pro praxi*. **2020**, 21 (3), s. 226–229.
- [6] SINGLA, K. A., CHAWLA, M. a SINGH, A. Nimesulide: Some Pharmaceutical and Pharmacological Aspects – An Update. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **2000**, 52, s. 467–486.
- [7] AHMED, M. A., ASRAN, M. A. a MOHAMED, A. M. Thermoanalytical and Kinetic Studies for the Thermal Stability of Nimesulide Under Different Heating Rates. *Oriental Journal of Chemistry*. **2022**, 38 (2), s. 343–347.
- [8] MARTINO, D. P., CENSI, R., BARTHÉLÉMY, CH., GOBETTO, R., JOIRIS, E., MASIC, A., ODOU, P. a MARTELLI, S. Characterization and compaction behaviour of nimesulide crystal forms. *International Journal of Pharmaceutics*. **2007**, 342, s. 137–144.
- [9] ROCHA, A. V. H., SOUSA de AUGUSTO, R., PRADO, D. L., MARTINS, E. a MARTINS de CARVALHO, E. Characterization of nimesulide and development of immediate release tablets. *Eclética Química Journal*. **2019**, 44 (3), s. 20–35.
- [10] BERGESE, P., BONTEMPI, E., COLOMBO, I., GERVASONI, D. a DEPERO, E. L. Microstructural investigation of nimesulide-crospovidone composites by X-ray diffraction and thermal analysis. *Composites Science and Technology*. **2003**, 63, s. 1197–1201.

- [11] BANTI, N. CH., PAPATRIANTAFYLLOPOULOU, C., MANOLI, M., TASIOPOULOS, J. A. a HADJIKAKOU, K. S. Nimesulide Silver Metallodrugs, Containing the Mitochondriotropic, Triaryl Derivatives of Pnictogen; Anticancer Activity against Human Breast Cancer Cells. *Inorganic Chemistry*. **2016**, *55*, s. 8681–8696.
- [12] BERNAREGGI, A. Clinical Pharmacokinetics of Nimesulide. *Clinical Pharmacokinetics*. **1998**, *35* (4), s. 247–274.
- [13] BANTI, N. CH., PAPATRIANTAFYLLOPOULOU, C., MANOLI, M., TASIOPOULOS, J. A. a HADJIKAKOU, K. S. Nimesulide Silver Metallodrugs, Containing the Mitochondriotropic, Triaryl Derivatives of Pnictogen; Anticancer Activity against Human Breast Cancer Cells. *Inorganic Chemistry*. **2016**, *55*, s. 8681–8696.
- [14] Nimesulide – LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury. *National Library of Medicine* [online]. ©2016 [cit. 2023-03-01]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547948/>
- [15] MERLANI, G., FOX, M., OEHEN, P. H., CATHOMAS, G., RENNER L. E., FATTINGER, K., SCHNEEMANN, M. a KULLAK-UBLICK, A. G. Fatal hepatotoxicity secondary to nimesulide. *European Journal of Clinical Pharmacology*. **2001**, *57*, s. 321–326.
- [16] Informační zpravodaj – nežádoucí účinky léčiv. *Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. ©2010 [cit. 2023-02-28]. Dostupné z: <https://www.sukl.cz/nimesulid-a-zruseni-indikace-pro-symptomatickou-lecibu>
- [17] VASU, D., KEYAN, K. A., MOORTHI, P., SAKTHINATHAN, S., YU, L.-CH. a CHIU, W.-T. Toxic enviromental drug nimesulide detection and degradation using the Bi-functional vanadium and phosphorous doped graphitic carbon nitride nanosheets. *Journal of Enviromental Chemical Engineering*. **2023**, *11*, s. 1–15.
- [18] Safety Data Sheet. *Tocris and Biotechne brand* [online]. ©2020. Last Revised: 2010 [cit. 2023-02-26]. Dostupné z: https://documents.tocris.com/pdfs/tocris_msds/2470_sds.pdf?1677425045&_ga=2.213929623.1665141241.1677425049-700057184.1677231543
- [19] WARRINGTON, S. B. a HÖHNE, G. W. H. Thermal Analysis and Calorimetry. In: ELVERS, B., ed. *Ullmann's Encyklopedia of Industrial Chemistry*. 7th completely rev. ed. Weinheim: Wiley-VCH, **2011**, s. 415-421. Vol. 36. ISBN: 978-3-527-32943-4.
- [20] SEILEROVÁ, L., BRUSOVÁ, H., KRATOCHVÍL, B. a KREJČÍK, L. Využití metod termické analýzy ve výzkumu a vývoji léčiv. *Chemické listy*. **2012**, *106*, s. 890–895.

- [21] ŠTARHA, P. a TRÁVNÍČEK, Z. Termická analýza. *Univerzita Olomouc*. **2011**, s. 27–32. [cit. 2023-02-01]. Dostupné z: https://www.prf.upol.cz/fileadmin/userdata/PrF/katedry/afc/Studijni_materialy/Termicka_analyza.pdf
- [22] GREMLICH, H.-U. Infrared and Raman Spectroscopy. In: ELVERS, B., ed. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. 7th completely rev. ed. Weinheim: Wiley-VCH, **2011**, s. 210–211. Vol. 19. ISBN: 978-3-527-32943-4.
- [23] PINKAS, J. a LOSOS, Z. Termická analýza. *Masarykova univerzita Brno*. s. 1–11. [cit. 2023-02-23]. Dostupné z: <https://www.sci.muni.cz/chemsekce/tgir/termanal.pdf>
- [24] VANÍČEK, J. Metody termické analýzy. *Technická univerzita Liberec*. **2006**, s. 1–6. [cit. 2023-02-23]. Dostupné z: https://dspace.tul.cz/bitstream/handle/15240/49156/DSC_prednaska4.pdf?sequence=5
- [25] KORHONEN, E. Differential thermal analysis (DTA). *Aalto University Wiki* [online]. ©2020 [cit. 2023-02-21]. Dostupné z: <https://wiki.aalto.fi/pages/viewpage.action?pageId=149883990>
- [26] KLANČNIK, G., MEDVED, J. a MRVAR, P. Differential thermal analysis (DTA) and differential scanning calorimetry (DSC) as a method of material investigation. *RMZ – Material and Geoenvironment*. **2010**, 57 (1), s. 127–142.
- [27] CLAS, S.-D., DALTON, R. CH. a HANCOCK, C. B. Differential scanning calorimetry: applications in drug development. *Pharmaceutical Science and Technology Today*. **1999**, 2 (8), s. 311–320.
- [28] GABBOT, P. Principles and Applications of Thermal Analysis. 1st ed, *Blackwell Publishing Ltd*. Oxford (UK). **2008**. s. 2–47. ISBN 978-1-4051-3171-1.
- [29] ŠESTÁK, J. Thermophysical Properties of Solids: Their Measurements and Theoretical Thermal Analysis. Amsterdam: Elsevier, 1984, 440 s. ISBN: 978-0-4449-9653-4.
- [30] JOHNSON, A. W. a MEHL, F. R. Reaction Kinetics in Processes of Nucleation and Growth. *American Institute of Mining and Metallurgical Engineers*. **1939**, 135, s. 416–442.
- [31] KISSINGER, E. R. Reaction Kinetics in Differential Thermal Analysis. *Analytical Chemistry*. **1957**, 29 (11), s. 1702–1706.
- [32] FRIEDMAN, L. H. Kinetics of Thermal Degradation of Char-forming Plastic from Thermogravimetry. Application to a Phenolic Plastic. *Journal of Polymer Science: Part C*. **1964**, 6, s. 183–195.

- [33] FLYNN, H. J. a WALL, A. L. General Treatment of the Thermogravimetry of Polymers. *Journal of Research of the National Bureau of Standards: Part A – Physics and Chemistry*. **1966**, 70 (6), s. 487–523.
- [34] MULVANEY, P. S. a KEATING, D. CH. Raman Spectroscopy. *Analytical Chemistry*. **2000**, 72 (12), s. 145–157.
- [35] BUMBRAH, S. G. a SHARMA, M. R. Raman spectroscopy – Basic principle, instrumentation and selected applications for the characterization of drugs of abuse. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*. **2016**, 6, s. 209–215.
- [36] YIN, F., ZHANG, X., FAN, A., LIU, X., XU, J., MA, X., YANG, L., SU, H., XIE, H., WANG, X., GAO, H., WANG, Y., ZHANG, H., ZHANG X., JIN, P. a SHENG, J. A novel detection technology for early gastric cancer based on Raman spectroscopy. *Spectrochimica Acta Parta A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. **2023**, 292, s. 1–12.
- [37] VANDENABEELE, P. Raman spectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. **2010**, 397, s. 2629–2630.
- [38] Raman spectroscopy. *Fact Index* [online]. [cit. 2023-02-23]. Dostupné z: http://www.fact-index.com/r/ra/raman_spectroscopy.html
- [39] PAPPAS, D., SMITH, W. B. a WINEFORDNER, D. J. Raman spectroscopy in bioanalysis. *Talanta*. **2000**, 51, s. 131–144.
- [40] BAUMRUK, V. *Instrumentace Ramanovy spektroskopie* [online]. Univerzita Karlova (Praha), [cit. 2023-02-23]. Dostupné z: <http://alma.karlov.mff.cuni.cz/ooe012/RS%20instrumentace.pdf>
- [41] BELL, J. R. Fourier Transform Spectroscopy: *Introductory Fourier Transform Spectroscopy* [online]. New York (USA): Academic Press. **1972**. [cit. 2023-02-23]. LCCN: 70-182606. Dostupné z: https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=OQwsgcuX3NYC&oi=fnd&pg=PP1&dq=ft+spectroscopy&ots=Tq7tX1DYh0&sig=SgQq1tJTtE4eQYkhgGtgFhHi1Zo&redir_esc=y#v=onepage&q=ISBN&f=false
- [42] GÁLICO, A. D., PERPÉTUO, L. G., CASTRO, E. A. R., TREU-FILHO, O., LEGENDRE, O. A., GALHIANE, S. M. a BANNACH, G. Thermoanalytical study of nimesulide and their rycrystallization products obtained from solutions of several alcohols. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. **2013**, 115, s. 2385–2390.
- [43] RASCONI, R., CENSI, R., MALAJ, L. a DI MARTINO, P. Effect of particle size reduction and crystalline form on dissolution behaviour of nimesulide. *Journal of Thermal Analytisis and Calorimetry*. **2016**, 123, s. 2213–2223.

- [44] WEI, W., EVSEENKO, I. V., KHVOSTOV, V. M., BORISOV, A. S., TOLSTIKOVA, G. T., POLYAKOV, E. N., DUSHKIN, V. A., XU, W., MIN, L. a SU, W. Solubility, Permeability, Anti-Inflammatory Action and In Vivo Pharmacokinetic Properties of Several Mechanochemically Obtained Pharmaceutical Solid Dispersions of Nimesulide. *Molecules*. **2021**, *26*, s. 1–20.
- [45] KNAPIK, J., WOJNAROWSKA, Z., GRZYBOWSKA, K., TAJBER, L., MESALLATI, H., PALUCH, J. K. a PALUCH, M. Molecular Dynamics and Physical Stability of Amorphous Nimesulide Drug and Its Binary Drug-Polymer System. *Molecular Pharmaceutics*. **2016**, *13*, s. 1937–1946.
- [46] ZHANG, J., SHI, Q., QU, T., ZHOU, D. a CAI, T. Crystallization kinetics and molecular dynamics of binary coamorphous systems of nimesulide and profen analogs. *International Journal of Pharmaceutics*. **2021**, *610* (15), s. 1–11.
- [47] ALHALAWEH, A., ALZGHOUL, A., MAHLIN, D. a BERGSTRÖM, C. Physical stability of drugs after storage above and below the glass transition temperature: Relationship to glass-forming ability. *International Journal of Pharmaceutics*. **2015**, *495*, s. 312–317.
- [48] SANPHUI, P., SARMA, B. a NANDIA, A. Phase Transformation in Conformational Polymorphs of Nimesulide. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2011**, *100* (6), s. 2287–2298.
- [49] KESTUR, S. U., VAN EERDENBRUGH, B. a TAYLOR, S. L. Influence of polymer chemistry on crystal growth inhibition of two chemically diverse organic molecules. *CrystEngComm Journal – The Royal Society of Chemistry*. **2011**, *13*, s. 6712–6718.
- [50] BARRIO, M., HUGUET, J., ROBERT, B., RIETVELD, B. I., CÉOLIN, R. a TAMARIT, LI. J. Pressure-temperature phase diagram of the dimorphism of the anti-inflammatory drug nimesulide. *International Journal of Pharmaceutics*. **2017**, *525*, s. 54–59.
- [51] SHI, Q., WANG Y. a KONG, J. Crystallization of Amorphous Nimesulide: The Relationship between Crystal Growth Kinetics and Liquid Dynamics. *Molecules*. **2023**, *28* (7), s. 1–14.
- [52] LAKWANI, G., SHERIKAR, D.O. a MEHTA, J. P. Nondestructive and Rapid Concurrent Estimation of Paracetamol and Nimesulide in Their Combined Dosage Form Using Raman Spectroscopic Technique. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2013**, s. 211–216.
- [53] SVOBODA, R., ROMANOVÁ, J., ŠLANG, S., OBADALOVÁ, I., KOMERSOVÁ, A. Influence of particle size and manufacturing conditions on the recrystallization of amorphous Enzalutamide. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2020**, s. 105468.