

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Lucie Holčáková

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Růst krystalů v amorfním léčivu nifedipin  
Bakalářská práce

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2023/2024

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lucie Holčáková**  
Osobní číslo: **C21173**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Téma práce: **Růst krystalů v amorfním léčivu Nifedipin**  
Téma práce anglicky: **Crystal Growth in Amorphous Nifedipine**  
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

- Provedte literární rešerši týkající se zadaného tématu.
- Připravte a charakterizujte vzorky amorfního Nifedipinu.
- Změřte rychlosti růstu krystalů v připravených vzorcích.
- Naměřená data analyzujte a zhodnoťte s využitím současné odborné literatury.
- Získané výsledky předložte ve formě bakalářské práce.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

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

Datum zadání bakalářské práce: **22. prosince 2023**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

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

L.S.

**doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 29. února 2024

Prohlašuji: Práci s názvem Růst krystalů v amorfním léčivu nifedipin 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 17. 6. 2024

Lucie Holčáková

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych vyjádřila své upřímné poděkování vedoucímu mé bakalářské práce, panu Ing. Jaroslavu Bartákovi, Ph.D., za jeho čas, trpělivost a pomoc při psaní práce i při měření dat v experimentální části. Velmi si vážím Vašeho vedení, rad a konzultací.

Dále bych chtěla poděkovat své rodině za neustálou podporu a povzbuzení, které mi poskytovali po celou dobu mého studia. Mé díky také patří mým kamarádům za jejich přátelství a pomoc, které mi pomohlo překonat obtížné chvíle a dosáhnout tohoto cíle.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce se zabývá analýzou rychlosti růstu krystalů v amorfním léčivu v závislosti na teplotě. Specifickým objektem studia je léčivo nifedipin, používané k léčbě hypertenze a anginy pectoris. Růst krystalů v amorfní formě nifedipinu v oblasti podchlazené taveniny byl monitorován pomocí optické mikroskopie.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

nifedipin, růst krystalů, sklo, amorfní léčivo

## **TITLE**

Crystal growth in amorphous Nifedipine

## **ANNOTATION**

This bachelor thesis focuses on analyzing the temperature dependence of crystal growth rate in an amorphous drug. The specific subject of this study is Nifedipine, that can be used for treating hypertension and angina pectoris. The crystal growth in the amorphous form of Nifedipine within the region of undercooled melt was monitored using optical microscopy.

## **KEYWORDS**

Nifedipine, crystal growth, glass, amorphous drug

# OBSAH

ÚVOD.....	12
1. TEORETICKÁ ČÁST .....	13
1.1. Sklo .....	13
1.2. Krystalizace .....	14
1.3. Techniky pro studium krystalizace – metody termické analýzy.....	15
1.4. Techniky pro studium krystalizace – metody spektroskopické analýzy.....	18
1.5. Techniky pro studium krystalizace – metody mikroskopické analýzy .....	20
1.6. Nifedipin .....	23
2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	28
2.1. Příprava amorfních vzorků nifedipinu .....	28
2.2. Mikroskopie .....	28
2.3. Vyhodnocení rychlostí růstu krystalů .....	29
3. VÝSLEDKY A DISKUZE .....	33
3.1. Struktura rostoucích krystalů .....	33
3.3. Rychlosti růstu krystalů .....	36
3.4. Výpočet aktivační energie růstu krystalů v amorfním nifedipinu .....	38
4. ZÁVĚR .....	40
5. POUŽITÁ LITERATURA .....	41

## SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1 Závislost změny objemu sklotvorné taveniny na teplotě [2].....	13
Obrázek 2 Křivka s typickými endoermními a exoermními ději DSC u sacharózy [12] .....	16
Obrázek 3 Křivka z termochemické analýzy [2] .....	17
Obrázek 4 Strukturní vzorec nifedipinu [44] .....	24
Obrázek 5 Optický mikroskop OLYMPUS BX5, vybavený optickou kamerou DP72 a integrovaným temperačním stolkem LINKAM.....	29
Obrázek 6 Měření velikosti krystalů pomocí úsečky v programu Stream Essential při 100násobném zvětšení při teplotě 115 °C tyto snímky jsou focené po 2 sekundách, při čemž první snímek byl pořízen po 4 sekundách od dosažení dané teploty.....	30
Obrázek 7 Závislost velikosti krystalu na čase při 115 °C .....	31
Obrázek 8 Graf zpomalení růstu krystalů nifedipinu při 115 °C .....	32
Obrázek 9 Zpomalení růstu krystalů z důvodu spojení při 85 °C.....	32
Obrázek 10 Krystaly nifedipinu při 70 °C .....	34
Obrázek 11 Krystaly nifedipinu při 110 °C .....	35
Obrázek 12 Porovnání naměřených dat rychlosti růstu krystalů na teplotě .....	37
Obrázek 13 určení aktivační energie .....	39
Tabulka 1 Porovnání optické a elektronové mikroskopie a mikroskopie skenující sondou.....	23
Tabulka 2 Nežádoucí účinky nifedipinu:.....	25
Tabulka 3 naměřená data nifedipinu.....	36

## SEZNAM SYMBOLŮ

A	Preexponenciální faktor
$E_g$	Aktivační energie růstu krystalů
h	Výška vzorku
q	Rychlost chlazení
R	Univerzální plynová konstanta
T	Teplota
$T_c$	Teplota krystalizace
$T_g$	Teplota skelného přechodu
$T_m; T_t$	Teplota tání
$T_s$	Teplota měknutí vzorku
V	Objem
$\Delta H$	Změna entalpie

## SEZNAM ZKRATEK

AFM	Mikroskopie atomárních sil
AP	Angina pectoris
DSC	Diferenční skenovací kalorimetrie
EKG	Elektrokardiogram
SEM	Skenující elektronová mikroskopie/Skenující elektronový mikroskop
SPM	Mikroskopie skenující sondou
STEM	Skenovací transmisní elektronová mikroskopie/Skenovací transmisní elektronový mikroskop
STM	Skenovací tunelová mikroskopie
TEM	Transmisní elektronová mikroskopie/Transmisní elektronový mikroskop
TGA	Termogravimetrická analýza
TMA	Termomechanická analýza
XRD	Rentgenová difrakce
XRDP	Prášková rentgenová difrakce

## ÚVOD

Krystalizace hraje podstatnou roli v oblasti farmaceutických věd, zejména při vývoji a optimalizaci pevných lékových forem. Tento proces ovlivňuje nejen fyzikální a chemické vlastnosti léčiv, ale také jejich biologickou dostupnost a stabilitu. V této práci jsem se zaměřila na růst krystalů nifedipinu v amorfním léčivu.

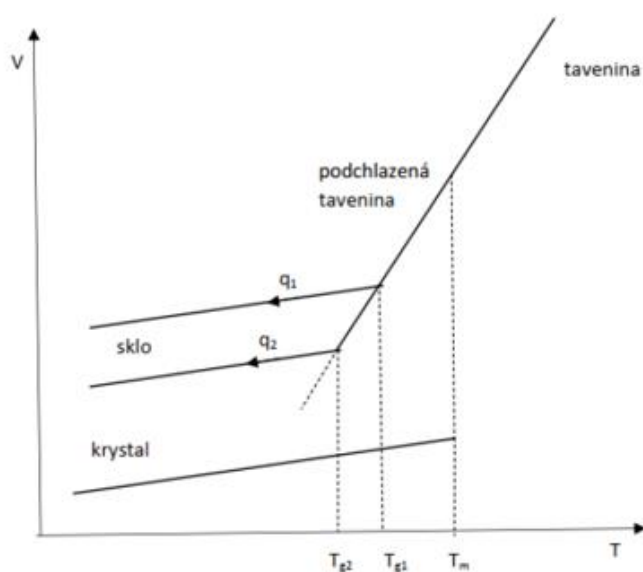
Nifedipin, známý jako antihypertenzivum a antianginózní léčivo, existuje ve dvou hlavních pevných formách: krystalické a amorfní. Amorfní forma nifedipinu nabízí výhodu zvýšené rozpustnosti a biologické dostupnosti, avšak je méně stabilní a náchylná k přeměně na krystalickou formu. Tato transformace může mít vliv na terapeutickou účinnost a skladovací stabilitu léčiva.

# 1. TEORETICKÁ ČÁST

Tato práce se zabývá studiem růstu krystalů v amorfním léčivu. Amorfní látky jsou materiály, které nemají pravidelnou krystalickou strukturu. Na rozdíl od krystalických látek, kde jsou atomy uspořádány v pravidelném a opakujícím se vzoru jsou atomy v amorfních látkách rozmístěny náhodně. To znamená, že amorfní látky postrádají pravidelné uspořádání na dlouhou vzdálenost. Jedním ze způsobů přípravy amorfního materiálu je rychlé chlazení jejich taveniny, aby nedošlo ke krystalizaci. Tímto způsobem vznikají amorfní látky známé jako skla. Vzhledem k přípravě amorfního nifedipinu chlazením jeho taveniny se teoretická část této práce zaměřuje na definici skla následně na studium procesů krystalizace, a nakonec na specifické léčivo – nifedipin.

## 1.1. Sklo

Sklo je materiál, který se vyznačuje tím, že nemá definovanou krystalickou strukturu, což znamená, že jeho atomy nejsou uspořádány do pravidelné krystalové mřížky. Tento termín se obvykle používá pro popis anorganických materiálů a nezahrnuje plastické nebo jiné organické látky. Sklo má tendenci být tvrdé a křehké, přičemž jeho vnitřní struktura je homogenní a amorfní. Amorfní struktura vzniká důsledkem roztavením daného materiálu a následným rychlým ochlazením taveniny, což způsobuje že atomy nemají čas uspořádat se do pravidelné krystalové struktury, a místo toho zůstávají v neuspořádaném stavu. [1]



Obrázek 1 Závislost změny objemu sklotvorné taveniny na teplotě [2]

Obrázek 1 ukazuje závislost objemu ( $V$ ) sklotvorné taveniny na teplotě ( $T$ ). Pokud taveninu ochlazujeme příliš pomalu, dojde ke skokovému snížení objemu při dosažení teploty tání ( $T_m$ ), kdy dochází k přeuspořádání strukturních jednotek do krystalové mřížky. Naopak při dostatečně rychlém ochlazení taveniny nedochází k úplnému přeuspořádání struktur a vzniká podchlazená tavenina. Pokračuje-li chlazení podchlazené taveniny, její viskozita narůstá až do dosažení teploty skelného přechodu ( $T_g$ ). Kdy se tavenina mění v tuhé sklo. Graf také ukazuje, že změnou rychlosti chlazení ( $q_1 > q_2$ ) můžeme připravit sklo v různých termodynamických stavech, což je ovlivněno posunem teploty skelného přechodu. [3]

## 1.2. Krystalizace

Krystalizace je proces, při kterém se atomy, nebo molekuly uspořádávají do pravidelné a dobře definované struktury nazývané krystalová mřížka. Tato mřížka funguje jako pevný rám, ve kterém se atomy, nebo molekuly usazují do pravidelných vzorců, s cílem minimalizovat jejich energetický stav. Nejmenší jednotkou této struktury je základní buňka, ke které se mohou připojovat další atomy/molekuly, čímž dochází k růstu makroskopického krystalu. [4]

Růst krystalů je děj, při kterém se zvyšuje velikost jádra, která dosahuje kritické velikosti shluku, to je minimální velikost jádra, která musí být dosažena pro jeho růst. Mnoho chemických sloučenin má schopnost krystalizovat, přičemž některé z nich mohou mít různé krystalové struktury, což se nazývá polymorfismus. Některé z těchto polymorfů mohou být metastabilní, což znamená, že i když nejsou v termodynamické rovnováze, jsou kineticky stabilní a vyžadují určitý přísun energie k přeměně na rovnovážné fáze. [5] Během krystalizace se atomy a základní buňky spojují dohromady s přesnými úhly, čímž vytvářejí charakteristický krystalový tvar s hladkými povrchy a stěnami. Tyto krystaly mají často různé roviny v krystalové struktuře, což přispívá k jejich jedinečnému vzhledu. [6] Krystalizace vyžaduje dvě podstatné události: nukleaci, kdy se atomy nebo molekuly shlukují v mikroskopickém měřítku, a růst krystalů, kdy se tyto shluky stávají stabilními a začnou zvětšovat svou velikost. Oba děje jsou řízené termodynamicky. Podmínky jako teplota, koncentrace částic, tlak a čistota materiálu mohou ovlivnit uspořádání částic během nukleační fáze. Krystalizace může probíhat jak přirozeně, například při tvorbě sněhových vloček, nebo drahokamů, tak uměle například při výrobě syntetických drahokamů nebo krystalů cukru. Rychlost ochlazení roztoku a míra odpařování mohou výrazně ovlivnit velikost a tvar výsledných krystalů pomalejší odpařování obvykle vede k větším krystalům s jednotnějším tvarem. [6]

Krystalizace je nejenom běžným jevem v přírodě, ale také má široké uplatnění v průmyslu. V přírodě můžeme pozorovat krystalizaci například při tvorbě ledových krystalů nebo při procesu krystalizace minerálů. V průmyslu se využívá jako krok při procesu separace a čištění látek. Především v oblasti farmacie, chemie a potravinářství. [6]

V této kapitole jsme probrali základy krystalizace a nyní se zaměříme na techniky, které umožňují pozorovat mechanismy krystalizace.

### **1.3. Techniky pro studium krystalizace – metody termické analýzy**

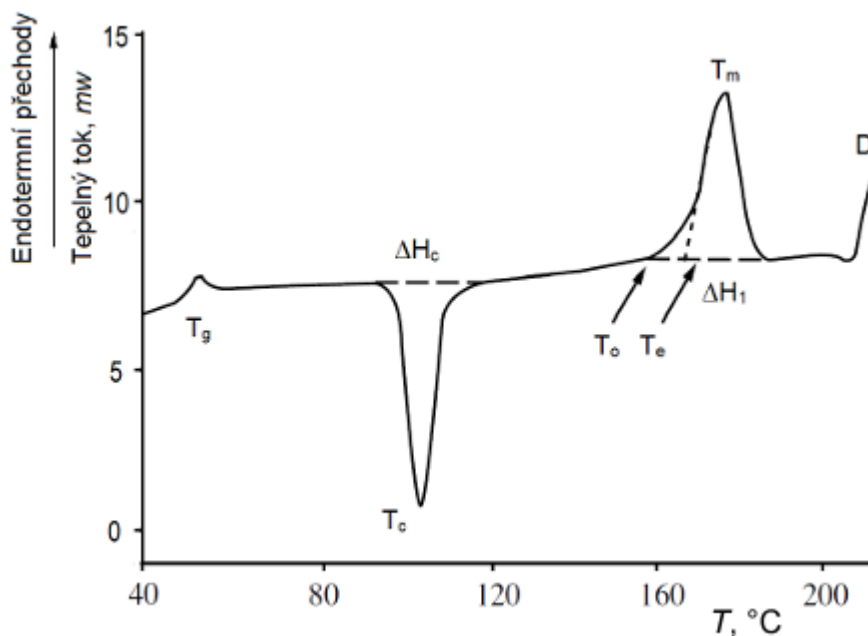
Termická analýza zahrnuje velké množství metod, které jsou mimo jiné také využívány ke studiu procesu krystalizace v amorfních materiálech. Tyto metody jsou zaměřeny na zkoumání různých fyzikálních vlastností a jejich změn v závislosti na daném teplotním programu. [7] Na základě sledované vlastnosti, jako je velikost, nebo výška vzorku, teplota vzorku, elektrická vodivost a podobně, lze získat informace o fyzikálních a chemických procesech probíhajících ve zkoumaných vzorcích, jako jsou entalpické změny daných procesů, charakteristické teploty, nebo stupeň konverze daných procesů, který je nezbytný pro určení kinetiky daných procesů. [8] V následujících kapitolách se zaměříme na nejběžnější experimentální techniky termické analýzy, které se hojně používají při studiu kinetiky krystalizace v amorfních materiálech. [7]

#### **DIFERENČNÍ SKENOVACÍ KALORIMETRIE**

Do metod termické analýzy patří diferenční skenovací kalorimetrie (DSC), která představuje techniku pro studium tepelných změn v materiálech během různých procesů, jako jsou krystalizace, tání, skelný přechod nebo chemická reakce. [9]

V kalorimetru s principem tepelného toku jsou vzorek a referenční materiál umístěny v uzavřené cele, propojené tepelným mostem s vysokou tepelnou vodivostí a definovaným tepelným odporem. Oba materiály jsou během experimentu zahřívány stejnou rychlostí pomocí externího tepelného zdroje. Teplotní senzory umístěné na vzorku a referenčním materiálu sledují teplotní rozdíl mezi nimi. Naměřený tepelný tok je přímo úměrný tomuto teplotnímu rozdílu. Tímto způsobem je možné zjistit bod tání, teplotu skelného přechodu a fázové přeměny nejen ve farmacii. [10] Když vzorek přechází ze skelné fáze do oblasti podchlazené taveniny, mění se jeho tepelná kapacita, což se projevuje endotermní změnou na DSC křivce (Obrázek 2) a umožňuje tak určit hodnotu  $T_g$ . Zkoumáním tohoto procesu při různých teplotních

programech můžeme získat údaje o skelné transformaci a relaxaci (fyzikálním stárnutí) vzorku. Tento jev souvisí s přechodem vzorku z termodynamicky nerovnovážného stavu do stavu pseudorovnovážného, který odpovídá podchlazené tavenině při dané teplotě. [11]



Obrázek 2 Křivka s typickými endotermními a exotermními ději DSC u sacharózy [12]

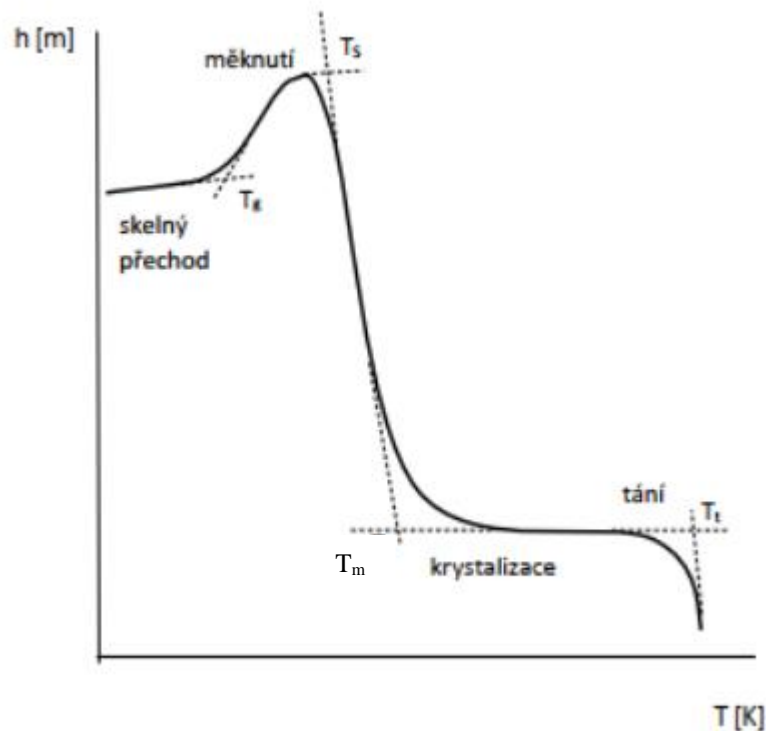
Z termogramu získaného z DSC experimentu můžeme získat informace o změně entalpie ( $\Delta H$ ) tepelných událostí, která slouží k porovnání energetické náročnosti procesů a porozumění energetickým změnám v materiálech. Dalším parametrem je teplota krystalizace ( $T_c$ ), což je teplota, při které daný materiál krystalizuje. Vzdálenost (rozdíl) mezi  $T_g$  a  $T_c$  pak také vypovídá o stabilitě skelného materiálu a je důležitý také pro jeho další zpracování. Další důležitou oblastí je kinetika tepelných procesů, která poskytuje informace o rychlosti nukleace a růstu krystalů. [13]

Tato práce se zaměřuje na studium amorfního léčiva, přičemž pro farmaceutické látky se využívá kombinace diferenční skenovací kalorimetrie (DSC) a termogravimetrické analýzy (TGA), což je metoda, která měří změny hmotnosti materiálu v závislosti na teplotě. TGA poskytuje informace o teplotní stabilitě materiálu, jeho složení a reakcích, které probíhají při zahřívání, jako je odpařování, rozklad nebo oxidace. Metody tepelné analýzy poskytují informace o tepelných vlastnostech, jako je teplota tání, teplota rozkladu, a kompatibilita, která

určuje, zda je léčivo slučitelné s jinými látkami v lékové formě. Kromě toho nabízejí náhled na fyzikální vlastnosti, jako jsou polymorfní přeměny a interakce mezi léčivými a pomocnými látkami. [14]

## TERMOMECHANICKÁ ANALÝZA

Principem termomechanické analýzy (TMA) je sledování změn rozměru materiálu v závislosti na teplotním programu. Na základě těchto změn TMA umožňuje kvantifikovat roztažnost a body měknutí materiálů. [15]



Obrázek 3 Křivka z termochemické analýzy [2]

Termomechanická analýza umožňuje studium změn ve fyzikálních vlastnostech materiálu v závislosti na teplotě. Následující popis se vztahuje k typické křivce získané pomocí TMA (Obrázek 3). V počáteční fázi dochází k nárůstu výšky ( $h$ ) vzorku při zahřívání. Toto zvětšení lze využít k určení hodnoty koeficientu teplotní roztažnosti skla. Při přechodu do

oblasti podchlazené taveniny se změni směrnice závislosti výšky vzorku na teplotě. Tato změna umožňuje určit teplotu skelného přechodu ( $T_g$ ) a následně také hodnotu koeficientu délkové teplotní roztažnosti podchlazené taveniny. Dalším ohřevem dochází ke snižování viskozity vzorku, což se projevuje jeho roztékáním. Tento jev umožňuje určit teplotu měknutí vzorku ( $T_s$ ). Roztékání pokračuje, dokud ve vzorku nezačnou růst krystaly, což zastaví pokles výšky vzorku. Tím lze určit teplotu krystalizace ( $T_c$ ). Pokud by se vzorek dále zahříval, došlo by k jeho úplnému roztečení při teplotě tání ( $T_m$ ). [16]

#### **1.4. Techniky pro studium krystalizace – metody spektroskopické analýzy**

Po metodách termické analýzy se nyní přesuneme k další kapitole, která se zabývá metodami spektroskopické analýzy. Tyto techniky poskytují informace o struktuře a interakcích mezi atomy a molekulami v daném materiálu.

Spektroskopie se zaměřuje na analýzu molekulární struktury, nikoliv na fyzický tvar materiálu. Tyto metody poskytují informace o funkčních skupinách materiálu a uspořádání atomů. [17]

Mezi příklady spektroskopických metod používané pro studium krystalizace patří Ramanův rozptyl a rentgenová difrakce (XRD). V obou metodách je důležité získat informace o rozložení atomů a vazeb v materiálech. To umožňuje pochopit jejich vlastnosti a chování. Tyto metody se také často používají v kombinaci s jinými spektroskopickými metodami, jako je infračervená spektroskopie, pro získání souhrnnějších informací o materiálech. [18]

#### **RENTGENOVÁ DIFRAKCE**

Princip XRD spočívá v interakci rentgenového záření s krystalovou mřížkou. Rentgenové paprsky dopadající na vzorek se rozptylují pod specifickými úhly od každé mřížkové roviny. Tyto úhly rozptylu jsou specifické pro danou strukturu materiálu a umožňují nám rekonstruovat jeho krystalovou strukturu. Na rozdíl od jiných metod XRD nenarušuje strukturu krystalických látek, což umožňuje pozorování vzorků bez jejich poškození. [19]

Rozptylem rentgenové difrakce záření na krystalickém vzorku vznikají difrakční linie v XRD záznamu. Intenzita a poloha těchto linií je určena uspořádáním atomů v krystalu. V letech 2010–2015 došlo k významnému pokroku rentgenové difrakce, který ovlivnil oblasti jako farmacie, forenzní vědy, geologie, mikroelektroniky a výroby skla. [20] Prášková rentgenová difrakce (XRDP) se stala efektivním nástrojem v oblasti farmaceutických věd, díky své

schopnosti poskytovat podrobnější informace, umožnila její rozšíření do nových oblastí výzkumu. Takový vývoj otevírá nové možnosti pro výzkum a vývoj léčivých přípravků. [21]

## RAMANŮV ROZPTYL

Kvůli nedostatečné intenzitě Ramanova jevu a absenci vhodného silného světelného zdroje, se Ramanova spektroskopie dlouhou dobu nedostávala do širšího využití, dokud nebyl vynalezen laser v roce 1961. Při analýze Ramanova spektra není potřeba složitá příprava vzorku. Lze testovat pevné, plynné i kapalně vzorky, aniž by došlo k jejich poškození. Tato technika má také další výhody, jako je jednoduchý postup, rychlé získání výsledků a vysoká citlivost. Každá látka má své vlastní charakteristické Ramanovo spektrum, protože Ramanova aktivní vibrace odpovídá změně molekulární polarizace. [22]

Princip Ramanova rozptylu spočívá v interakci záření s molekulou, což způsobuje změnu v její vibrační energii. Tato metoda umožňuje získat informace o vibračních spektrech materiálů a je často využívána k analýze struktury molekul a krystalů. [18]

Tato metoda využívá rozptylu světla z intenzivního laserového zdroje molekulami vzorku. Většina rozptýleného světla má stejnou vlnovou délku jako zdroj, což se označuje jako Rayleighův rozptyl. Avšak malá část světla se rozptyluje na různých vlnových délkách podle chemické struktury analytu, což se nazývá Ramanův rozptyl. Ramanovo spektrum je charakterizováno vrcholy, které zobrazují intenzitu a polohu vlnové délky Ramanova rozptylu. Každý vrchol ve spektru odpovídá specifické vibraci molekulární vazby, včetně jednotlivých vazeb (např. CC, C=C, NO, CH) a skupin vazeb. [23]

Ve farmacii Ramanova spektroskopie nabízí širokou škálu aplikací. Pomáhá nejen při analýze chemického složení vzorků, ale také při zkoumání jejich mikrostruktury a procesů, které probíhají během farmaceutického vývoje od raných fází vývoje léčiv až po kontrolu kvality ve výrobních procesech.

Ramanův rozptyl se využívá při studiu krystalizace k identifikaci začátku krystalizace a různých krystalických fází materiálu. Každá krystalická fáze má jedinečné vibrace, které se projeví v Ramanově spektru, což umožňuje přesné určení fáze. [24] Dále umožňuje monitorování procesu krystalizace v reálném čase, což se využívá pro pochopení kinetiky krystalizace. Další využití Ramanova rozptylu je ve studiu polymorfismu, což je jev, kdy stejná látka může krystalizovat v různých strukturách, které mají odlišné fyzikální vlastnosti. [25]

Po metodách termické analýzy, které slouží k zjištění tepelných vlastností, se nyní přesuneme k další kapitole, která se zabývá metodami spektroskopické analýzy. Tyto techniky poskytují informace o struktuře a interakcích mezi atomy a molekulami.

## **1.5. Techniky pro studium krystalizace – metody mikroskopické analýzy**

Mikroskopická analýza je nezbytná pro získání detailních informací o vlastnostech vzorků na mikroskopické úrovni. Využívá se optická mikroskopie v ultrafialové, viditelné či infračervené oblasti záření, ale také elektronová mikroskopie a mikroskopie skenovací sondou k zobrazení s vysokým rozlišením. Tyto metody jsou důležité pro charakterizaci vzorků v oblastech jako biologie, chemie a materiálové vědy.

### **OPTICKÁ MIKROSKOPIE**

V dnešní době existuje mnoho druhů mikroskopů pro pozorování v mikro/nanoměřítku, od speciálních fluorescenčních a elektronových mikroskopů až po tradiční optické mikroskopy. Optická mikroskopie se vyznačuje nedestruktivní povahou a rychlostí pozorování, která ji činí ideální pro studium citlivých vzorků a dynamických procesů.

Nicméně, zobrazovací rozlišení optických mikroskopů je omezeno jevem zvaným optická difrakce. Tento jev, způsobený vlnovou povahou světla, vede k rozptylu zdrojové vlny procházející čočkou a k rozostření obrazu na rovině obrazu. S rostoucím zvětšením se vlnová délka zdrojového světla a velikost pozorovaných objektů přibližují, čímž se optická difrakce stává významnějším faktorem. [26]

Optické mikroskopické metody jsou založeny na principu využívání viditelného světla k pozorování a analýze vzorků na mikroskopické úrovni. [27] V kontextu studia krystalizace je optická mikroskopie zásadní pro vizualizaci nukleace, růstu a morfologie krystalů. Tato technika umožňuje sledovat formaci krystalů a analyzovat jejich charakteristiky prostřednictvím interakce světla se vzorkem. Je důležité, aby v dané světelné oblasti měly jak krystal, tak zbylá amorfni matrice rozdílné optické vlastnosti. Díky tomu můžeme sledovat proces nukleace, monitorovat růst krystalů z analýzy velikostí, tvaru a distribuce krystalů ve vzorku. Analýzou získaných fotografií se získávají poznatky o kinetice krystalizace. [28]

## ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE

Mezi další mikroskopické techniky využívané k charakterizaci vzorků a studiu krystalizace patří elektronová mikroskopie, která se skládá z elektronového zdroje, obvykle s wolframovým vláknem, zahřátým na vysoké teploty a emituje elektrony. [29] V elektronovém mikroskopu se využívá vysokého vakua nezbytného pro zajištění nerušeného pohybu elektronů a stability elektronového svazku. [30] Elektrony jsou v mikroskopu urychlovány elektrickým polem s vysokým napětím (typicky 40–200 kV) [31], čímž elektrony získají energii a zrychlí na vysokou rychlost. [32] Svazek elektronů prochází kondenzorovými čočkami, které ho soustřeďují a tvoří rovnoměrný paprsek. Následně prochází elektrony objektivem, elektromagnetickou čočkou, která je zaostří na vzorek. Elektrony ze svazku pak interagují s atomy ve vzorku, buď jsou rozptýleny, absorbovány nebo procházejí vzorkem. Detektory jsou umístěny za vzorkem, nebo nad ním a zaznamenávají elektrony, které prošly nebo byly rozptýleny vzorkem, případně které byly odraženy, nebo sekundárně emitované z povrchu vzorku. [33]

Elektronová mikroskopie je široce používána při studiu krystalizace. Umožňuje detailní pozorování růstu a morfologie krystalů, což je zásadní pro pochopení mechanismů krystalizace a optimalizaci procesů, které jsou na tomto jevu založeny. Krystalizace může být pozorována v reálném čase, což umožňuje studium dynamiky tohoto procesu v nanoměřítku. [34]

V biologickém výzkumu elektronová mikroskopie umožňuje získat vysoké rozlišení snímků buněk, organel a makromolekulárních komplexů. Tyto informace lze použít k důkladnému studiu struktury a funkce biologických systémů. Vysoké rozlišení elektronové mikroskopie odhaluje jemné detaily, které nejsou dostupné pomocí světelné mikroskopie. Přináší však určité nesnáze jako je příprava vzorku [35], vakuové prostředí, které může být pro vzorky destruktivní [36] a dále kontrast a barvení [35].

V souvislosti s elektronovou mikroskopií existují dva hlavní druhy elektronových mikroskopů. Skenující elektronový mikroskop (SEM) a transmisní elektronový mikroskop (TEM). Nověji byl vyvinut kombinovaný skenovací transmisní elektronový mikroskop (STEM). SEM získává obraz pomocí odražených elektronů a fotonů, zatímco TEM se zaměřuje na elektrony prošlé přes vzorek [37]. SEM poskytuje 2D informace o tvaru částic, ale pomocí speciálních detektorů je také možné získat 3D morfologii povrchu částic. [38]

## MIKROSOPIE SKENUJÍCÍ SONDOU

Dalším speciálním typem mikroskopických technik je mikroskopie skenující sondou (SPM). SPM využívá sondy, která se pohybuje po povrchu vzorku. Interakce mezi sondou a vzorkem jsou využity k regulaci vzdálenosti a získání detailních map topografie vzorku. Tato technika také umožňuje získání informací o různých fyzikálních a chemických vlastnostech vzorku. Mezi nejběžnější metody SPM patří skenovací tunelová mikroskopie (STM) a mikroskopie atomárních sil (AFM). [39]

STM využívá tunelovací proud mezi hrotem a vodivým povrchem vzorku k zobrazování atomární struktury vodivých vzorků, nebo polovodivých vzorků. Tato metoda je vhodná pro studium povrchové fyziky a elektrických vlastností. [40]

AFM využívá odpudivých a přitažlivých meziatomární sil mezi hrotem a povrchem vzorku, které mohou být vodivé i nevodivé. Tato metoda je vhodná pro biologické, materiálové a nanotechnologické aplikace. [41]

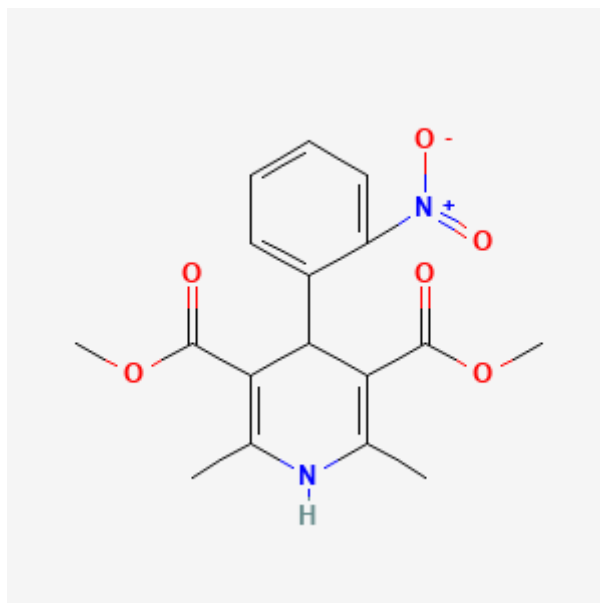
Principy práce SPM spočívají v tom, že hrot skenuje povrch vzorku podobně jako jehla gramofonové desky sleduje drážky na desce. SPM získává obraz tím, že hrot prochází přes vzorek tam a zpět, postupně skenuje po řádcích a zároveň snižuje rychlost skenování ve svislém směru přes celou oblast obrazu. Velikost obrazu, kterou SPM získává, může být velká až 100 mikrometrů nebo jen několik nanometrů. Tradiční technologie polohování jsou nevhodné, protože by vytvářely pohyb v měřítku, které by bylo mnohem větší, než je potřeba. Namísto toho se pro umístění vzorků pro SPM využívají piezoelektrické krystaly. Tyto keramické materiály se rozšiřují, když jsou vystaveny elektrickému poli, což umožňuje pohyby v nanoměřítku. [42] V následující Tabulce 1 je uvedeno srovnání zmíněných mikroskopických technik z této kapitoly.

Tabulka 1 Porovnání optické a elektronové mikroskopie a mikroskopie skenující sondou

Vlastnost	Optická mikroskopie	Elektronová mikroskopie	Mikroskopie skenující sondou
Zdroj	Viditelné světlo	Elektrony	Sonda (např. hrot STM, AFM)
Rozlišení	0,2 $\mu\text{m}$	0,1 nm - 2 nm	Atomové až subatomové
Princip	Interakce světla se vzorkem	Interakce elektronů se vzorkem	Interakce skenující sondy se vzorkem
Informace	Tvar, barva, struktura	Tvar, struktura, chemické složení	Tvar, struktura, chemické a fyzikální vlastnosti
Příklady	Světlený mikroskop, fluorescenční mikroskop	Skenovací elektronový mikroskop (SEM), transmisní elektronový mikroskop (TEM)	Skenovací tunelová mikroskopie (STM), mikroskopie atomárních sil (AFM)
Výhody	Nízká cena, snadné použití	Vysoké rozlišení	Vysoké rozlišení, nedestruktivní
Nevýhody	Nízké rozlišení	Vysoká cena, složitější použití	Pomalé skenování

## 1.6. Nifedipin

Jelikož tato práce je zaměřena na přímé mikroskopické sledování krystalů v amorfních vzorcích nifedipinu, je tato kapitola věnována právě tomuto léčivu. Jeho teplota tání je 175 °C a jedná se o okrově žlutou krystalickou látku. [43] Strukturní vzorec nifedipinu je ukázán na Obrázku 4.



Obrázek 4 Strukturální vzorec nifedipinu [44]

Farmakologické vlastnosti nifedipinu jsou spojeny převážně s jeho účinkem jako blokátoru vápníkových kanálů. Patří mezi léky nazývané dihydropyridiny, které ovlivňují proudění vápníku do buněk svalové tkáně, převážně do hladkých svalů cév, což vede k uvolnění a rozšíření cév, a tím k poklesu krevního tlaku. Mechanismus účinku je následovný během depolarizační fáze buněk hladkého svalstva se otevírají napěťově řízené kanály pro příliv iontů vápníku. Nifedipin působí tím, že blokuje tyto kanály typu L v buňkách hladkého svalstva cév a myokardu. To vede k poklesu intracelulární koncentrace vápníku, což má za následek snížení periferního arteriálního vaskulárního odporu a rozšíření koronárních arterií. Tím dochází ke snížení systémového krevního tlaku a zvýšení dodávky kyslíku do myokardu. Nifedipin tak projevuje hypotenzní a antianginózní účinky, což přispívá ke kontrole krevního tlaku a zmírnění anginálních symptomů u pacientů s kardiovaskulárními onemocněními. [45] Nežádoucí účinky nifedipinu jsou zmíněné v Tabulce 2

Tabulka 2 Nežádoucí účinky nifedipinu

Nežádoucí účinky	Velmi časté	Časté	Méně časté	Vzácné
poruchy imunitního systému				celkové alergické reakce.
poruchy imunitního systému			kopřivka, svědění, vyrážka	
poruchy krve a lymfatického systému				agranulocytóza, trombocytopenická purpura.
Poruchy metabolismu				hyperglykemie.
Psychiatrické poruchy			letargie.	
Poruchy nervového systému		bolest hlavy.	závratě, třes, parestézie	

*pokračování Tabulky 2 Nežádoucí účinky nifedipinu*

<b>Nežádoucí účinky</b>	<b>Velmi časté</b>	<b>Časté</b>	<b>Méně časté</b>	<b>Vzácné</b>
Poruchy oka				přechodné změny zrakového vnímání
Srdeční poruchy		může objevit retrosternální bolest	hypotenze, palpitace, tachykardie, kardiální dekompenzace	
Cévní poruchy		návaly horka,	synkopa.	
Gastrointestinální poruchy		zácpa, nauzea	průjem, hyperplasie dásní	
Poruchy jater a žlučových cest				poruchy funkce jater
Poruchy kůže a podkožní tkáň		erytém.		exfoliativní dermatitida.
Poruchy svalové a kosterní soustavy a pojivové tkáň			svalové křeče v dolních i horních končetinách, poruch ledvin a močových cest	vzestup diurézy
porucha reprodukčního systému a prsu		periferní otoky (asi 10 %), únava		Celkové poruchy a reakce v místě aplikace, gynekomastie

## VYSOKÝ KREVŇÍ TLAK

Vysoký krevní tlak, známý také jako arteriální hypertenze, je definován jako opakované zvýšení tlaku krve nad hodnotu  $\geq 140/90$  mmHg, které je naměřeno minimálně při dvou různých návštěvách lékaře ze tří. [46]

V České republice se výskyt hypertenze u osob ve věku 25–64 let pohybuje kolem 40 %. S věkem roste i četnost výskytu hypertenze, přičemž hypertenzi trpí 72 % mužů a 64 % žen ve věku 55–64 let. [47]

Primární hypertenze, která představuje 90-95 % pacientů s vysokým krevním tlakem neexistuje známá příčina. Naopak, sekundární hypertenze, která se vyskytuje v zastoupení 5-10 % případů, je způsobena identifikovatelnou příčinou, jako jsou onemocnění ledvin a ledvinových tepen, zúžení srdečnice, endokrinní poruchy, vliv léků, těhotenství, onemocnění centrálního nervového systému, poruchy spánku a další faktory. [48]

## ANGINA PECTORIS

Angina pectoris (AP) je součástí tzv. ischemické choroby srdce. Výskyt této choroby je variabilní podle pohlaví a věku. U žen ve věkové skupině 45-54 let je odhadováno, že trpí AP v méně než 1 % případů, ale ve věku nad 65 let může tento podíl dosáhnout 10-15 %. U mužů jsou tyto údaje ještě vyšší. U mladších mužů se vyskytuje v 2-5 % případů, zatímco u mužů nad 65 let může dosahovat 10-20 %. V Evropě se odhaduje, že na 1 milion obyvatel trpí AP přibližně 20-40 000 lidí. [49] U pacientů s vazospastickou formou anginy pectoris je doporučeno užití nifedipinu, pokud se projeví některý z následujících příznaků: Klasické příznaky anginy během klidu, které jsou doprovázeny zvýšením ST segmentu na elektrokardiogramu (EKG). Anginózní záchvat nebo křeče koronárních tepen vyvolané ergonovinem. Potvrzené koronární křeče zobrazené angiografií. Nifedipin má za cíl snížit frekvenci příznaků anginy a zlepšit toleranci vůči fyzické zátěži. [43]

## 2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Experimentální část této práce se zaměřuje na přípravu amorfni formy léčiva a následně na analýzu růstu krystalů.

### 2.1. Příprava amorfniých vzorků nifedipinu

Pro přípravu amorfniých vzorků nifedipinu, byl použit nejprve temperanční stolek. Teplota tání nifedipinu je 175 °C. Pro rychlejší roztavení vzorku, byla teplota na stolku nastavena na 188 °C. Na povrch temperančního stolku do misky bylo umístěno podložní sklíčko, na které bylo naneseo velmi malé množství krystalického okrově zabarveného prášku nifedipinu o čistotě >98 % od výrobce SIGMA ALDRICH. Po úplném roztání nifedipinu, což trvalo 4–5 min při dané teplotě, byl tento vzorek přikryt krycím sklíčkem. Vzorek se dokonale rozlil po ploše sklíčka a vznikl tenký film. Poté byl rychle zchlazen na chladícím kovovém bloku, čímž byla zajištěna jeho amorfni forma. Poté bylo krycí sklíčko odstraněno. Následně byly vzorky rozřezány na menší nepravidelné kousky o velikosti okolo 2x2 mm, které byly připravené pro následné pozorování.

### 2.2. Mikroskopie

Pro zkoumání připravených vzorků byl použit optický mikroskop OLYMPUS BX51, vybavený optickou kamerou DP72 a integrovaným temperačním stolkem Linkam (Obrázek 5). Jednotlivé vzorky byly umístěny do vyhřívaného stolku při pokojové teplotě. Následně byly rychle ohřívány (150 °C/min) na teploty v rozmezí od 50 °C do 125 °C, kde byly ponechány po určité době. Přičemž doba trvání se lišila od 3 h po 10 s v závislosti na daných teplotách. Všechna pozorování byla prováděna in – situ což znamená, během procesu temperace.

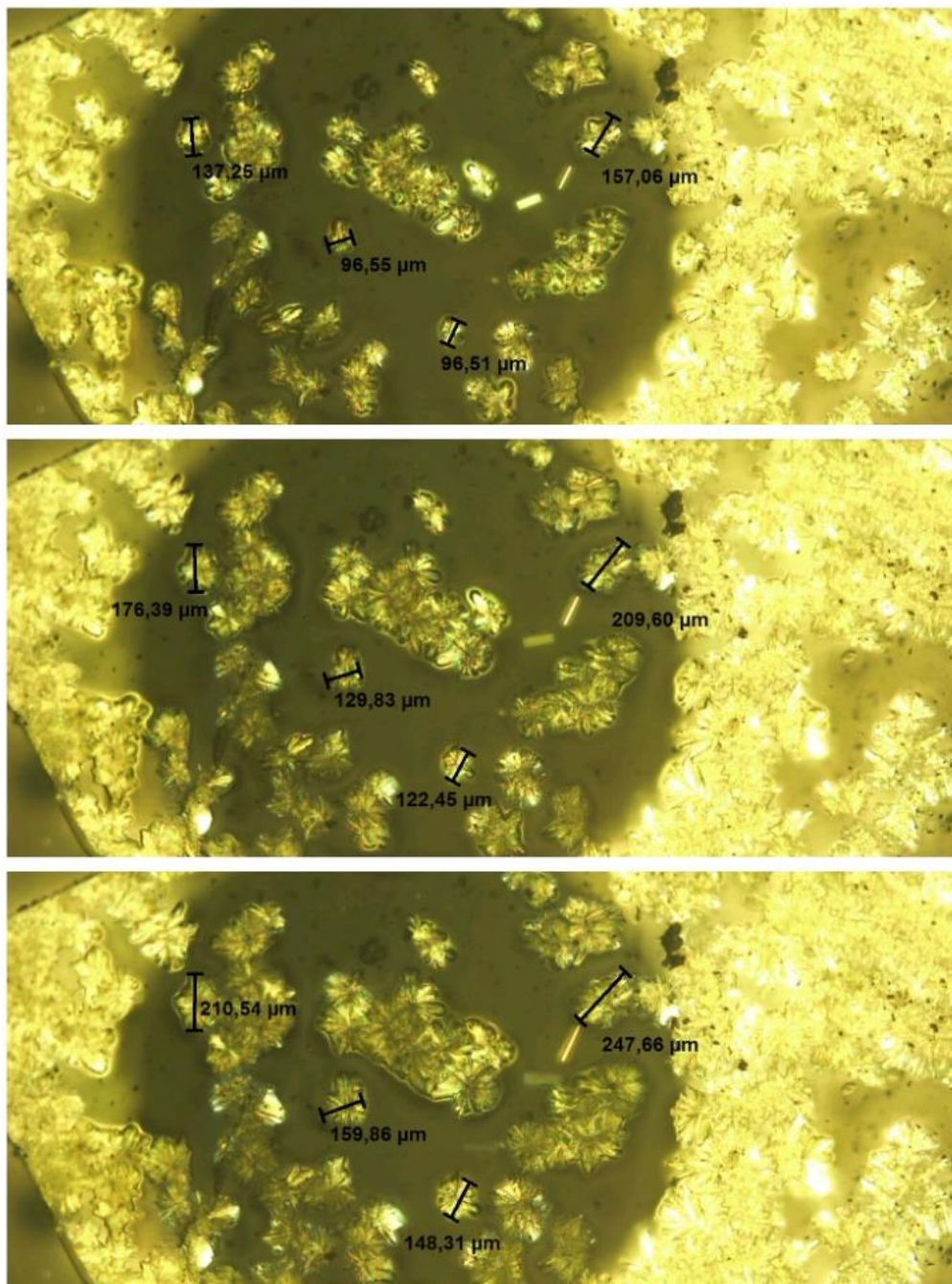
Během temperace byl vzorek pravidelně v nastavených intervalech snímán díky programu QuickPhoto. Tímto způsobem byly získány fotografie vzniklých krystalů.



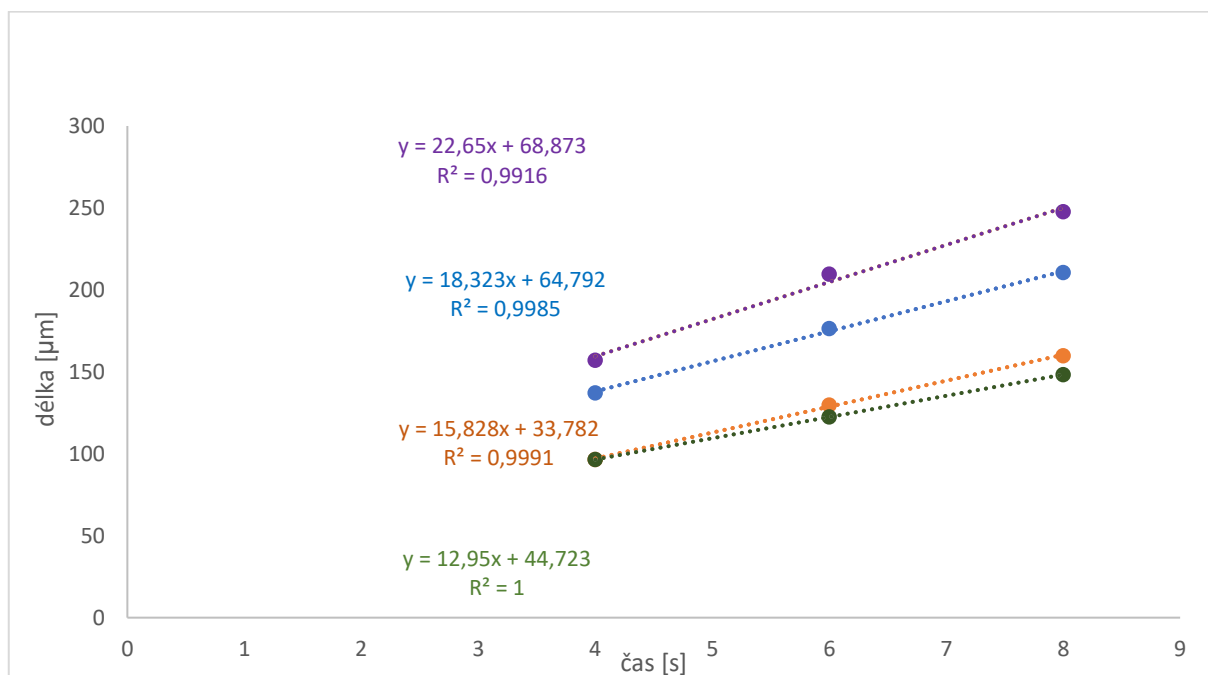
*Obrázek 5 Optický mikroskop OLYMPUS BX51, vybavený optickou kamerou DP72 a integrovaným temperačním stolcem LINKAM*

### **2.3. Vyhodnocení rychlostí růstu krystalů**

Během temperace byl sledován růst krystalů. Pro měření jejich velikosti při dané teplotě, byly pořizované jejich fotografie, z kterých bylo vybráno 5–12 snímků, které se poté vyhodnocovaly. K vyhodnocování byl použit program Stream Essential. Velikost krystalu se měřila nejběžnější metodou, a to za použití úsečky, kdy se měří největší rozměr krystalu. (Obrázek 6). Po změření velikosti krystalů byly hodnoty velikostí vyneseny do grafu v závislosti na době temperace (Obrázek 7). Lineární závislost velikosti krystalů na čase byla proložena přímkou, jejíž směrnice udává rychlost růstu krystalů při dané teplotě.

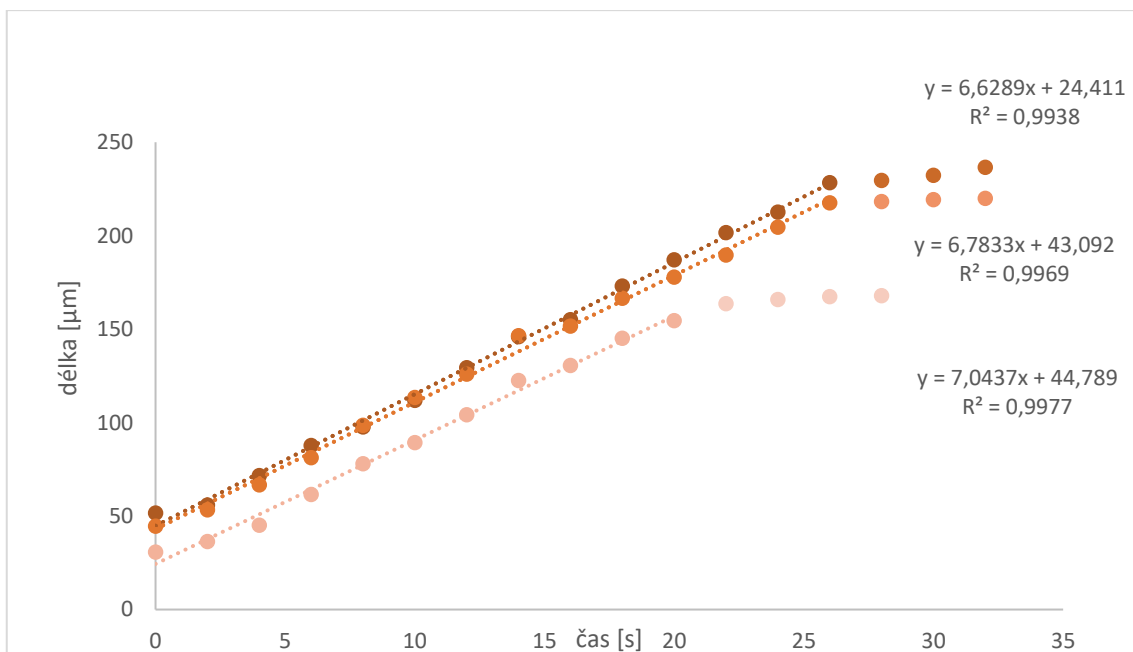


*Obrázek 6 Měření velikosti krystalů pomocí úsečky v programu Stream Essential při 100násobném zvětšení při teplotě 115 °C tyto snímky jsou focené po 2 sekundách, při čemž první snímek byl pořízen po 4 sekundách od dosažení dané teploty.*

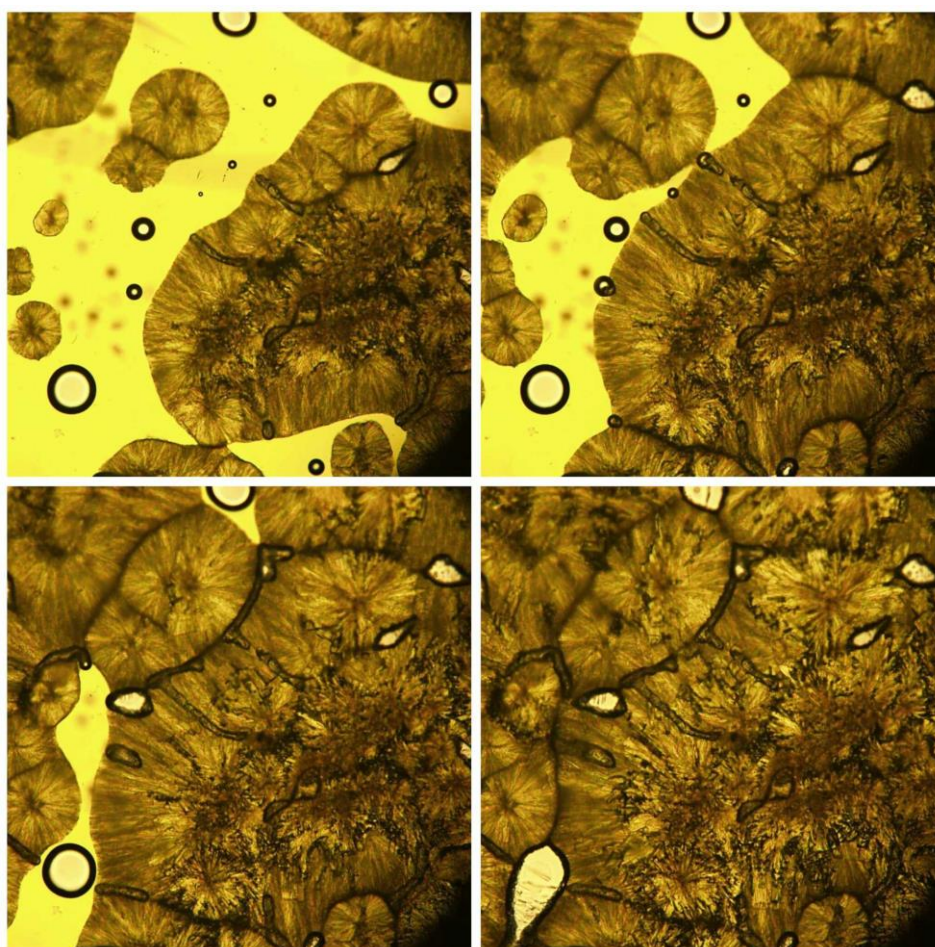


Obrázek 7 Závislost velikosti krystalu na čase při 115 °C

U některých krystalů bylo pozorováno, že během temperace dochází ke zpomalení rychlosti růstu. Byly analyzovány změny velikosti krystalů v závislosti na čase. Na Obrázku 8 je graf, který zobrazuje růst krystalů nifedipinu při 115 °C. Zpočátku se velikost krystalů měnila lineárně s časem, ale jakmile se krystaly začaly spojovat do větších shluků (Obrázek 9), jejich růst se zpomalil. Toto zpomalení mohlo být způsobeno omezeným přenosem strukturních jednotek na rozhraní shluků, nebo vyčerpáním amorfni matrice. V takovýchto případech byly rychlosti růstu krystalů vyhodnoceny pouze z počáteční lineární závislosti krystalů na čase.



Obrázek 8 Graf zpomalení růstu krystalů nifedipinu při 115 °C



Obrázek 9 Zpomalení růstu krystalů z důvodu spojení při 85 °C

### **3. VÝSLEDKY A DISKUZE**

Krystalizace amorfního léčiva nifedipinu byla sledována pomocí optického mikroskopu. Pozorovala se změna velikosti krystalů v závislosti na čase, kdy byl nifedipin temperován na danou teplotu. Nové vzorky nifedipinu byly opakovaně připravovány za stejných podmínek.

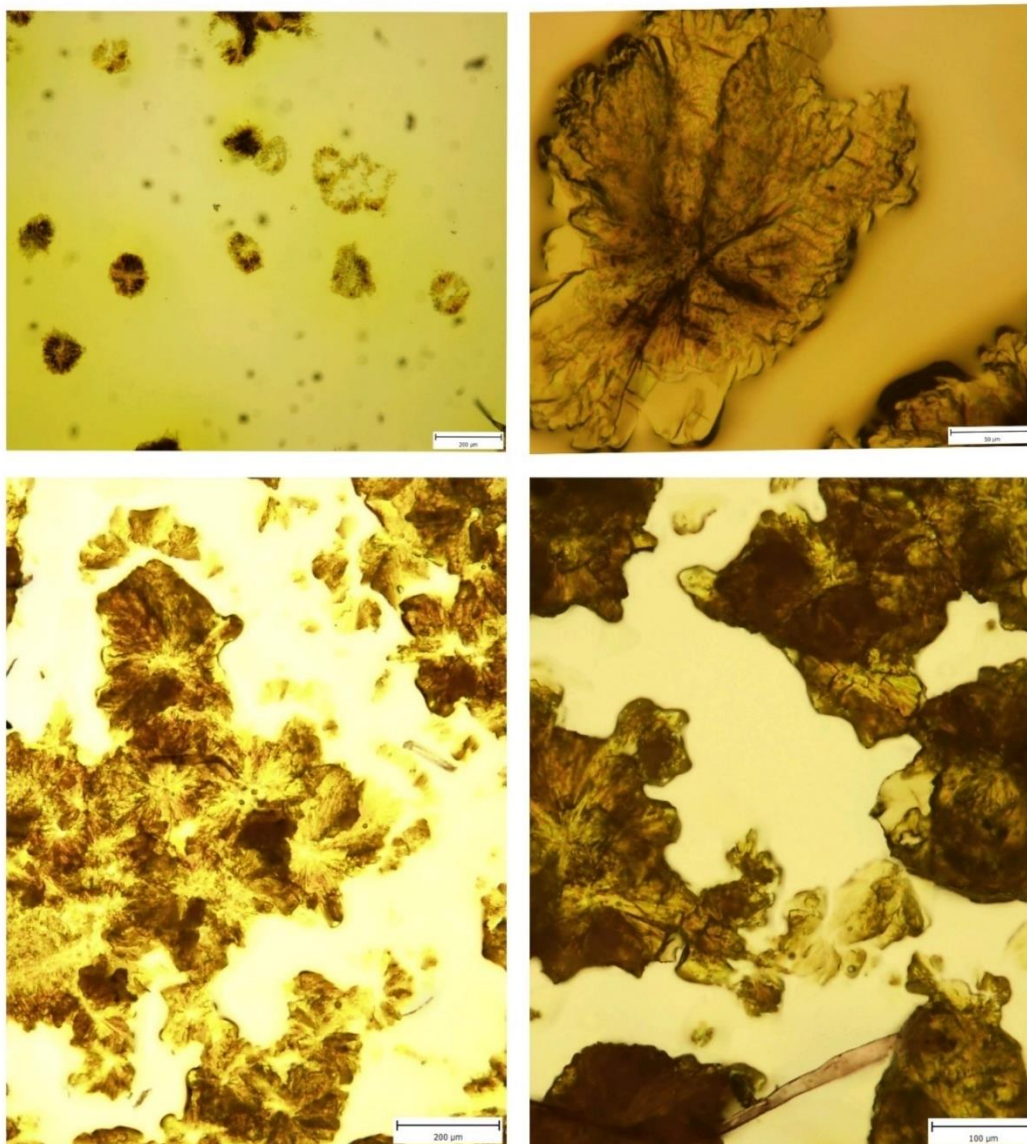
#### **3.1. Struktura rostoucích krystalů**

Při nižších teplotách od 50 °C po 90 °C doba krystalizace trvala až 3 h. Vznikající krystaly měly jehličkovitý tvar. Krystaly se tvořily i v dlouhých řetězcích zejména při 70 °C (Obrázek 10). První výskyt jehličkového tvaru byl pozorován při 50 °C, při této teplotě bylo také pozorováno, že léčivo roste na rozhraní sklo – léčivo, zatímco při ostatních teplotách léčivo rostlo na povrchu skla.



*Obrázek 10 Krystaly nifedipinu při 70 °C*

Při vyšších teplotách (nad 90 °C) byla krystalizace mnohem rychlejší, kdy vzorek plně zakrystalizoval řádově v minutách až sekundách. Při teplotě 130 °C nebylo možné pozorovat krystalizaci nifedipinu, protože vzorek již byl plně zakrystalizován před začátkem samotného měření. Při teplotách mezi 95 °C a 125 °C krystalizace probíhala velmi rychle a úplného zakrystalizování vzorku bylo dosaženo do 25 sekund. Krystaly byly většího kulatého tvaru a jejich výskyt byl početný. K nukleaci docházelo většinou po celé ploše vzorku (Obrázek 11).



*Obrázek 11 Krystaly nifedipinu při 110 °C*

Struktura krystalů byla porovnána s článkem od Madejczyka a kol. [50]. Autoři se zaměřují na krystalizaci nifedipinu z amorfni formy v binárních směsích s acetylovanými disacharidy (maltosa a sacharosa). Hlavním zájmem je vliv těchto aditiv na krystalizaci a morfologii krystalů. Struktura krystalů nifedipinu je v článku popsána, že nifedipin existuje v několika polymorfních formách, z nichž nejčastější jsou  $\beta$  a  $\alpha$  formy. Tyto formy se liší uspořádáním molekul v krystalové mřížce, což má vliv na jejich vlastnosti, jako je rozpustnost a stabilita. Při porovnání fotografií v této práci s Madejcykem [50], krystaly odpovídají  $\beta$  formě nifedipinu, které mají jehličkovitý tvar.

Grooff [51] se ve své článku také zmiňuje o formě  $\alpha$  a formě  $\beta$  nifedipinu, kde bylo zjištěno, že amorfní nifedipin, který byl získán z přechlazené taveniny, krystalizoval do metastabilní formy  $\beta$  při teplotě 90 °C. Při následném zahřátí na 110 °C se tato forma  $\beta$  transformovala na termodynamicky stabilní formu  $\alpha$ . Na základě studie provedené pomocí XRDP bylo potvrzeno, že nifedipin vychlazený na 110 °C krystalizuje do formy  $\beta$ . Tato forma  $\beta$  se dále přeměnila na formu  $\alpha$  při teplotě 125 °C, která je stabilní a má teplotu tání 171 °C. S tímto tvrzením se tato práce také shoduje, jelikož při 90 °C byla pozorována jak forma  $\alpha$ , tak forma  $\beta$ . Při teplotě 125 °C byla pozorována forma  $\alpha$ .

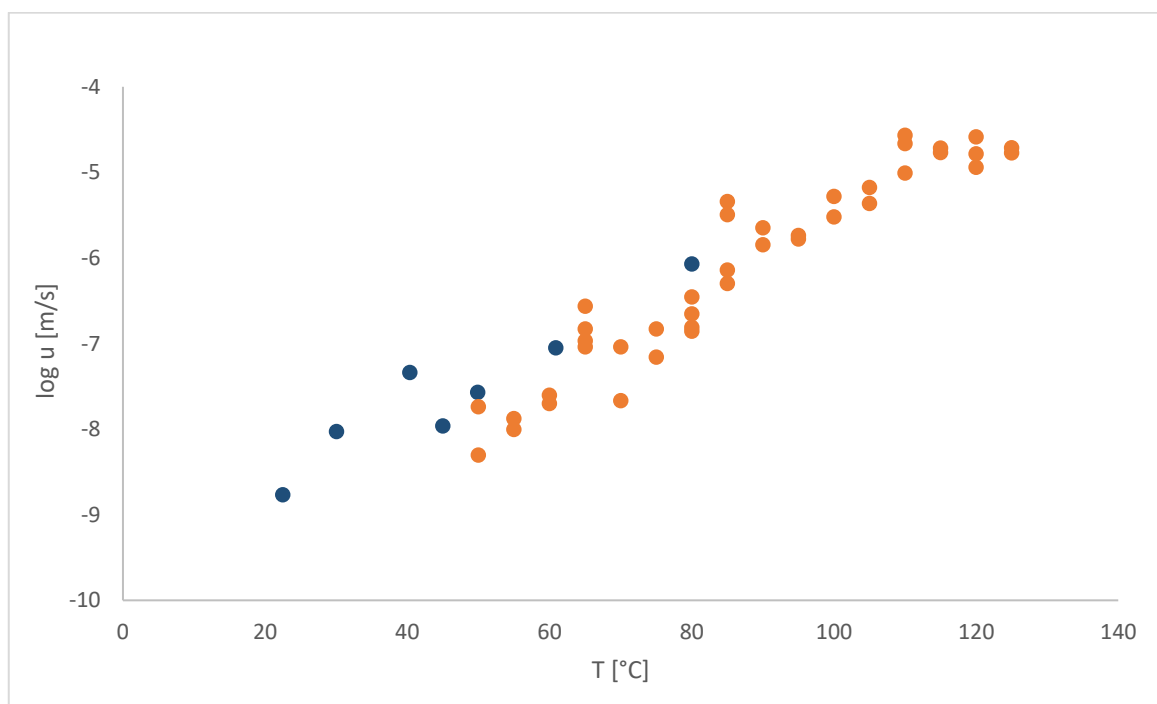
### 3.3. Rychlosti růstu krystalů

Rychlosti růstu krystalů byly vyhodnoceny z mikroskopického sledování rostoucích krystalů v amorfních vzorcích nifedipinu při teplotách od 50 °C do 125 °C. Z lineární závislosti velikostí krystalů na době temperace byly vyhodnoceny rychlosti růstu krystalů, které jsou uvedeny v Tabulce.3.

Tabulka 3 naměřená data rychlosti růstu v amorfním nifedipinu

T (°C)	u (μm/min)	±	T (°C)	u (μm/min)	±
50	0,31	0,14	85	44	4
50	1,1	0,6	85	30	2
55	0,6	0,3	90	86	4
55	0,8	0,3	90	136	4
60	1,5	0,5	95	100	30
60	1,2	0,4	95	110	51
65	8,9	1,5	100	180	87
65	6,5	3	100	320	72
65	5,5	1,1	105	260	21
70	1,3	0,2	105	400	23
70	5,5	2,4	110	590	86
75	4,2	2,5	110	1600	332
75	8,9	0	110	1300	166
80	13,4	2	115	1000	179
80	21,1	3	115	1150	153
80	8,4	2	120	1000	99
80	9,3	1,5	120	700	226
85	276	38	125	1020	38
85	190	33	125	1200	351

Naměřená data byla porovnána s daty Ishidy [52] (Obrázek 12). Ishida, stejně tak jako v této práci, připravil vzorky chlazením taveniny nifedipinu. Ishida [52] pozoroval růst krystalů v rozmezí od 20 °C do 80 °C. Data naměřená v této práci, která zahrnují teplotní oblast od 50 °C do 125 °C, značně rozšířila růstová data v amorfním nifedipinu, přičemž při teplotě 125 °C bylo pravděpodobně dosaženo maxima rychlosti růstu krystalů (Obrázek 12). Ishida [52] zkoumal i vliv polyvinylpyrrolidonu na rychlost krystalizace. Pro částice sledované při teplotě 50 °C a vyšší charakterizoval rychlost růstu měřením, jak rychle se zvětšuje jejich průměrný poloměr, vypočítaný jako průměr ze čtyř poloměrů měřených ve čtyřech různých směrech. Ze srovnání morfologie krystalů vyplývá, že krystalová struktura pozorována při 50 °C odpovídá formě  $\beta$  nifedipinu, zatímco při teplotách nad 90 °C struktura odpovídá krystalům  $\alpha$  formy. Změna formy neovlivňuje návaznost rychlosti růstu krystalů, jak vyplývá z Obrázku 12.



Obrázek 12 Porovnání naměřených dat rychlosti růstu krystalů na teplotě s daty Ishidy [52]

### 3.4. Výpočet aktivační energie růstu krystalů v amorfním nifedipinu

Aktivační energie růstu krystalů ( $E_g$ ) je energetická bariéra, která musí být překonána, aby došlo k růstu krystalů v dané amorfní látce. Rychlost růstu lze v úzkém teplotním rozmezí popsat pomocí Arrheniovy rovnice:

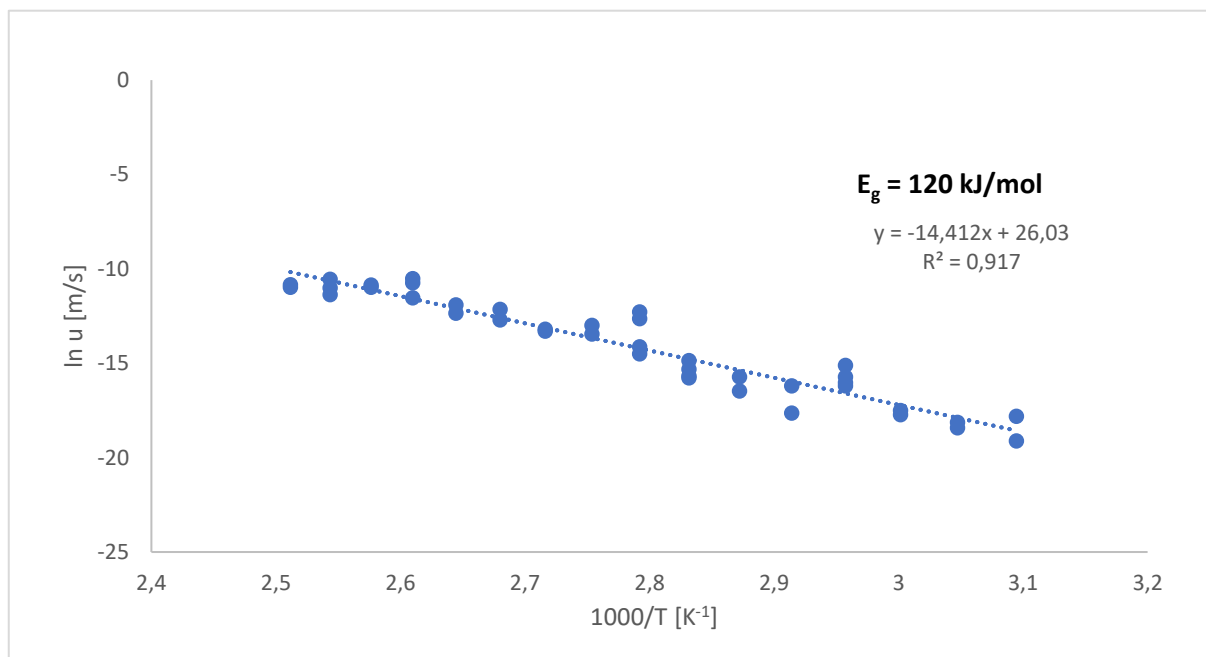
$$u = A \cdot e^{-\frac{E_g}{RT}}$$

Kde  $u$  je rychlost růstu krystalů,  $A$  je předexponenciální faktor, a  $E_g$  představuje aktivační energii růstu krystalů,  $R$  je univerzální plynová konstanta. [2]

Lineární forma Arrheniova vztahu se používá ke grafickému znázornění a výpočtu. Tato metoda je založena na transformaci Arrheniovy rovnice do lineární závislosti (Obrázek 13).

$$\ln(u) = \ln(A) - \frac{E_g}{RT}$$

Vynesením  $\ln(u)$  na osu  $y$  grafu a  $\frac{1000}{T}$  na osu  $x$ . lze zjistit následující: Pokud je Arrheniova teorie pro danou reakci platná, grafem bude přímka. Ze směrnice přímky pak lze určit aktivační energii růstu krystalů:  $E_g = -R * \text{směrnice}$ . [53]



*Obrázek 13 určení aktivační energie růstu krystalů v amorfním nifedipinu*

Obrázek 13 zobrazuje závislost přirozeného logaritmu rychlosti růstu krystalů ( $\ln u$ ) na převrácené hodnotě teploty ( $1000/T$ ). Tato závislost je lineární, což znamená, že v tomto teplotním intervalu platí Arrheniův vztah. Aktivační energie byla stanovena na  $120 \pm 6 \text{ kJ/mol}$ .

Hodnota aktivační energie byla porovnána s daty Grooffa [51], kde se hodnota aktivační energie růstu krystalů v amorfním nifedipinu pohybuje v rozmezí 94–100 kJ/mol. Madejczyk [50] stanovil aktivační energii pro krystalizaci nifedipinu z čistého amorfního nifedipinu pro  $\alpha$  formu přibližně na 48,5 kJ/mol. Pro  $\beta$  formu aktivační energie byla stanovena na 120 kJ/mol. Mnou stanovená hodnota aktivační energie růstu krystalů nifedipinu odpovídá  $120 \pm 6 \text{ kJ/mol}$ . Tato hodnota je v souladu s hodnotami uváděnými v literatuře pro krystalizaci  $\beta$  formy nifedipinu.

## 4. ZÁVĚR

Ve své práci jsem pozorovala krystalizaci amorfního léčiva nifedipinu pomocí optického mikroskopu. Pozorovala jsem změny velikosti krystalů v závislosti na čase při temperování na určitou teplotu. Podstatou této práce bylo stanovení růstu krystalů v amorfním nifedipinu a vlivu teploty na strukturu a rychlost růstu vzniklých krystalů.

Sledovala jsem růst nifedipinu který, rostl v  $\beta$  formě, která se vyznačuje jehličkovitým tvarem v teplotním rozmezí od 50 °C do 90 °C. Toto pozorování bylo porovnáno s odbornou literaturou, která přítomnost růstu této krystalické formy potvrdila.

Rychlosti růstu krystalů byly vyhodnoceny z mikroskopického sledování amorfních vzorků nifedipinu při teplotách od 50 °C do 125 °C. Naměřená data byla porovnána s literaturou a rozšířila růstová data nifedipinu až do teploty 125 °C, kde se zdá být maximum růstu. Při teplotách do 90 °C byla pozorována krystalová struktura  $\beta$  formy, zatímco nad 90 °C krystaly přecházely do  $\alpha$  formy. Změna formy však neovlivnila rychlost růstu krystalů.

Aktivační energie růstu krystalů byla stanovena na  $120 \pm 6$  kJ/mol, což je v souladu s literárními údaji pro  $\beta$  formu nifedipinu.

## 5. POUŽITÁ LITERATURA

- [1] HELMENSTINE, Anne Marie. Glass Definition in Science. *ThoughtCo*. [online]. 2019 [cit. 2024-05-03]. Dostupné z: <https://www.thoughtco.com/definition-of-glass-604484>
- [2] VERONIKA, Bernetova. *Růst krystalů v amorfních léčivech*. Pardubice, 2022. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice.
- [3] FRUMAR, Miloslav. *Chemie pevných látek: Určeno pro posl. VŠCHT Pardubice*. Pardubice: Vysoká škola chemicko-technologická, 1992. ISBN 80-85113-41-4.
- [4] Crystallization and Precipitation: Optimize Crystal Size, Yield and Purity with Crystallization Equipment. *Mettler Toledo* [online]. [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: [https://www.mt.com/us/en/home/applications/L1\\_AutoChem\\_Applications/L2\\_Crystallization.html](https://www.mt.com/us/en/home/applications/L1_AutoChem_Applications/L2_Crystallization.html)
- [5] Crystallization. *GeeksforGeeks* [online]. 2023 [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <https://www.geeksforgeeks.org/crystallization/>
- [6] HELMENSTINE, Anne Marie. Crystallization Definition. *ThoughtCo*. [online]. 2020 [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <https://www.thoughtco.com/definition-of-crystallize-605854>
- [7] How Do Thermal Analysis Systems Work? Comparing Types & Working Principles. *Excedr* [online]. 2024 [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <https://www.excedr.com/blog/how-do-thermal-analysis-systems-work>
- [8] Termická analýza. *Kabex* [online]. [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <http://www.kabex.cz/termicka-analyza#:~:text=Termick%C3%A1%20anal%C3%BDza%20slou%C5%BE%C3%AD%20pro%20stanoven%C3%AD,oblasti%20v%C3%BDzkumu%20a%20kontroly%20kvality>
- [9] Diferenční skenovací kalorimetrie DSC. *RMI* [online]. [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <http://www.rmi.cz/DSC>

- [10] HÖHNE, Günther, Wolfgang HEMMINGER a H.-J FLAMMERSHEIM. *Differential scanning calorimetry*. 2nd revised and enlarged edition. Berlin: Springer, [2003]. ISBN 978-3-642-05593-5.
- [11] JARRELLS, Travis W. a Eric J. MUNSON. *Comparison of Differential Scanning Calorimetry, Powder X-ray Diffraction, and Solid-state Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy for Measuring Crystallinity in Amorphous Solid Dispersions - Application to Drug-in-polymer Solubility* [online]. Elsevier, 2022 [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S002235492200154X>
- [12] SEILEROVÁ, LENKA, HANA BRUSOVÁ, BOHUMIL KRATOCHVÍL a LUKÁŠ KREJČÍK. *VYUŽITÍ METOD TERMICKÉ ANALÝZY VE VÝZKUMU A VÝVOJI LÉČIV*. Praha, 2012. Chemické listy. Vysoká škola chemickotechnologická v Praze.
- [13] GILL, Pooria, Tahereh Tohidí MOGHADAM a Bijan RANJBAR. Differential Scanning Calorimetry Techniques: Applications in Biology and Nanoscience. RANJBAR, Bijan. *PubMed Central* [online]. 2010 [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2977967/>
- [14] SWARBRICK, James. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. In: *Enciklopedia* [online]. 2001 [cit. 2024-05-22]. Dostupné z: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/http://repo.upertis.ac.id/1632/1/James%20Swarbrick-Encyclopedia%20of%20Pharmaceutical%20Technology.%20v.1-6-Infarma%20Healthcare%20%282001%29.pdf>
- [15] Thermomechanical Analysis (TMA). *Eurofins* [online]. [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <https://www.eag.com/techniques/phys-chem/thermomechanical-analysis-tma/>
- [16] Měření skelného přechodu Principy a techniky přesného stanovení skelného přechodu. *METTLER TOLEDO* [online]. 2020 [cit. 2024-05-22]. Dostupné z: [https://www.mt.com/cz/cs/home/applications/Application\\_Browse\\_Laboratory\\_Analytics/Application\\_Browse\\_thermal\\_analysis/glass-transition-measurement.html#:~:text=Zn%20charakteristick%C3%A9%20hodnoty%20skeln%C3%A9ho%20p%C5%99echodu,p%C5%99echod%20v%20z%C3%A1vislosti%20na%20teplot%C4%9B](https://www.mt.com/cz/cs/home/applications/Application_Browse_Laboratory_Analytics/Application_Browse_thermal_analysis/glass-transition-measurement.html#:~:text=Zn%20charakteristick%C3%A9%20hodnoty%20skeln%C3%A9ho%20p%C5%99echodu,p%C5%99echod%20v%20z%C3%A1vislosti%20na%20teplot%C4%9B)
- [17] NOLLER, Carl R. a Melvyn C. USSELMAN. Spectroscopy of organic compounds. *Britannica* [online]. [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/chemical-compound/Spectroscopy-of-organic-compounds>
- [18] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. Třetí, upravené vydání. Ostrava: Pavel Klouda - nakladatelství Pavko, 2016. ISBN 978-80-86369-22-8.
- [19] Strukturní analýza. *Ústav makromolekulární chemie Akademie věd ČR* [online]. [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <https://www.imc.cas.cz/cs/veda-a-vyzkum/vedecka-oddeleni/struktura-a-dynamika-makromolekul/strukturni-analyza/zamereni>

- [20] BUNACIU, Andrei A., Elena gabriela UDRIȘTIOIU a Hassan Y. ABOUL-ENEIN. X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* [online]. 2014, 2014-10-02, **45**(4), 289-299 [cit. 2024-05-07]. ISSN 1040-8347. Dostupné z: doi:10.1080/10408347.2014.949616
- [21] THAKRAL, Naveen K., Roger L. ZANON, Ron C. KELLY a Seema THAKRAL. Applications of Powder X-Ray Diffraction in Small Molecule Pharmaceuticals: Achievements and Aspirations. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2018, **107**(12), 2969-2982 [cit. 2024-05-07]. ISSN 00223549. Dostupné z: doi:10.1016/j.xphs.2018.08.010
- [22] SCHMIDT, U., W. IBACH, J. MÜLLER, K. WEISHAUPT a O. HOLLRICHER. Raman spectral imaging—A nondestructive, high resolution analysis technique for local stress measurements in silicon. *Vibrational Spectroscopy* [online]. Ulm, Germany: Elsevier, 2006 [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924203106000099?via%3Dihub>
- [23] What is Raman Spectroscopy? *Horiba Scientific* [online]. [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <https://www.horiba.com/int/scientific/technologies/raman-imaging-and-spectroscopy/raman-spectroscopy/>
- [24] GELWICKS, Dr. Melissa. Frequently Asked Questions (FAQ) about Raman spectroscopy: Theory and usage. *Metrohm* [online]. 2022 [cit. 2024-05-22]. Dostupné z: [https://www.metrohm.com/cs\\_cz/discover/blog/20-21/frequently-asked-questions--faq--about-raman-spectroscopy--theor.html](https://www.metrohm.com/cs_cz/discover/blog/20-21/frequently-asked-questions--faq--about-raman-spectroscopy--theor.html)
- [25] Ramanova spektroskopie Hlubší pochopení chemických reakcí. *METTLER TOLEDO* [online]. [cit. 2024-05-22]. Dostupné z: [https://www.mt.com/cz/cs/home/applications/L1\\_AutoChem\\_Applications/Raman-Spectroscopy.html#:~:text=In%20line%20Ramanova%20spektroskopie%20se,umo%20C5%BE%20C5%88uj%20C3%AD%20pochopit%20a%20optimalizovat%20reakci.](https://www.mt.com/cz/cs/home/applications/L1_AutoChem_Applications/Raman-Spectroscopy.html#:~:text=In%20line%20Ramanova%20spektroskopie%20se,umo%20C5%BE%20C5%88uj%20C3%AD%20pochopit%20a%20optimalizovat%20reakci.)
- [26] HOU, Weihang a Yangjie WEI. *Three-dimensional modelling of blur property for conventional optical microscopes* [online]. Elsevier, 2023 [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844023050776>
- [27] *Základní metody světelné mikroskopie* [online]. Brno: Optoteam, 2004 [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/el/1431/podzim2007/Bi4070/um/zaklady103U.pdf>
- [28] ANDROSCH, René, Maria Laura DI LORENZO a Christoph SCHICK. Optical Microscopy to Study Crystal Nucleation in Polymers Using a Fast Scanning Chip Calorimeter for Precise Control of the Nucleation Pathway. *Macromolecular Chemistry and Physics* [online]. 2018, **219**(3) [cit. 2024-05-07]. ISSN 1022-1352. Dostupné z: doi:10.1002/macp.201700479

- [29] HÁJKOVÁ, Z., P. BAUEROVÁ, A. FEJFAR a M. ŠLOUF. *Elektronový mikroskop – klíč k odhalení tajemství mikro- a nanosvěta* [online]. 112(2),. Chemické listy, 2018 [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/2995/2987>
- [30] Vysoké vakuum – pohled do moderního průmyslu. *SMC Fluid Control* [online]. [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <https://smc-fluidcontrol.cz/vysoke-vakuum-pohled-do-moderniho-prumyslu/#:~:text=Elektronov%C3%BD%20mikroskop%3A%20M%C3%ADsto%20osv%C4%9Bteln%C3%A9ho%20paprsku,vakuum%20pot%C5%99ebu%C5%A9je%20aby%20v%C5%AFbec%20fungoval>
- [31] KRÁLOVÁ, Mgr. Magda. ELEKTRONOVÝ MIKROSKOP. In: *Techmania Science Center* [online]. 2007 [cit. 2024-05-22]. Dostupné z: <https://edu.techmania.cz/cs/encyklopedie/fyzika/kvanta/elektronovy-mikroskop#:~:text=Zdrojem%20elektronov%C3%BDch%20paprsk%C5%AF%20je%20elektronov%C3%A1,svazek%20s%20mal%C3%BDm%20otvorov%C3%BDm%20%C3%BAhlem.>
- [32] KRÁLOVÁ, Magda. ELEKTRONOVÝ MIKROSKOP. *Techmania* [online]. [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <https://edu.techmania.cz/cs/encyklopedie/fyzika/kvanta/elektronovy-mikroskop#:~:text=Zdrojem%20elektronov%C3%BDch%20paprsk%C5%AF%20je%20elektronov%C3%A1,svazek%20s%20mal%C3%BDm%20otvorov%C3%BDm%20%C3%BAhlem>
- [33] REICHL, Jaroslav a Martin Všeticka VŠETIČKA. Encyklopedie fyziky. *Encyklopedie fyziky*. 2006, **1926**(1), 1.
- [34] Odhalena krystalizace v reálném čase a atomovém rozlišení. *VĚDÁTOR* [online]. 2021 [cit. 2024-05-22]. Dostupné z: <https://vedator.org/2021/12/odhalena-krystalizace-v-realnem-case-a-atomovem-rozliseni-2/#:~:text=S%C3%A1hli%20p%C5%99i%20tom%20po%20metod%C4%9B,okolnost%C3%AD%E2%80%9C%20rychlost%20standardn%C3%ADho%20filmov%C3%A9ho%20p%C3%A1su.>
- [35] The Electron Microscopy Data Bank. *Nucleic Acids Research*. 2024, **52**(1), D456.
- [36] OPAVA, Zdeněk. *Elektrina kolem nás*. Albatros, 1981. ISBN 13-724-85.
- [37] KWIECIŃSKA, Barbara, Sławomira PUSZ a Brett J. VALENTINE. Application of electron microscopy TEM and SEM for analysis of coals, organic-rich shales and carbonaceous matter. *International Journal of Coal Geology* [online]. 2019, **211** [cit. 2024-05-07]. ISSN 01665162. Dostupné z: doi:10.1016/j.coal.2019.05.010

- [38] SOUTHWORTH, H. N. Scanning Electron Microscopy and Microanalysis. *Physicochemical Methods of Mineral Analysis* [online]. Boston, MA: Springer US, 1975, 421-450 [cit. 2024-05-07]. ISBN 978-1-4684-2048-7. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4684-2046-3\_11
- [39] MEYER, Ernst, Rémy PAWLAK a Thilo GLATZEL. Scanning probe microscopy. *Encyclopedia of Condensed Matter Physics* [online]. Elsevier, 2024, 51-62 [cit. 2024-05-07]. ISBN 9780323914086. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-90800-9.00213-4
- [40] KRÁLOVÁ, Mgr. Magdaléna. TUNELOVÁNÍ. In: *Techmania Science Center* [online]. 2007 [cit. 2024-05-22]. Dostupné z: [https://edu.techmania.cz/cs/encyklopedie/fyzika/kvanta/kvantove-mechanicky-model/tunelovani#:~:text=scanning%20tunneling%20microscope\)%20%E2%80%93%20je%20zalo%C5%BEen,%C5%99%C3%A1dov%C4%9B%2010%E2%80%9310%20m](https://edu.techmania.cz/cs/encyklopedie/fyzika/kvanta/kvantove-mechanicky-model/tunelovani#:~:text=scanning%20tunneling%20microscope)%20%E2%80%93%20je%20zalo%C5%BEen,%C5%99%C3%A1dov%C4%9B%2010%E2%80%9310%20m)
- [41] Mikroskopie atomárních sil. *Český metrologický institut* [online]. 2012 [cit. 2024-05-22]. Dostupné z: [http://www.nanometrologie.cz/cz/techs\\_afm.php](http://www.nanometrologie.cz/cz/techs_afm.php)
- [42] SPM: What is Scanning Probe Microscopy? *Oxford Instrument* [online]. [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <https://afm.oxinst.com/outreach/spm-scanning-probe-microscopy>
- [43] *SOUHRN ÚDAJŮ O PŘÍPRAVKU: Nifecard XL 30 mg*. In: . 2000. ISSN 83/148/00-C.
- [44] Nifedipin. *Midas Pharma* [online]. 2024 [cit. 2024-06-04]. Dostupné z: <https://www.midas-pharma.com/de/produkte/arzneimittelwirkstoffe/nifedipin/>
- [45] CHÁN, Kašif M., Jayesh B. PATEL a Timothy J. SCHAEFER. Nifedipin. *The National Center for Biotechnology Information* [online]. 2023, **1**(1), 1 [cit. 2024-05-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537052/>
- [46] Hypertenze: Co to je, jaké jsou její příznaky a jak probíhá léčba. *EUC* [online]. 2022 [cit. 2024-05-22]. Dostupné z: <https://euc.cz/clanky-a-novinky/clanky/hypertenze-co-to-je-jake-jsou-jeji-priznaky-a-jak-probiha-lecba/>
- [47] Světový den hypertenze 2016. *IKEM* [online]. 2016 [cit. 2024-05-22]. Dostupné z: <https://www.ikem.cz/cs/svetovy-den-hypertenze-2016/a-2743/>
- [48] Hypertenze. *Nemocnice na Homolce* [online]. 2024 [cit. 2024-05-22]. Dostupné z: <https://www.homolka.cz/nase-oddeleni/11635-kardiovaskularni-program/11635-kardiologie-kar/11697-nase-sluzby/hypertenze>
- [49] KAUTZNER, CSC, prof MUDr Josef. Angina pectoris. In: *IKEM* [online]. 2016 [cit. 2024-05-22]. Dostupné z: <https://www.ikem.cz/cs/angina-pectoris/a-431/>

- [50] Studying the Crystallization of Various Polymorphic Forms of Nifedipine from Binary Mixtures with the Use of Different Experimental Techniques. *Molecular pharmaceutics* [online]. 2017, **14**(1), 2116–2125 [cit. 2024-06-12]. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.molpharmaceut.7b00228>
- [51] Thermal methods for evaluating polymorphic transitions in nifedipine. *Thermochimica Acta* [online]. 2006, 33-42 [cit. 2024-06-12]. Dostupné z: [doi:10.1016/j.tca.2006.12.009](https://doi.org/10.1016/j.tca.2006.12.009)
- [52] Sudden Rise of Crystal Growth Rate of Nifedipine near Tg without and with Polyvinylpyrrolidone. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2007, **96**(5), 1-8 [cit. 2024-06-12]. Dostupné z: [doi:DOI 10.1002/jps.20925](https://doi.org/10.1002/jps.20925)
- [53] BRUDER, Mark. Data Analysis Report: Arrhenius Equation. *University of Pennsylvania* [online]. [cit. 2024-06-13]. Dostupné z: <https://www.sas.upenn.edu/~mabruder/Arrhenius%20Equation.html>