

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

**Krystalizační chování amorfního léčiva  
Indomethacinu**

Bakalářská práce

2022

Nicola Koutná

University of Pardubice

Faculty of Chemical Technology

**The crystallization behavior of amorphous drug  
Indomethacin**

Bachelor thesis

2022

Nicola Koutná

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

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Nicola Koutná**  
Osobní číslo: **C19025**  
Studijní program: **B0531A130012 Farmakochemie a medicínální materiály**  
Téma práce: **Krystalizační chování amorfních léčiv**  
Téma práce anglicky: **The crystallization behavior of amorphous drugs**  
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

## Zásady pro vypracování

1. Vypracujte literární rešerši zabývající se využitím metody DSC při studiu krystalizačního chování amorfních léčiv.
2. Studujte neizotermní krystalizaci vybraného léčiva pomocí DSC.
3. Proveďte kinetickou analýzu získaných DSC dat pomocí softwarového vybavení.
4. Proveďte strukturní charakterizaci vybraného léčiva s využitím metod strukturní analýzy.
5. Diskutujte získané výsledky z krystalizační a strukturní analýzy.
6. Výsledky zpracujte formou závěrečné práce.

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

Seznam doporučené literatury:  
Veškerá dostupná odborná literatura.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Daniela Košťálová, Ph.D.**  
Katedra fyzikální chemie

Konzultant bakalářské práce: **Ing. Roman Svoboda, Ph.D.**  
Katedra fyzikální chemie

Datum zadání bakalářské práce: **28. února 2022**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

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

L.S.

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

V Pardubicích dne 28. února 2022

## **Prohlášení autora**

Prohlašuji:

Práci s názvem Krystalizační chování amorfního léčiva Indomethacin jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

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

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

V Pardubicích dne 29.6.2022

Nicola Koutná

## **PODĚKOVÁNÍ**

Chtěla bych poděkovat za odborné vedení bakalářské práce Ing. Daniele Košťálové, Ph.D., za umožnění vypracovat bakalářskou práci pod jejím vedením, ochotu a cenné rady při zpracovávání této práce. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Romanu Svobodovi, Ph.D. za odborný dohled.

V neposlední řadě bych ráda poděkovala celé své rodině za podporu během mého studia.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce se zabývá studiem kinetiky krystalizace a strukturní relaxace léčiva indomethacinu. Krystalizační a relaxační chování indomethacinu bylo studováno v závislosti na velikosti částic pomocí diferenční skenovací kalorimetrie (DSC). Bylo využito šest velikostních frakcí vzorku indomethacinu včetně objemového vzorku (bulk). Hlavní cíl práce byla interpretace DSC křivek a následné stanovení aktivační energie krystalizace a strukturní relaxace. Aktivační energie byla určena pomocí Kissingerovy metody.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Indomethacin, diferenční skenovací kalorimetrie, krystalizace, strukturní relaxace

## **ANNOTATION**

This Bachelor thesis is focused on problems of kinetics crystallization and structural relaxation of pharmaceutical indomethacin. Crystallization and structure relaxation of indomethacin was studied in dependence on particle size using differential scanning calorimetry (DSC). Six fractions of the indomethacin sample were used, including a bulk sample. The main goal of this work was the interpretation of DSC curves and subsequent determination of activation energy of the crystallization and structural relaxation. The activation energy was determined using the Kissinger method.

## **KEYWORDS**

Indomethacin, differential scanning calorimetry, crystallization, structural relaxation



# OBSAH

SEZNAM ZKRATEK.....	10
ÚVOD.....	12
1. TEORETICKÁ ČÁST .....	13
1.1 Léčivé látky.....	13
1.2 Indomethacin.....	14
1.2.1 Fyzikální a chemické vlastnosti .....	15
1.2.3 Toxicita .....	16
1.3 Diferenční skenovací kalorimetrie .....	16
1.3.1 Skelný přechod.....	18
1.3.2 Krystalizace.....	19
1.3.3 Tání .....	20
1.3.4 Strukturní relaxace .....	21
1.4 Kinetická analýza DSC dat .....	24
1.4.1 Krystalizace.....	24
1.4.2 Strukturní relaxace .....	29
1.5 Rentgenová difrakční analýza .....	33
2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	35
2.1 Příprava vzorků .....	35
2.2 Měření .....	36
3. VÝSLEDKY A DISKUZE .....	39
3.1 Kinetická analýza krystalizačního procesu .....	43
3.2 Kinetická analýza strukturní relaxace .....	45
3.3 Rentgenová difrakční analýza .....	47
4. ZÁVĚR .....	49
5. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	50

## SEZNAM ZKRATEK

$A_f$	předexponenciální faktor
A	plocha pod křivkou
AC (M,N)	autokatalytický Šesták-Berggren model
API	účinná farmaceutická složka
ATC	anatomicko-terapeuticko-chemická klasifikace léčiv
COX	cyklooxygenáza
$c_p$ (T)	tepelná kapacita
$c_{pg}$ (T)	extrapolovaná hodnota ve stavu skla
$c_{pl}$ (T)	extrapolovaná hodnota ve stavu podchlazené kapaliny
CR	cykly s konstantním poměrem rychlosti ohřevu a chlazení
CHR	cykly s konstantní rychlostí ohřevu
d	vzdálenost atomových rovin
$d_{aver}$	průměrná hodnota velikosti částic pro danou frakci
DSC	diferenční skenovací kalorimetrie
D2, D3, D4	difúzní modely
E	aktivační energie
$f(\alpha)$	vyjádření kinetického modelu
GIT	gastrointestinální trakt
IUPAC	Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii
JMA	Johnson-Mehl-Avrami model (nukleačně růstový model)
KAHR	Kovacs-Aklonis-Hutchinson-Ramos model
KAS	Kissinger-Akahira-Sunose metoda
KWW	Kohlraush-William-Wattsova funkce
m	parametr JMA modelu
M, N	kinetické parametry AC modelu
$M_p$	relaxační funkce
$M_{p0}$	relaxační funkce systému na začátku
n	řád difrakce
NSAID	nesteroidní protizánětlivé látky
$q^+$	rychlost ohřevu
$q^-$	rychlost chlazení
R	univerzální plynová konstanta

RDA	rentgenová difrakční analýza
RO	reakční řád
RTG	rentgenové záření
t	čas
T	teplota
TNM	Tool-Narayanaswany-Moynihan model
$T_c$	teplota krystalizace
$T_f$	fiktivní teplota
$T_g$	teplota skelného přechodu
$T_m$	teplota tání
$T_p$	teplota maxima píku
$T^*$	zvolená teplota nad $T_g$
$T'$	zvolená teplota pod $T_g$
$T_\alpha$	teplota pro stupeň konverze $\alpha$
WHO	Světová zdravotnická organizace
$w_k$	váhový koeficient
x	nelineární parametr
$y(\alpha)$	charakteristická funkce
$z(\alpha)$	charakteristická funkce
$\alpha$	stupeň konverze
$\alpha_{\max,y}$	hodnota stupně konverze v maximu funkce $y(\alpha)$
$\alpha_{\max,z}$	hodnota stupně konverze v maximu funkce $z(\alpha)$
$\beta$	parametr neexponenciality
$\delta_H$	přebytek entalpie
$\Delta H$	entalpická změna
$\Delta h^*$	zdánlivá aktivační energie
$\theta$	difrakční úhel
$\lambda$	vlnová délka
$\tau$	relaxační čas
$\tau_p$	čas potřebný k relaxaci
$\Phi$	tepelný tok
$\Phi_\alpha$	tepelný tok pro stupeň konverze $\alpha$

## ÚVOD

Indomethacin je důležitým léčivem, který má širokospektré využití jako antiflogistikum, analgetikum a antipyretikum. Indomethacin se řadí mezi nesteroidní protizánětlivé látky, byl patentován v roce 1961 a o dva roky později se již používal v léčbě revmatického onemocnění.

Každé léčivo může mít několik polymorfních forem a každá tato forma má jiné fyzikální a chemické vlastnosti, které se vzájemně se liší rozpustností a stabilitou. Indomethacin se vyskytuje v 7 polymorfních formách. Mezi tyto formy řadíme  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\varepsilon$ ,  $\zeta$ ,  $\eta$  a dvě nejběžnější formy jsou  $\gamma$  a  $\alpha$ .  $\gamma$  forma je termodynamicky stabilní a  $\alpha$  forma je metastabilní forma.

Tato bakalářská práce se věnuje určení vlastností forem léčiva indomethacinu. Charakterizace polymorfních forem indomethacinu představuje důležitý faktor pro rozvoj léčiva. Tato znalost vlastností je zásadní pro správné zacházení s léčivem během výroby či skladování, jelikož termodynamicky nestabilní forma má tendenci krystalizovat během skladování.

# 1. TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1 Léčivé látky

Léčivé látky (léčivé substance nebo účinné látky) jsou látky přírodního nebo syntetického původu. Léčiva mají farmakologický či imunologický účinek. Farmakologický účinek vyjadřuje, jak látky působí na organismus a imunologický účinek je odezva imunitního systému na látku, která je do organismu vpravena. Molekulová hmotnost léčivých látek se pohybuje od jednotek po desítky tisíc g/mol, nejčastěji to je 100 – 1000 g/mol. V dnešní době se léčivé látky značí zkratkou API (z angl. Active Pharmaceutical Ingredient). API jsou chemické látky obsažené v jakémkoli léčivu, jedná se o účinné látky léčiva.[1-4]

Léčivo je chemická sloučenina, která má svůj systematický název podle názvosloví Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii (z angl. International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC). Tyto systematické názvy se ale většinou nepoužívají, jelikož jsou moc dlouhé, proto má každé léčivo svůj generický název.[1,2]

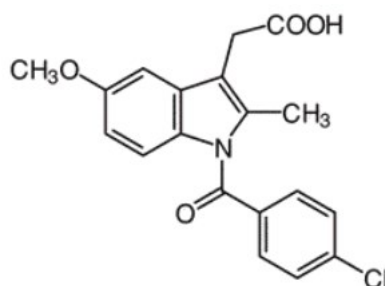
Světová zdravotnická organizace (WHO) zavedla systém na třídění léčivých látek podle účinku na jednotlivé orgány těla. Této klasifikaci se říká Anatomicko-terapeuticko-chemická klasifikace léčiv (ATC). V následující tabulce je uveden přehled skupin klasifikace léčiv podle ATC.[1,4,5]

Tabulka č. 1: Přehled skupin ATC

A	Trávicí trakt a metabolismus	L	Cytostatika a imunomodulační léčiva
B	Krev a krve tvorné orgány	M	Muskuloskeletární systém
C	Kardiovaskulární systém	N	Nervový systém
D	Dermatologika	P	Antiparazitika, insekticidy a repelenty
G	Urogenitální trakt a pohlavní hormony	R	Respirační systém
H	Systémová hormonální léčiva kromě pohlavních hormonů a insulinů	S	Smyslové orgány
J	Antiinfektiva pro systémovou aplikaci	V	Různé přípravky

## 1.2 Indomethacin

Indomethacin (Obrázek č. 1), systematickým názvem 1-(4-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-1*H*-indol-3-yl octová kyselina, je lék, který se řadí mezi antiflogistika, analgetika a antipyretika. Patří mezi nesteroidní protizánětlivé látky (NSAID). Jeho registrační číslo CAS je 53-86-1.[6,7]



Obrázek č. 1: Struktura indomethacinu[6]

Indomethacin byl patentován v roce 1961 a o dva roky později byl schválen jako léčebný prostředek pro terapii revmatického onemocnění. Indomethacin patří mezi arylalkanové kyseliny, které se vyznačují protizánětlivou povahou. Mechanismus účinku indomethacinu spočívá v inhibici cyklooxygenázy (COX). COX tvoří intermediát endoperoxid G<sub>2</sub> (prostaglandin G<sub>2</sub>), jež zahajuje biosyntézu prostaglandinů, jež působí jako mediátory zánětu v organismu. Jakmile je syntéza těchto prostaglandinů inhibována, citlivost nocireceptorů na zánětlivé mediátory je tím pádem snížena a celková zánětlivá odezva organismu je potlačena. COX inhibitory se tedy využívají proti bolesti a jsou to látky protizánětlivé. Enzym COX zajišťuje syntézu prostaglandinů z kyseliny arachidonové. Vyskytuje se ve dvou formách COX-1 a COX-2. COX-1 zajišťuje syntézu prostaglandinů a tromboxanu. COX-2, tento enzym produkuje prostaglandiny jako odpověď na zánět. Do této skupiny patří aspirin či ibuprofen.[8-12]

Indomethacin dále působí vazodilatačně na kožní cévy, a tím si zajišťuje svůj antipyretický účinek.[12]

Nevýhodou indomethacinu jsou nežádoucí účinky na gastrointestinální trakt (GIT) a může způsobit peptidické vředy. Indomethacin má různé nežádoucí účinky, proto se v této době používá jako léčivo druhé volby. S využitím indomethacinu lze léčit revmatoidní artritidu, ankylozující spondylartritidu, známou pod názvem Bechtěrovova choroba (zánětlivé onemocnění páteře), osteoartritidu (kloubní onemocnění) a akutní dnu. Používá se ve formě

čípků, gelů, tobolek, očních kapek (roztok), kožního spreje (roztok) a injekce (roztok).  
Přehled lékových forem je uveden v Tabulce č. 2. [8,9,13,14]

Tabulka č. 2: Lékové formy indomethacinu a jejich dávkování

Léková forma	Podání	Dávkování
Čípky	Rektální	50 / 100 mg
Gel	Dermální	10 mg
Tobolky	Orální	25 / 50 mg
Oční kapky	Oční	1 ml
Kožní sprej	Dermální	8 mg
Injekce	Intravenózní	

### 1.2.1 Fyzikální a chemické vlastnosti

Indomethacin má podobu světle žlutého až žlutohnědého prášku. Jeho molekulový vzorec je  $C_{19}H_{16}ClNO_4$ . Indomethacin krystalizuje z terc-butyl alkoholu. Indomethacin lze snadno rozpouštět v ethanolu, etheru, acetonu a ricinovém oleji, naopak je špatně rozpustný ve vodě. Působením silných alkálií se indomethacin rozkládá na 5-methoxy-2-methyl-3-indolactovou kyselinu a p-chlorbenzoovou kyselinu, naopak je stálý v slabě kyselém a neutrálním prostředí. Souhrn fyzikálních a chemických vlastností indomethacinu lze nalézt v Tabulce č. 3. [7,14-18]

Tabulka č. 3: Fyzikální a chemické vlastnosti indomethacinu

Molekulová hmotnost, g/mol	357,81
Hustota při 25 °C, g/cm <sup>3</sup>	1,32
Bod tání, °C	155
Bod tání polymorfních krystalů, °C	162
Bod tání amorfni formy, °C	55 – 57
Biologická dostupnost, %	98 (orální)
Metabolismus	Jaterní
Poločas rozpadu, hod	0,3 – 4 (dospělí jedinec)
Exkrece, %	60 (renální), 33 (fekální)
Maximální plazmatická koncentrace, hod	1 – 3

### 1.2.3 Toxicita

Čistý indomethacin je velmi toxická účinná látka. Příznaky nadměrné expozice mohou být například nevolnost, ztráta chuti k jídlu, bolest břicha či zvonění v uších. Smrtné dávky jsou uvedeny v Tabulce č. 4.[7,15]

Tabulka č. 4: Smrtné dávky čistého indomethacinu

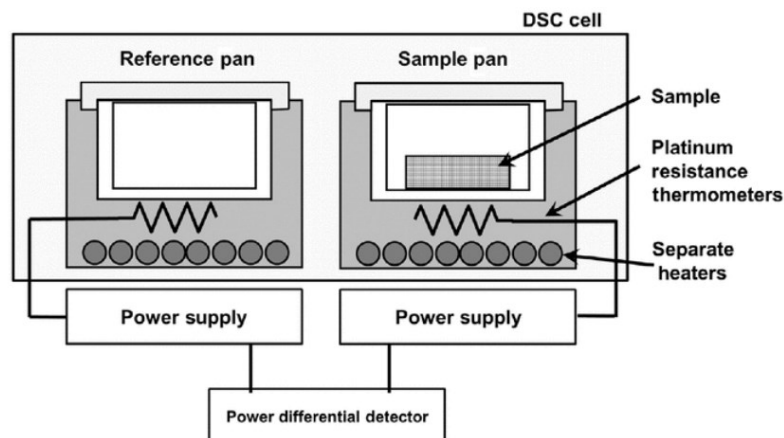
Organismus	Podání	Smrtná dávka, mg/kg
Myš	Perorální	13
Myš	Intraperitoneální	13
Myš	Intravenózní	30
Psi	Perorální	160
Člověk (70 kg)	Perorální	50 – 500 (1 čajová lžička)

### 1. 3 Diferenční skenovací kalorimetrie

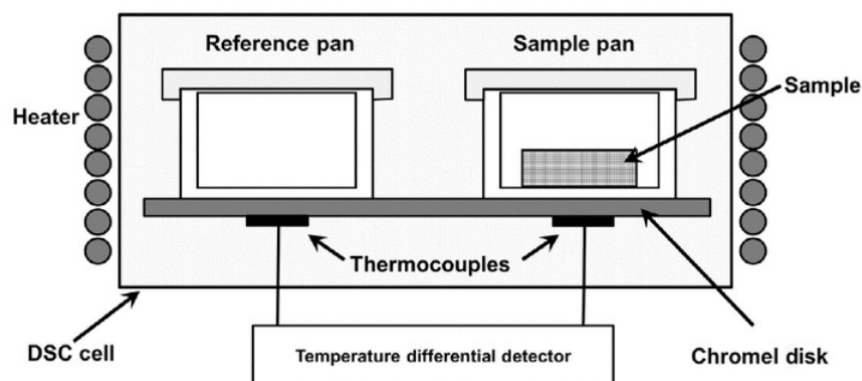
Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC) je termoanalytická metoda, při které sledujeme tepelné vlastnosti materiálů. Používá se např. pro studium fázových přeměn a kinetiky různých pochodů probíhajících v různých materiálech. Pomocí DSC jsme schopni sledovat všechny procesy, kde dochází k výměně tepla a poskytuje nám podrobné informace o fyzikálních vlastnostech dané látky. DSC měří změny tepla, které nastanou, když ochladíme nebo zahříváme vzorek a referenci jako funkce času či teploty. Z údajů, které získáme pomocí DSC, jsme schopni nalézt tepelnou změnu, jako je skelný přechod, krystalizace a tání. Metoda je univerzální a má vysokou citlivost, což znamená, že DSC dokáže rozpoznat i nejmenší změnu dané veličiny.[19,20]

Existují dvě základní varianty diferenční skenovací kalorimetrie, a to kompenzační DSC a DSC s tepelným tokem. V kompenzačním diferenčním skenovacím kalorimetru (Obrázek č. 2) se vzorek a reference ohřívají každý zvlášť samostatnými ohříváči na stejnou teplotu. Měří se elektrický příkon obou ohříváčů, který byl potřeba k vyrovnání teplot vzorku a reference. Pec je vyrobená z kovu, který má vysokou tepelnou vodivost, např. stříbro. Tato metoda má vysoké rozlišení a nízkou citlivost. DSC s tepelným tokem (Obrázek č. 3) má na rozdíl od kompenzační DSC pouze jeden ohříváč, jak pro vzorek, tak pro referenci. Vzorek i reference jsou umístěny ve společném prostoru. Rozdíl tepelného toku neboli teplota vzorku se měří pomocí chromelových termočlánků.[21,22]





Obrázek č. 2: Konstrukce kompenzační DSC[21]

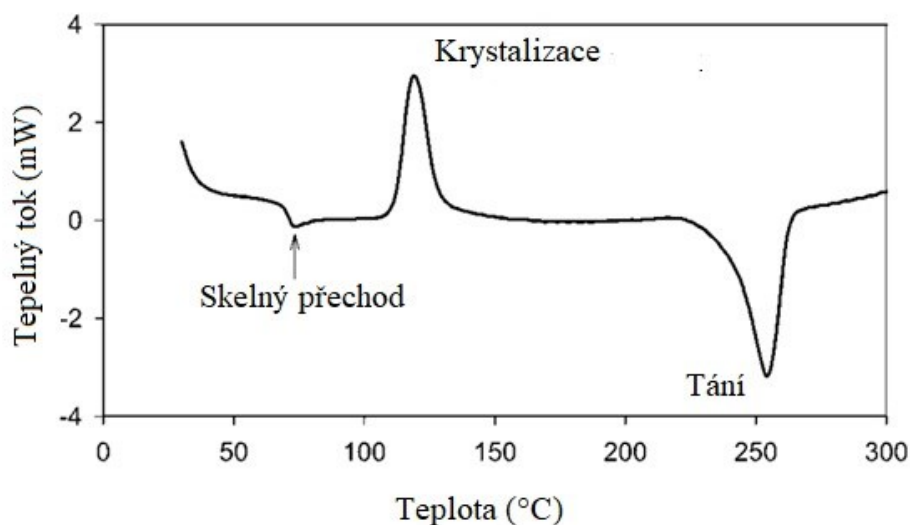


Obrázek č. 3: Konstrukce DSC s tepelným tokem[21]

V diferenčním skenovacím kalorimetru měření probíhá tak, že jsou uvnitř umístěny dvě nádoby – jedna na vzorek, druhá pro referenci. Jako reference se obvykle používá prázdný hliníkový kelímek. V případě využití DSC metody můžeme použít i velmi malé hmotnosti vzorku, a to 1 až 100 mg.[23,24]

Principem DSC je měření rozdílů v množství tepla potřebného ke zvýšení teploty vzorku a reference jako funkce teploty. Nejobvykleji používanou rychlostí ohřevu je rychlost 10 °C/min. Lze ale samozřejmě využít širokého intervalu rychlostí ohřevu (0,5 až 80 C°/min). To potom zcela úzce souvisí s tím, jaký tepelný jev pozorujeme, jakou povahu vzorku máme k dispozici, a samozřejmě záleží na možnostech daného konkrétního diferenčního skenovacího kalorimetru, na němž měření provádíme. Z měření vzorku pomocí diferenčního skenovacího kalorimetru potom získáme finální výstup experimentu v podobě grafu. Z každého měření se získají tzv. charakteristické DSC křivky.[23,24]

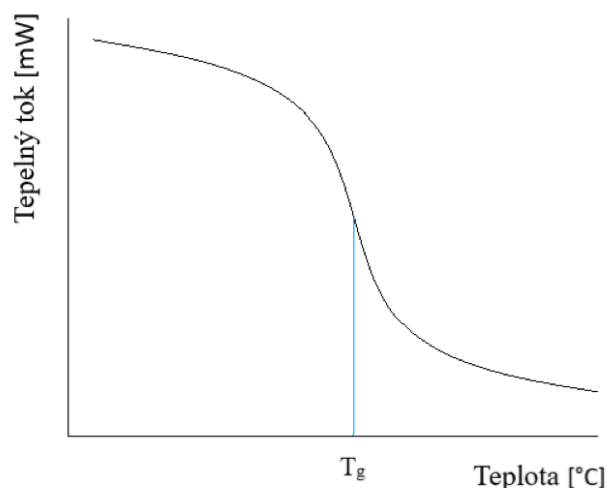
Na Obrázku č. 4 vidíme píky, které nám určují teplotu, při které dochází ke skelnému přechodu  $T_g$ , teplotu, při které dochází ke krystalizaci  $T_c$  a teplotu tání  $T_m$ . [25]



Obrázek č. 4: Závislost tepelného toku na teplotě [26]

### 1.3.1 Skelný přechod

Skelný přechod se řadí mezi fázové přechody 2. druhu a probíhá v amorfních látkách. Teplota skelného přechodu neboli  $T_g$  je teplota, při které dochází ke změně fyzikálních vlastností látek. Pod touto teplotou je materiál ve sklovitém stavu, což znamená, že makromolekuly vykazují jen vibrační pohyb a makromolekulární segmenty se nepohybují. Látka je v tomto stavu tvrdá, nepružná a křehká. Nad teplotou skelného přechodu se z nepružného materiálu stává pružný a měkký. V tomto stavu se segmenty makromolekul mohou pohybovat, jelikož dojde k uvolnění vazeb. Při skelném přechodu nastává změna tepelné kapacity. [27,28]



Obrázek č. 5: Schéma skelného přechodu

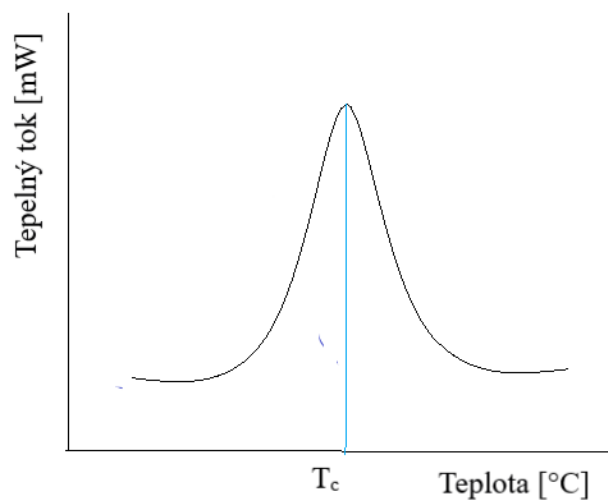
Teplota skelného přechodu se z grafu odečítá metodou half-height midpoint. Touto metodou se určí začátek a konec oblasti skelného přechodu a mezi těmito dvěma body se určí polovina výšky.

### 1.3.2 Krystalizace

Krystalizace je exotermní proces, což znamená, že se uvolňuje teplo do okolí. Je to proces, při kterém vzniká struktura, která se nazývá krystal. Tato struktura je vysoce organizovaná. To, jaký má krystal tvar, formu nebo velikost rozhoduje, jaké bude mít fyzikální a chemické vlastnosti, jako je např. bod tání. Krystalizace probíhá pomalým chlazením taveniny.[28-30]

Krystalizace se sestává ze dvou procesů – nukleace a následný růst zárodků krystalické fáze. Nukleace, což je tvorba krystalových zárodků, může nastat buď z podchlazené kapaliny, nebo z přesyceného rozpouštědla. Druhá část krystalizace je reprezentována růstem zárodků krystalické fáze, kdy vznikající krystaly zvětšují svou velikost.[29]

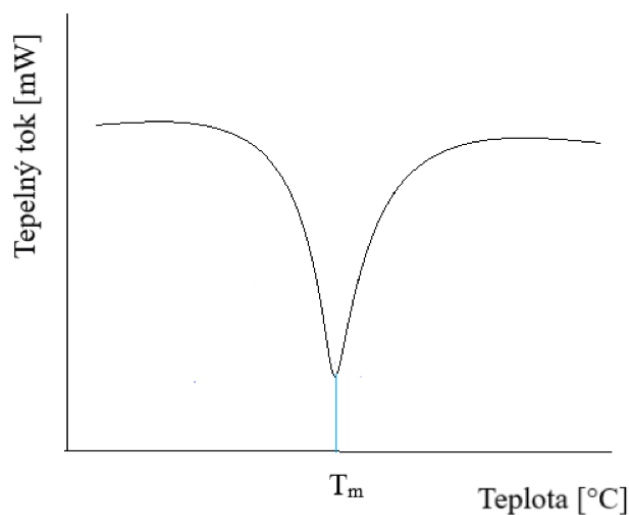
Nejlépe krystalizují minerály a organické molekuly, kde vznikají krystaly dobré kvality. Hůře krystalizují biochemické látky, jako jsou např. proteiny.[29]



Obrázek č. 6. Schéma krystalizace

### 1.3.3 Tání

Tání je endotermický děj, což znamená, že je potřeba dodat materiálu dostatečné množství tepla, aby tání mohlo proběhnout. Pokud látka dosáhne bodu tání, tak už se nemění i přesto, že dále pokračuje zahřívání. Při měření tání pomocí metody DSC pík vypadá stejně jako pík krystalizace, ale v opačném směru.[28]

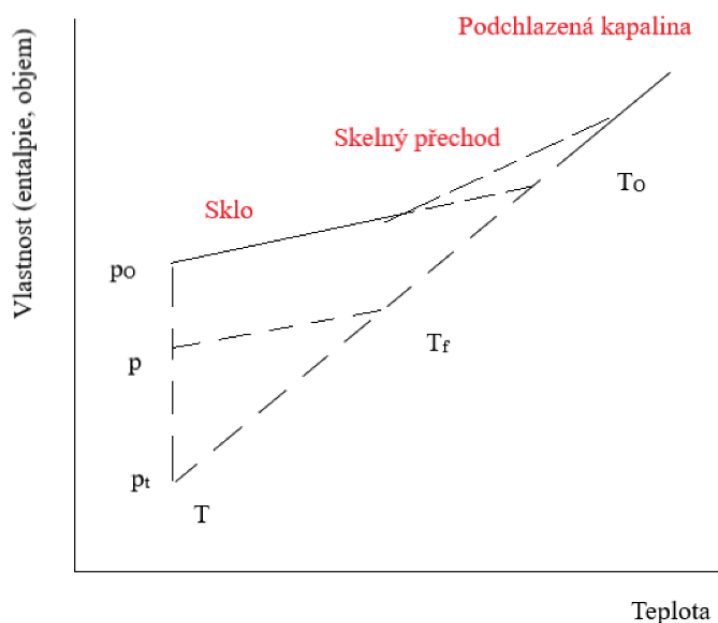


Obrázek č. 7: Schéma tání

### 1.3.4 Strukturální relaxace

Strukturální relaxace se někdy označuje jako fyzikální stárnutí, které se projevuje u amorfních látek. Ke strukturální relaxaci dochází po ochlazení kapaliny pod její bod tání (podchlazené kapaliny). Tato struktura se nachází v termodynamicky nerovnovážném (metastabilním) stavu podchlazené kapaliny. Jelikož se nachází v nerovnovážném stavu má tendenci se dostat k termodynamické rovnováze. K dosažení termodynamické rovnováhy jí brání vysoké energetické a kinetické bariéry, jelikož se látka nachází ve stavu podchlazené kapaliny. Tyto bariéry látka není schopna překonat, protože nemá dostatečnou energii. Při tomto jevu dochází ke snižování hodnot měřených veličin, např. entalpie či objemu. Proto tedy rozlišujeme např. entalpickou relaxaci či objemovou relaxaci. Změna struktury materiálu, která proběhne během strukturální relaxace, má vliv na fyzikální vlastnosti, např. hustota, index lomu nebo transmitance. Se strukturální relaxací souvisí tři jevy – hystereze, nelinearita a neexponencialita.[31,32]

Na Obrázku č. 8 můžeme vidět odchýlenou křivku skelného stavu, které nám odpovídá odchylce od rovnováhy během konstantního chlazení. Sklo, které zchladíme na teplotu  $T$ , mění svou strukturu směrem k pseudo-rovnováze (metastabilní rovnováha). Daná struktura může být charakterizována fiktivní teplotou  $T_f$ . Fiktivní teplota je teplota, při které má podchlazená kapalina stejnou strukturu jako relaxované sklo. Index „0“ značí počáteční stav a index „t“ značí rovnovážný stav.

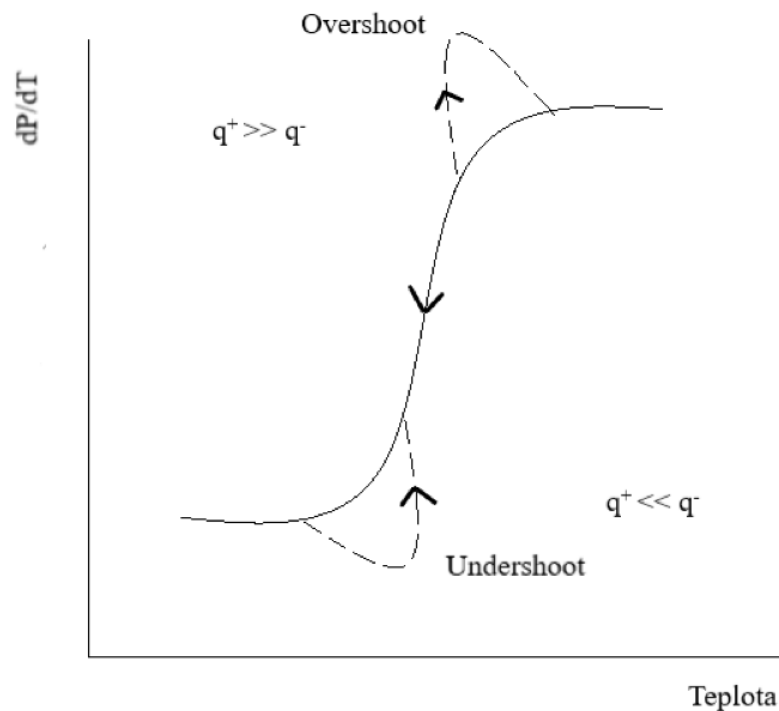


Obrázek č. 8: Teplotní závislost vlastnosti při strukturální relaxaci

### 1.3.4.1 Hystereze

Hystereze je jev, kdy struktura materiálu nezávisí pouze na podmínkách děje, ale i na předchozím stavu materiálu (historii materiálu). Hystereze se projevuje během zahřívání ze skelného stavu. Při hysterezi získáme jiný průběh křivky během zahřívání než při chlazení díky reorganizaci struktury.[33]

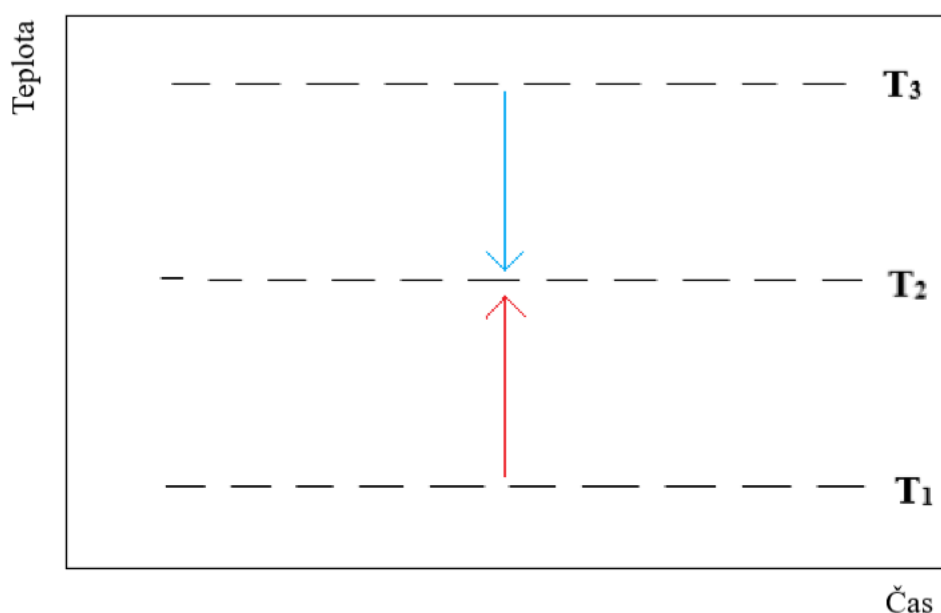
V závislosti na poměru  $q^+/q^-$  (rychlost ohřevu/rychlost chlazení) může vzniknout buď relaxační (overshoot) nebo subrelaxační (undershoot) pík. Jestliže je rychlost ohřevu  $q^+$  mnohokrát vyšší než rychlost chlazení  $q^-$ , dochází ke vzniku relaxačního píku. V tomto případě se materiál dostává do rovnováhy a dojde k překmitnutí. Pokud ale použijeme nižší rychlost ohřevu než rychlost chlazení, dochází ke vzniku subrelaxačního píku. Vzniká poměrně pohyblivá struktura, jelikož rychlost chlazení je vysoká. Tato pohyblivost je dána tím, že materiál neměl dostatek času na uspořádání. Na Obrázku č. 9 je znázorněna ukázka hystereze, kdy v jednom případě je použita nižší rychlost ohřevu než rychlost chlazení a v druhém případě je rychlost ohřevu vyšší než rychlost chlazení.[32,33,34]



Obrázek č. 9: Hystereze

### 1.3.4.2 Nelinearita

Nelinearita znamená, že rychlost relaxace závisí na směru a velikosti teplotního skoku. K vysvětlení se využívá metoda teplotních skoků. Využívají se dva identické vzorky, kdy první vzorek udržujeme při teplotě  $T_1$  a ohřejeme ho na teplotu  $T_2$  a sledujeme jeho relaxaci. Druhý vzorek máme při teplotě  $T_3$ , která je vyšší než teploty  $T_1$  a  $T_2$  a vzorek ochladíme na teplotu  $T_2$  a také sledujeme jeho relaxaci. Rychlejší relaxaci můžeme pozorovat u druhého vzorku, kdy vzorek chladíme, jelikož jeho počáteční struktura vzorku je více rozvolněná a může se rychle reorganizovat. V případě prvního vzorku, který byl ohříván, pozorujeme mnohem pomalejší relaxaci, jelikož jeho počáteční struktura byla kompaktní. Pokud je teplotní skok velmi malý ( $0,5 - 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ), tak je možné nelinearitu zanedbat.[32,33]



Obrázek č. 10: Nelinearita

### 1.3.4.3 Neexponencialita

Strukturní relaxace je neexponenciální, proto ji nemůžeme vyjádřit jen jedním exponenciálním výrazem, ale můžeme ji vyjádřit empiricky součtem exponenciálních výrazů:[35]

$$M_p = \sum_{k=1}^N w_k e^{-\left(\frac{t}{\tau_p}\right)} \quad (1)$$

$M_p$  = relaxační funkce

$w_k$  = váhový koeficient

$t$  = čas, za jaký dojde ke skoku na teplotu  $T$

$\tau_p$  = čas potřebný k relaxaci

Další možné vyjádření:

$$M_p = e^{-\left(\frac{t}{\tau_p}\right)^\beta} \quad (2)$$

$\beta$  = parametr neexponenciality, který se nachází v intervalu 0 – 1

Rovnice (2) se nedá použít pro nelineární relaxaci. Je platná pouze pro lineární, kde teplotní skoky nejsou větší než pár stupňů. Proto se využívá rovnice s časovým integrálem, Kohlraush-William-Wattsova (KWW) funkce:[35]

$$M_p = M_{p0} \cdot e^{\left[-\left(\int_0^t \frac{t}{\tau_p}\right)^\beta\right]} \quad (3)$$

$M_{p0}$  = funkce systému na začátku

## 1. 4 Kinetická analýza DSC dat

### 1.4.1 Krystalizace

Kinetiku krystalizace můžeme studovat pomocí různých fyzikálních vlastností s využitím několika experimentálních technik. Během krystalizace je sledována určitá vlastnost (např. entalpie či elektrická vodivost) a teplotní změna těchto vlastností odpovídá celkové kinetice procesu krystalizace. DSC metoda nám umožňuje sledovat proces, kdy se mění jedna z těchto vlastností, a to je entalpie. Pokud známe kinetiku krystalizace materiálu, jsme schopni předpovědět podmínky přípravy či využití v praxi. Kinetická analýza DSC dat nám pomáhá předpovědět chování látek za jakýkoliv podmínek a jsme schopni předpovědět podmínky přípravy materiálu či reálné využití v praxi. Úlohou kinetické analýzy DSC dat je nalezení nejvhodnějšího kinetického modelu, který nám pomůže popsat daný proces. Kinetickou rovnici krystalizační DSC křivky lze vyjádřit ve tvaru:[19,36]

$$\Phi = \Delta H \cdot A \cdot e^{-E/RT} \cdot f(\alpha) \quad (4)$$

Kde:  $\Phi$  = tepelný tok [W]

$\Delta H$  = entalpie krystalizace [J]

$A$  = předexponenciální faktor [ $s^{-1}$ ]



$E$  = aktivační energie [J/mol]  
 $R$  = univerzální plynová konstanta [J/K·mol]  
 $T$  = teplota [K]  
 $f(\alpha)$  = vyjádření kinetického modelu  
 $\alpha$  = stupeň konverze

#### 1.4.1.1 Výpočet aktivační energie

Prvním krokem kinetické analýzy krystalizačních DSC dat je určení aktivační energie. Existuje několik metod, jak ji určit, ale nejvíce se v případě krystalizačních DSC dat používají čtyři metody – Kissingerova, Ozawova, Friedmanova a Starrinkem modifikovaná Kissinger-Akahira-Sunose (KAS) metoda. Jelikož experimentální podmínky mají velký vliv na kvalitu dat při prováděné krystalizaci, tak se v běžné praxi uvažují pouze hodnoty aktivační energie, které byly získány pro stupeň konverze v intervalu 0,3 – 0,7. Tato úvaha se využívá při použití Kissingerovy a Ozawovy metody. Tyto hodnoty aktivační energie jsou určeny jako střední hodnota v intervalu 0,3 – 0,7. V ideálním případě by hodnoty aktivační energie měly být nezávislé na stupni konverze.[19,36]

##### 1.4.1.1.1 Kissingerova a Ozawova metoda

Kissingerova a Ozawova metoda se používají jen pro data měřená za neizotermní podmínek. Jejich principem je posun krystalizačního píku  $T_p$  s rychlostí ohřevu  $q^+$ . Postup určení hodnoty aktivační energie krystalizačního procesu pomocí Kissingerovy (5) a Ozawovy (6) metody lze vyjádřit následujícími rovnicemi:[19,36,37]

$$\ln\left(\frac{q^+}{T_p^2}\right) = -\frac{E}{R \cdot T_p} + konst. \quad (5)$$

$$\ln q^+ = -1,0516 \cdot \frac{E}{R \cdot T_p} + konst. \quad (6)$$

$q^+$  = rychlost ohřevu

$E$  = aktivační energie

$R$  = univerzální plynová konstanta

$T_p$  = teplota krystalizačního píku

Předpoklad těchto dvou metod je, že stupeň konverze ( $\alpha$ ) odpovídá maximální krystalizační rychlosti, přičemž tato rychlost je konstantní a nezávislá na experimentálních podmínkách. Potíže při použití těchto metod se mohou vyskytnout při složitějších procesech, které zahrnují více než jeden krystalizační proces.[18]

#### 1.4.1.1.2 Friedmanova metoda

Třetí metoda výpočtu aktivační energie je založena na různých hodnotách stupně konverze podle rovnice:[19,36]

$$\ln \Phi_{\alpha} = - \frac{E}{R \cdot T_{\alpha}} + konst. \quad (7)$$

kde  $\Phi_{\alpha}$  je tepelný tok a  $T_{\alpha}$  je teplota pro vybraný stupeň konverze. I u této metody stejně jako u předchozích metod jsou experimentální data získána z naměřených krystalizačních křivek při různých rychlostech ohřevu a každá hodnota je vykreslena samostatně. Tato metoda má výhodu, že ji lze využít u neizotermálních měření, tak i u izotermálních měření.[19,36]

#### 1.4.1.1.3 Starrinkem modifikovaná KAS (Kissinger-Akahira-Sunose) metoda

Integrální izokonverzní metoda KAS je založena na principu izokonverzních řezů na rovnici v integrálním stavu. Tato metoda lze popsat rovnicí:[36]

$$\ln \left( \frac{q^+}{T_{\alpha}^{1,92}} \right) = -1,0008 \frac{E}{RT_{\alpha}} + konst. \quad (8)$$

kde  $T_{\alpha}$  a  $E$  (teplota a aktivační energie) odpovídají určitým hodnotám konverze.

#### 1.4.1.2 Výběr kinetického modelu

Druhým krokem kinetické analýzy krystalizačních DSC dat je výběr kinetického modelu. Používají se algoritmy, které jsou založené na charakteristických funkcích  $z(\alpha)$  a  $y(\alpha)$ . Pro izotermní podmínky jsou tyto funkce definovány jako:[19]

$$y(\alpha) = \Phi \quad (9)$$

$$z(\alpha) = \Phi \cdot t \quad (10)$$

Pro neizotermní podmínky jsou tyto funkce definovány jako:[19]

$$y(\alpha) = \Phi \cdot e^{E/RT} \quad (11)$$

$$z(\alpha) = \Phi \cdot T^2 \quad (12)$$

Tyto charakteristické funkce  $y(\alpha)$  a  $z(\alpha)$  slouží k jednoduššímu zpracování DSC krystalizačních dat. Získaná DSC data nám tyto funkce transformují, abychom mohli lépe vybrat vhodný kinetický model pro popis krystalizačních DSC dat. Kinetický model se určí

pomocí hodnot stupňů konverze v maximech již zmíněných charakteristických funkcí. Každý kinetický model je charakterizován určitou hodnotou stupně konverze v maximu charakteristické funkce. V Tabulce č. 5 jsou uvedeny vybrané kinetické modely a jejich hodnoty stupňů konverze v maximech charakteristických funkcí.[19,37]

Tabulka č. 5: Základní kinetické modely a jejich stupně konverze

Kinetický model	$\alpha_{\max,z}$
JMA	0,632
D2	0,834
D3	0,704
D4	0,776

Maximum funkce  $z(\alpha)$  odpovídá maximální rychlosti procesu a shoduje se s hodnotou stupně konverze  $\alpha_{\max,z}$ . [19]

K popisu krystalizačního chování se nejčastěji využívají dva modely – nukleačně růstový Johnson-Mehl-Avrami (JMA) model a autokatalytický Šesták-Berggren (AC) model. V následující Tabulce č. 6 jsou vypsány základní kinetické modely a jejich matematické vyjádření.[19]

Tabulka č. 6: Základní kinetické modely a jejich matematické vyjádření

Kinetický model	Zkratka	$f(\alpha)$
Johnson-Mehl-Avrami	JMA	$m(1-\alpha)[- \ln(1-\alpha)]^{1-1/m}$
Autokatalytický Šesták-Berggren	AC	$\alpha^M(1-\alpha)^N$
Reakční řád	RO	$(1-\alpha)^n$
2D – difúze	D2	$-[1/\ln(1-\alpha)]$
Jander	D3	$[3(1-\alpha)^{2/3}]/[2(1-(1-\alpha)^{1/3})]$
Ginstling-Brounhstein	D4	$3/[2((1-\alpha)^{-1/3}-1)]$

#### 1.4.1.2.1 Nukleačně růstový Johnson-Mehl-Avrami model

Tento kinetický model je jednoparametrový a matematicky ho lze vyjádřit pomocí uvedené rovnice:[19]

$$f(\alpha) = m(1 - \alpha)[- \ln (1 - \alpha)]^{1 - (\frac{1}{m})} \quad (13)$$

kde:  $m$  = parametr určující nukleaci a růst krystalů

JMA model dává fyzikálně smysluplné výsledky pro krystalizační DSC data v případě, že je splněna podmínka, kde stupeň přeměny ( $\alpha$ ) je maximum funkce  $z(\alpha)$  a  $\alpha_{\max,z} = 0,632$ . Pokud lze k popisu kinetiky krystalizace využít JMA model, můžeme následovně určit i hodnotu jeho parametru  $m$ :[19]

$$m = \frac{1}{1 + \ln (1 - \alpha_{\max,y})} \quad (14)$$

Jinou možností, jak určit parametr  $m$  je přes dvojitý logaritmus podle rovnice:[16]

$$\frac{d \ln[- \ln (1 - \alpha)]}{d(\frac{1}{T})} = - \frac{m \cdot E}{R} \quad (15)$$

#### 1.4.1.2.2 Autokatalytický Šesták-Berggren model

Autokatalytický (AC) model je další možností, kterou můžeme využít, pokud nelze využít k popisu krystalizačních dat JMA model. Tento kinetický model byl odvozen empiricky. Jeho parametry potom nemají žádný fyzikální smysl, nicméně AC model je schopen velmi dobře a flexibilně popsat krystalizační kinetiku. AC model popisuje následující rovnice:[19]

$$f(\alpha) = \alpha^M (1 - \alpha)^N \quad (16)$$

Jediná podmínka pro použití tohoto modelu je, že  $\alpha_{\max,y} < \alpha_{\max,z}$ , což nastane při každém experimentálním měření. Parametry AC modelu lze vypočítat podle dvou následujících rovnic:[19]

$$\frac{M}{N} = \frac{\alpha_{max,y}}{(1-\alpha_{max,y})} \quad (17)$$

$$\ln \left[ \Phi \left( \frac{E}{RT} \right) \right] = \ln(\Delta H \cdot A) + N \cdot \ln \left[ \alpha^{\frac{M}{N}} (1 - \alpha) \right] \quad (18)$$

#### 1.4.1.3 Výpočet předexponenciálního faktoru

Výpočet předexponenciálního faktoru A je posledním krokem kinetické analýzy. Faktor se dá určit buď z rovnice (18) nebo fitováním nelineární DSC křivky.[19]

#### 1.4.2 Strukturní relaxace

Strukturní relaxaci můžeme popsat dvěma modely, které zohledňují nelinearitu a neexponencialitu. Těmito modely jsou Tool-Narayanaswamy-Moynihan (TNM) a Kovacs-Aklonis-Hutchinson-Ramos (KAHR) model.[38,39,40]

TNM model je nepoužívanějším modelem pro popis strukturní relaxace. Tento model je využitelný pro mnoho skelných a amorfních materiálů. TNM model je založený na dvou rovnicích. Jedna z nich je již zmíněná rovnice (3), tzv. KWW funkce. KWW funkce se využívá k popisu relaxačního chování v čase. Druhá z rovnic je následující:[38,39,40]

$$\tau = A_{TNM} \cdot \exp \left[ \frac{x \cdot \Delta h^*}{RT} + \frac{(1-x) \cdot \Delta h^*}{RT_f} \right] \quad (19)$$

$\tau$  = relaxační čas

$A_{TNM}$  = preexponenciální faktor

$x$  = nelineární parametr ( $x = 1$  pro lineární relaxaci)

$\Delta h^*$  = zdánlivá aktivační energie strukturní relaxace

$R$  = univerzální plynová konstanta

$T$  = teplota

$T_f$  = fiktivní teplota

Fiktivní teplota je definována jako teplota podchlazené kapaliny, která odpovídá struktuře relaxujícího skla.[41]

### 1.4.2.1 Metody vyhodnocení relaxačních parametrů

Pro vyhodnocení relaxačních parametrů máme k dispozici dvě metody – fitovací a nefitovací metody. Fitovací metody jsou založeny na nelineární regresi a optimalizačních algoritmech k proložení parametrů. Nefitovací metody jsou založené na úpravě experimentálních dat. Mezi tyto metody patří, např. peak-shift metoda, která slouží pro určení parametru  $x$  a jejím principem je posouvání maxima relaxačního píku. Mezi nejznámější metody patří metoda podle Moynihana, která slouží pro vyhodnocení aktivační energie.[42]

#### Fitovací metody

Výhodou této metody je získání všech TNM parametrů. Problém těchto metod je různá závislost tepelné kapacity na teplotě ve stavu podchlazené kapaliny a ve stavu skla. Pro zjednodušení jsou data normalizována pomocí rovnice:[42,43]

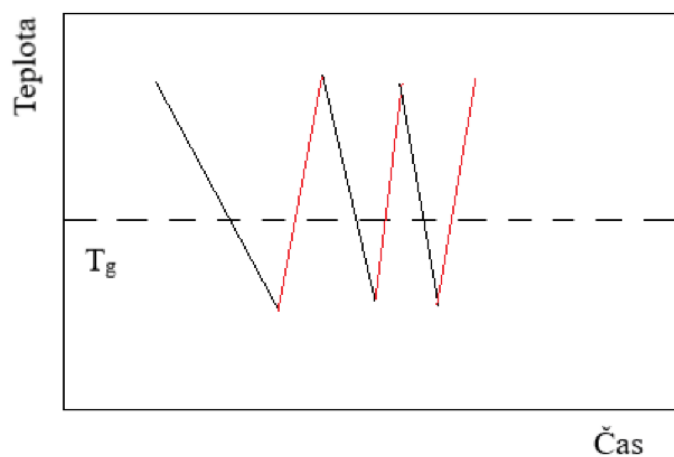
$$c_p^n = \frac{c_p(T) - c_{pg}(T)}{c_{pl}(T) - c_{pg}(T)} \quad (20)$$

$c_p(T)$  = aktuálně změřená data tepelné kapacity

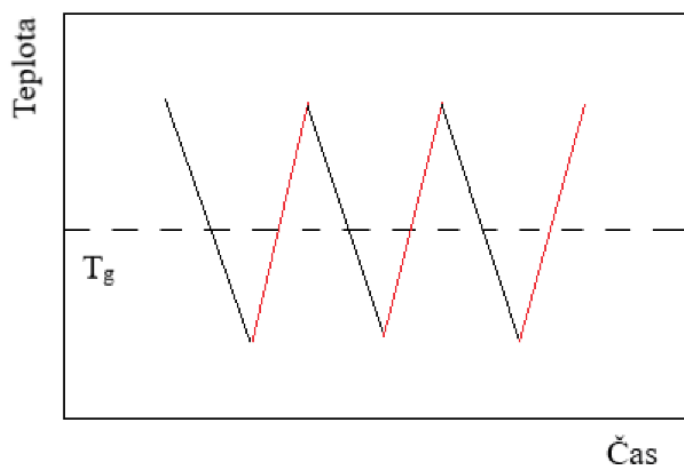
$c_{pg}(T)$  = extrapolovaná hodnota ve stavu skla

$c_{pl}(T)$  = extrapolovaná hodnota ve stavu podchlazené kapaliny

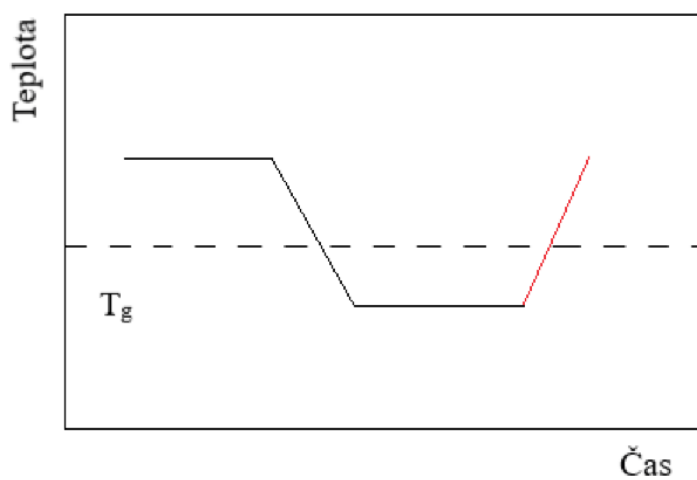
V praxi se využívá místo tepelné kapacity hodnota ve formě tepelného toku. Touto záměnou narůstají rušivé vlivy, jejichž působení můžeme snížit pomocí správně zvolené teplotní historie. Máme tři základní typy teplotní historie – cykly s konstantní rychlostí ohřevu (CHR, constant heating rate cycles) (Obrázek č. 11), cykly s konstantním poměrem rychlostí ohřevu a chlazení (CR, intrinsic cycles) (Obrázek č. 12) a temperační cykly (Obrázek č. 13).[44,45]



Obrázek č. 11: Schéma reprezentuje cykly s konstantní rychlostí ohřevu (CHR)



Obrázek č. 12: Schéma reprezentuje cykly s konstantním poměrem rychlostí ohřevu a chlazení (CR)



Obrázek č. 13: Schéma reprezentuje temperační cykly

## Nefitovací metody

### Metoda posunu píku

Stanovení parametru nelinearity  $x$  můžeme provést pomocí posunu píku  $T_p$ . Při tomto experimentu sledujeme posun píku  $T_p$  s přebytkem entalpie. Určení této přebytkové entalpie je založena na odečtení plochy pod kalorimetrickou křivkou a plochy referenční pomocí rovnice:[46]

$$\int_{T^*}^{T_f} (C_{pl} - C_{pg}) dT_f = \int_{T^*}^{T'} (C_p - C_{pg}) dT \quad (21)$$

$T^*$  = zvolená teplota nad  $T_g$ , kdy je tepelná kapacita rovna kapacitě podchlazené kapaliny

$T'$  = zvolená teplota pod  $T_p$ , kdy je tepelná kapacita rovna kapacitě skelného stavu

Parametr nelinearity  $x$  se stanoví pomocí rovnice:[46]

$$x^{-1} - 1 = \Delta c_p \left( \frac{\partial T_p}{\partial \delta_H} \right)_{q^-, q^+} \quad (22)$$

$T_p$  = teplota maxima relaxačního píku

$\delta_H$  = přebytek entalpie

### Stanovení aktivační energie

Aktivační energii můžeme stanovit pomocí Kissingerovy metody nebo z CHR a CR cyklů. Principem Kissingerovy metody je stejná rychlost chlazení, přičemž měníme rychlost ohřívání. Využívají se následující dvě rovnice:[47,48]

$$-\frac{\Delta h^*}{T_g} = \frac{d \ln|q^+|}{dT_g^2} \quad (23)$$

$$-\frac{\Delta h^*}{T_p} = \frac{d \ln|q^+|}{dT_p^2} \quad (24)$$

Vyhodnocení aktivační energie z CHR cyklů je odvozené z Moynihanovy metody. Principem je určení fiktivní teploty ( $T_f$ ), která odpovídá  $T_g$  získané z chlazení. Pro určení aktivační energie se využívá následující rovnice:[44]

$$-\frac{\Delta h^*}{R} = \left[ \frac{d \ln|q^-|}{d \left( \frac{1}{T_f} \right)} \right]_{\frac{q^+}{q^-} = konst.} \quad (25)$$

Fiktivní teplota se může vyhodnotit pomocí metody ekvivalentní plochy pomocí rovnice (19). Rovnice se zjednoduší, kdy  $c_{pg} = 0$  a  $c_{pl} = 1$ , poté rovnice zní:[44]

$$T_f - T^* = A \quad (26)$$



A = plocha pod křivkou

Vyhodnocení aktivační energie z CR cyklů je založeno na konstantním poměru rychlosti chlazení a ohřevu. Metody pro získání aktivační energie z CR cyklů jsou dvě. První z nich je posun teploty skelného přechodu s rychlostí ohřevu:[45]

$$-\frac{\Delta h^*}{R} = \left[ \frac{d \ln|q^+|}{d \left(\frac{1}{T_g}\right)} \right]_{\frac{q^+}{q^-} = konst.} \quad (27)$$

Ve druhé metodě posouváme teplotu maxima píku  $T_p$  s rychlostí ohřevu:[45]

$$-\frac{\Delta h^*}{R} = \left[ \frac{d \ln|q^+|}{d \left(\frac{1}{T_p}\right)} \right]_{\frac{q^+}{q^-} = konst.} \quad (28)$$

## 1.5 Rentgenová difrakční analýza

Rentgenová difrakční analýza (RDA) je analytická metoda, která využívá rentgenové záření (RTG záření). Vlnová délka rentgenového záření je v rozmezí  $10^{-11} - 10^{-8}$  m. Tato metoda se využívá k určení struktury krystalických látek a konečným výstupem RDA metody je difrakční záznam. Principem RDA metody je ozařování RTG paprsky krystal, kde dojde k difrakci paprsku a získá se difraktovaný paprsek pod určitými úhly. Tento princip musí splňovat podmínky Braggova zákona:[49,50]

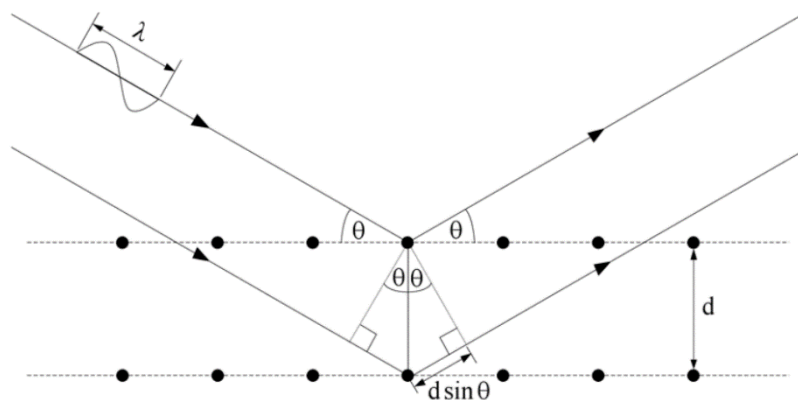
$$n \cdot \lambda = 2 \cdot d \cdot \sin\theta \quad (29)$$

n = řád difrakce (n = 1, 2, 3, ...)

$\lambda$  = vlnová délka záření

d = vzdálenost atomových rovin

$\theta$  = difrakční úhel



Obrázek č. 14: Difrakce RTG záření[50]

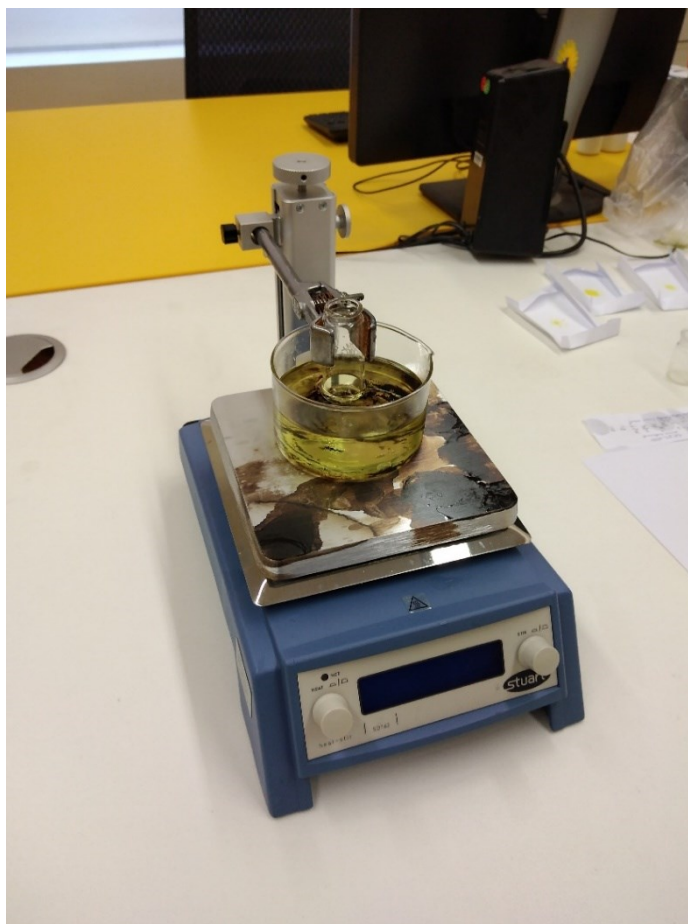
RDA se využívá ve farmaceutickém průmyslu, kde slouží k jednoznačné identifikaci složek léčiva. Může sloužit také k určení stupně krystalinity látky, která nám pomůže k identifikaci látky nebo k určení stupně vlhkosti, která může mít vliv na fyzikální vlastnosti léčiv.[51,52]

Rentgenová difrakční analýza má ve farmaceutickém průmyslu širokou škálu aplikací v různých fázích vývoje léčiva. Dnes se nejčastěji využívá k charakterizaci pevných forem API. Tento proces se nazývá screening pevné formy API a je to nejdůležitější část celé výroby, jelikož rozhodnutí učiněná na základě tohoto screeningu mohou ovlivnit celý životní cyklus léčiva. Tento proces se provádí za účelem nalezení nejvhodnější pevné formy s nejvhodnějšími vlastnostmi.[51,52]

## 2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 2.1 Příprava vzorků

Vzorek indomethacinu v práškové formě (cca 5 g) byl vložen do lékovky a byl připraven melt-quench technikou. Touto metodou byl indomethacin v lékovce roztaven v médiu (v našem případě olej), který byl zahřát na vyšší teplotu, než je teplota tání samotného indomethacinu (teplota tání indomethacinu je 155 °C). Poté co se celý vzorek rovnoměrně roztavil, byl rychle ochlazen a tím vznikla žlutá amorfnní látka. Lékovka se vzorkem musela být následně rozbita, abychom mohli vzorek dále zpracovat. Vzorek byl nadrcen na jemnější prášek v achátové misce. Takto připravený vzorek byl proset sítý s definovanou velikostí ok, kde bylo získáno 5 frakcí (50 – 125, 125 – 180, 180 – 250, 250 – 300 a 300 – 500 μm). Z každé frakce bylo naváženo 2 – 5 mg vzorku. Takové množství frakcí bylo zvoleno z důvodu získání co největšího množství informací o indomethacinu.



Obrázek č. 15: Provedení melt-quench techniky



Obrázek č. 16: Síta s definovanou velikostí ok

## 2.2 Měření

Měření krystalizačního procesu i strukturní relaxace jednotlivých vzorků bylo prováděno pomocí diferenčního skenovacího kalorimetru DSC Q2000 (TA Instruments). Přístroj, který byl k dispozici, je konstruován s tepelným tokem. DSC má v sobě zabudovaný autosampler s 50 pozicemi, chladicí zařízení cooler RCS90 a T-zero technologii. Tento typ chladicího zařízení RCS90 umožňuje měřit vzorky již při  $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Před samotnou analýzou byla provedena kalibrace přístroje. Jako první jsme provedli kalibraci kapacity a rezistence DSC cely a to tak, že jsme pustili cyklické chlazení a ohřívání při rychlosti  $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  od  $-90$  do  $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Tento program jsme spustili 10x. Následně jsme DSC celu temperovali na  $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$  a po 10 minutách jsme opět ohřívali na  $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Tento poslední ohřev byl použit jako zeroline kalibrace. Dalším krokem byla kalibrace teploty  $T$  a tepelného toku  $\phi$ . Ke kalibraci se využívá tání čistých kovů, v našem případě byly použity kovy In a Zn a voda. Každý kalibrant byl ochlazen  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  pod teplotu tání a ohříván  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  nad teplotu tání rychlosti

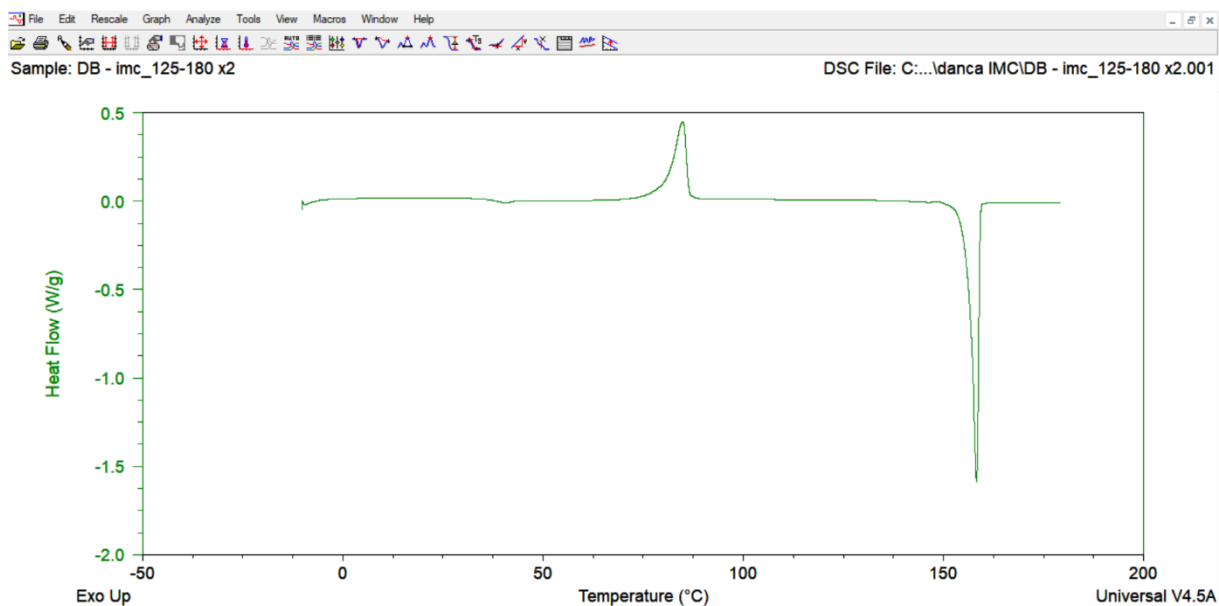
ohřevu 10 °C/min. Během kalibrace In byla zároveň provedena kalibrace tepelného toku. Cely byly proplachovány pomocí dusíku čistoty 4.0 s rychlostí průtoku 50 ml/min.



*Obrázek č. 17: Diferenční skenovací kalorimetr*

Jednotlivé vzorky byly před měřením umístěny do kelímků, které byly uzavřeny hermeticky studeným svárem. Navážka vzorků se pohybovala mezi 2 – 5 mg. Měření bylo prováděné za neizotermních podmínek. Měření se pohybovalo v rozmezí teplot 10 – 180 °C s různou rychlostí ohřevu (0,5; 1; 2; 3; 5; 7; 10; 15; 20; 30 °C/min).

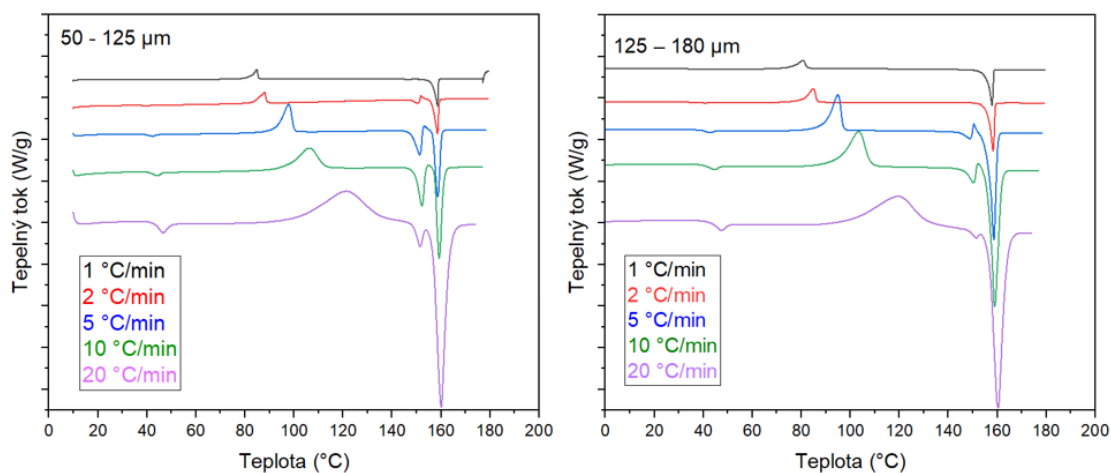
Pro každý vzorek při různé rychlosti ohřevu byla získána DSC křivka. Na následujícím Obrázku č. 18 je příklad DSC křivky pro vzorek indomethacinu, která byla získána pro práškovou frakci o velikosti částic 125 – 180 µm a rychlosti ohřevu 2 °C/min.



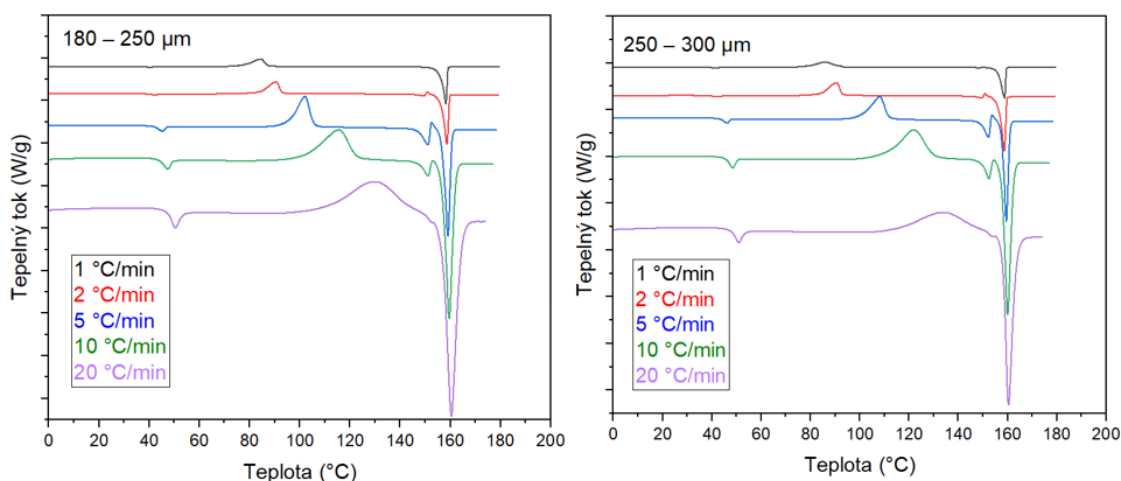
Obrázek č. 18: Příklad DSC křivky vzorku indomethacinu (125 – 180  $\mu\text{m}$ , 2  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ )

### 3. VÝSLEDKY A DISKUZE

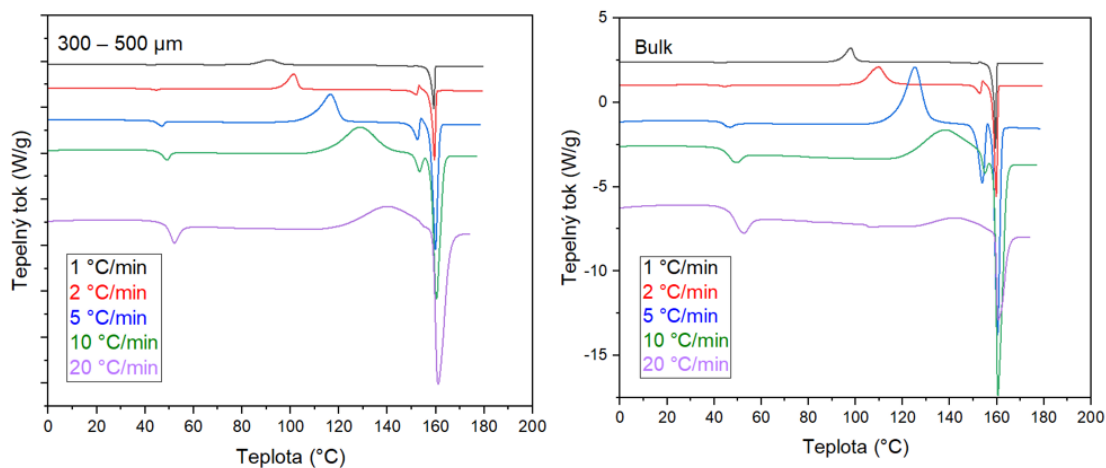
Krystalizační chování a strukturní relaxace účinné látky indomethacinu byly studovány pomocí diferenční skenovací kalorimetrie. Měření krystalizačního chování bylo provedeno za neizotermních podmínek v závislosti na velikosti částic vzorku. Jak již bylo zmíněno, k dispozici bylo 5 velikostních frakcí vzorků a bulk, který představuje objemový vzorek. Každý vzorek byl zahříván zvolenou rychlostí ohřevu, kdy bylo využito 5 zmíněných rychlostí ohřevu. Výsledkem našeho experimentu tedy bylo 30 charakteristických DSC křivek. Na následujících obrázcích se nacházejí DSC křivky pro každou velikostní frakci dohromady se všemi rychlostmi ohřevu.



Obrázek č. 19: Vlevo: DSC křivky velikostní frakce 50 – 125 μm, vpravo: DSC křivky velikostní frakce 125 – 180 μm



Obrázek č. 20: Vlevo: DSC křivky velikostní frakce 180 – 250  $\mu\text{m}$ , vpravo: DSC křivky velikostní frakce 250 – 300  $\mu\text{m}$



Obrázek č. 21: Vlevo: DSC křivky velikostní frakce 300 – 500  $\mu\text{m}$ , vpravo: DSC křivky pro bulk

Prvním tepelným efektem, který můžeme pozorovat na získaných DSC křivkách, je skelná transformace. Tento jev se nachází v rozmezí 36 – 49 °C v přímé závislosti na aplikované rychlosti ohřevu. Se zvyšující se rychlostí ohřevu se teplota skelné transformace přirozeně posouvá k vyšším teplotám. Skelná transformace je endotermický efekt, proto se v našem případě schod na DSC křivce projevuje v grafech směrem dolů. Skelná transformace je velmi dobře oddělená od píku reprezentujícího efekt krystalizace, což znamená, že materiál měl dostatek času na to, aby tyto dva procesy stihly proběhnout odděleně. Můžeme si všimnout, že při nižších rychlostí ohřevu (1 °C/min a 2 °C/min) tento efekt není skoro viditelný, pouze po větším přiblížení. Naopak při rychlejších rychlostech ohřevu je tento jev už velmi zřetelný. U nejjemnější frakce (50 – 125  $\mu\text{m}$ ) se skelný přechod



s rychlostí ohřevu posouvá, ale ne tak zřetelně, naopak pokud máme větší částice, pík skelné transformace se s rychlostí ohřevu posouvá směrem doprava, k vyšším teplotám. Může to být způsobené tím, že velké částice se pohybují pomaleji, proto dochází ke skelné transformaci při vyšších teplotách.

Dalším efektem na DSC křivce je krystalizace, jejíž maximum píku se pohybuje v rozmezí 80 – 150 °C, opět v závislosti na aplikované rychlosti ohřevu. Krystalizační proces je řízen kineticky. Při rychlejších ohřevech dochází k posunu maxima krystalizačního píku k vyšším teplotám. Můžeme si všimnout, že ne ve všech pících krystalizace je náběhová hrana píku symetrická s koncovou hranou píku. Toto může vypovídat o tom, že neprobíhá pouze jeden krystalizační proces, ale více, v našem případě to jsou pravděpodobně dva krystalizační procesy. Jednou z možností, která může vysvětlit komplexitu krystalizačního procesu, je pravděpodobná přítomnost více forem – polymorfů indomethacinu.

Polymorfismus je stav, ve kterém pevná chemická látka existuje ve více než jedné krystalické formě. Tyto formy mají odlišné fyzikální a chemické vlastnosti a liší se rozpustností a stabilitou. Indomethacin existuje v sedmi formách, mezi ty nejběžnější patří  $\gamma$  a  $\alpha$ .  $\gamma$  forma je termodynamicky stabilní a krystalizuje dříve, její teplota tání je 160 °C a entalpie 91 J/g. Druhou formou je  $\alpha$  forma, která je řízena kineticky, takzvaná metastabilní forma. Její teplota tání je 154 °C a entalpie 110 J/g. Dalších pět forem je méně stabilních než již zmíněné dvě formy, jsou to –  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$  a  $\eta$ . [53-55]

Třetím významným efektem na DSC křivce je tání vzorku. Vrchol píku tání je přibližně při 160 °C. Ve všech případech měření je tento pík velmi ostrý. Můžeme si povšimnout, že nejvýraznější pík se vždy projeví při nejrychlejší rychlosti ohřevu, to je 20 °C/min. Je to zřejmě dáno tím, že zahříváme vyšší teplotou než u jiných rychlostí ohřevu.

Dále můžeme pozorovat další dva píky mezi krystalizací a procesem tání. Tento jev se projevuje ve všech rychlostech ohřevu, avšak při vyšších rychlostech ohřevu je rozeznatelnější. Tyto dva píky jsou zřejmě jeden z důkazů přítomnosti polymorfismu. Tento proces je nejvíce pozorovatelný při rychlostech ohřevu 5 °C/min. Při rychlejších rychlostech ohřevu můžeme vidět, že pík krystalizace a pík tání nám začínají splývat v jeden. Materiál neměl dostatek času, aby tyto dva procesy mohl dostatečně oddělit.

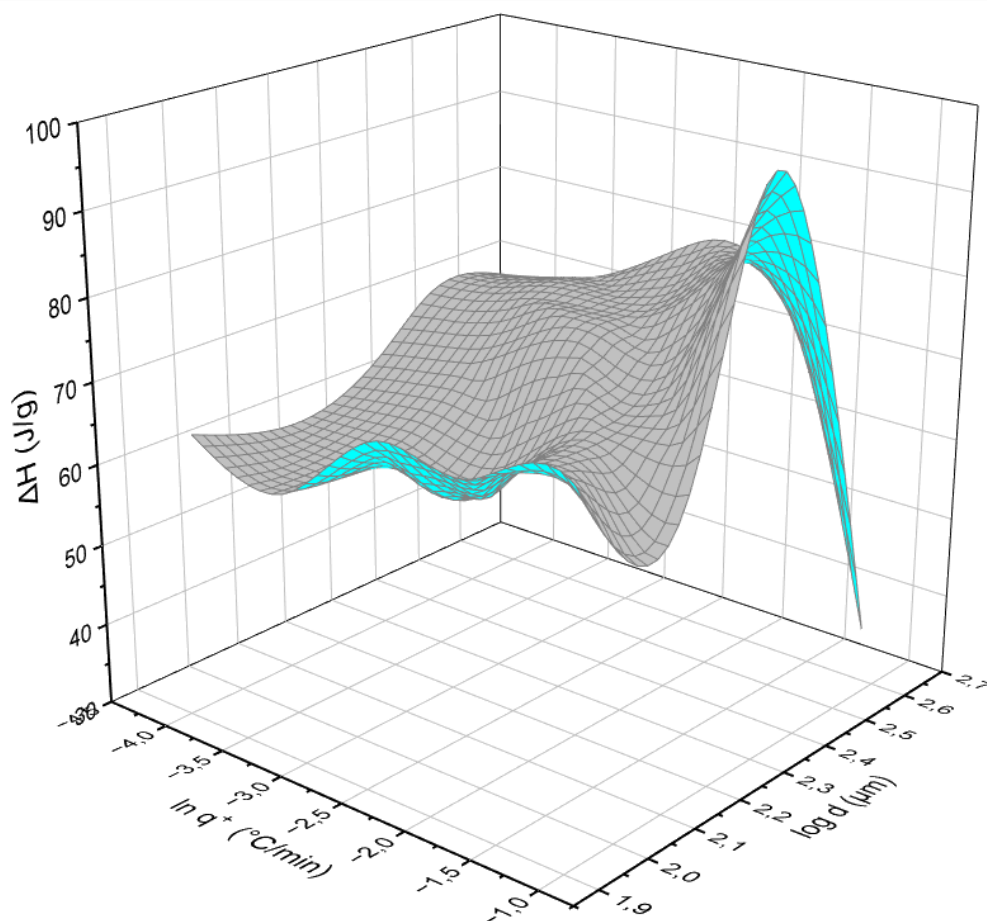
Jelikož máme rozdílné hodnoty entalpií krystalizace a tání, tak jednou z příčin může být to, že krystalizace a následná rekrystalizace neproběhne ze 100 %. Dalším důvodem, proč hodnoty tepel krystalizace a tání nejsou shodné, může být přítomnost krystalizace již před dominantním krystalizačním procesem, tzn. mezi efektem skelného přechodu a dominantní

krystalizací. V následující Tabulce č. 7 se nachází porovnání entalpie krystalizace a entalpie tání.

Tabulka č. 7: Porovnání entalpie krystalizace a entalpie tání

Velikost frakce, $\mu\text{m}$	$\Delta H$ krystalizace, J/g	$\Delta H$ tání, J/g
50 – 125	67,1	85,1
125 – 180	63,1	105,6
180 – 250	74,9	99,4
250 – 300	76,8	100,7
300 – 500	66,2	88,1
Bulk	54,4	66,9

Hodnoty změny entalpie  $\Delta H$  krystalizačního procesu i tání byly stanoveny metodou integrace plochy pod křivkou. Na následujícím Obrázku č. 22 je vyobrazena entalpie krystalizačního procesu indomethacinu závislosti na rychlosti ohřevu  $\ln q^+$  [ $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ] a velikosti částic určité frakce  $\log d_{\text{aver}}$  [ $\mu\text{m}$ ].



Obrázek č. 22: Závislost celkové entalpie krystalizačního procesu  $\Delta H$  na rychlosti ohřevu a velikosti částic indomethacinu

Jak můžeme vidět, čím větší máme částice a vyšší rychlost ohřevu, tím jsou hodnoty entalpie procesu vyšší. V tomto případě, ale můžeme pozorovat výjimku, kdy u nejvyšší rychlosti ohřevu největších částic nám hodnota entalpie prudce klesá.

### 3.1 Kinetická analýza krystalizačního procesu

Jedním z cílů mé práce byla interpretace DSC křivek. Dalším z důležitých úkolů bylo řešení kinetiky daných procesů – krystalizace a strukturní relaxace. Díky znalosti kinetiky těchto procesů v materiálech jsme schopni velmi úspěšně predikovat chování materiálů za jakýchkoli podmínek. Tato znalost nám pomáhá pochopit chování materiálu při dalším zpracovávání, tj. jejich příprava, výroba a nakládání s nimi v praxi.

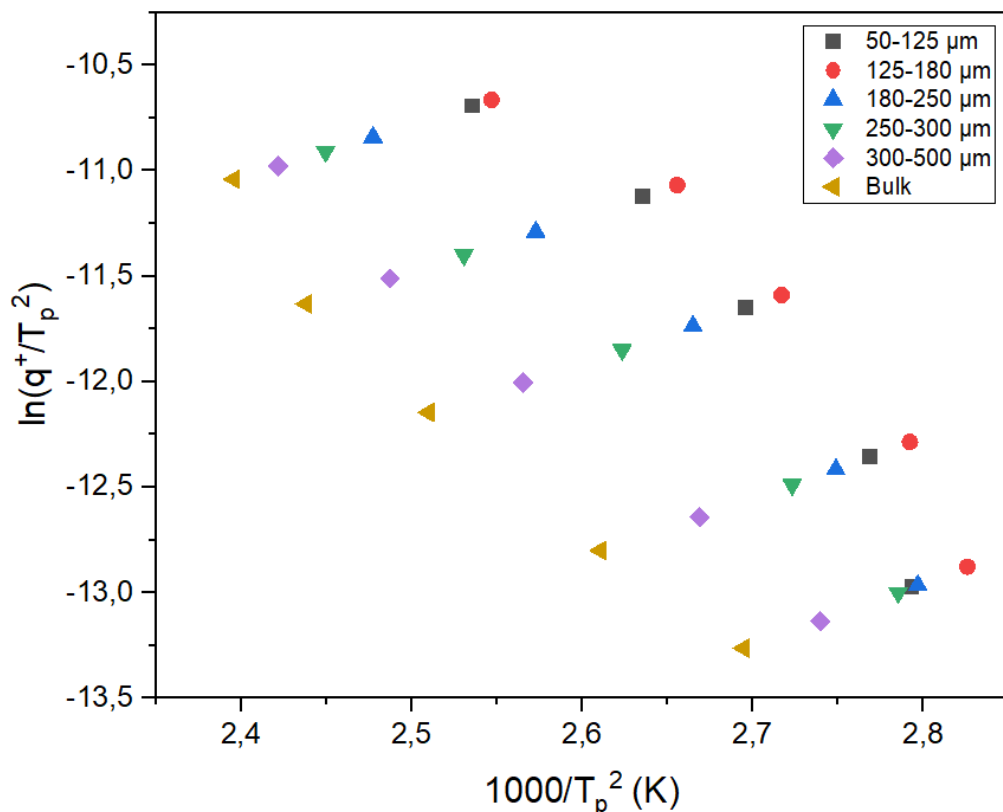
V našem případě jsme se zabývali stanovením aktivační energie krystalizačního procesu. Určení aktivační energie je určující a první krok kinetické analýzy. Na základě znalosti aktivační energie a dalších kinetických parametrů (viz. rovnice DSC křivky (4)) jsme

schopni určit základní kinetický model, a tak předpovědět základní chování studovaných materiálů, v našem případě indomethacinu.

Ke stanovení aktivační energie jsme využili Kissingerovu metodu. Kissingerova metoda se využívá pro data za neizotermních podmínek. Jejím principem je posun krystalizačního píku  $T_p$  s rychlostí ohřevu  $q^+$ . Tato metoda je matematicky vyjádřena již zmíněnou rovnicí (5).

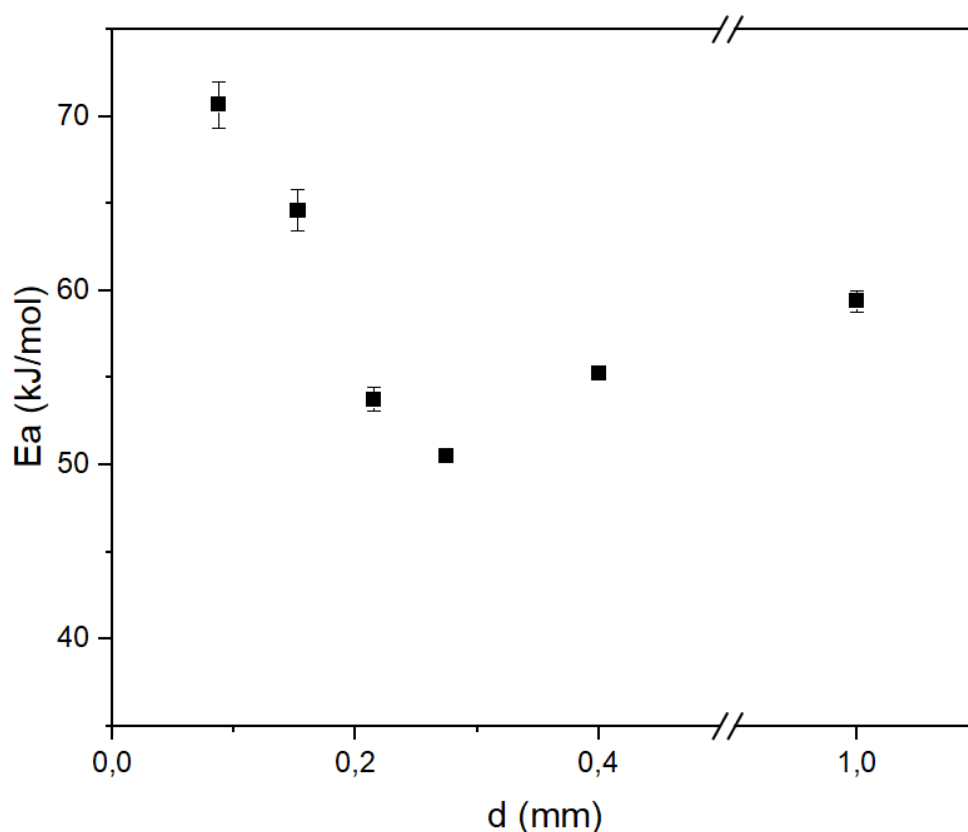
Hodnota aktivační energie se získá ze směrnice grafu, kde ose y náleží  $\ln\left(\frac{q^+}{T_p^2}\right)$  a osa x vynášíme hodnoty  $\frac{1000}{T_p}$ . Směrnice grafu je ve tvaru  $(-E_A/R)$ .

Na Obrázku č. 23 můžeme pozorovat, vývoj maxima krystalizačního píku s rychlostí ohřevu a s velikostí částic. Tento graf se nazývá „Kissinger plot“. Můžeme pozorovat, že mechanismy krystalizace všech velikostí frakcí jsou velmi podobné, liší se pouze v posunu křivek k vyšším teplotám. Všechny frakce jsou od sebe velmi dobře oddělitelné. Čím jsou částice vzorku větší, tím se více přibližují k hodnotám bulkového vzorku.



Obrázek č. 23: Kissinger plot

Na Obrázku č. 24 se nachází graf závislosti stanovených hodnot aktivační energie na velikosti částic. Nejvyšší aktivační energii mají částice s nejmenší velikostí. Může to být způsobeno tím, že krystalizace neprobíhá pouze v objemu vzorku, ale i na povrchu jednotlivých částic. Jelikož u částic s nejmenší velikostí dochází k různým defektům na povrchu částic, tím se urychlí proces krystalizace a sníží se energetická bariéra, kterou je nutno překonat, aby mohla proběhnout krystalizace.

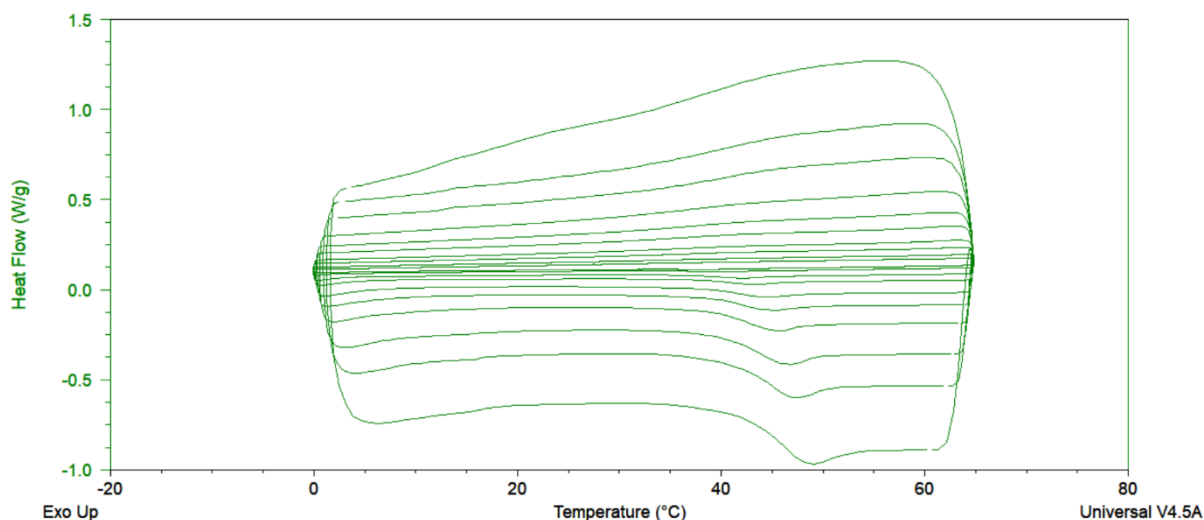


Obrázek č. 24: Závislost aktivační energie na velikosti částic indomethacinu

### 3.2 Kinetická analýza strukturní relaxace

Stanovení aktivační energie je důležitým krokem analýzy strukturní relaxace. K vyhodnocení aktivační energie se využívají dva teplotní programy, a to již zmíněné CHR cykly nebo CR cykly. Obě tyto metody jsou založeny na cyklických měření, kdy se vzorek střídavě chladí a zahřívá přes skelný přechod při použití různých rychlostí ohřevu a chlazení. Při využití metody CHR cykly je rychlost ohřevu konstantní a mění se rychlost chlazení. U CR cyklů je rychlost ohřevu a rychlost chlazení ekvivalentní.

Při našem měření jsme využili metodu CR cyklů a měření probíhalo v teplotním rozsahu 0 °C až 60 °C. Rychlost ohřevu, a tím pádem i rychlost chlazení, byla zvolena při 1; 2; 5; 10 a 20 °C/min. Na následujícím Obrázku č. 25 se nachází výstup z DSC měření za použití CR cyklů.

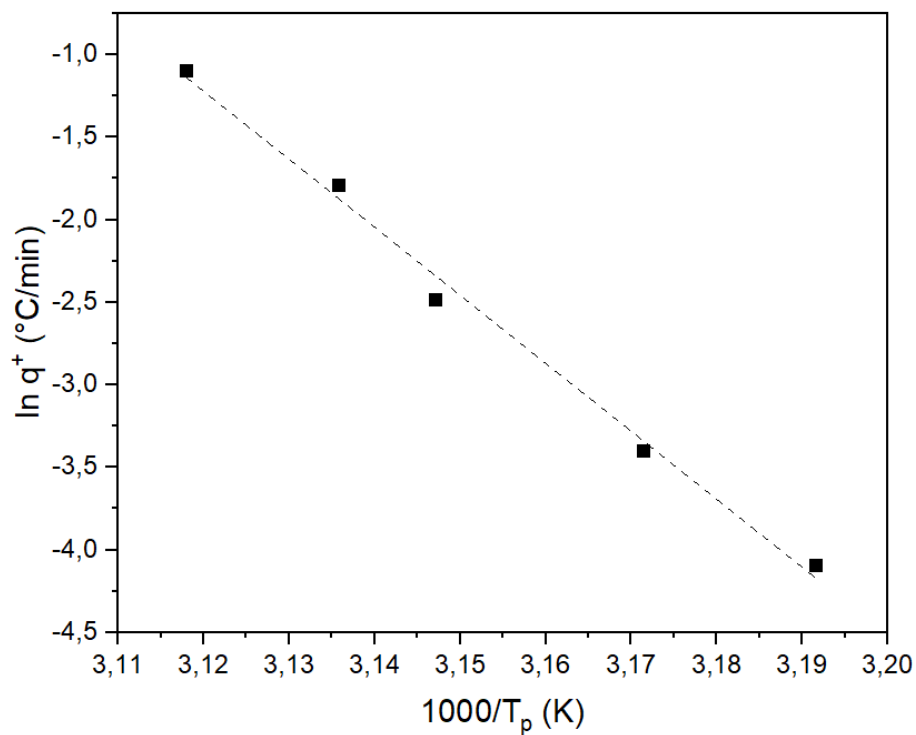


Obrázek č. 25: CR cykly

K vyhodnocení aktivační energie lze využít již zmíněnou rovnici (28), kde se využívá posunu teploty maxima píku  $T_p$  s rychlostí ohřevu.

$$-\frac{\Delta h^*}{R} = \left[ \frac{d \ln |q^+|}{d \left( \frac{1}{T_p} \right)} \right]_{\frac{q^+}{q^-} = konst.} \quad (28)$$

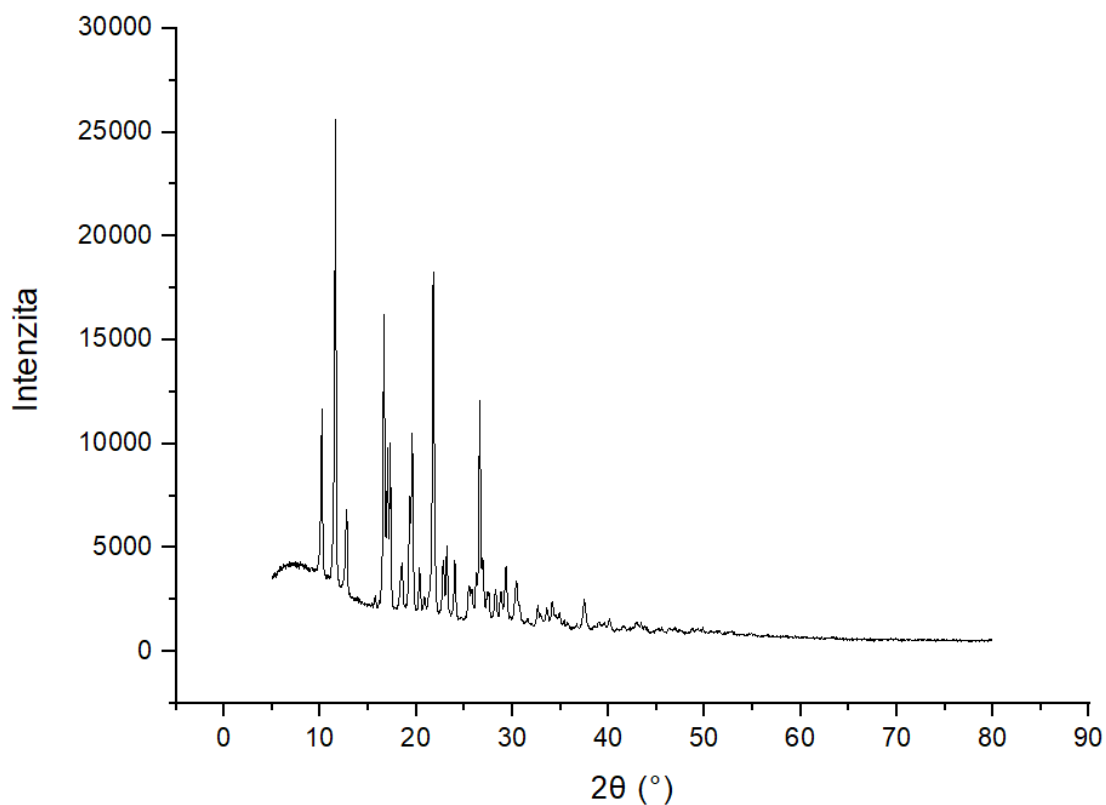
Ze znalosti rychlosti ohřevu  $q^+$  a teploty maxima píku strukturní relaxace  $T_p$  byl sestaven graf závislosti  $\ln q^+$  na  $1000/T_p$ . Hodnota aktivační energie byla vypočtena ze směrnice grafu ( $-\Delta h^*/R$ ) a tato hodnota činila 343 kJ/mol. Na následujícím Obrázku č. 26 je zobrazena tato závislost, tedy  $\ln q^+$  na  $1000/T_p$



Obrázek č. 26: Závislost  $\ln q^+$  na  $1000/T_p$

### 3.3 Rentgenová difrakční analýza

Rentgenová difrakční analýza (RDA) byla využita k získání strukturní informace léčiva indomethacinu. Na následujícím Obrázku č. 27 je zobrazen difrakční záznam léčiva indomethacinu, kde je závislost intenzity na difrakčním úhlu  $\theta$ .



Obrázek č. 27: Difrakční záznam léčiva indomethacinu

Nejvýraznější píky náleží formě  $\gamma$ , které leží na 10,16; 11,58; 16,64; 19,59; 21,79 a 26,62 °. Tím, že jsou píky formy  $\gamma$  nevyšší můžeme usoudit, že tato forma je nejvíce zastoupena v indomethacinu. Menší píky, ale stále dostatečně výrazné, patří  $\alpha$  formě, které leží na 12,71 a 16,64 °.



## 4. ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce byla interpretace DSC křivek a následné vyhodnocení aktivační energie procesu krystalizace a strukturní relaxace léčiva indomethacinu.

V první části je nejdříve představeno léčivo indomethacin, jeho fyzikálně-chemické vlastnosti a jeho využití. Dále byl popsán diferenční skenovací kalorimetr (DSC) a DSC křivky a co na nich můžeme pozorovat. Pomocí DSC jsme mohli studovat kinetiku krystalizace a strukturní relaxace za neizotermních podmínek v závislosti na velikosti částic. Pomocí experimentálních dat byla určena aktivační energie procesu krystalizace a strukturní relaxace. Aktivační energie byla určena pomocí Kissingerovy metody.

Pomocí DSC byly pozorovány dvě formy indomethacinu,  $\gamma$  a  $\alpha$ . Na závěr byla využita difrakční rentgenová analýza (RDA), které nám posloužila k získání strukturních informací o léčivu indomethacinu.

## 5. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] HAMPL, František, RÁDL, Stanislav, PALEČEK, Jaroslav. *Farmakochemie*. 3. upravené a rozšířené vydání. Praha, 2015. s. 16. [cit. 14.3.2022]. ISBN 978-80-7080-875-7.
- [2] International Food Information Service. *Dictionary of Food Science and Technology*. Second edition. International Food Information Service, 2009. s. 223. [cit. 17.3.2022]. ISBN 978-1-4051-8740-4.
- [3] <https://www.verywellhealth.com/api-active-pharmaceutical-ingredient-2663020> [cit. 16.4.2022]
- [4] CAMILLE, Wermuth, ALDOUS, Georges, RABOISSON, David, ROGNAR, Didier Pierre. *Practice of Medicinal Chemistry*. 4th Edition. Elsevier, 2015, s. 4. [cit. 16.4.2022], ISBN 978-0-12-417205-0.
- [5] [https://www.sukl.cz/modules/medication/atc\\_tree.php](https://www.sukl.cz/modules/medication/atc_tree.php) [cit. 6.6.2022]
- [6] CAMMACK, R., ATTWOOD, T. K., CAMPBELL, P. N., PARISH, J. H., SMITH, A. D., STIRLING, J. L., VELLA, F. *Oxford dictionary of Biochemistry and molecular biology*. Revised edition. Oxford University, 2006. s. 341. [cit. 14.3.2022]. ISBN 978-0-19-852917-0.
- [7] GANGOLLI, Sharat, ed. *The Dictionary of Substances and their Effects* [online]. 3rd electronic ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, ©2005. Last Update Jan. 1999 [14.3.2022]. ISBN 978-0-85404-803-8.
- [8] BRANDENBERGER, H., MAES, R. A. A. *Analytical Toxicology for Clinical, Forensic and Pharmaceutical Chemists*. De Gruyter, 1997. s. 527. [cit. 14.3.2022]. ISBN 978-3-11-010731-9.
- [9] HAMPL, František, RÁDL, Stanislav, PALEČEK, Jaroslav. *Farmakochemie*. 3. upravené a rozšířené vydání. Praha, 2015. s. 127, 132. [cit. 14.3.2022]. ISBN 978-80-7080-875-7.
- [10] VARDANYAN, Ruben, HRUBY, Victor. *Synthesis of Best-Seller Drugs*. Elsevier, 2016. s. 16. [cit. 14.3.2022]. ISBN 978-0-12-411492-0.
- [11] LAURENCE, D. R., CARPENTER, J. R. *A Dictionary of Pharmacology and Allied Topics*. Elsevier, 1998. s. 234. [cit. 14.3.2022]. ISBN 978-0-444-82591-9.
- [12] MARTÍNKOVÁ, Jiřina. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada, 2007. s. 379. [cit. 16.4.2022]. ISBN 978-80-247-1356-4.

- [13] <https://medlineplus.gov/druginfo/meds/a681027.html> [cit. 14.3.2022]
- [14] COMER, John, JUDGE, Sam, MATTHEWS, Darren, TOWERS, Louise, FALCONE, Bruno, GOODMAN, Jonathan, DEARDEN, John. The intrinsic aqueous solubility of indomethacin. *Original scientific paper*. **2014**, 2 (1), 18-32.
- [15] POHANISH, Richard P. *Sittig's Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens*. Fifth Edition. William Andrew Publishing, 2008. s. 1418. [cit. 14.3.2022]. ISBN 978-0-8155-1553-1.
- [16] LEWIS, Richard J. *Sax's Dangerous Properties of Industrial Materials*. Twelfth Edition. John Wiley & Sons, 2012. s. 2561. [cit. 14.3.2022]. ISBN 978-0-470-62325-1.
- [17] GUPTA, Jasmine, NUNES, Cletus, VYAS, Shyam, JONNALAGADDA, Sriramakamal. Prediction of Solubility Parameters and Miscibility of Pharmaceutical Compounds by Molecular Dynamics Simulations. *Journal of Physical Chemistry B*. 2011, 115 (9), 2014-2023.
- [18] DUBINSKY, Barry, PRESS, Jeffery B. Skeletal Muscle Relaxants. In: ELVERS, Barbara, ed. *Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. 7th completely rev. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2011, s. 161. Vol. 17. ISBN: 978-3-527-32943-4.
- [19] SVOBODA, Roman, MÁLEK, Jiří. Interpretation of crystallization kinetics results provided by DSC. *Thermochimica Acta*. **2011**, 526 (1-2), 237-251.
- [20] CLAS, Sophie-Dorothee, DALTON, Chad R., HANCOCK, Bruno C. Differential scanning calorimetry: applications in drug development. *Pharmaceutical Science & Technology Today*. **1999**, 2 (8), 311-320.
- [21] McKEEN, Laurence W. *The effect of long term thermal exposure on plastics and elastomers*. Second edition. Elsevier, 2021. s. 14. [cit. 14.3.2022]. ISBN 978-0-323-85436-8.
- [22] Society of Plastics Engineers. *Proceedings of the Technical Conference & Exhibition*. Society of Plastics Engineers, 2015. s. 1. [cit. 14.3.2022]. ISBN 978-0-9850112-7-7.
- [23] SUN, Da-Wen. *Modern Techniques for Food Authentication*. Elsevier, 2008. s. 544. [cit. 8.3.2022]. ISBN 978-0-12-374085-4.

- [24] BROWN, P. J., STEVENS, K. *Nanofibers and nanotechnology in textiles*. Woodhead Publishing, 2007. s. 238. [cit. 8.3.2022]. ISBN 978-1-84569-105-9.
- [25] BERGSTROM, J. *Mechanics of Solid Polymers – Theory and Computational Modeling*. Elsevier, 2015. s. 89. [cit. 8.3.2022]. ISBN 978-0-323-31150-2.
- [26] WELLEN, Renate M. R., CANEDO, Eduardo Luis, RABELLO, Marcelo. Nonisothermal cold crystallization of poly(ethylene terephthalate). *Journal of Materials Research*. **2011**, 26 (9), 1107-1115.
- [27] COMYN, John. *Adhesion Science*. 2nd edition. Royal Society of Chemistry, 2021. s. 20. [cit. 8.3.2022]. ISBN 978-1-78801-888-3.
- [28] <https://polymerscience.physik.hu-berlin.de/docs/manuals/DSC.pdf> [cit. 8.3.2022]
- [29] ZHU, Frank, JOHNSON, James A., ABLIN, David W., ERNST, Gregory A. *Efficient Petrochemical Processes – Technology, Design and Operation*. John Wiley & Sons, 2020. s. 320. [cit. 8.3.2022]. ISBN 978-1-119-48786-9.
- [30] CHEN, Jie, SARMA, Bipul, EVANS, James M. B., MYERSON, Allan S. Pharmaceutical Crystallization. *Crystal Growth & Design*. **2011**, 11 (4), 887-895.
- [31] HARRISON, Roger G., TODD, Paul W., RUDGE, Scott R., PETRIDES, Demetri P. *Bioseparations Science and Engineering*. 2nd edition. Oxford University, 2015. s. 362. [cit. 8.3.2022]. ISBN 978-0-19-539181-7.
- [32] SVOBODA, Roman. *Structural relaxation of non-crystalline materials in the glass transition range*. Pardubice, 2006. Dizertační práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Fyzikální chemie. Vedoucí práce prof. Ing. Jiří Málek DrSc.
- [33] SCHERER, George W. Theories of relaxation. *Journal of Non-Crystalline Solids* [online]. **1990**, 123 (1), 75-89.
- [34] ZARZYCKI, J. Glasses and Amorphous Materials. *Materials Science and Technology*. **1991**, 9, 797.
- [35] MACEDO, P. B., NAPOLITANO, A. Effects of a Distribution of Volume Relaxation Times in the Annealing of BSC Glass. *Journal of Research of the National Bureau of Standards*. **1967**, 71A (3), 231.

- [36] ROMANOVÁ, Jana, SVOBODA, Roman, OBADALOVÁ, Iva, BENEŠ, Ludvík, PEKÁREK, Tomáš, KREJČÍK, Lukáš, KOMERSOVÁ, Alena. Amorphous Enzalutamide – Non-isothermal recrystallization kinetics and thermal stability. *Thermochimica Acta*. **2018**, 665, 134-141.
- [37] SVOBODA, Roman, MÁLEK, Jiří. How-nucleation-growth kinetics is influenced by initial degree of material crystallinity. *Thermochimica Acta*. **2016**, 631, 28-35.
- [38] TOOL, Arthur Q. Relation between inelastic deformability and thermal expansion of glass in its annealing range. *Journal of the American Ceramic Society*. **1946**, 29 (9), 240-253.
- [39] NARAYANASWAMY, O. S. A model of Structural Relaxation in Glass. *Journal of the American Ceramic Society*. **1971**, 54 (10), 491-498.
- [40] MOYNIHAN, Cornelius T., EASTEAL, Allan J., De BOLT, Mary Ann, TUCKER, Joseph. Dependence of the Fictive Temperature of Glass on Cooling Rate. *Journal of the American Ceramic Society*. **1976**, 59 (1-2), 12-16.
- [41] ROMANOVÁ, Jana. *Charakterizace vlastností Polyvinylpyrrolidonu jako aditiva do léčiv s řízeným uvolňováním*. Pardubice, 2017. Diplomová práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Fyzikální chemie. Vedoucí práce Ing. Roman Svoboda, Ph.D.
- [42] SVOBODA, Roman, PUSTKOVÁ, Pavla, MÁLEK, Jiří. Relaxation behavior of glassy selenium. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*. **2007**, 68, 850-854.
- [43] HODGE, I. M. Effects of annealing and prior history on enthalpy relaxation in glassy polymers. 4. Comparison of five polymers. *Macromolecules*. **1983**, 16 (6), 898-902.
- [44] SVOBODA, Roman. Novel equation to determine activation energy of enthalpy relaxation. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. **2015**, 121 (2), 896-899.
- [45] CHROMČÍKOVÁ, Mária, HRUŠKA, Branislav, NOWICKA, Aleksandra, SVOBODA, Roman, LIŠKA, Marek. Structural relaxation and viscosity of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> doped magnesium phosphate glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids*. **2020**, 550, 1-8.
- [46] HUTCHINSON, J. M., KOVACS, A. J. Effects of thermal history on structural recovery of glasses during isobaric heating. *Polymer engineering and science*. **1984**, 24, 1087-1103

- [47] SVOBODA, Roman, ČIČMANEC, Pavel, MÁLEK, Jiří. Kissinger equation versus glass transition phenomenology. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. **2013**, 114 (1), 285-293.
- [48] SVOBODA, Roman, MÁLEK, Jiří. Glass transition in polymers: (In)correct determination of activation energy. *Polymer*. **2013**, 54 (5), 1504-1511.
- [49] BRAMFITT, Bruce L., BENSCOTER, Arlan O. *Metallographer's Guide – Practices and Procedures for Irons and Steels*. ASM International, 2002. s. 162. [cit. 17.4.2022]. ISBN 978-0-87170-748-2.
- [50] CHANDRA-AMBHORN, Somrerk, WOUTERS, Yves, HARNNARONGCHAI, Wanlop. *High Temperature Corrosion of Stainless Steels – An Alain Galerie Festschrift*. Trans Tech Publications, 2020. s. 59-60. [cit. 17.4.2022]. ISBN 978-3-0357-1402-9.
- [51] ROBINSON, I. K., TWEET, D. J. Surface X-ray-diffraction. *Reports on Progress in Physics*. **1992**, 55 (5), 599-651.
- [52] BUNACIU, A. A., UDRISTIOIU, E. G., ABOUL-ENEIN, H. Y. X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. **2015**, 45 (4), 289-299.
- [53] DUONG, Tu Van, LÜDEKER, David, BOCKSTAL, Pieter-Jan Van, DE BEER, Thomas, HUMBEECK, Jan Van, VAN der MOOTER, Guy. Polymorphism of Indomethacin in Semicrystalline Dispersions: Formation, Transformation, and Segregation. *Molecular Pharmaceutics*. **2018**, 15, 1037-1051.
- [54] ŠTUKELJ, Jernej, SVANBÄCK, Sami, KRISTL, Julijana, STRACHAN, Clare J., YLIRUUSI, Jouko. Image-Based Investigation: Biorelevant Solubility of  $\alpha$  and  $\gamma$  Indomethacin. *Analytical Chemistry*. **2019**, 91, 3997-4003.
- [55] SURWASE, Sachin A., BOETKER, Johan P., SAVILLE, Dorothy, BOYD, Ben J., GORDON, Keith C., PELTONEN, Leena, STRACHAN, Clare J. Indomethacin: New Polymorphs of an Old Drug. *Molecular Pharmaceutics*. **2013**, 10 (12), 4472-4480.