

# Thermische Analyse mittels Wärmestrom-DDK (DSC)

## 1. Vorausgesetzte Kenntnisse

Grundlagen der thermodynamischen Behandlung von Phasenumwandlungen und chemischen Reaktionen; Schmelzdiagramme; Kryoskopie; Funktionsweise von Temperatursensoren (Thermometer, Thermoelemente, Widerstandsthermometer)

## 2. Weiterführende Literatur

W.F. Hemminger, H.K. Cammenga:

Anleitungen für die chemische Laboratoriumspraxis, Band XXIV Methoden der thermischen Analyse, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York 1989

D. Giron-Forest:

Anwendung der thermischen Analyse in der Pharmazie, Pharm. Ind. 46 (1984) 851 - 859

Fettkamp, Fuchs, Sucker:

in "Arbeitstechniken der pharmazeutischen Industrie, Bd. 3", Gustav Thieme Verlag 1983, S. 298 - 327

J.L. Ford, P. Timmins:

Pharmaceutical Thermal Analysis, Techniques and Applications, Ellis Horwood Limited, John Wiley & Sons, S. 108 - 149

Sonderband "Pharmaceuticas and Thermal Analysis" von Thermochimica Acta, 248 (1995)

## 3. Ziel des Versuches

Die **Dynamische-Differenz-Kalorimetrie** (DDK) bzw. - im angelsächsischen Sprachgebrauch - die **Differential Scanning Calorimetry** (DSC) ist in der pharmazeutischen Forschung und Qualitätskontrolle zu einer wichtigen Methode geworden. Typische Anwendungen werden im Abschnitt 5 exemplarisch vorgestellt.

Die einwandfreie Temperatur- und Wärmekalibrierung des verwendeten Gerätes (DSC 12 E, Mettler-Toledo) wird vorausgesetzt. Um mit dem Gerät vertraut zu werden, wird diese anhand des Schmelzvorganges einer reinen Substanz (Indium, Reinheit >99,999%), die zugleich als international akzeptierter Standard für die Temperatur- und kalorische Kalibrierung von DDK-(DSC-)Geräten fungiert, überprüft. Temperaturen und Flächen der Peaks in den erhaltenen thermoanalytischen Kurven sind die primären Informationen, auf deren Interpretation die meisten Anwendungen der Methode beruhen.

Im eigentlichen Versuch werden ausgewählte Experimente zu typischen Anwendungen in der pharmazeutischen Analyse unternommen. Durch die Auseinandersetzung mit den Ergebnissen der Auswertung sollte im Bedarfsfall später die fundierte Entscheidung möglich werden, ob der Einsatz dieser Methode zur Lösung konkreter Aufgaben in der pharmazeutischen Forschung und Routine angebracht ist.

## 4. Methodisches

### 4.1 Messprinzip

Bei der Dynamischen Differenz-Kalorimetrie (DDK) wird anhand der umgesetzten Wärmen das thermische Verhalten einer Probe beurteilt. DDK-Geräte sind grundsätzlich als Zwillingsskalorimeter aufgebaut.

Die zu untersuchende Probe und eine Referenzsubstanz werden durch einen gemeinsamen Ofen demselben Temperaturprogramm unterworfen (Abb. 1).

Als Referenz verwendet man eine thermisch inerte Substanz, d. h. eine, die im interessierenden

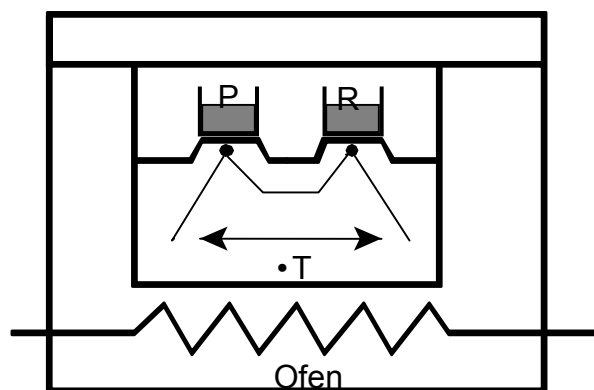


Abb. 1: Schematischer Aufbau einer DDK-Messzelle

Temperaturbereich keine thermischen Effekte zeigt. Da die Massen der untersuchten Proben sehr gering sind (3-10 mg), kann als Referenzprobe auch eine leere Probenkapsel (Material Aluminium, Masse ca. 50mg) verwendet werden. Probe und Vergleichsprobe sind auf einer gut wärmeleitenden Scheibe angeordnet, die den Wärmeaustausch mit dem Ofen realisiert. Als Temperatursensoren werden Thermoelemente verwendet, die sich direkt unterhalb der Proben befinden. Durch die Differenzschaltung der Temperatursensoren in Probe und Referenzsubstanz können Abweichungen der Probe vom vorgegebenen Temperaturprogramm erfasst werden. Die Spannungsdifferenz des Thermoelementpaares ist der Temperaturdifferenz von Probe und Referenzprobe direkt proportional. Die gefundenen Abweichungen werden dann interpretiert.

**4.2. Zustandekommen einer Messung**

Die Ofentemperatur steigt während eines Heizlaufs linear mit der Zeit (Abb.2). Da die Wärme eine gewisse Zeit benötigt (thermal lag= Zeitverzögerung,  $\Delta T_{lag} = T_{Ofen} - T_{Referenz} = \tau_{lag} \cdot dT/dt$  beim DSC 12E ca. 12 s), um vom Ofen über die wärmeleitende Scheibe an Probe und Vergleichsprobe zugelangt, sind deren Temperaturen im dynamischen Betriebszustand niedriger als die Ofentemperatur. Die Differenz ist der Heizgeschwindigkeit direkt proportional. Solange in der Probe weder Wärmeverbrauch noch Wärmeproduktion stattfinden, ist während des Heizens (Kühlens) die Temperaturdifferenz  $\Delta T$  zwischen Probe und Referenz konstant.  $\Delta T$  wäre Null, wenn die Wärmekapazitäten von Probe und Referenz gleich wären. Die absolute Temperatur der Referenzprobe wird durch ein zweites, in Abb.1 weggelassenes Thermoelementpaar erfasst. Wenn in der Probe ein wärmeverbrauchendes oder wärmefreisetzendes Ereignis (Phasenumwandlung, chemische Reaktion) stattfindet, entsteht zwischen Probe und Referenz eine Temperaturdifferenz.

Während des endothermen Schmelzens einer Probe muss deren Temperatur solange konstant bleiben (2. Hauptsatz der Thermodynamik), bis die gesamte Probe geschmolzen ist. Da während dieser Zeit die Temperatur der Referenzsubstanz weiter der des Ofens folgt, wird  $\Delta T$  linear zunehmen.

Nach beendetem Schmelzen nimmt  $\Delta T$  wieder ab, die Temperatur der Probe nähert sich asymptotisch (gemäß einer Exponentialfunktion) der Temperatur der Referenzsubstanz (Abb.2). Zur Messung werden die Proben in kleinen Tiegeln aus gut wärmeleitendem Material, meist Aluminium, eingekapselt. Eine reale, reine Probe zeigt ein Schmelzverhalten analog der Abb.3. Im Unterschied zum schematischen Schmelzpeak der Abb.2 sind Peakbeginn und Peakmaximum immer mehr oder weniger deutlich ausgerundet.

Die Ursachen sind Verunreinigungen der Probe und kompliziertere Wärmeübergänge als in

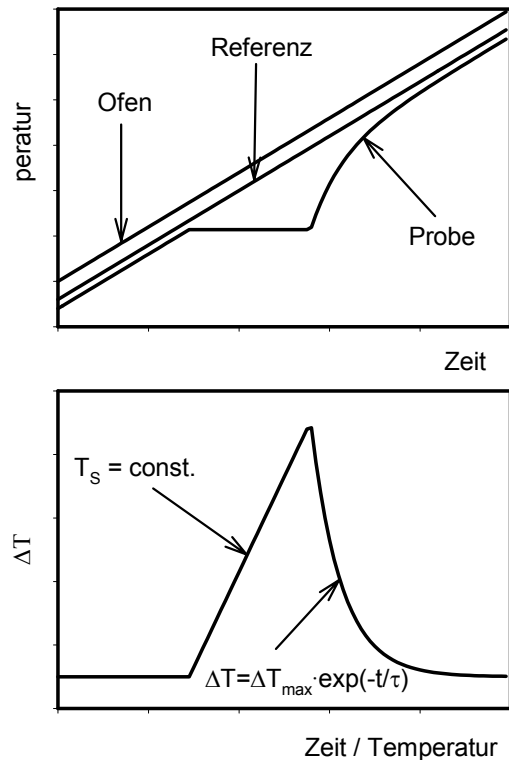


Abb. 2: Entstehung eines Schmelzpeaks

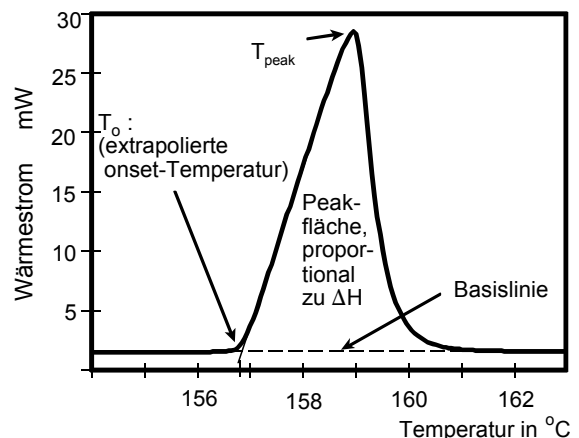


Abb. 3 Schmelzpeak von Reinstindium

Abb.2 angenommen.

Die primäre Messgröße ist natürlich immer die Spannungsdifferenz der Thermoelemente als Funktion der Zeit (Temperatur) bzw. die dazu proportionale Temperaturdifferenz. Bei konstantem thermischen Widerstand der Anordnung kann daraus der Extrawärmestrom  $dQ/dt$  (in mW) in die Probe berechnet und angegeben werden.

So wie in Abb.3 sehen beliebige Phasenumwandlungen 1.Ordnung aus.

Folgende Informationen können erhalten werden:

a) Die Umwandlungstemperatur kann mit einem markanten Punkt der Kurve (Peakmaximum oder Beginn des Effektes) identifiziert werden. Sie kommt der thermodynamischen Gleichgewichtstemperatur umso näher, je langsamer geheizt oder gekühlt wird.

Die Peakmaximumtemperatur ist in der Regel ungeeignet, weil sie zusätzlich noch von der Probenmasse und der thermischen Leitfähigkeit der Probe abhängt.

Die Temperatur des beginnenden Effektes ist ungeeignet, weil ihre Erkennbarkeit starken subjektiven Schwankungen unterworfen ist. Aus pragmatischen Gründen (Reproduzierbarkeit, Unabhängigkeit von Probenmasse und Wärmeleitfähigkeit) bevorzugt man daher bei scharfen Peaks die **extrapolierte** onset-Temperatur. Dazu wird die Basislinie in den Bereich der Umwandlung verlängert und mit der Wendetangente an die vordere Peakflanke zum Schnitt gebracht (Abb. 3).

Bei neuen Geräten muss die Temperaturskala des Gerätes mit bekannten Substanzen unter versuchsnahen Bedingungen (gleiche Programmgeschwindigkeiten, vergleichbare Wärmekapazitäten kalibriert werden. Geeignete Temperaturstandards sind z. B. hochreine Metalle wie Indium ( $\vartheta_{\text{fus}} = 156.60 \text{ }^\circ\text{C}$ ) und Zinn ( $\vartheta_{\text{fus}} = 231.93 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Da weiter die Proben temperatur hinter der Ofentemperatur umso mehr zurückbleibt (thermal lag), je größer die Heizgeschwindigkeit ist, muss von der so ermittelten Onset-Temperatur ein (im wesentlichen) gerätetypischer Korrekturbetrag abgezogen werden. Dieses Vorgehen entspricht der Extrapolation auf die Heizrate  $0 \text{ K min}^{-1}$ . Bei Kühlläufen ist sinngemäß umgekehrt zu verfahren.

b) Die Umwandlungswärme ist der Peakfläche proportional. Der Auswertung muss eine Kalibrierung des Gerätes mit einer Substanz bekannter Schmelzwärme vorausgehen. Dazu wird meist Indium (Reinheit > 99.999 %) mit  $q_{\text{fus}} = 28.45 \text{ J g}^{-1}$  verwendet.

## **5. Der Einsatz der DDK (DSC) in der Pharmazie**

Die derzeit wichtigsten Anwendungen betreffen:

- den Polymorphismus von Stoffen
- Phasendiagramme in Mehrstoffsystemen
- Stabilitätsuntersuchungen
- Untersuchung chemischer Reaktionen zwischen pharmakologisch wirksamer Komponente und Hilfsstoffen
- Reinheitsuntersuchungen

## **6. Aufgaben**

**6.1 Grundversuch:** Kennenlernen von Gerät und rechnergesteuerter Auswertung (die für den Versuch benötigten Routinen werden Ihnen gezeigt), Überprüfung der Kalibrierung und Ermittlung der Ofenzeitkonstante

- Schmelzen Sie eine 6 - 7 mg schwere Probe von Reinstindium ( $\vartheta_{\text{fus}} = 156.60 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $q_{\text{fus}} = 28.47 \text{ J g}^{-1}$ ) mit vier verschiedenen Heizraten unter folgenden Bedingungen:

Heizrate	Starttemperatur	Endtemperatur
10	135	170
5	145	165
2	152	160
1	154	158.5

*Um Verschmutzungen des Probenkopfes oder im schlimmsten Fall dessen Zerstörung zu vermeiden, werden die zu untersuchenden Proben grundsätzlich in kleinen, mit einer Spezialpresse verschließbaren Tiegeln aus Aluminiumfolie untersucht. Indium und Zinn verhalten sich bei der Schmelztemperatur noch nahezu inert, der Schmelzprozess kann mit ein- und derselben Probe 50-100 mal wiederholt werden.*

- Ermitteln Sie für alle vier Messungen die Schmelztemperaturen ( $T_{\text{onset}}$  und  $T_{\text{peak}}$ ) und die Schmelzwärmen!
- Erstellen Sie mit „Origin“ eine Ausgleichsgerade  $T_{\text{onset}} = f(dT/dt)$ . Der Anstieg ist die Ofenzeitkonstante in min. Tragen Sie den Wert der Ofenzeitkonstante in sec in den Menüpunkt „Setup Cell parameters“ unter „furnace lag time constant“ des DSC-Messprogramms ein.
- Wenn die gemittelte Schmelzwärme um mehr als  $\pm 1\%$  vom theoretischen Wert abweicht, ist im Menu „Setup Cell parameters“ der Parameter „Calorimetric sensitivity“ zu korrigieren (alter Wert für caloric sensitivity \* gemessener Mittelwert der Schmelzwärme / theoretischer Wert).
- Wiederholen Sie die Indium-Messungen mit 1 und 10 K/min, und vergleichen Sie mit den theoretischen Werten.

## **6.2 Polymorphismus**

Untersuchungen zum Polymorphismus sind derzeit das bei weitem wichtigste Anwendungsgebiet der DSC-Methode in der pharmazeutischen Forschung.

Polymorphe Formen haben unterschiedliche physikalische und chemische Eigenschaften. Von der unterschiedlichen Löslichkeit und Auflösungsgeschwindigkeit wird die Bioverfügbarkeit bestimmt. Die Phasenumwandlungen zwischen den Modifikationen können reversibel oder irreversibel sein (enantiotrope oder monotrope Modifikationen). Fehlinterpretationen bei der Untersuchung des Polymorphismus können leicht daraus resultieren, dass beim Auskristallisieren aus der Schmelze oder aus Lösungsmitteln häufig zunächst metastabile Phasen entstehen und dass die Rückbildung der jeweils stabilen Phase aus der metastabilen Phase in Abwesenheit von Kristallkeimen unterbleibt. Die metastabile Phase kann sowohl beim Abkühlen der Flüssigkeit als auch durch Kristallisation aus Lösungsmitteln entstehen.

Beim raschen Erstarren einer Schmelze entsteht häufig eine glasartig amorphe Substanz. Gläser sind thermodynamisch instabil, aber bei hinreichend niedriger Temperatur häufig kinetisch stabil. Wegen ihrer größeren Löslichkeit und Auflösungsgeschwindigkeit im Vergleich zu kristallinen Modifikationen sind sowohl Gläser als auch metastabile Modifikationen für pharmazeutische Anwendungen interessant, wenn sie unter den schlimmstmöglichen Lager- und Transportbedingungen bestehen bleiben.

Beim Erwärmen glasartig erstarrter Substanzen findet man in der Regel irgendwann Auskristallisation, wobei aber fast immer metastabile Modifikationen entstehen. Das gesamte beobachtete, thermische Verhalten hängt oft extrem von der verwendeten Heizrate ab.

Von den folgenden Beispielen sind 1 – 2 Fälle nach Weisung durch den Assistenten zu bearbeiten. Die ordnungsgemäße Präparation der Probe ist für eine gute Messung von ganz außerordentlicher Bedeutung. Die Ergebnisse (Wärmen, Temperaturen, Art der Umwandlungen, Unterschiede zwischen den einzelnen Messungen) sind zu diskutieren. Die Auswertung muss den Zusammenhang zwischen Vorbehandlung der Probe und experimentellem Befund erkennen lassen.

Alle Heizläufe werden gemeinsam ausgewertet, dagegen sind Kühl- und Heizläufe (sofern in den Kühlläufen thermische Effekte beobachtbar sind) getrennt auszuwerten.

**Beispiel 1:** Acetamid, alle Messungen mit  $5 \text{ K min}^{-1}$ 

- Messung 1: Heizen der frischen Probe von 40 auf  $95 \text{ }^\circ\text{C}$ .  
 Messung 2: Kühlen von  $95$  bis  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ .  
 Messung 3: Erneutes Heizen von  $40$  bis  $95 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Die Messungen 1 und 3 sind als eine Abbildung zu erzeugen, Messung 2 gesondert.

**Beispiel 2:** Sulfapyridin, alle Messungen mit  $10 \text{ K min}^{-1}$ 

- Messung 1: Heizen der frischen Probe von  $150$  bis  $210 \text{ }^\circ\text{C}$ . Bei der Endtemperatur wird sie aus dem Gerät genommen und auf einer kalten Unterlage abgeschreckt.  
 Messung 2: Nachdem das DSC auf  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  abgekühlt ist, wird die abgeschreckte Probe eingesetzt und die Wiederholungsmessung zwischen  $30$  und  $210 \text{ }^\circ\text{C}$ .

**Beispiel 3:** Coffein, alle Messungen mit  $10 \text{ K min}^{-1}$ 

- Messung 1: Heizen der frischen Probe von  $110$  auf  $250 \text{ }^\circ\text{C}$   
 Messung 2: Kühlen von  $250$  bis  $110 \text{ }^\circ\text{C}$   
 Messung 3: Erneutes Heizen von  $110$  bis  $250 \text{ }^\circ\text{C}$

**Beispiel 4:** Cholesterylmyristat, alle Messungen mit  $5 \text{ K min}^{-1}$ 

- Messung 1: Heizen der frischen Probe von  $50$  auf  $100 \text{ }^\circ\text{C}$ , Probe außerhalb des Geräts auf Raumtemperatur abkühlen lassen.  
 Messung 2: Erneutes Heizen der auf Raumtemperatur abgekühlten Probe von 1 unter sonst gleichen Bedingungen.  
 Messung 3: Kühlen von  $100$  bis  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ , Kühlrate  $5 \text{ K min}^{-1}$ .  
 Messung 4: Heizen von  $60$  bis  $100 \text{ }^\circ\text{C}$  sofort im Anschluss an 3.

**Beispiel 5:** Sulfathiazol

Heizen einer jeweils frisch präparierten Probe mit  $5$ ,  $10$  und  $20 \text{ K min}^{-1}$  zwischen  $100$  und  $210 \text{ }^\circ\text{C}$ .

**Beispiel 6:** Paracetamol, alle Messungen mit  $5 \text{ K min}^{-1}$ 

- Messung 1: Heizen von  $50 - 195 \text{ }^\circ\text{C}$ , Probe danach im Gerät auf  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  abkühlen lassen  
 Messung 2: Kühlen von  $195 - 50 \text{ }^\circ\text{C}$   
 Messung 3: Heizen von  $50 - 195 \text{ }^\circ\text{C}$

**Beispiel 7:** Eusolex, alle Messungen mit  $5 \text{ K min}^{-1}$ 

- Messung 1: Heizen von  $30 - 115 \text{ }^\circ\text{C}$ , Probe danach im Gerät auf  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  abkühlen lassen  
 Messung 2: Kühlen von  $115 - 30 \text{ }^\circ\text{C}$   
 Messung 3: Heizen von  $30 - 115 \text{ }^\circ\text{C}$

**Beispiel 8:** Bisoprolol Hemifumarat, alle Messungen mit  $5 \text{ K min}^{-1}$ 

Messung 1: Heizen von  $50 - 135 \text{ }^\circ\text{C}$ , Probe danach im Gerät auf  $50^\circ\text{C}$  abkühlen lassen

Messung 2: Kühlen von  $135 - 50 \text{ }^\circ\text{C}$

Messung 3: Heizen von  $50 - 195 \text{ }^\circ\text{C}$

Anmerkung: Falls beim 2. Aufheizen ein exothermer Effekt auftritt, dann nach dessen Beendigung bei ca.  $85 \text{ }^\circ\text{C}$  abbrechen, Messung sichern und einen 3. Heizlauf anschließen. Bedingungen wie bei Messung 3

**Beispiel 9:** Phenylbutazon, alle Messungen mit  $5 \text{ K min}^{-1}$ 

Messung 1: Heizen von  $70 - 115 \text{ }^\circ\text{C}$ , Probe danach im Gerät auf  $30^\circ\text{C}$  abkühlen lassen

Messung 2: Heizen von  $30 - 115 \text{ }^\circ\text{C}$ , Probe außerhalb des Geräts abschrecken

Messung 3: Heizen von  $30 - 115 \text{ }^\circ\text{C}$ , Probe außerhalb des Geräts abschrecken; danach im Gerät 20 min bei  $90 \text{ }^\circ\text{C}$  tempern, danach im Gerät auf  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  kühlen

Messung 4: Heizen von  $70 - 115 \text{ }^\circ\text{C}$ , Probe außerhalb des Geräts abschrecken; Gerät auf  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  einstellen und Probe bei dieser Temperatur einsetzen

Messung 5: Heizen von  $70 - 102 \text{ }^\circ\text{C}$ , danach bei  $102 \text{ }^\circ\text{C}$  5 min tempern, danach im Gerät auf  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  abkühlen

Messung 6: Heizen von  $70 - 115 \text{ }^\circ\text{C}$