

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA ANORGANICKÉ A ORGANICKÉ CHEMIE

**Studium interakcí biologicky aktivní látky s excipienty
v pevné lékové formě**

Rigorózní práce

Hradec Králové 2009
vedoucí rigorózní práce

Mgr. Zbyněk Oktábec
Doc. RNDr. Jarmila Vinšová, CSc.

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracoval samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

Na tomto místě bych chtěl poděkovat své vedoucí rigorózní práce Doc. RNDr. Jarmile Vinšové, CSc. za cenné rady a připomínky k práci. Dále bych chtěl poděkovat školiteli-specialistovi Doc. PharmDr. Josefu Jampílkovi, Ph.D. a PharmDr. Anně Zerzaňové, Ph.D. za laskavý přístup, Ing. Jaroslavu Havlíčkovi, CSc. za ochotné změření NMR spekter a v neposlední řadě Ing. Haně Brusové, Ph.D. za změření difraktogramů.

Obsah

Zkratky	- 6 -
1. Úvod	- 8 -
2. Cíl práce	- 10 -
3. Infračervená spektroskopie	- 12 -
3.1. Obecný úvod do infračervené spektroskopie.....	- 13 -
3.2. Infračervená spektroskopie v blízké oblasti.....	- 15 -
4. Polymorfismus.....	- 24 -
4.1. Polymorfismus.....	- 25 -
5. Experimentální část	- 29 -
5.1. Materiál a pomůcky	- 30 -
5.2. Příprava vzorků a software vybavení.....	- 32 -
6. Hodnocení spekter.....	- 47 -
6.1. NIR spektra standardů API.....	- 48 -
6.2. <i>N</i> -methyl-D-glucaminum	- 52 -
6.3. Magnesii stearas.....	- 59 -
6.4. Hydroxypropylcellulosum LH 21	- 67 -
6.5. Silica colloidalis anhydrica	- 75 -
6.6. Carmellosum natricum conexum.....	- 81 -
6.7. Polysorbatum 80	- 88 -
6.8. Magnesii oxidum ponderosum	- 92 -
7. Diskuze a závěr	- 98 -
7.1. Diskuze.....	- 99 -
7.2. Závěr	- 103 -
8. Abstrakt.....	- 104 -
8.1. Abstrakt v českém jazyce	- 105 -
8.2. Abstract in English Language	- 106 -
9. Použitá literatura	- 107 -

Zkratky

Zkratky jsou seřezeny v abecedním pořadí.

AcDiSol	carmellosum natricum conexum, cross carmellose, Ac-Di-Sol®
API	active pharmaceutical ingredient, aktivní farmaceutická substance
BES	bioequivalence study, bioekvivalenční studie
EtOH	ethanol
FIR	far infrared spectroscopy, infračervená spektroskopie v daleké oblasti
FTIR	infrared spectroscopy with Fourier transform, infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
HPC	hydroxypropylcellulosum, hydroxypropylcellulose, hydroxypropylcelulóza
IR, IČ	infrared, infračervená
MGL	<i>N</i> -methyl-D-glucaminum, meglumin
MgST	magnesii stearas, magnesium stearate, stearát horečnatý
MIR	middle infrared spektroskopie, infračervená spektroskopie ve střední oblasti
NMR	nuclear magnetic resonance, nukleární magnetická resonance
PAA	polyacrilic acid, kyselina polyakrylová
UV	ultra-violet, ultrafialová
VIS	visible, viditelná

1. Úvod

Tablety patří k nejpoužívanější lékové formě dnešní doby. Důvodem pro velké rozšíření a oblibu této lékové formy je jednoduchost aplikace, tím nižší nutnost kooperace pacienta a tudíž i větší pacientova compliance.

Tablety jsou léková forma určená nejen k perorálnímu podání. Existuje mnoho druhů tablet, které se liší svým určením a tudíž i použitými excipienty. V této práci se budeme věnovat perorálním tabletám. Tyto jsou připravovány lisováním z tabletoviny, která je tvořena léčivou látkou, nebo směsí léčivých látek a pomocnou látkou, nebo kombinací pomocných látek. Vlastnosti pomocných látek, které často tvoří většinu objemu tablety, mají velký vliv na vlastnosti vzniklé tablety. Tableta si musí před samotným podáním (skladování), i v průběhu něj (užití), udržet standardní požadované vlastnosti. Proto musí být dostatečně mechanicky odolná; odolná vůči nežádoucím vlivům. Také musí dojít k jejímu včasnému rozpadu v místě potřeby. Tyto její vlastnosti jsou značně ovlivněny vlastnostmi, množstvím, případně poměrem pomocných látek v konkrétní tabletě. Použité pomocné látky tedy určují vlastnosti tabletoviny. Podle obsahu pomocných látek lze odhadnout chování tablety nejen *in vitro*, ale i *in vivo*.

Použití jednotlivých excipientů v konkrétní tabletě a API (active pharmaceutical ingredient), technologie výroby tabletoviny a technologie vlastní výroby tablety může být zdrojem nežádoucích interakcí mezi jednotlivými excipienty, resp. mezi excipienty a API.

2. Cíl práce

Cílem této práce bylo studium interakcí léčivé látky (aktivní farmaceutické substance, API) a jednotlivých excipientů v jádře pevné lékové formy.

Podnětem pro studium potenciálních interakcí v jádře tablety se stala špatná disoluce a následně špatná biodostupnost API. Cílem byla nejen identifikace potenciální interakce, ale i identifikace jednotlivých polymorfů dané API, protože existoval předpoklad, že i prosté rozpuštění API v rozpouštědle a zpětné vysušení (tak jako při tvorbě granulátu pro tabletování), může být příčinou změny jednoho polymorfu v druhý s menší biodostupností. Polymorfní struktura byla identifikována pomocí ^{19}F a ^{13}C NMR v pevné fázi (solid-state nuclear magnetic resonance, ss-NMR). Interakce mezi jednotlivými excipienty a API byly nejprve sledovány pomocí infračervené spektroskopie v blízké oblasti (near-infrared spectroscopy, NIR) a nástavce UpDrift, posléze, pokud byla nějaká interakce pozorována, byl vzorek změřen ss-NMR kvůli identifikaci povahy interakce.

Jednotlivé excipienty, ze kterých je tvořeno jádro zkoumané tablety jsou: *N*-methyl-D-glucaminum, magnesii stearas, hydroxypropylcellulosum LH 21, sillica colloidalis anhydrica, carmellosum natricum conexum, magnesii oxidum ponderosum a polysorbatum 80. Protože některé excipienty nejsou uvedeny v ČL 2009 a jejich české i anglické názvy se různí, jsou použity názvy latinské.

Bohužel nemůže být použitá API jmenována z důvodu firemní ochrany, avšak ji na tomto místě můžeme přiměřeně popsat. Účinnou látku tohoto léčiva můžeme zařadit do skupiny hypolipidemik, tj. látek ovlivňujících syntézu cholesterolu, resp. snižujících hladinu cholesterolu v krvi.

Strukturu API tvoří jak aromatický skelet, tak i alifatický skelet. Molekula obsahuje hlavní funkční skupinu karboxylu a to ve formě soli. Dále pak obsahuje hydroxylové skupiny a fluor.

Byly zvoleny dvě šarže API: API – 1010907 a API – 1020107. Tyto dvě šarže se od sebe významně liší velikostí částic. Tato rozdílnost lze pozorovat i v NIR spektrech.

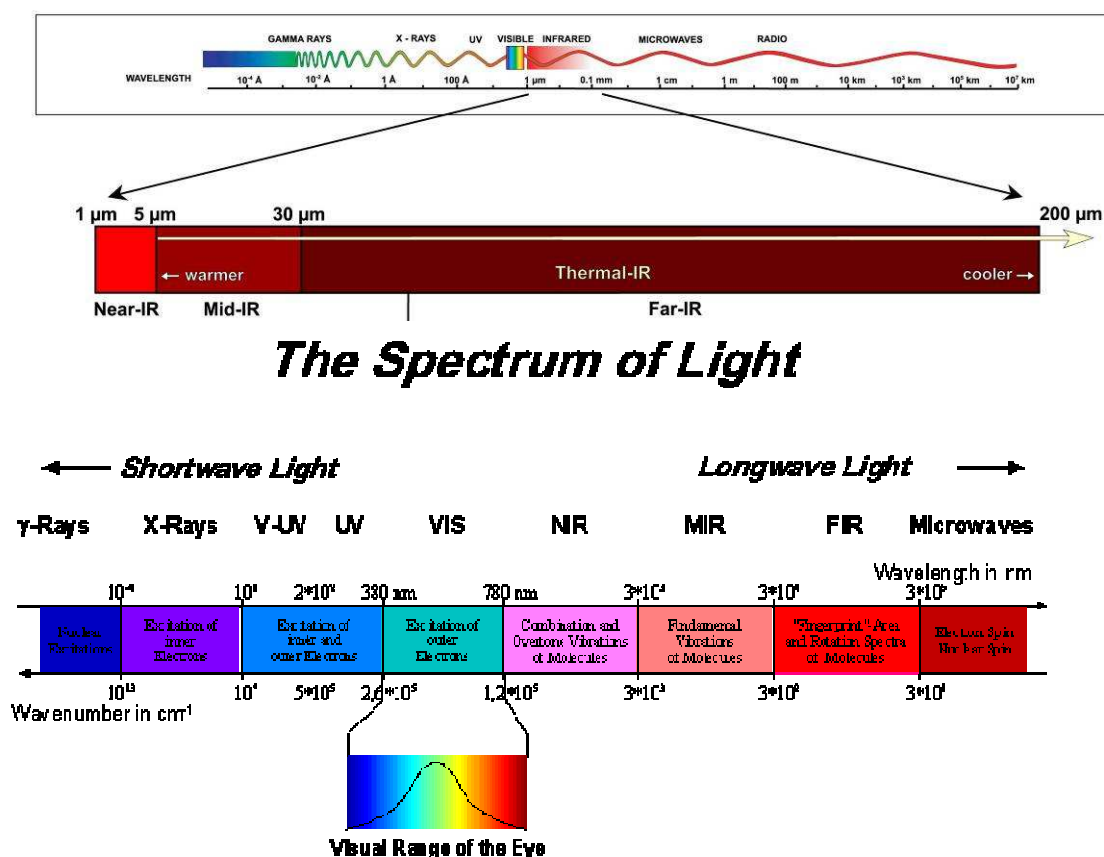
3. Infračervená spektroskopie

3.1. Obecný úvod do infračervené spektroskopie

Infračervená spektroskopie je rychlá nedestruktivní, neinvazivní analytická metoda, která v současnosti nabízí široké spektrum využití. IR spektroskopie je opticko-analytická metoda, která využívá interakcí infračerveného záření s hmotou. Toto záření lze popsat jako elektromagnetické záření, které může být současně považováno za vlnění i proud částic, tedy fotonů. IR záření může být také popsáno jako tepelné záření ve vlnových délkách 0,78 – 1000 μm . Podle vzorce 3.1.1. lze poté snadno spočítat jeho celkovou energii.

$$E = h \times \nu = \frac{h \times c}{\lambda}$$

Vzorec 3.1.1. Energie záření — h ...Planckova konst., ν ...kmitočet [Hz].



Obrázek 3.1.1. První část obrázku zobrazuje nejprve rozsah vlnové délky od γ -záření po radiové vlny, dále pak rozsah s popisem jednotlivých interakcí záření s hmotou.

Obrázky ukazují jak rozsáhlá je oblast IR záření oproti ostatním druhům záření. Proto je tato rozdělena na:

- A) blízkou oblast — near-infrared, NIR ($12800 - 4000 \text{ cm}^{-1}$, tj. $0,78 - 2,50 \text{ }\mu\text{m}$)
- B) střední oblast — middle-infrared, MIR ($4000 - 200 \text{ cm}^{-1}$, tj. $2,50 - 40 \text{ }\mu\text{m}$)
- C) dalekou oblast — far-infrared, FIR ($200 - 5 \text{ cm}^{-1}$, tj. $40 - 1000 \text{ }\mu\text{m}$)

Jak je patrné ze vzorce 3.1.1. a z obrázku 3.1.1. nejmenší energii má oblast FIR a ta je také „nejchladnější“. Naopak největší energii má záření NIR a je „nejteplejší“.

Nejdůležitější z pohledu strukturní analýzy je však oblast MIR. V této oblasti se nachází většina fundamentálních přechodů, které přesně vypovídají o charakteristických skupinách dané látky. Z toho vyplývá použití této metody v oblasti strukturní diagnostiky, charakterizace a identifikace látek. Této metodě se však dále věnovat nebudeme.

Metoda, která byla použita, tj. NIR, je specifikována v následující podkapitole 3.2. Infračervená spektroskopie v blízké oblasti.

3.2. Infračervená spektroskopie v blízké oblasti

3.2.1. TEORETICKÉ ZÁKLADY NIR SPEKTROSKOPIE

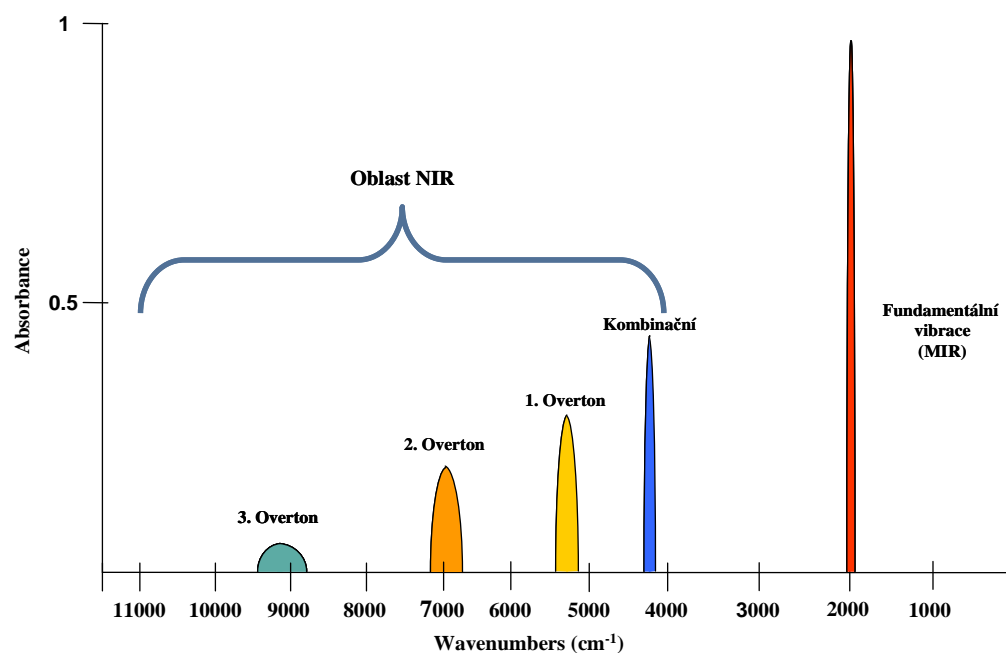
Spektroskopie v blízké IČ oblasti (NIR) je metodou molekulové spektroskopie, která využívá záření v rozmezí $12800 - 4000 \text{ cm}^{-1}$, jak již bylo řečeno výše.

Princip vzniku NIR spekter je stejný jako v MIR spektroskopii, tj. dochází k absorpci fotonů o stejných frekvencích jako jsou frekvence vibrací příslušných vazeb a tak dochází k excitaci příslušných vazeb.

Rozdíl je však ve vyšší energii NIR záření. Absorpce záření v NIR oblasti je obvykle způsobena energetickými přechody mezi vibračními hladinami molekul. A to přechody kombinačními a svrchními tóny (overtony), nikoli však přechody fundamentálními (základními), které jsou dominantní ve střední IČ oblasti (MIR). Toto je důvod „jednoduchosti“ NIR spekter oproti spektrům MIR.

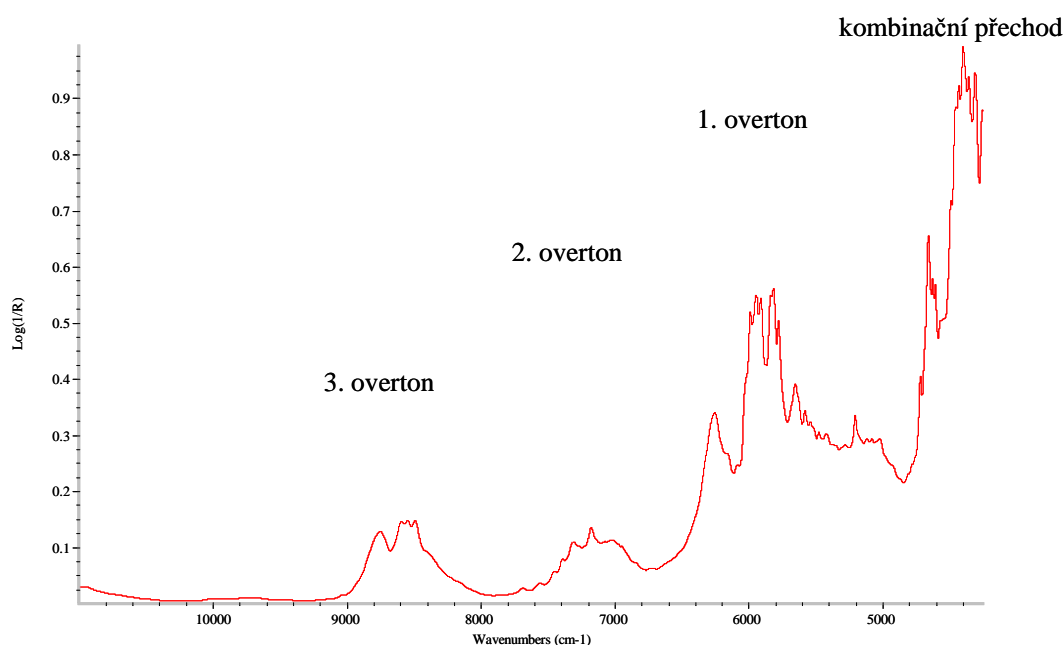
Kombinační přechody odpovídají současné excitaci několika vibračních módů. Energie příslušného přechodu pak souhlasí se součtem energií fundamentálních přechodů příslušných vibračních módů. Overton odpovídá excitaci daného vibračního módu do vyšší excitované hladiny. První overton tak přibližně odpovídá dvojnásobku energie fundamentálního přechodu, druhý overton trojnásobku, třetí čtyřnásobku. Pro přesnější popis je nutno uvažovat anharmonicitu vibračních módů, která částečně potlačuje pravidlo zakazující přechody mezi vibračními hladinami více jak o jedna (tj. fundamentální přechody). Toto a další pravidla platí pro MIR oblast.

Jak kombinační přechody tak overtony jsou významně méně pravděpodobné než fundamentální přechody, takže absorpce záření v NIR oblasti je při dané tloušťce vzorku řádově (až o dva řády) slabší než v MIR oblasti, jak je znázorněno na obrázku 3.2.1.1. a na obrázku 3.2.1.2.



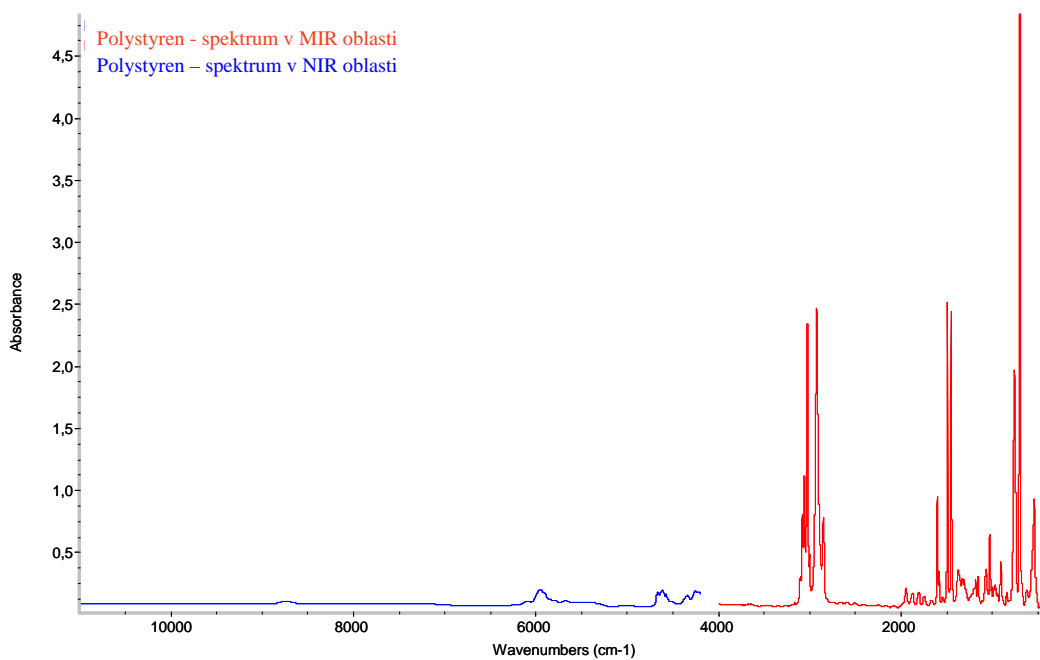
Obrázek 3.2.1.1. Intenzita absorpčních pásů v NIR oblasti ve srovnání s MIR oblastí.

Přiřazení absorpčních pásů jednotlivým kombinačním přechodům a overtonům je obtížné a mnohdy nemožné. Většinou se tedy v NIR oblasti rozbor neprovádí. V NIR spektrech lze vymezit oblasti, kde jsou dominantní pásy kombinačních přechodů ($4000 - 5300 \text{ cm}^{-1}$), první overtóny ($4600 - 7300 \text{ cm}^{-1}$), druhé overtóny ($6000 - 10000 \text{ cm}^{-1}$) a třetí overtóny ($8800 - 12800 \text{ cm}^{-1}$), viz obrázek 3.2.1.1. a obrázek 3.2.1.2.



Obrázek 3.2.1.2. Ukázka NIR spektra — kombinační přechod a overtóny.

Opět vzhledem k charakteru blízkého IR záření, lze konstatovat, že NIR spektra jsou oproti MIR spektrům „chudá“. Na dalším obrázku (obrázek 3.2.1.4.) jsou znázorněna MIR a NIR spektra polystyrenu (obvyklé kalibrační látky) ve stejném měřítku.

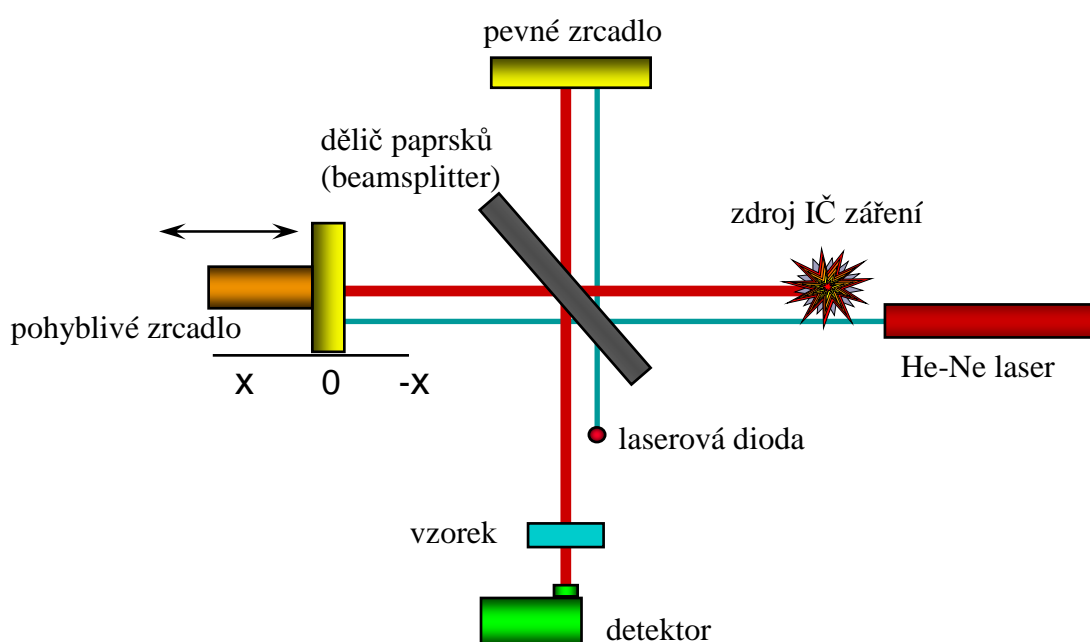


Obrázek 3.2.1.4. Srovnání spektra polystyrenu v blízké a střední IČ oblasti.

3.2.2. EXPERIMENTÁLNÍ USPOŘÁDÁNÍ NIR SPEKTROMETRIE

Blízké IČ záření bez problémů prochází křemenným sklem, a proto může být veškerá optika z křemenných vláken a např. i kyvety mohou být ze stejného křemenného skla, jaké se užívá v UV-VIS spektrofotometrii.

Konstrukce NIR spektrofotometrů s Fourierovou transformací je zcela totožná jako pro střední oblast, jak je znázorněno na obrázku 3.2.2.1.



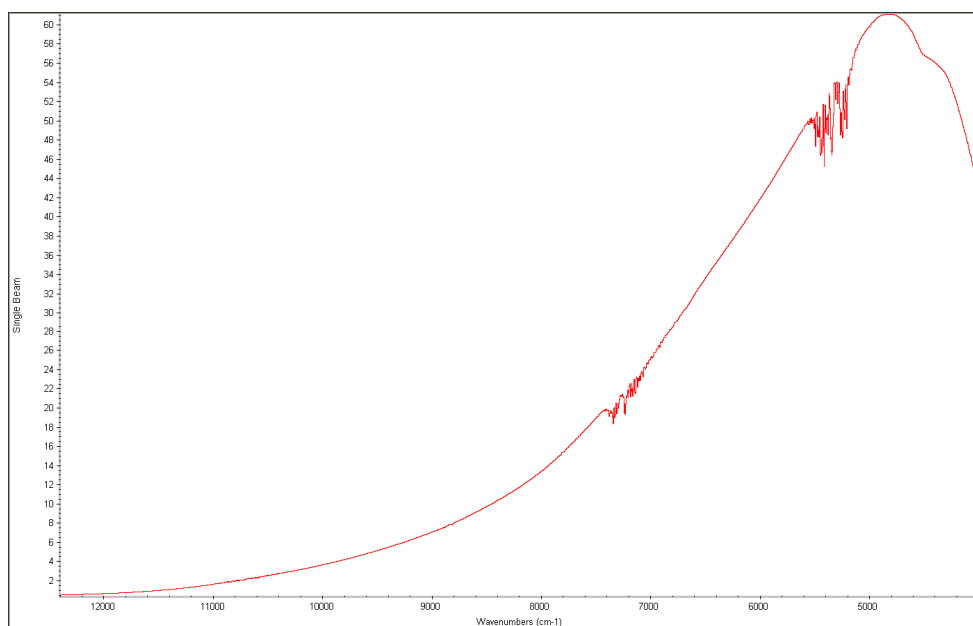
Obrázek 3.2.2.1. Konstrukce FTIR

Všechny NIR spektrometry se skládají ze tří základních součástí: zdroje záření, detektoru a interferometru.

Jako zdroj záření se v NIR spektrometrii používají halogenové žárovky. Pro detekci se nejčastěji využívají různé InGaAs, PbSe, PbS, Si detektory. Dělič paprsků (beamsplitter) je vyroben z křemene nebo CaF_2 , tedy materiálů mnohem odolnějších (a mnohem méně náchylných) než je ve střední oblasti používaný KBr nebo CsI.

3.2.3 TECHNIKY MĚŘENÍ NIR SPEKTER

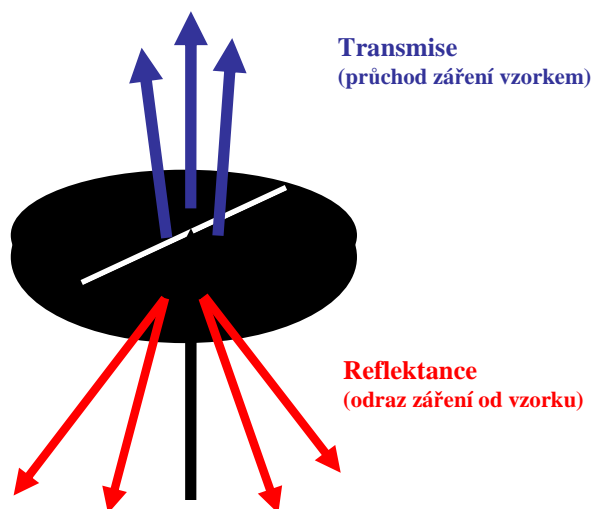
Podobně jako v MIR oblasti i v NIR spektrech molekuly vody absorbují (narozdíl od křemenného skla, které v NIR neabsorbuje; v MIR ano) IČ záření, a proto je třeba před analýzou vzorku měřit referenční spektrum (spektrum pozadí; background), aby byl eliminován vliv okolí, především vzdušné vlhkosti. Příklad spektrálního vzdušného pozadí je uveden na obrázku 3.2.3.1.



Obrázek 3.2.3.1. NIR spektrum vzdušného pozadí.

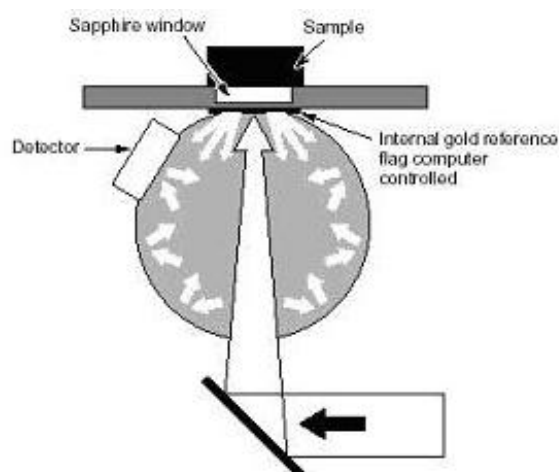
Největší výhodou NIR spektroskopie je možnost měřit vzorky přes skleněné a některé další transparentní obaly. Samotné měření je rychlé (k záznamu jednoho spektra stačí jen několik sekund, resp. desítek sekund — podle nastavených podmínek), nedestruktivní a nevyžaduje žádnou speciální úpravu vzorku. Minimalizuje se tak spotřeba chemikálií a jednorázových analytických setů.

NIR spektra lze měřit jako zeslabení zářivého toku po průchodu záření vzorkem (transmisní měření) nebo po odrazu záření od vzorku (reflexní techniky). Princip je znázorněn na obrázku 3.2.3.2. Černá šipka znázorňuje přichodící záření, modré šipky – transmise, červené šipky – reflektance.



Obrázek 3.2.3.2. Princip transmisního měření, resp. reflexních technik.

Z reflexních technik se nejčastěji uplatňuje princip difúzní reflexe tzv. DRIFT, kdy se dopadající záření odráží od povrchu jednotlivých malých částic práškovitého vzorku, viz obrázek 3.2.3.3. Tento přístup se nejčastěji používá při analýzách ve farmaceutickém průmyslu a byl používán u většiny (kromě jednoho měření) vzorků měřených v této práci.

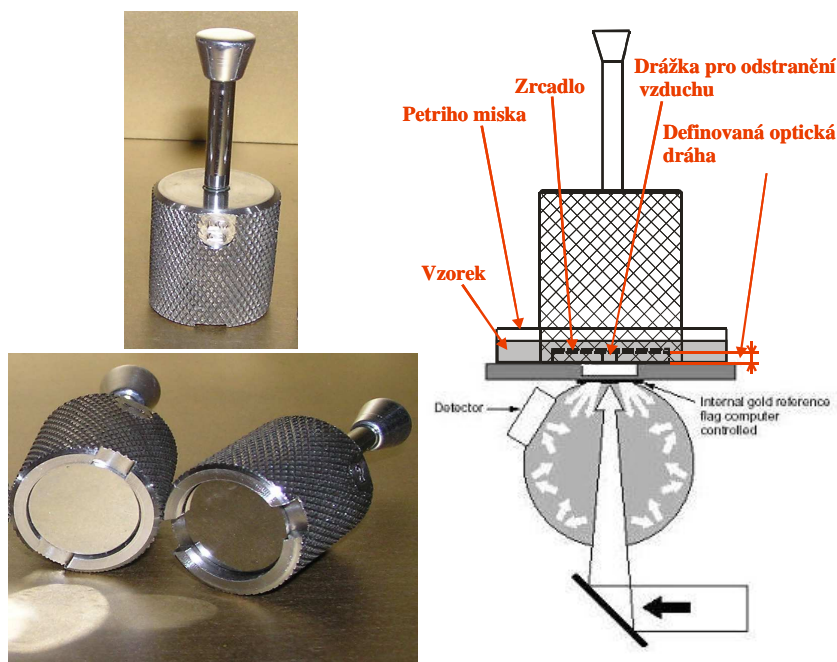


Obrázek 3.2.3.3. Princip difúzní reflexe — DRIFT.

Transmisní měření se využívá pro měření kapalin, kašovitých vzorků a polymerních folií. Kapalné vzorky je nutno měřit v kyvetách z křemenného skla, které vykazuje propustnost v celé NIR oblasti (narozdíl od MIR, kde se musí používat jiné materiály). Tloušťka optické vrstvy a její volba se optimalizuje v závislosti na aktuální koncentraci analytu v roztoku a optických vlastnostech rozpouštědla.

Kombinací obou výše uvedených technik je tzv. transflektance. Lze využít pro měření řídkých suspenzí nebo kapalin, resp. roztoků (v případě této práce byla tato metoda použita jako druhá — pouze pro jediný vzorek). Tato technika využívá speciální kyvety, jejichž dno je pokryto

tzv. „totálně“ odrazivou vrstvou (zrcadlem), která záření prošlé vzorkem odráží zpět tak, že prochází nazpět vzorkem a dopadá na detektor; znázorněno na obrázku 3.2.3.4.



Obrázek 3.2.3.4. Transflektační kyvety a princip tranfleksance.

Kromě výše uvedených technik, kdy je vzorek umístěn ve vzorkovém prostoru přístroje, se často NIR spektra měří s využitím vláknové optiky s různými typy sond, které mohou být umístěny např. přímo ve výrobním zařízení, viz. obrázek 3.2.3.5.



Obrázek 3.2.3.5. NIR-Multiplexer systém s různými typy sond.

Velice zajímavá je aplikace NIR, která si získala poměrně velkou oblibu a rozšíření, v procesní analytické technologii (PAT).

Zařízení lze připevnit na homogenizátor a přímo jím sledovat celý výrobní proces a kontrolovat tak on-line jeho průběh. Toto uspořádání v PAT tak představuje zcela bezkontaktní analýzu celé finální směsi.



Obrázek 3.2.3.6. NIR analyzátor nasazený na homogenizačním zařízení.

3.2.4. APLIKACE NIR SPEKTROMETRIE VE FARMACII

Využívání NIR spektrometrie se rozšiřuje od 90. let 20. století spolu s vývojem nových IČ spektrometrů pro blízkou oblast s Fourierovou transformací. Umožňuje nahradit pracnější, náročnější postupy analytické chemie. Lze využít k testování hotových výrobků, kontrole uniformity produktů a verifikaci vstupních surovin.

Ve farmacii se NIR využívá jak pro kvalitativní tak i kvantitativní aplikace. Je třeba zdůraznit, že pro všechny aplikace (kvalitativní, kvantitativní) je třeba, aby byl změřen standard, resp. série standardů. Měřením vzorků bez standardů lze pouze konstatovat, zda konkrétní vzorky vykazují odlišnost, ale pouze na základě NIR spektra není možno říci, o jaký vzorek se jedná, resp. co vzorek je a co tedy obsahuje.

Mezi nejčastější aplikace NIR spektrometrie patří zejména identifikace veškerých surovin, velikost částic, obsah vody, pevnost, polymorfie léčiv a pomocných látek, obsah léčivé látky, obsahová stejnoměrnost dávkových jednotek, predikce disoluce. Velice důležitá aplikace je rozlišení jednotlivých polymorfů.

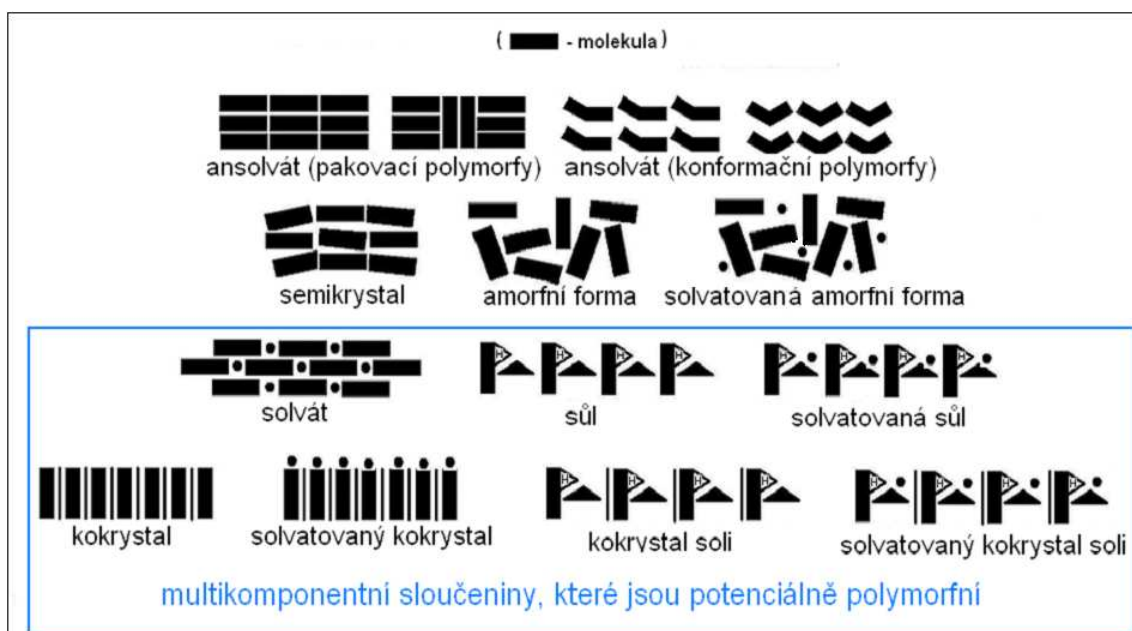
Při analýze lékových forem je často nutné potvrdit identitu některé ze složek, např. léčivou látku. Je nutné, aby obsah stanovované látky byl natolik vysoký, aby se její pásy (příspěvky ke spektru směsi) daly ve spektru směsi rozeznat. Pokud jsou překryty/pozměněny ostatními složkami směsi, je nutné vzorek podrobit extrakci a konkrétní látku dokazovat až v příslušném extraktu.

Kvantitativní analýze se zde blíže věnovat nebudeme, vzhledem k obsáhlosti tohoto tématu.

4. Polymorfismus

4.1. Polymorfismus

Pojem polymorfismus resp. polymorfie (z řeckého: polys = mnohý, morfé = tvar) použil poprvé Mitscherlich v roce 1822. Všiml si, že jedna sloučenina určitého chemického složení může vykristalovat ve více krystalových tvarech. Dnes polymorfismus definujeme jako možnost molekuly krystalovat ve více krystalových strukturách neboli polymorfech. Pokud se do struktury při krystalizaci zabudují i molekuly rozpouštědla (nejčastěji vody), hovoříme o solváttech (hydrátech). Solváty se také označují jako pseudopolymorfy nebo solvátomorfy, ale tyto pojmy jsou stále předmětem diskuse. Pevná forma určité molekuly může být též amorfní a v poslední době je snaha rozlišovat i mezi několika amorfními formami jedné molekuly, tzv. polyamorfismus.



Obrázek 4.1.1. Schématické znázornění polymorfismu pevných látek (Kratochvíl, B. Farmaceutické kokrystaly. In Sborník XXXVIII. konference „Syntéza a analýza léčiv“, Hradec Králové, 14. až 16. září 2009, s. 23-24.)

Rozeznáváme dva základní typy polymorfismu: pakovací a konformační. Pakovací polymorfismus znamená, že molekula je rigidní a polymorfy se liší pouze jejím pakováním v krystalové struktuře. Konformační polymorfismus vzniká tehdy, když je molekula flexibilní a tvoří konformery, které odlišně krystalují. V praxi se setkáváme jak s čistým pakovacím nebo konformačním polymorfismem, tak se smíšenými typy.

Ve farmaceutické praxi se stalo zvykem zahrnovat všechny polymorfy, solváty a polyamorfy jedné API pod pojem pevné formy, příp. pod rozšířený pojem polymorfy a označovat je např.

římskými číslicemi nebo písmeny. Je třeba počítat i s tím, že značení polymorfů je bohužel někdy nejednotné, vzniká historicky a tak občas různí autoři označí dva rozdílné polymorfy stejně. Problémem farmaceutických výrobců jsou polymorfní přechody v organických soustavách, které jsou často hysteretní, špatně definované a často probíhají přes kapalnou fázi ("solvent-mediated"). Polymorfní přechody mohou proběhnout ve všech technologických stupních výroby léčiva (při finální krystalizaci API, vlhké granulaci, mikronizaci, tabletování nebo v hotové tabletě, např. působením pomocných látek – excipientů). Národní regulační autority vyžadují při registraci léčiva na farmaceutických firmách popis všech jeho pevných forem a možných fázových přechodů, stejně jako předepsanou garanci polymorfní čistoty produktů. V současnosti tvoří okolo 85 % produkce farmaceutických firem právě pevné lékové formy, a proto si žádný producent nemůže dovolit problém polymorfismu u svých výrobků ignorovat.

Tvorba optimální formy API pro vývoj lékové formy je jedním ze základních úkolů. Ve farmaceutické výrobě se při optimalizaci krystalizačních podmínek kombinují empirické a teoretické přístupy, právě s ohledem na časté polymorfní chování API a citlivost přechodu laboratorního na poloprovozní a provozní měřítko.

Problémy spojené s polymorfií farmaceutických substancí jsou v zásadě dvojího druhu:

1. technicko-farmaceutické, spojené s přípravou a aktivitou daného léčiva (resp. lékové formy),
2. právní, spojené s patentovou ochranou jednotlivých polymorfů.

Dříve nebyla polymorfie farmaceutických substancí příliš sledována a teprve postupně byl objeven jej vliv na stabilitu a biodostupnost léčiv. V současnosti je otázka sledování polymorfismu farmaceutických substancí již velmi dobře propracována a tvoří významnou součást vývoje nového léčiva. Každá nová API prochází screeningem zaměřeným na případnou existenci polymorfů již v období chemického vývoje a takto objevené polymorfy jsou předmětem patentové ochrany.

4.1.1. VLASTNOSTI POLYMORFŮ

Výsledkem vývoje léčiva musí být produkt, který je fyzikálně i chemicky stabilní a který má rovněž optimální biodostupnost. Z praktických důvodů je rovněž nutné, aby zvolený polymorf měl vhodné fyzikální vlastnosti z hlediska manipulovatelnosti a zpracovatelnosti při výrobě. Dalším požadavkem je, aby proces jeho výroby byl dostatečně robustní.

U polymorfních léčiv je preferován termodynamicky nejstabilnější polymorf zajišťující obvykle reprodukovatelnou biodostupnost po celou dobu použitelnosti léčiva (shelf-life) za různých, v praxi se vyskytujících, podmínek skladování. Nezanedbatelnou výhodou je i to, že výroba takového polymorfu je obvykle snadněji kontrolovatelná i ve větších výrobních měřítcích. V některých případech je však z medicínských důvodů preferována metastabilní krystalická forma nebo amorfní forma. To nastává hlavně tehdy, když je požadována vyšší koncentrace účinné látky v systému nebo rychlejší disoluce u málo rozpustných substancí. Některé substance se používají v amorfní formě také proto, že se nepodařilo z dané látky získat krystalickou substanci. Pokud se tedy používá amorfní forma nebo metastabilní krystalický polymorf, je třeba věnovat zvláštní pozornost spolehlivému zajištění bezpečnosti a účinnosti takového léčiva po celou deklarovanou dobu jeho použitelnosti. Tyto aspekty musí být zajištěny i pro skladovací podmínky v jiných klimatických pásmech.

Ačkoliv je biologický účinek API vyvolán interakcí molekuly léčiva s cílovým receptorem, kdy se především vlivem konformačních změn ovlivní přirozený chemismus buňky, je důležité v jaké pevné formě je pacientovi léčivo podáváno. To znamená, že záleží nejenom na molekulové, ale i krystalové struktuře API. Krystalová struktura totiž ovlivňuje, kromě chemické a fyzikální stability, také rychlost rozpouštění léčiva a tím může výrazně ovlivnit biodostupnost léčiva. Na druhé straně amorfní forma může mít až 10x větší rozpouštěcí rychlost než nejstabilnější polymorf. Velké rozdíly v rozpustnosti a rozpouštěcí rychlosti polymorfu mohou být příčinou velkých rozdílů v jejich distribuci v organismu. Nízká plasmatická koncentrace může způsobit, že se neúplně obsadí příslušné membránové receptory v místě účinku a jsou zablokovány substrátem nebo že se změní charakter účinku z agonisty na antagonistu nebo naopak.

Rychlost rozpouštění není jediným důležitým parametrem, ve kterém se polymorfy liší. Rozdíly ve velikosti a tvaru krystalu ovlivňují mlecí, tabletovací, filtrovací, sypné a další důležité technologické parametry. Rozdíly nalézáme i v chemické reaktivitě, termální stabilitě, hydrokopicitě, hustotě, tvrdosti atd.

Různé polymorfy API se mohou lišit v kinetice rozpouštění až o řád, což má výrazný dopad pro biodostupnost. Stabilní polymorfy mají obvykle nejnižší kinetiku disoluce.

Nestabilní polymorf, resp. amorf musí být v lékové formě stabilizován - polymorfní čistota lékové formy musí být monitorována — stabilizace nestabilní API probíhá např. vytvořením pevné suspenze ve vhodném polymeru (polyvinylpyrrolidon (PVP), kyselina polyakrylová (PAA)). Stabilizační efekt spočívá v antiplastickém efektu polymeru (fázový přechod je spojen s plastickou deformací materiálu).

Generické firmy, např. z důvodu obejití patentové ochrany nebo terapeutických výhod, volí nestabilní polymorf (hydrát, resp. amorf). Pro cílenou výrobu nestabilního polymorfu lze s výhodou použít očkovanou krystalizaci. Problém nastává, když není k dispozici krystalizační očko, protože univerzální technika, jak usměrnit polymorfní chování určité API žadaným směrem, tj. robustně a reprodukovatelně vyrábět určitý polymorf, neexistuje. To souvisí se současnou absencí fundamentální teorie polymorfismu.

O tom, jaký polymorf vykrystalizuje, se rozhoduje v prenukleačním stadiu, tedy u molekulárních agregátů, na základě kompetice kinetických a termodynamických faktorů. Nová generace aktivních farmaceutických ingrediencí je založena na kombinaci API, která je zabudována do vhodně zvolené polymerní matrice. Tak vznikají tuhé roztoky či tuhé disperze, jejichž chování, jako je např. biologická dostupnost nebo stabilita, silně závisí na distribuci a velikosti dispergovaných částic, rozsahu interakce mezi polymerní maticí a léčivou látkou, krystalinitě dispergovaného léčiva a v neposlední řadě i segmentové dynamice polymerních řetězců.

5. Experimentální část

5.1. Materiál a pomůcky

5.1.1. CHEMIKÁLIE

Rozpouštědla

Ethanol — Merck, p.a., C₂H₅OH, M_r 46,1

Reaktanty

Carmellosum natricum conexum (AcDiSol)

Hydroxypropylcellulosum LH 21 (nizkosubstituovaná)

Magnesii oxidum ponderosum — MgO, M_r 40,3

Magnesii stearas — (C₁₈H₃₅O₂)₂Mg, M_r 591.24

N-methyl-D-glucaminum — C₇H₁₇NO₅, M_r 195.21

Polysorbatum 80 (TWEEN[®] 80)

Silica colloidalis anhydrica

API — 2 různé šarže

5.1.2. PŘÍSTROJE, SOFTWARE VYBAVENÍ A LABORATORNÍ SKLO

Nicolet™ 6700 FTIR (MIR/NIR) Spectrometer, Thermo Scientific — FTIR NIR/MIR

Bruker AVANCE 500 — NMR

X'PERT PRO MPD PANalytical — XRD

Denver instruments TB – 215D — elektronické váhy

Heidolph, MR *Hei-Tec* — Laboratorní magnetické míchačky se zahříváním

Milli-Q Advantage A 10[®] system — milli-Q aparát

běžné chemické sklo a laboratorní potřeby

Infračervená spektra byla měřena na přístroji Nicolet™ 6700 FTIR (MIR/NIR) Spectrometer, Thermo Scientific s Up-Drift nástavcem. Všechny vzorky byly měřeny touto metodou, až na vzorek polysorbátu 80, který byl měřen transflektančně (10 mm). Rozsah měření byl 12400–4000 cm⁻¹. Použitý detektor byl InGaAs a beam splitter CaF₂. Počet scanů byl zvolen

128, rozlišení 8 cm^{-1} . Veškerá spektra byla zpracována v systému Omnic verze 7.4.124. Pokud není uvedeno jinak, tak jsou spektra zobrazena v režimu „common scale“.

Spektra ss-NMR byla měřena na NMR spektrometru Bruker AVANCE 500 MHz za použití 4 mm CP/MAS sondy, rychlost rotace 13 kHz, kontaktní čas 2 ms, počet scanů 500.

Difraktogramy byly získány na difraktometru X'PERT PRO MPD PANalytical s grafitovým monochromátorem, použité záření bylo CuK_α ($\lambda=1,542\text{\AA}$), excitační napětí byl 45 kV, anodový proud byl 40 mA, měřený rozsah byl $4 - 40^\circ 2\theta$, velikost kroku byla $0,008^\circ 2\theta$, měření probíhalo na Si držáku s PE folií.

5.2. Příprava vzorků a software vybavení

5.2.1. OBECNÁ PŘÍPRAVA VZORKU PRO MĚŘENÍ NIR

Příprava veškerých vzorků odpovídá technologickému předpisu výroby dané tablety.

Technologický postup tabletování je vlhká granulace. Granulát vzniká rozpuštěním *N*-methyl-D-glucaminum v příslušném množství vody, přidá se ethanol (EtOH) a tímto roztokem se granulují směs všech zbylých pomocných látek s API. Tento postup platí pro tablety, které obsahují *N*-methyl-D-glucaminum.

Pokud tableta *N*-methyl-D-glucaminum neobsahuje, vzniká granulát obdobnou cestou, s výjimkou toho, že se směs všech pomocných látek s API granulují již hotovým roztokem vody a ethanolu.

Poměr vody k ethanolu je v obou případech stejný, tj. $H_2O:EtOH = 2:1$.

5.2.2. PŘÍPRAVA JEDNOTLIVÝCH VZORKŮ

Jednotlivé vzorky se podle procentuálního zastoupení v hmotnosti jádra tablety (1120,00 mg) přepočítaly tak, aby se poměr nezměnil, ale navážka API byla přibližně přesně 10,00 mg. Podle tohoto zastoupení se udělaly i další směsi, resp. roztoky, které měly vzestupnou tendenci procent obsahu excipientu (viz. jednotlivé vzorky).

Jednotlivé vzorky byly vždy nejprve změřeny suché bez předchozího rozpuštění, tak aby byl vidět rozdíl mezi jednoduchou směsí a potenciální interakcí excipientu s API, popřípadě i možnou změnou polymorfu API.

Jednotlivé postupy přípravy jsou uvedeny u každého excipientu zvlášť.

STANDARDY API

Pracovní postup:

API byla navážena do 10 ml kádinek, bylo změřeno NIR spektrum. Do kádinky bylo přilito příslušné množství milli-Q vody a byl přidán EtOH. Směs se 15 minut nechala míchat na magnetické míchačce při 300 ot./min. Vznikly opalizující roztoky. Poté byly obsahy kádinek převedeny do Petriho misek a nechány při 40 °C odpařit do sucha. Odparky byly převedeny do vialek a byly změřeny NIR spektra.

	šarže 1010107	šarže 1020907
API	10,15 mg	10,09 mg
H ₂ O	3,24 g	3,24 g
EtOH	1,62 g	1,62 g
popis	slabá opalescence	silná opalescence

STANDARD N-METHYL-D-GLUCAMINUM

Pracovní postup:

N-methyl-D-glucaminum (MGL) byl navážen do 10 ml kádinky, bylo změřeno NIR spektrum. K MGL bylo přilito příslušné množství milli-Q vody a byl přidán EtOH. Směs se 15 minut nechala míchat na magnetické míchačce při 300 ot./min. Poté byl roztok z kádinky přelit do Petriho misky a nechán při 40 °C odpařit do sucha. Odparek byl převeden do vialky a bylo změřeno NIR spektrum.

MGL	10,04 mg
H ₂ O	3,24 g
EtOH	1,62 g
popis	slabá opalescence

STANDARDY *N*-METHYL-D-GLUCAMINUM S API

Pracovní postup:

N-methyl-D-glucaminum (MGL) byl navážen do 10 ml kádinky, byla přidána navážka API. Tyto směsi se promísily a byla změřena NIR spektra.

Šarže API 1010907

	1%	2%	3%	5%	7%
MGL	1,46 mg	2,74 mg	4,5 mg	7,10 mg	9,81 mg
API	10,01 mg	10,01 mg	10,01 mg	10,01 mg	10,01 mg

Šarže API 1020107

	1%	2%	3%	5%	7%
MGL	1,43 mg	2,71 mg	4,23 mg	7,09 mg	9,75 mg
API	10,08 mg	10,08 mg	10,08 mg	10,08 mg	10,08 mg

N-METHYL-D-GLUCAMINUM S API

Pracovní postup:

N-methyl-D-glucaminum (MGL) byl navážen do 10 ml kádinek, bylo přilito příslušné množství milli-Q vody a byl přidán EtOH. Do těchto roztoků byla přidána navážka API. Směs se 15 minut nechala míchat na magnetické míchače při 300 ot./min. Poté byly obsahy kádinek přelity do Petriho misek a nechány při 40 °C odpařit do sucha. Odparky byly převedeny do vialek a byla změřena NIR spektra.

Šarže API 1010907

	1%	2%	3%	5%	7%
MGL	1,46 mg	2,75 mg	4,29 mg	6,94 mg	9,87 mg
H ₂ O	3,7 g	4,2 g	4,7 g	5,5 g	6,5 g
EtOH	1,9 g	2,1 g	2,3 g	2,8 g	3,2 g
API	9,96 mg	10,05 mg	10,07 mg	10,14 mg	10,12 mg
popis	slabá opalescence	čirý roztok	slabá opalescence	silná opalescence	slabá opalescence

Šarže API 1020107

	1%	2%	3%	5%	7%
MGL	1,46 mg	2,85 mg	4,18 mg	7,09 mg	9,89 mg
H ₂ O	3,7 g	4,2 g	4,7 g	5,5 g	6,5 g
EtOH	1,9 g	2,1 g	2,3 g	2,8 g	3,2 g
API	9,94 mg	10,08 mg	10,39 mg	9,97 mg	10,14 mg
popis	silná opalescence	silná opalescence	silná opalescence	slabá opalescence	slabá opalescence

STANDARD MAGNESII STEARAS

Pracovní postup:

Stearát (MgST) byl navážen do 10 ml kádinky, bylo změřeno NIR spektrum. Do této kádinky bylo přilito příslušné množství milli-Q vody a byl přidán EtOH. Směs se 15 minut nechala míchat na magnetické míchačce při 300 ot./min. Vzniklá suspenze byla poté z kádinky přelita do Petriho misky a ponechána při 40 °C odpařit do sucha. Odparek byl převeden do vialky a bylo změřeno NIR spektrum.

MgST	10,34 mg
H ₂ O	3,38 g
EtOH	1,69 g
popis	suspenze

MAGNESII STEARAS S API

Pracovní postup:

MgST byl navážen do 10 ml kádinky, přibližně přesně 10,00 mg API, nasucho se promíchalo a změřilo se NIR spektrum. Přidalo se požadované množství milli-Q vody, suspenze se přelila příslušným množstvím EtOH. Obsah kádinky se nechal míchat 15 minut při 300 ot./min., pak byla suspenze přelita na Petriho misky a při 40 °C se nechala samovolně odpařit. Odparek se převedl do vialky a bylo změřeno NIR spektrum.

Šarže API 1010907

	0,3%	0,5%	0,7%
MgST	0,46 mg	0,72 mg	0,94 mg
H ₂ O	3,38 g	3,47 g	3,56 g
EtOH	1,69 g	1,73 g	1,78 g
API	10,35 mg	10,05 mg	10,31 mg
popis	silná opalescence	silná opalescence	silná opalescence

Šarže API 1020107

	0,3%	0,5%	0,7%
MgST	0,42 mg	0,75 mg	0,99 mg
H ₂ O	3,38 g	3,47 g	3,56 g
EtOH	1,69 g	1,73 g	1,78 g
API	10,02 mg	9,98 mg	10,33 mg
popis	silná opalescence	silná opalescence	silná opalescence

STANDARD HYDROXYPROPYLCELLULOSUM LH 21

Pracovní postup:

Hydroxypropylcelulosum LH 21 (HPC) byla navážena do 10 ml kádinky, bylo změřeno NIR spektrum. Do této kádinky bylo přilito příslušné množství milli-Q vody a byl přidán EtOH. Směs se 15 minut nechala míchat na magnetické míchačce při 300 ot./min. Vzniklá suspenze byla poté z kádinky přelita do Petriho misky a ponechána při 40 °C odpařit do sucha. Odparek byl převeden do vialky a bylo změřeno NIR spektrum.

HPC	21,47 mg
H ₂ O	6,87 g
EtOH	3,43 g
popis	suspenze

HYDROXYPROPYLCELLULOSUM LH 21 S API

Pracovní postup:

Do 25 ml kádinky byla navážena HPC, přibližně 10,00 mg API, nasucho se promíchalo a změřilo se NIR spektrum. Přidalo se požadované množství milli-Q vody, suspenze se přelila příslušným množstvím EtOH. Obsah kádinky se nechal míchat 15 minut při 300 ot./min., poté se přelil na Petriho misky a při 40 °C se nechal samovolně odpařit. Odparek se převedl do vialky a bylo změřeno se NIR spektrum.

Šarže API 1010907

	8%	10%	12%
HPC	11,14 mg	13,97 mg	16,97 mg
H ₂ O	6,87 g	7,7 g	8,7 g
EtOH	3,43 g	3,9 g	4,3 g
API	10,07 mg	9,98 mg	10,14 mg
popis	silná opalescence	silná opalescence	silná opalescence

Šarže API 1020107

	8%	10%	12%
HPC	11,29 mg	14,00 mg	16,81 mg
H ₂ O	6,87 g	7,7 g	8,7 g
EtOH	3,43 g	3,9 g	4,3 g
API	10,07 mg	10,07 mg	10,01 mg
popis	silná opalescence	silná opalescence	silná opalescence

STANDARD SILICA COLLOIDALIS ANHYDRICA

Pracovní postup:

Koloidní SiO₂ byl navážen do 10 ml kádinky, bylo změřeno NIR spektrum. Do této kádinky bylo přilito příslušné množství milli-Q vody a byl přidán EtOH. Směs se 15 minut nechala míchat na magnetické míchačce při 300 ot./min. Vzniklý opalizující roztok byl poté z kádinky přelit do Petriho misky a ponechán při 40 °C odpařit do sucha. Odparek byl převeden do vialky a bylo změřeno NIR spektrum.

SiO ₂	10,71 mg
H ₂ O	3,47 g
EtOH	1,73 g
popis	silná opalescence

SILICA COLLOIDALIS ANHYDRICA S API

Pracovní postup:

Do 10 ml kádinky byl navážen SiO₂, přibližně 10,00 mg API, nasucho se promíchalo a změřilo se NIR spektrum. Přidalo se požadované množství milli-Q vody, suspenze byla přelita příslušným množstvím EtOH. Obsah kádinky se nechal míchat 15 minut při 300 ot./min., poté se přelil na Petriho misky a při 40 °C se nechal samovolně odpařit. Odparek byl převeden do vialky a bylo změřeno NIR spektrum.

Šarže API 1010907

	0,1%	0,36%	0,5%
SiO ₂	0,11 mg	0,49 mg	0,68 mg
H ₂ O	3,29 g	3,4 g	3,47 g
EtOH	1,64 g	1,7 g	1,73 g
API	10,09 mg	9,95 mg	10,01 mg
popis	silná opalescence	silná opalescence	silná opalescence

Šarže API 1020107

	0,1%	0,36%	0,5%
SiO ₂	0,16 mg	0,48 mg	0,63 mg
H ₂ O	3,29 g	3,4 g	3,47 g
EtOH	1,64 g	1,7 g	1,73 g
API	10,01 mg	10,13 mg	10,08 mg
popis	silná opalescence	silná opalescence	silná opalescence

STANDARD CARMELLOSUM NATRICUM CONEXUM

Pracovní postup:

Carmellosum natricum conexum (Ac-Di-Sol®) byl navážen do 10 ml kádinky, bylo změřeno NIR spektrum. Do této kádinky bylo přilito příslušné množství milli-Q vody a byl přidán EtOH. Směs se 15 minut nechala míchat na magnetické míchačce při 300 ot./min. Vzniklá suspenze byla poté z kádinky přelita do Petriho misky a ponechána při 40 °C odpařit do sucha. Odparek byl převeden do vialky a bylo změřeno NIR spektrum.

AcDiSol	19,8 mg
H ₂ O	6,42 g
EtOH	3,2 g
popis	suspenze

CARMELLOSUM NATRICUM CONEXUM S API

Pracovní postup:

Do 10 ml kádinky byl navážen Ac-Di-Sol®, přibližně 10,00 mg API, nasucho se promíchalo a bylo změřeno se NIR spektrum. Přidalo se požadované množství milli-Q vody, suspenze byla přelita příslušným množstvím EtOH. Obsah kádinky se nechal míchat 15 minut při 300 ot./min., poté byl přelit na Petriho misky a při 40 °C se nechal samovolně odpařit. Odparek byl převeden do vialky a bylo změřeno NIR spektrum.

Šarže API 1010907

	3%	5%	7%
AcDiSol	4,15 mg	7,01 mg	9,89 mg
H ₂ O	4,6 g	5,51 g	6,42 g
EtOH	2,3 g	2,75 g	3,2 g
API	10,10 mg	10,04 mg	10,03 mg
popis	silná opalescence	silná opalescence	silná opalescence

Šarže API 1020107

	3%	5%	7%
AcDiSol	4,15 mg	7,10 mg	9,78 mg
H ₂ O	4,6 g	5,51 g	6,42 g
EtOH	2,3 g	2,75 g	3,2 g
API	10,20 mg	10,11 mg	9,96 mg
popis	suspenze	silná opalescence	silná opalescence

STANDARD POLYSORBATUM 80

Pracovní postup:

Polysorbatum 80 (Tween® 80), vzhledem k tomu, že je viskózní kapalina, nemohl být měřen jako ostatní standardy — NIR spektrum bylo tedy změřeno v transflektanční kyvetě. Vzhledem k tomu, že se spektrum Tweenu® 80 po rozpuštění změní jen minimálně, bylo jako standardní posléze bráno spektrum nerozpuštěného Tweenu® 80.

POLYSORBATUM 80 S API

Pracovní postup:

Do 10 ml kádinky byl navážen Tween® 80, přibližně 10,00 mg API, nasucho se promíchalo a změřilo se NIR spektrum. Přidalo se požadované množství milli-Q vody, suspenze se přelila příslušným množstvím EtOH. Obsah kádinky se nechal míchat 15 minut při 300 ot./min., poté se přelil na Petriho misky a při 40 °C se nechal samovolně odpařit. Odparek se převedl do vialky a bylo změřeno NIR spektrum.

Šarže API 1010907

	5%
Tween 80	7,32 mg
H ₂ O	5,5 g
EtOH	2,8 g
API	9,95 mg
popis	silná opalescence

Šarže API 1020107

	5%
Tween 80	7,41 mg
H ₂ O	5,5 g
EtOH	2,8 g
API	10,47 mg
popis	suspenze

STANDARD MAGNESII OXIDUM PONDEROSUM

Pracovní postup:

Magnesii oxidum ponderosum (MgO) byl navážen do 10 ml kádinky, bylo změřeno NIR spektrum. Do této kádinky bylo přilito příslušné množství milli-Q vody a byl přidán EtOH. Směs se 15 minut nechala míchat na magnetické míchačce při 300 ot./min. Vzniklá suspenze byla poté z kádinky přelita do Petriho misky a ponechána při 40°C odpařit do sucha. Odparek byl převeden do vialky a bylo změřeno NIR spektrum.

MgO	26,74 mg
H ₂ O	8,7 g
EtOH	4,3 g
popis	silná opalescence

MAGNESII OXIDUM PONDEROSUM S API

Pracovní postup:

Do 25 ml kádinky byl navážen oxid hořečnatý, přibližně 10,00 mg API, nasucho se promíchalo a bylo změřeno NIR spektrum. Přidalo se požadované množství milli-Q vody, roztoky byly přelity příslušným množstvím EtOH. Obsah kádinky se nechal míchat 15 minut při 300 ot./min., poté se přelil na Petriho misky a při 40 °C se nechal samovolně odpařit. Odparek se převedl do vialky a bylo změřeno NIR spektrum.

Šarže API 1010907

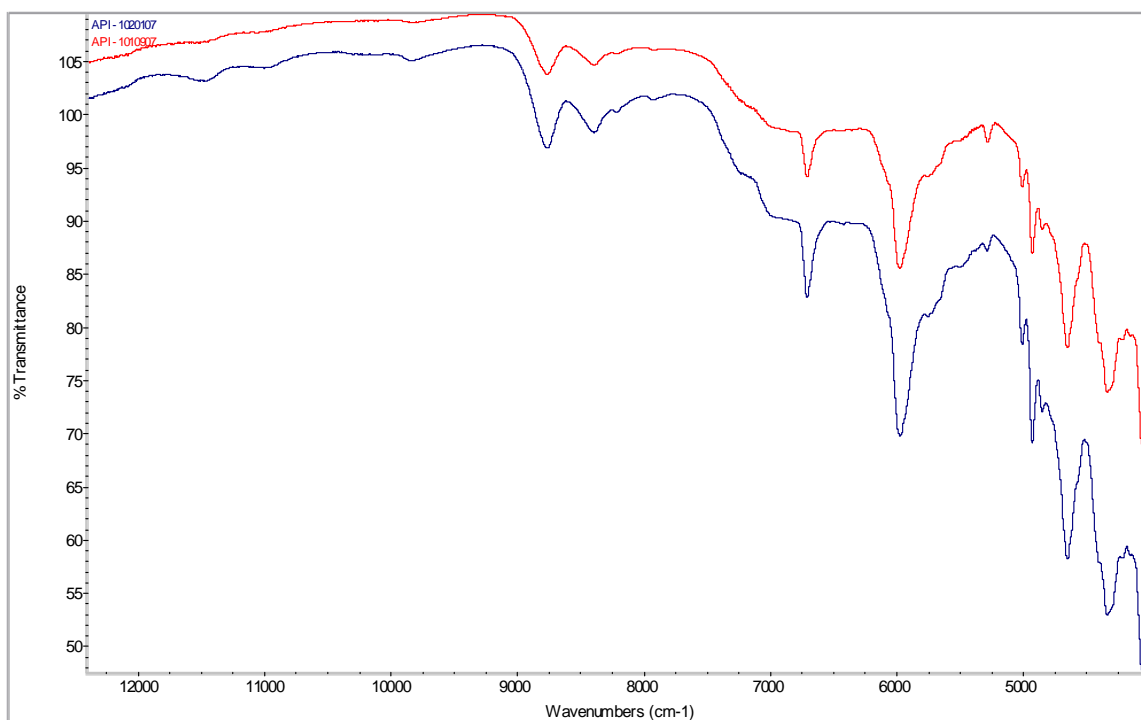
	8%	10%	12%
MgO	11,35 mg	13,9 mg	16,83 mg
H ₂ O	6,9 g	7,8 g	8,7 g
EtOH	3,4 g	3,9 g	4,3 g
API	10,06 mg	10,00 mg	9,97 mg
popis	silná opalescence	silná opalescence	silná opalescence

Šarže API 1020107

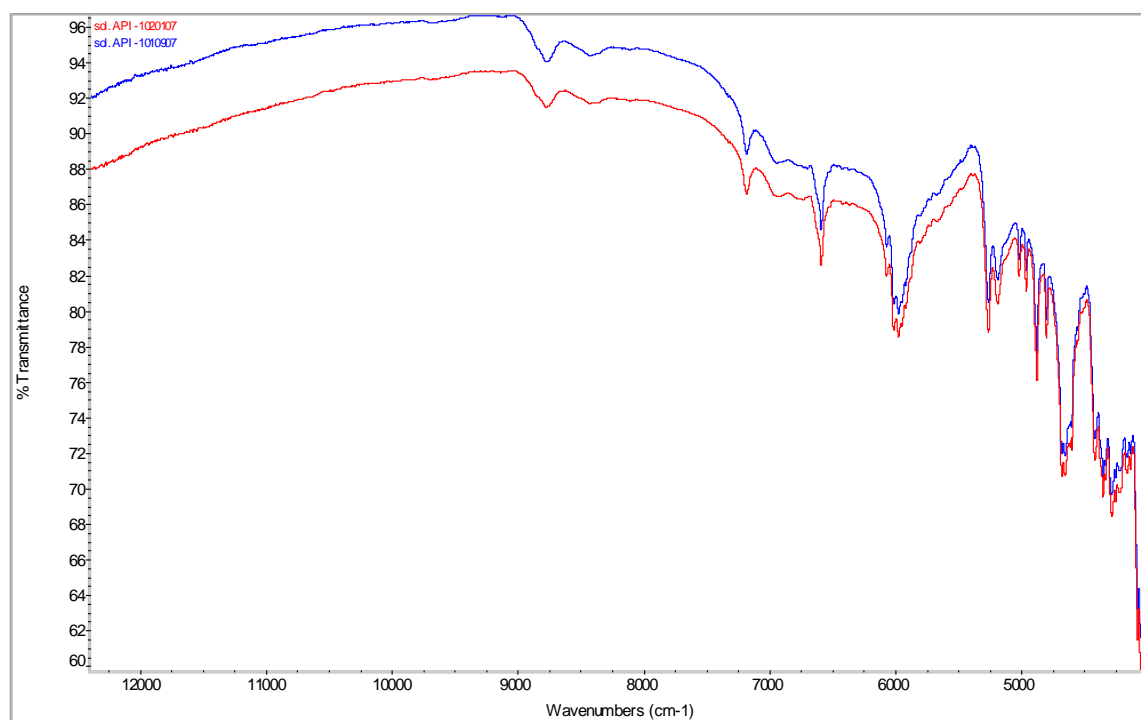
	8%	10%	12%
MgO	11,22 mg	13,91 mg	16,72 mg
H ₂ O	6,9 g	7,8 g	8,7 g
EtOH	3,4 g	3,9 g	4,3 g
API	9,98 mg	10,06 mg	9,97 mg
popis	silná opalescence	silná opalescence	silná opalescence

6. Hodnocení spekter

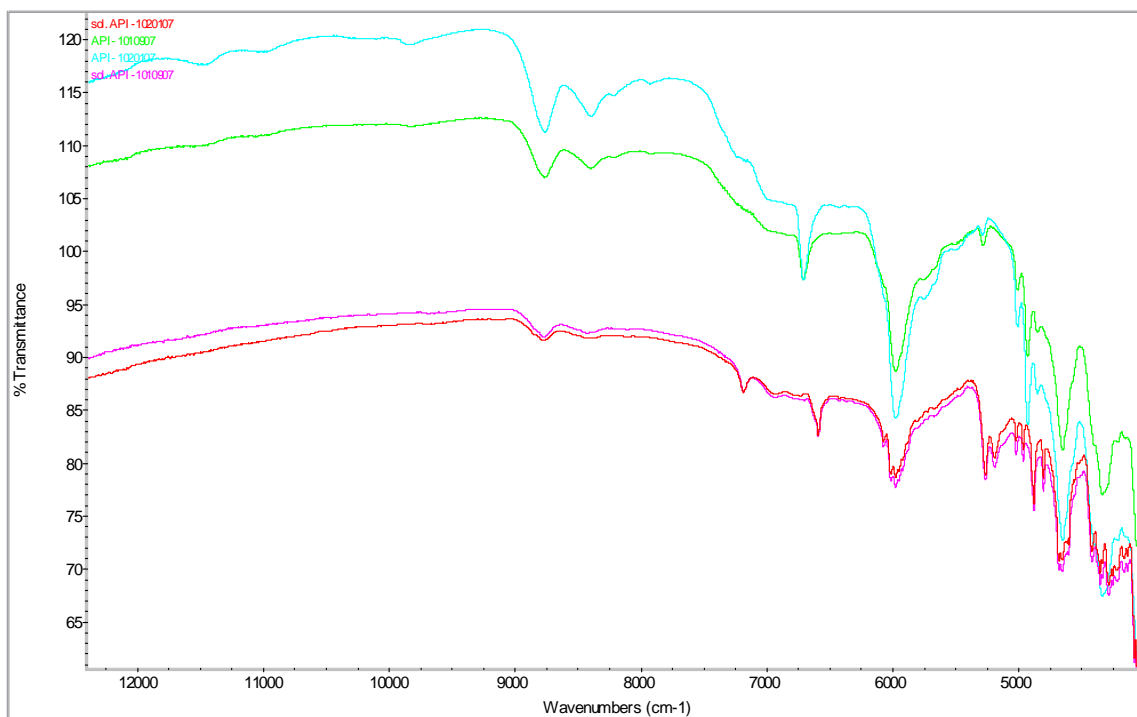
6.1. NIR spektra standardů API



Obrázek 6.1.1. Spektra čistých standardů obou šarží API.



Obrázek 6.1.2. Spektra standardů obou šarží API z roztoků.

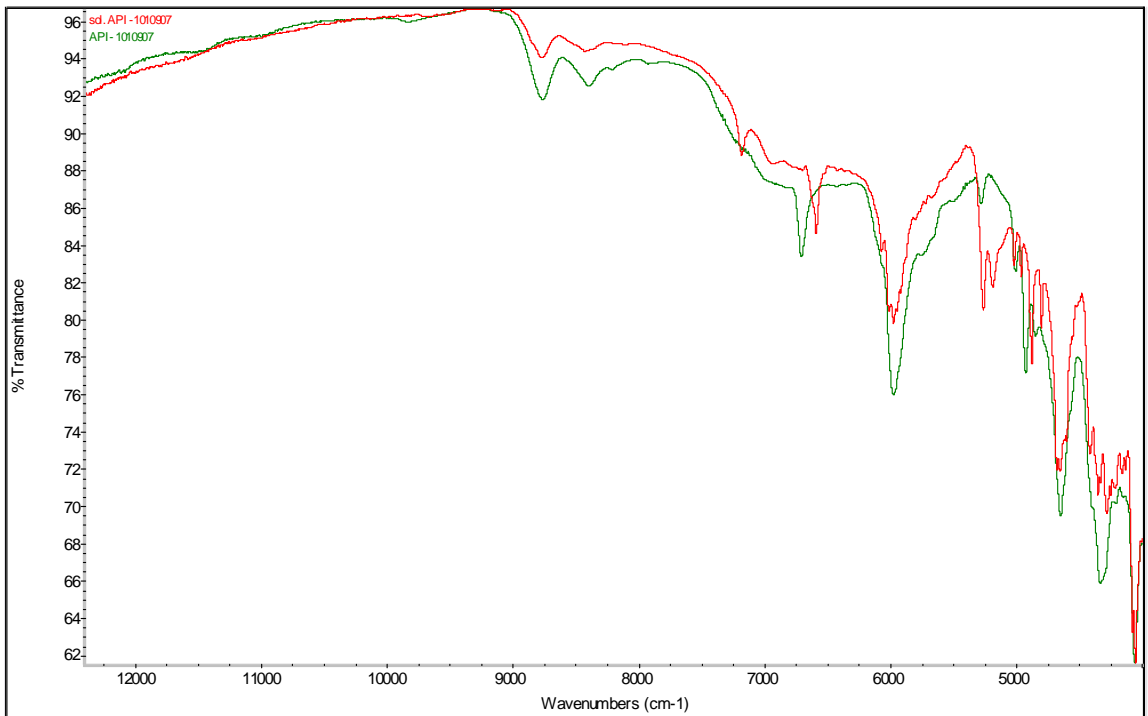


Obrázek 6.1.3. Spektra obou standardů API (vrchní) a obou standardů API z roztoků (spodní). (no scale)

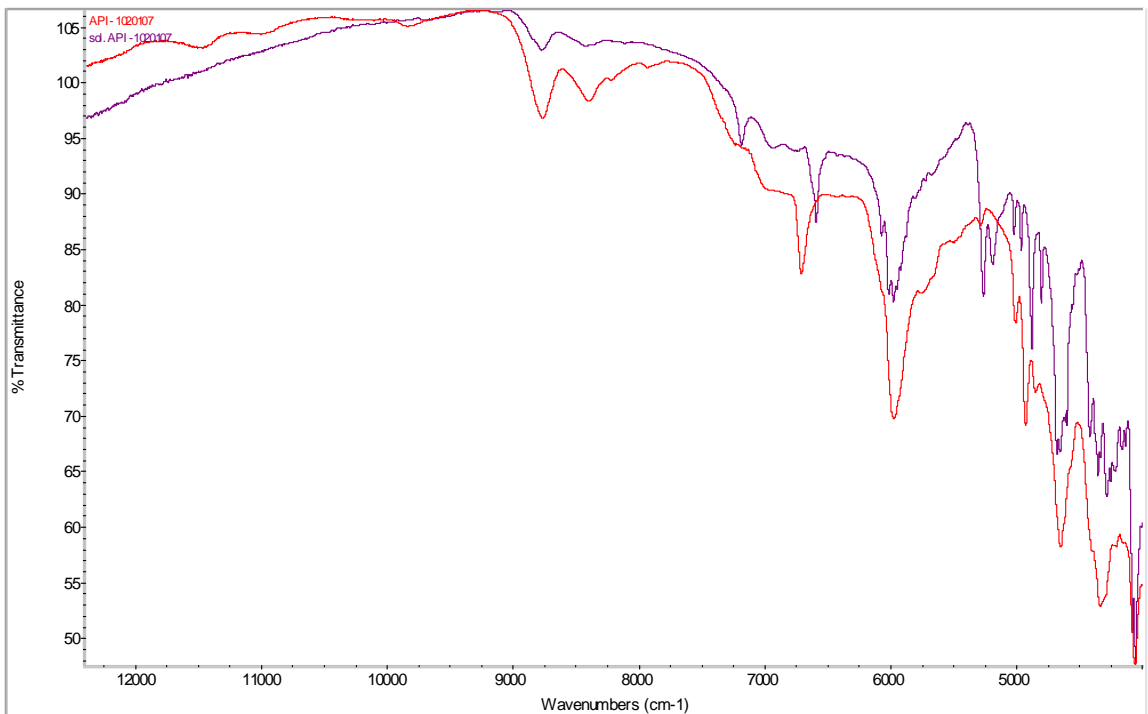
U obrázku 6.1.2. a obrázku 6.1.3. si můžeme povšimnout jednoho zajímavého faktu — rozdílnosti polymorfní struktury krystalů.

Spektra byla v rámci názornosti posunuta a seskupena po transmittanční ose podle polymorfické struktury. Je jasně patrné, že API před přelitím milli-Q vodou a EtOH měly amorfní formu – dvě křivky při vyšší transmittanci, která se posléze při tomto procesu mění na formu krystalickou (dvě křivky při nižších hodnotách transmittance). Polymorfická struktura byla potvrzena XRD a ss-NMR.

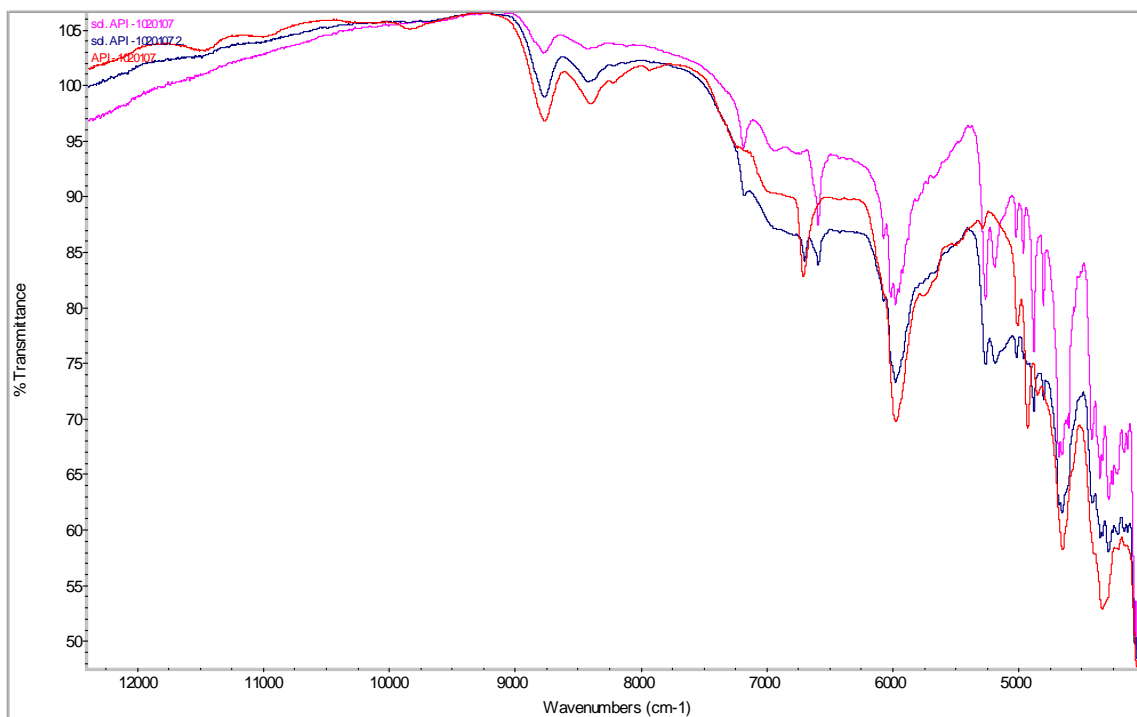
Rozdílnost struktury amorfní formy a krystalické formy je nejmarkantněji viditelná v oblasti mezi 9200-7800 cm^{-1} , mezi 7500 cm^{-1} až 6500 cm^{-1} a od 5500 do 4500 cm^{-1} .



Obrázek 6.1.4. Spektra standardů API – 1010907 a API – 1010907 z roztoku.



Obrázek 6.1.5. Spektra standardů API – 1020107a API – 1020107 z roztoku.

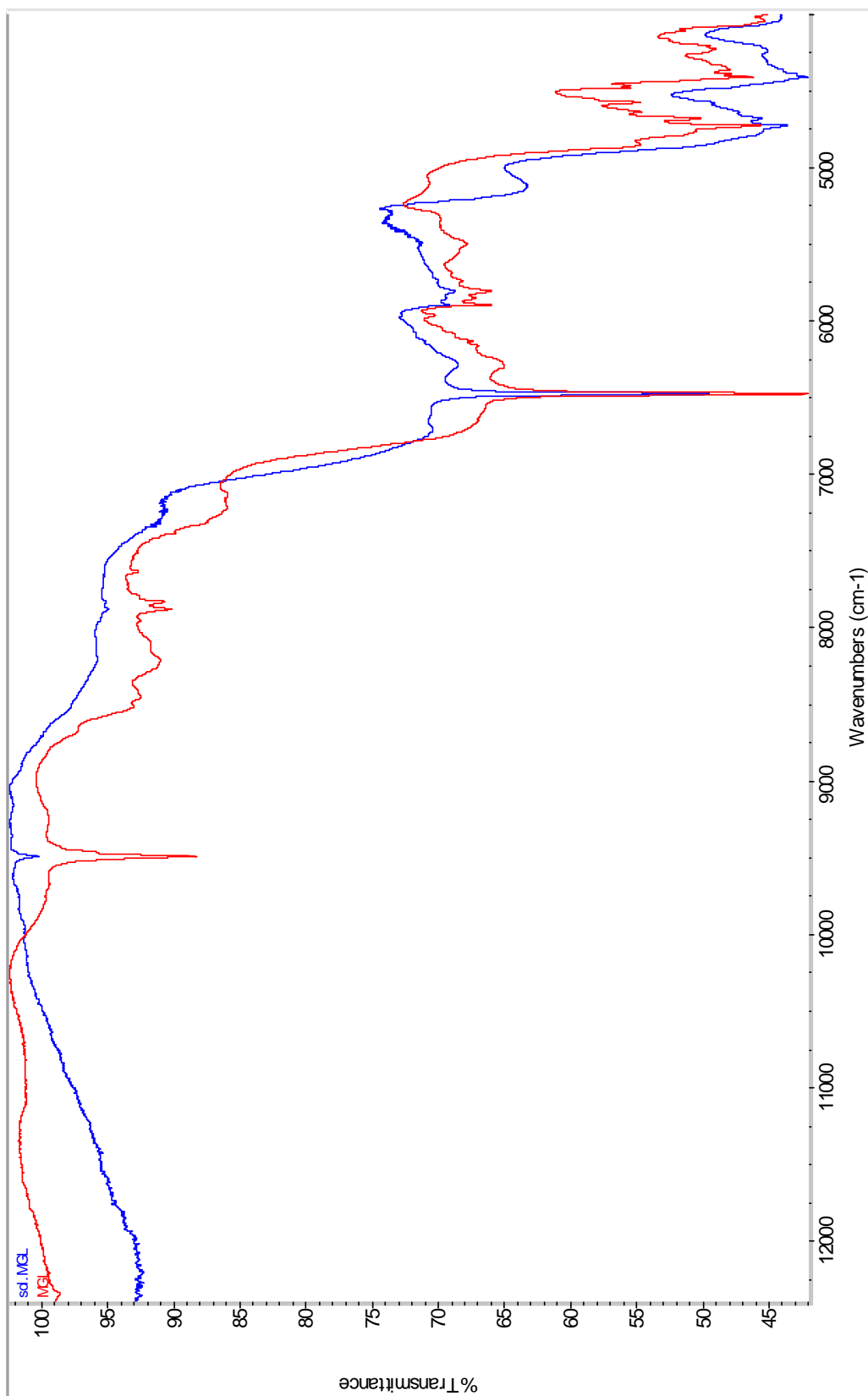


Obrázek 6.1.6. Spektra standardů API – 1020107 a API – 1020107 z roztoků.

U obrázku 6.1.6. si můžeme povšimnout spektra zvýrazněného tmavou barvou, které vykazuje vlastnosti jak krystalické, tak amorfní formy API.

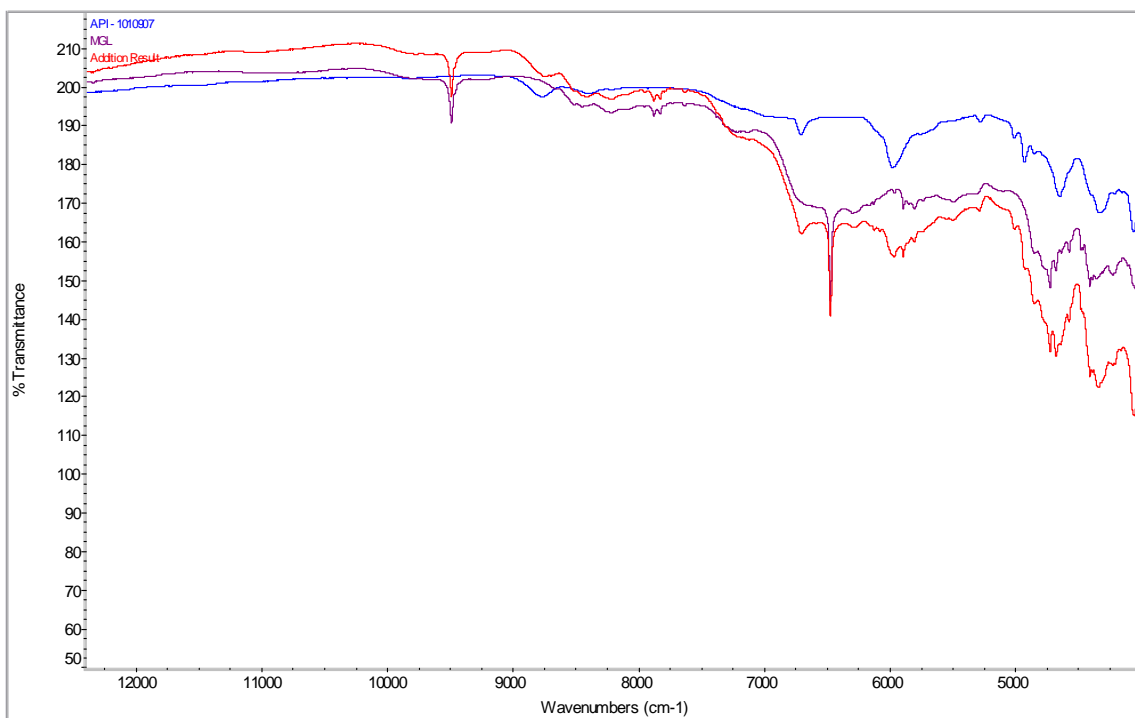
Dobře viditelný je tento fenomén v oblasti $7000\text{--}6000\text{ cm}^{-1}$, kde jsou viditelné dva ostré pásy, přičemž jeden svojí polohou odpovídá pásu amorfní formy, druhý však pásu formy krystalické.

6.2. *N*-methyl-D-glucaminum

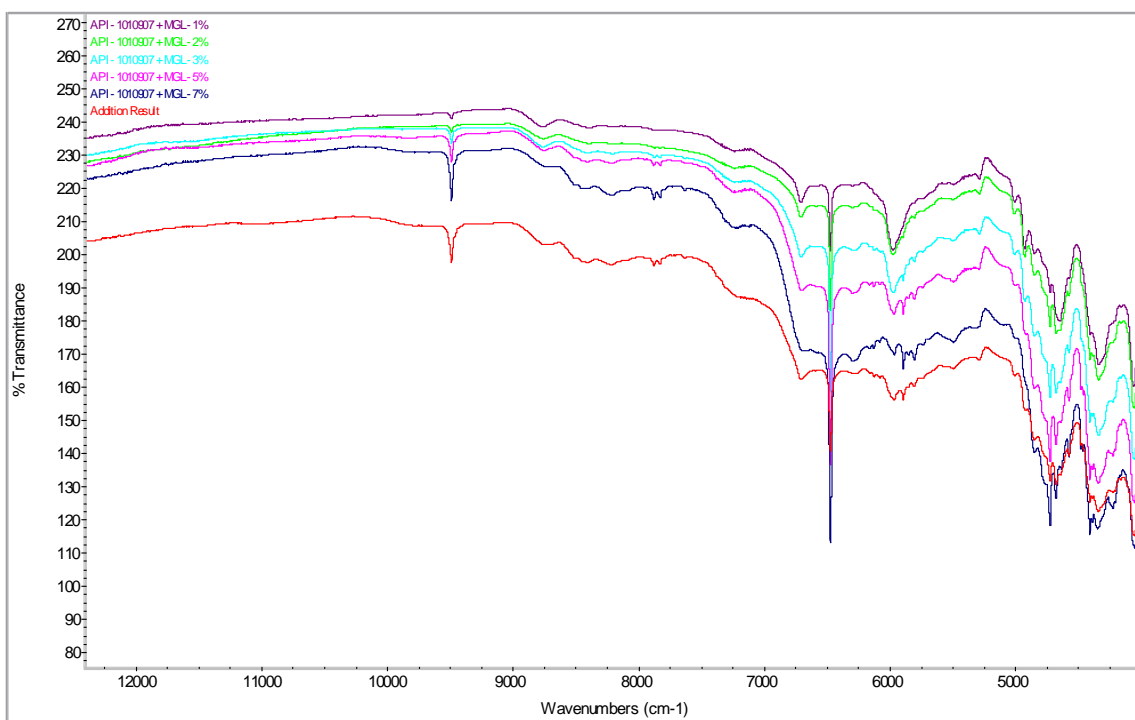


Obrázek 6.2.1.1. Spektra standardu MGL a MGL překrytá z roztoku – vykazují jasnou podobnost spekter. (full scale)

6.2.1. ŠARŽE API – 1010907



Obrázek 6.2.1.1. Spektra standardu MGL, API – 1010907 a jejich počítačový součet. (no scale)

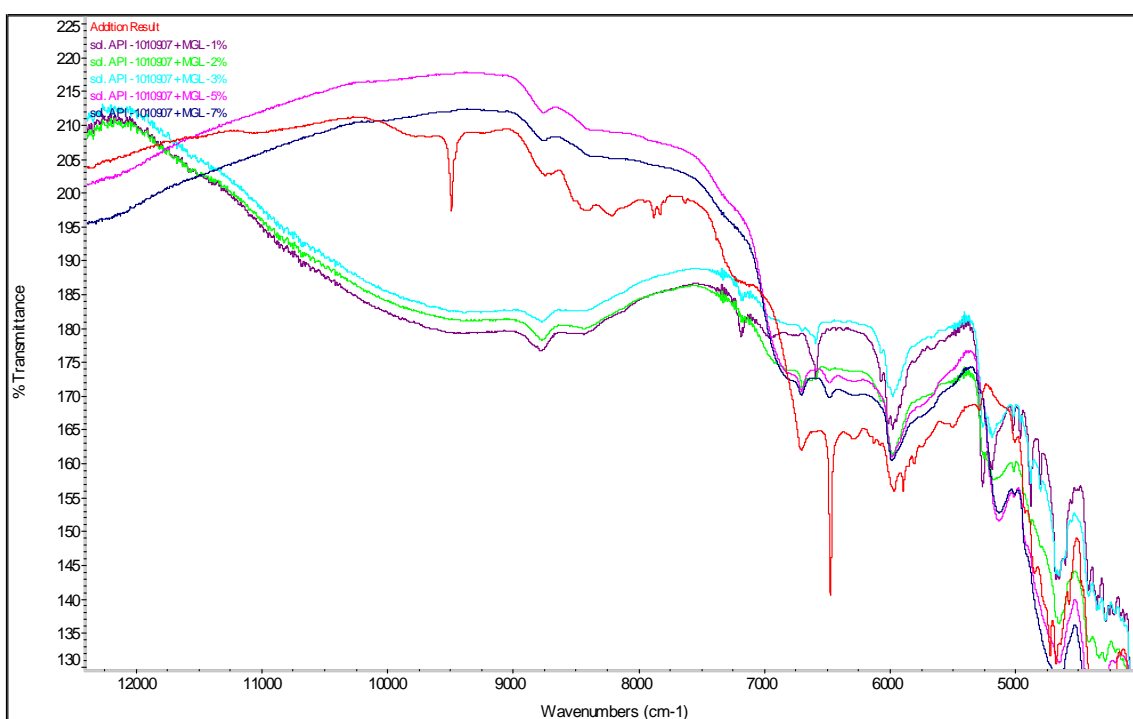


Obrázek 6.2.1.2. Spektra směsí MGL, API – 1010907 a počítačový součet MGL a API. (no scale)

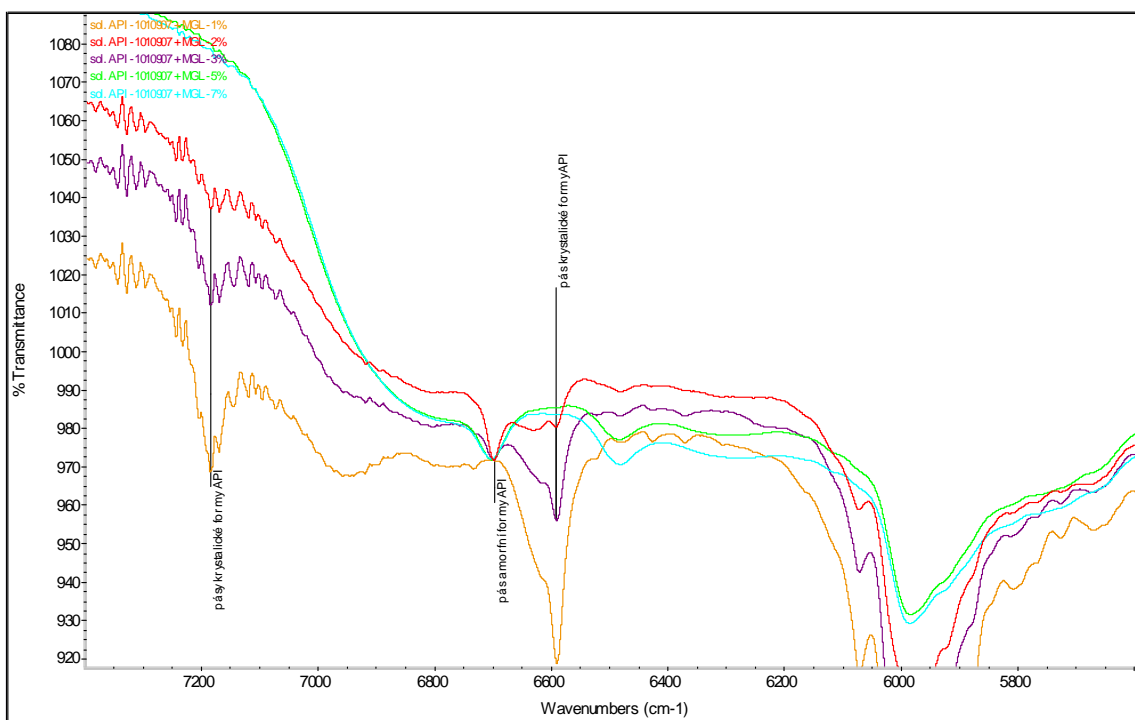
Na obrázku 6.2.1.2. je patrná podobnost spekter jednoduchých směsí, vzniklých pouhým smísením navážek API a MGL s počítačovým součtem funkcí API a MGL (červené spektrum).

Za povšimnutí stojí vzestupné zviditelnění pásů MGL okolo 9500 cm^{-1} a pásů okolo 7800 cm^{-1} . Naopak je také patrné postupné vymizení pásů API okolo 6700 cm^{-1} a okolo 6000 cm^{-1} . Tento efekt logicky vyplývá ze zvyšujícího se poměru MGL a API.

Pro názornost a zjednodušení bude v dalších spektrech použit součet funkcí API a MGL, kterému byla prokázána podobnost se spektry prostých směsí. U dalších excipientů – po prokázání podobnosti tomu bude stejně.

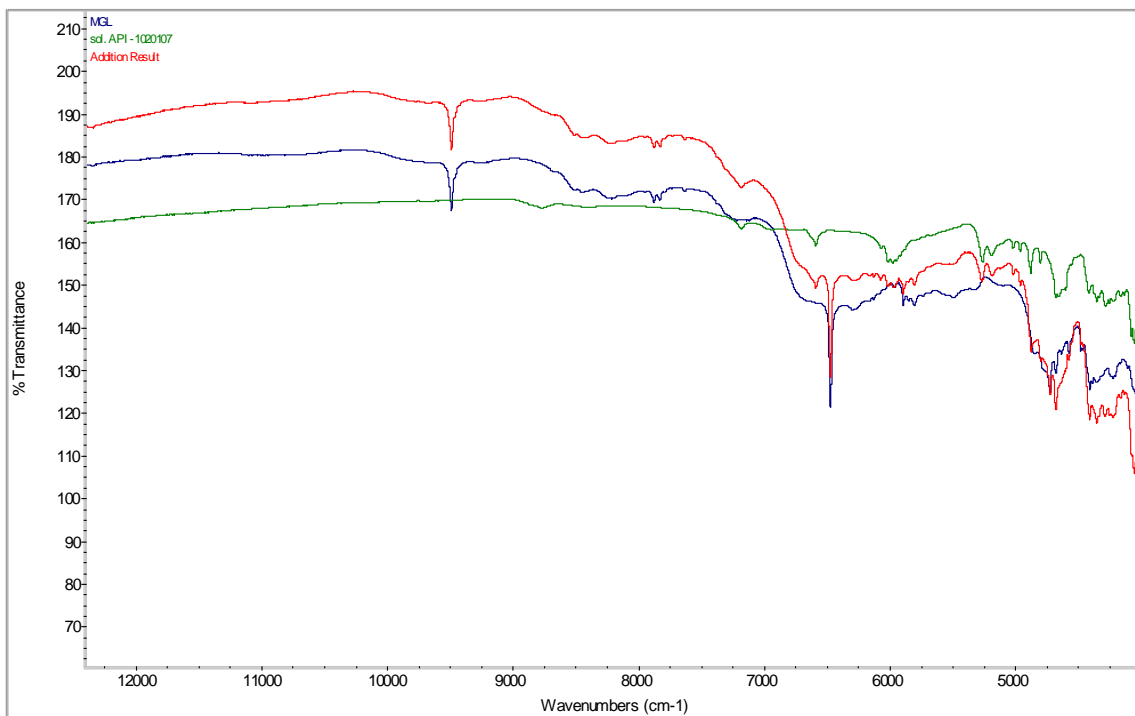


Obrázek 6.2.1.3. Spektra MGL a API – 1010907 z roztoků a počítačový součet MGL a API – zřetelně patrné změny. (no scale)

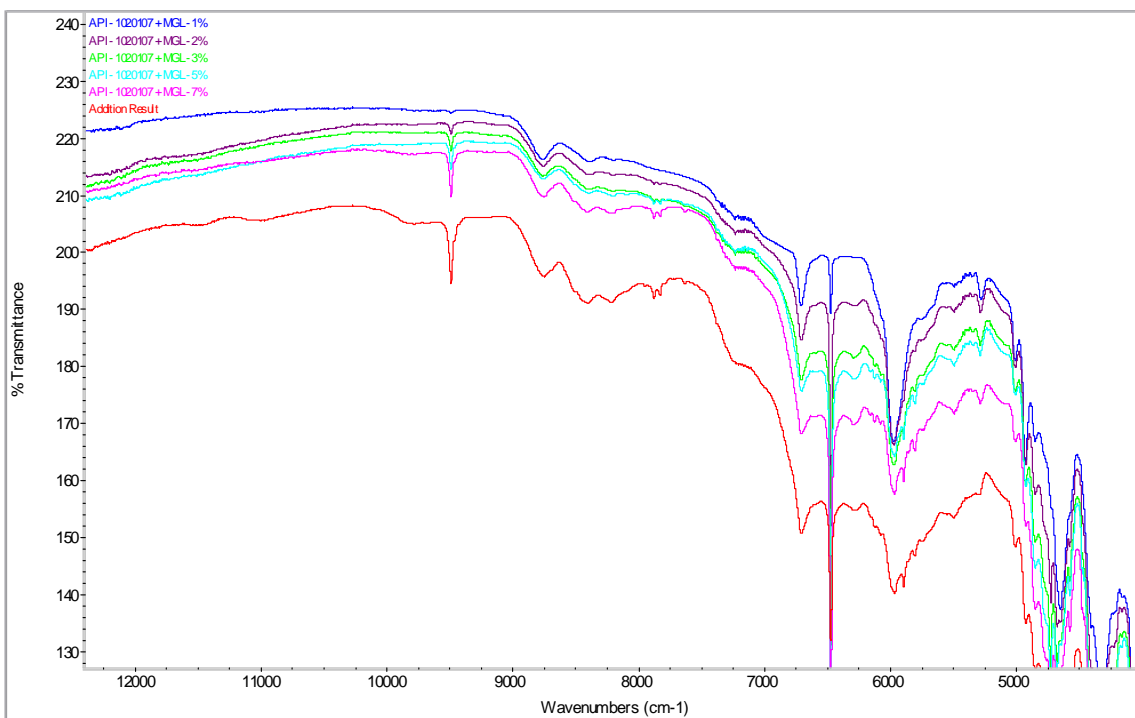


Obrázek 6.2.1.4. Výřez předchozího spektra – $7400-5600\text{ cm}^{-1}$ – patrné rozdíly mezi jednotlivými poměry. (no scale)

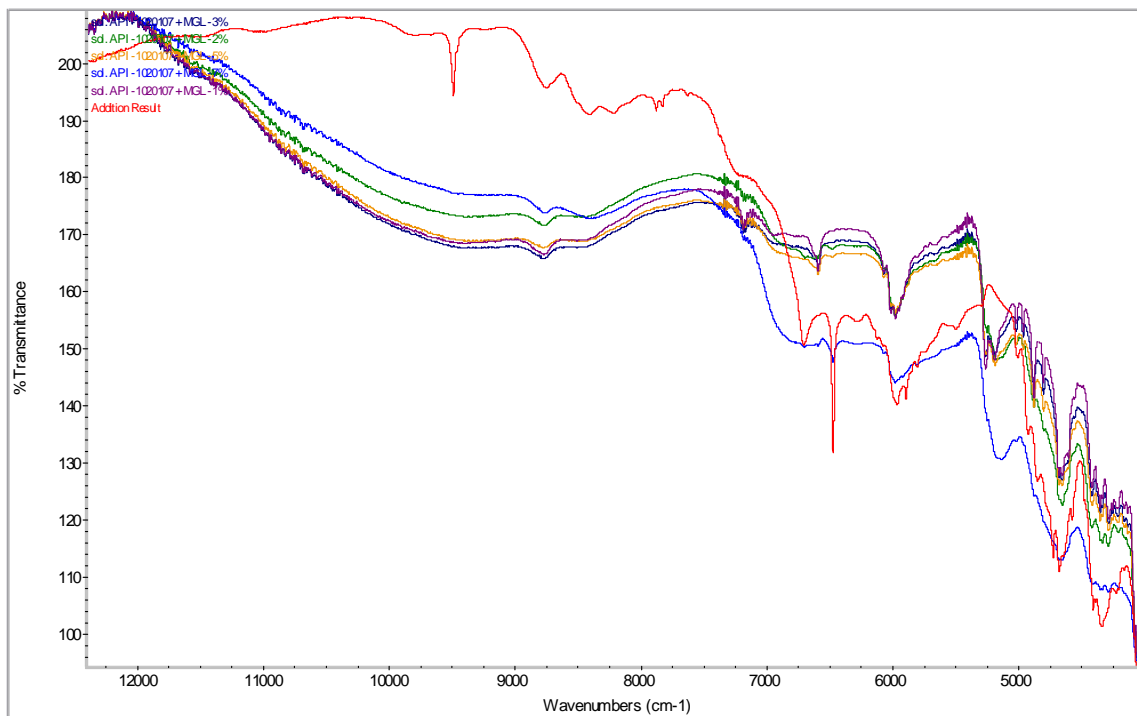
6.2.2. ŠARŽE API – 1020107



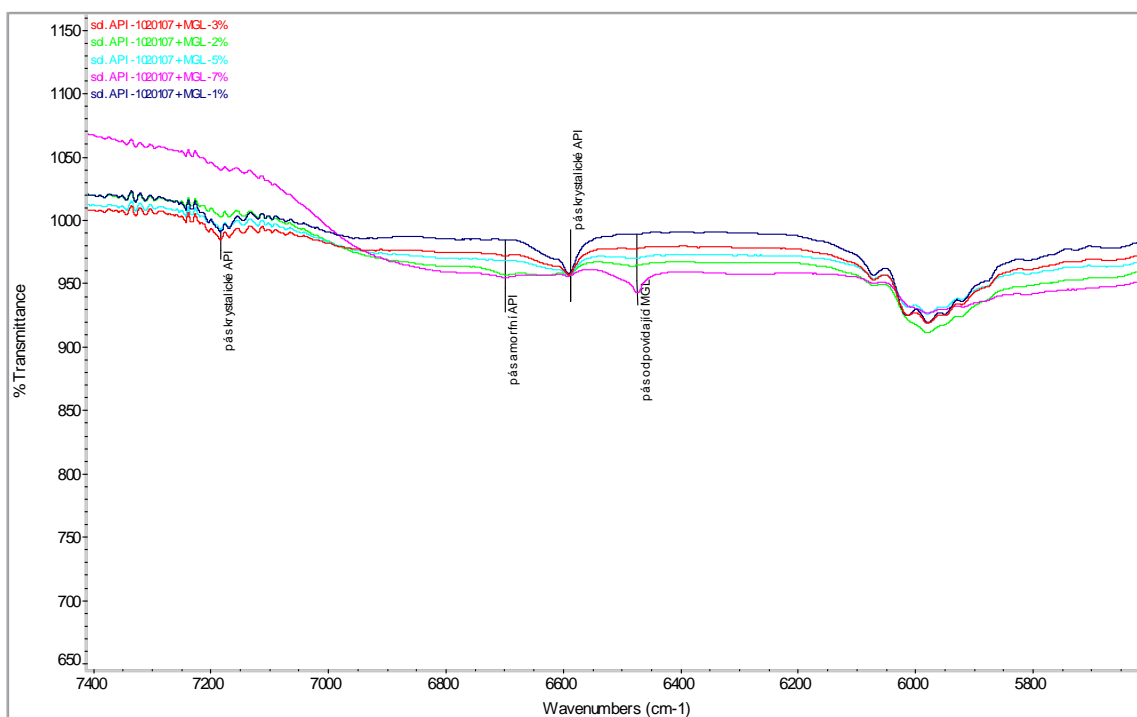
Obrázek 6.2.2.1. Spektra standardu MGL, API – 1020107 a jejich počítačový součet. (no scale)



Obrázek 6.2.2.2. Spektra směsí MGL, API – 1020107 a počítačový součet MGL a API – patrná podobnost addition resultu. (no scale)

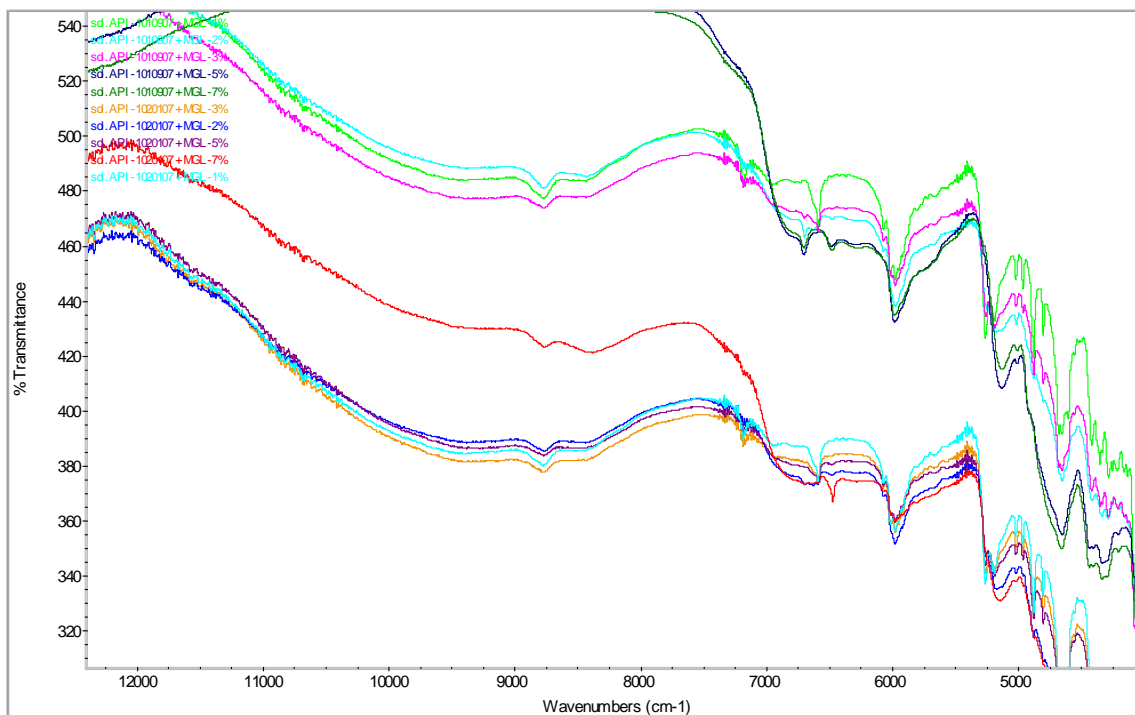


Obrázek 6.2.2.3. Spektra MGL a API – 1020107 z roztoků a počítačový součet MGL a API – jasné interakce jako u API - 1010907. (no scale)

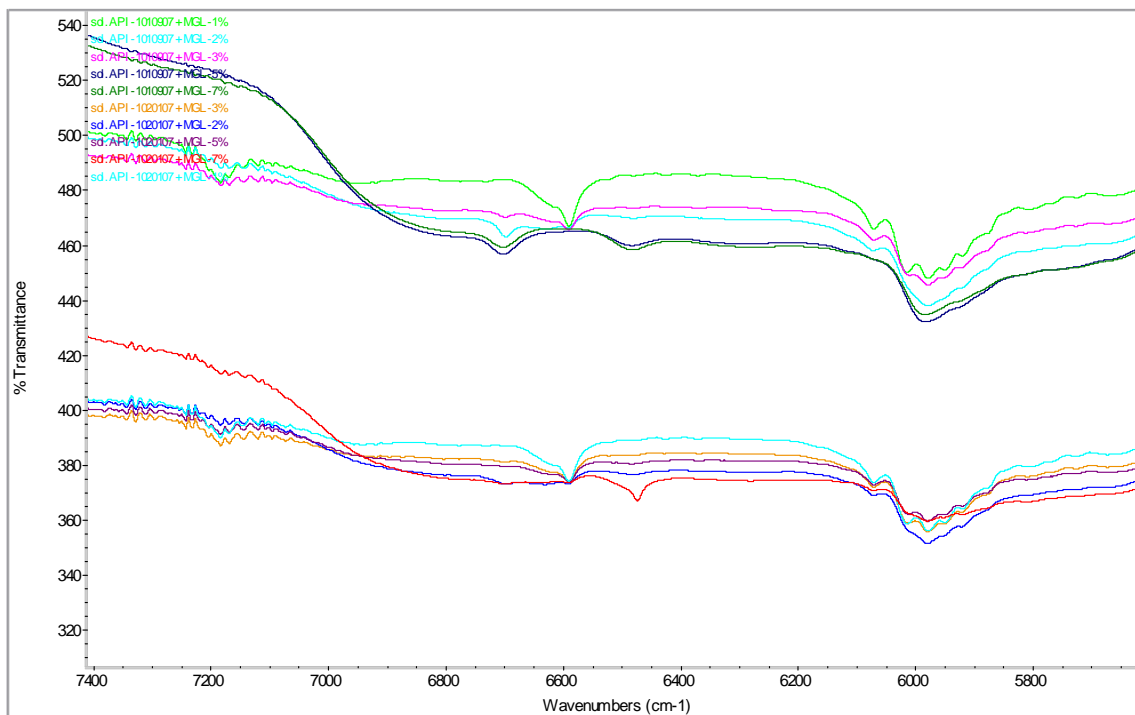


Obrázek 6.2.2.4. Výřez předchozího spektra – 7400-5600 cm^{-1} – opět viditelné změny různé dle poměru ve směsi. (no scale)

6.2.3. POROVNÁNÍ ŠARŽÍ API – 1010907 A API – 1020107

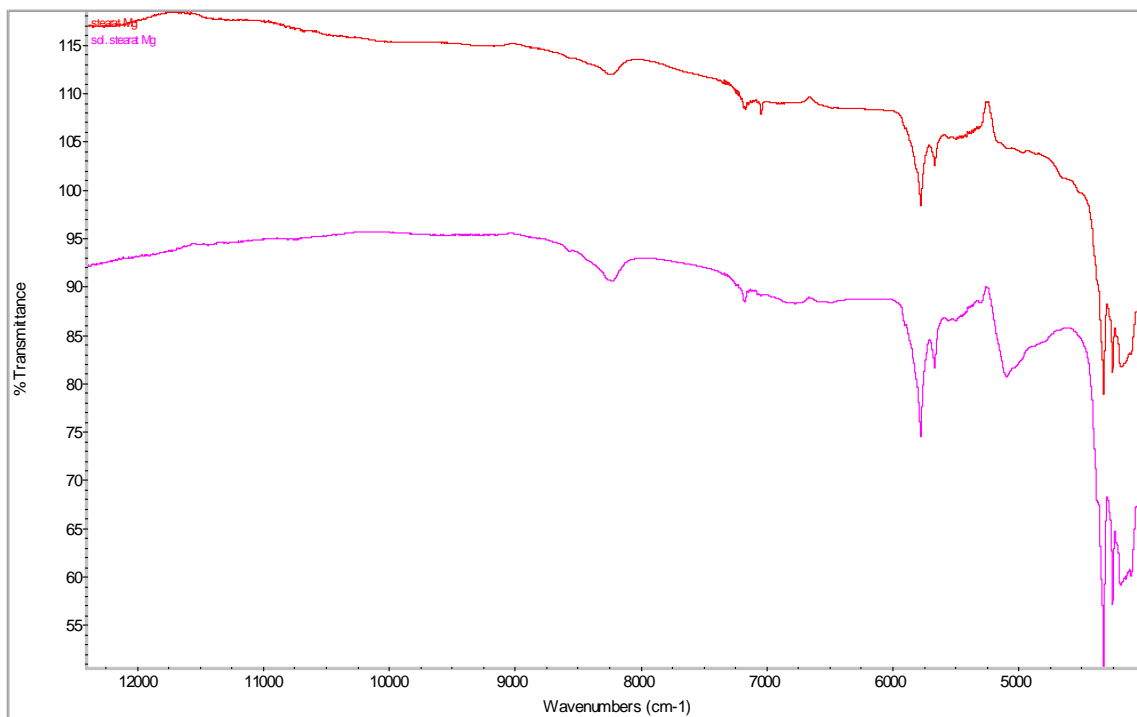


Obrázek 6.2.3.1. Porovnání API – 1010907 a API 1020107. (no scale)



Obrázek 6.2.3.2. Výřez předchozího spektra – 7400-5600 cm⁻¹. (no scale)

6.3. Magnesii stearas

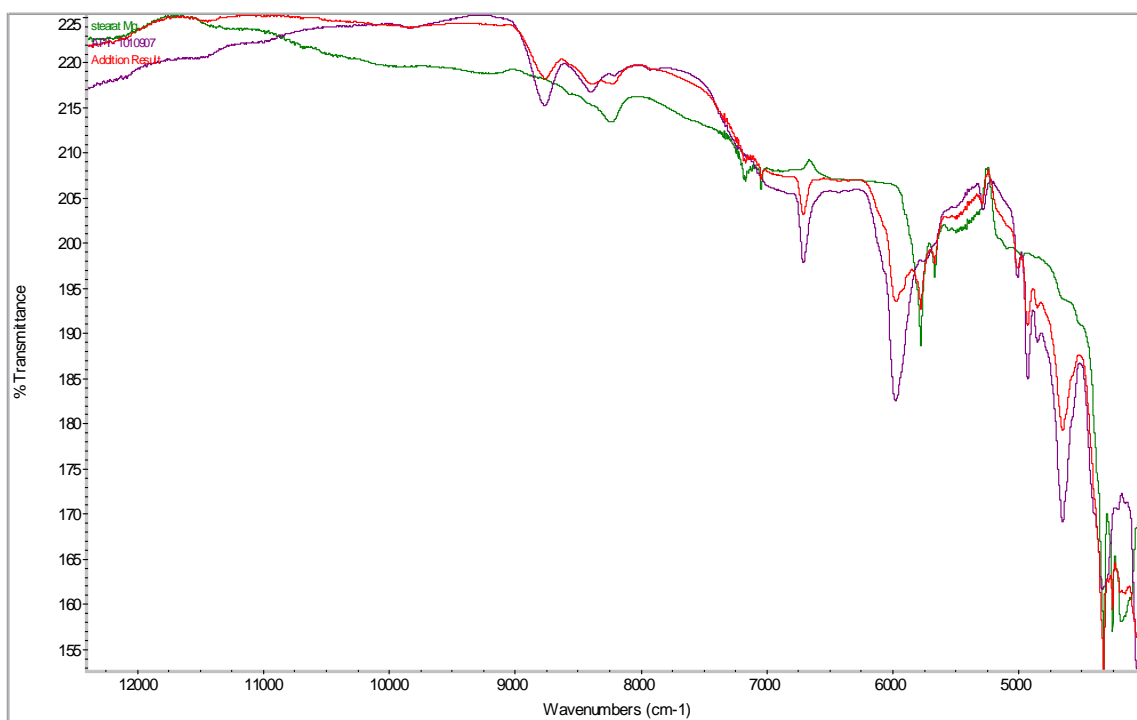


Obrázek 6.3.1. Spektra MgST a MgST z roztoku.

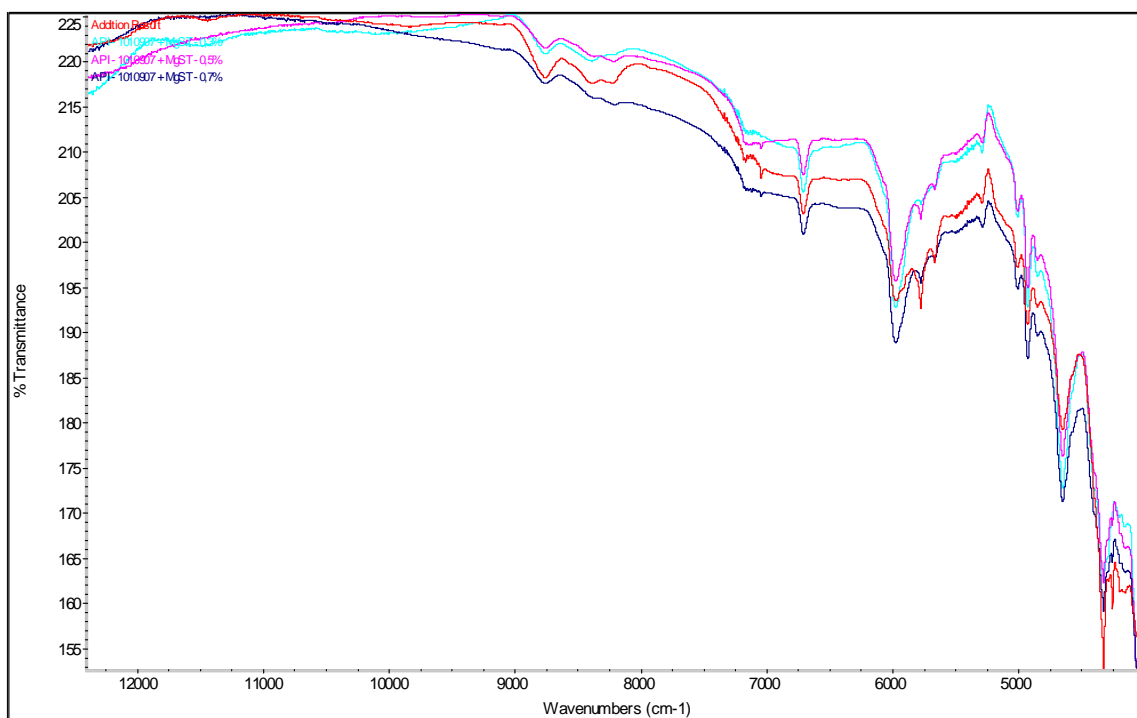
Obrázek 6.3.1. ukazuje téměř nezměněná spektra magnesií stearas a magnesií staeras po rozpuštění v roztoku.

Za pozornost ovšem stojí téměř totální vymizení pásu okolo 7050 cm^{-1} ve spektru stearátu z roztoku. Proto může být tento pás zanedbán v dalších porovnáních spekter počítačového součtu a krystalů API a MgST z roztoků.

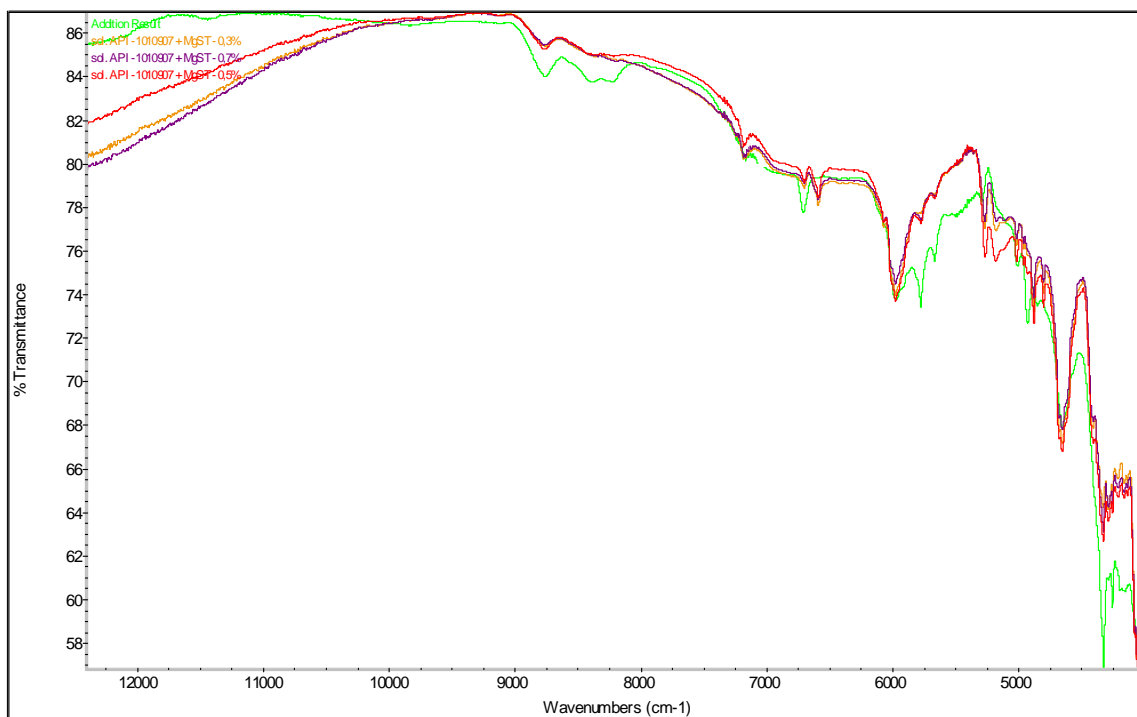
6.3.1. ŠARŽE API – 1010907



Obrázek 6.3.1.1. Spektra standardu MgST a API – 1010907 a jejich počítačový součet. (full scale)



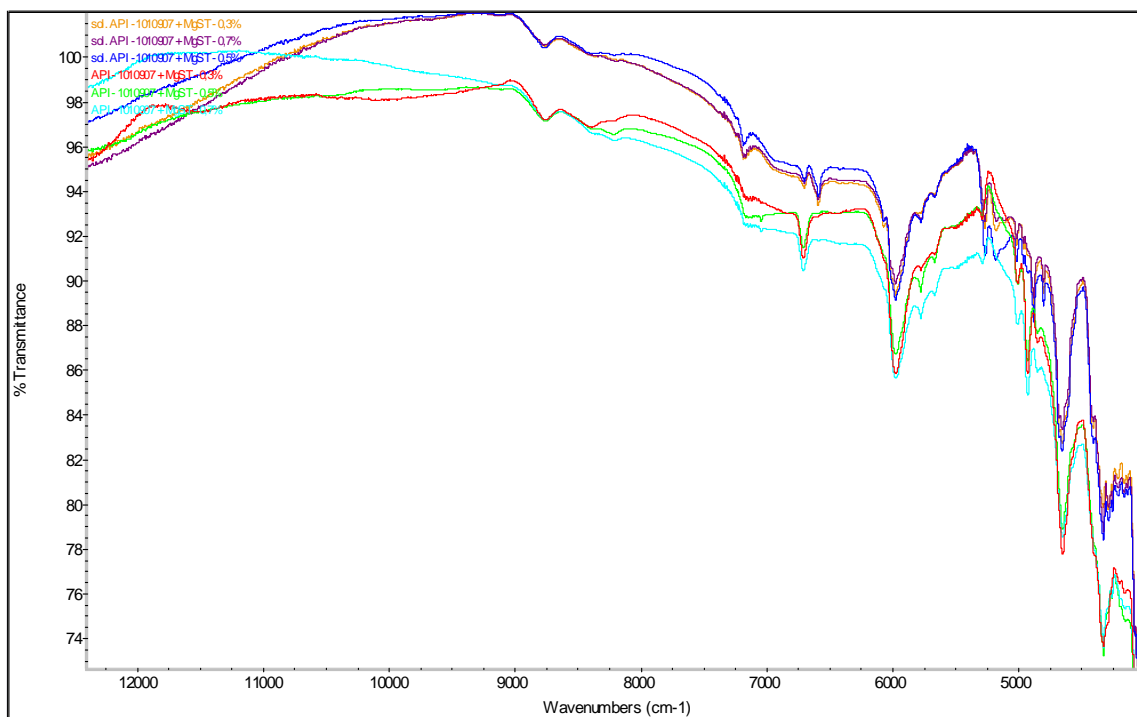
Obrázek 6.3.1.2. Počítačový součet a spektra prostých směsí API a MgST – podobnost jasně patrná. (full scale)



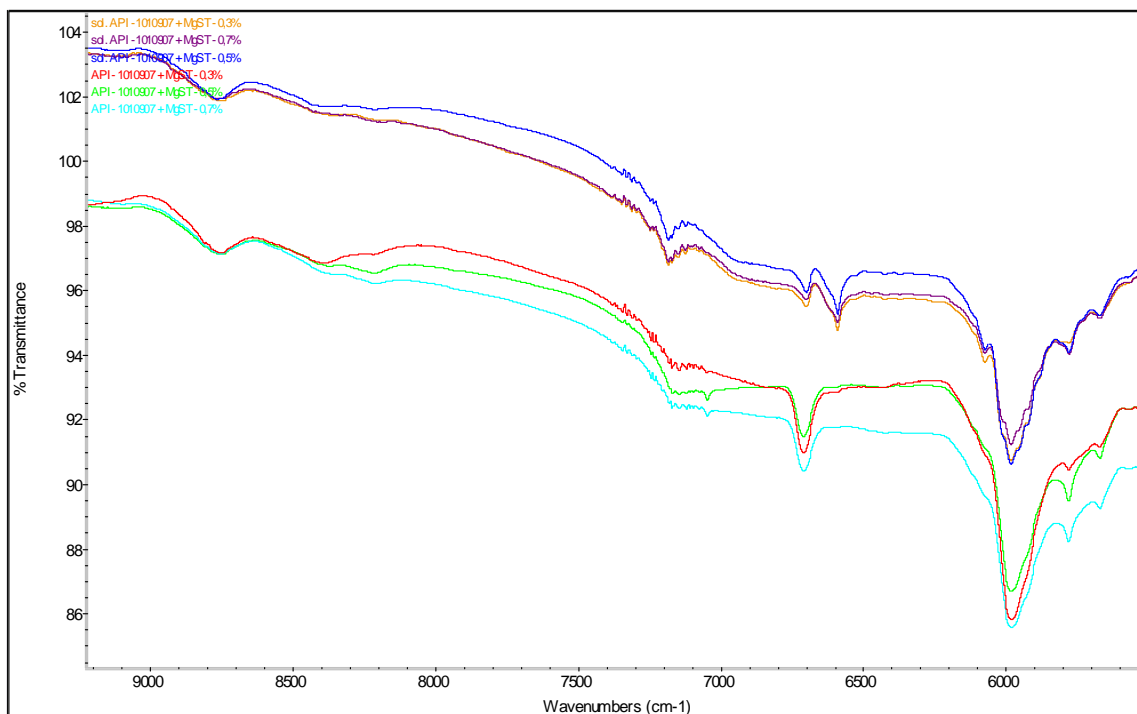
Obrázek 6.3.1.3. Spektrum počítačového součtu a krystalů API a MgST z roztoků. (full scale)

Obrázek 6.3.1.3. zobrazuje porovnání spekter „addition result“ a krystalů API – 1010907 a MgST z roztoků. Již zde je patrná jistá podobnost, která je ještě lépe viditelná na obrázcích níže.

Pás 7050 cm^{-1} ve spektru „addition result“ byl smazán (blank).

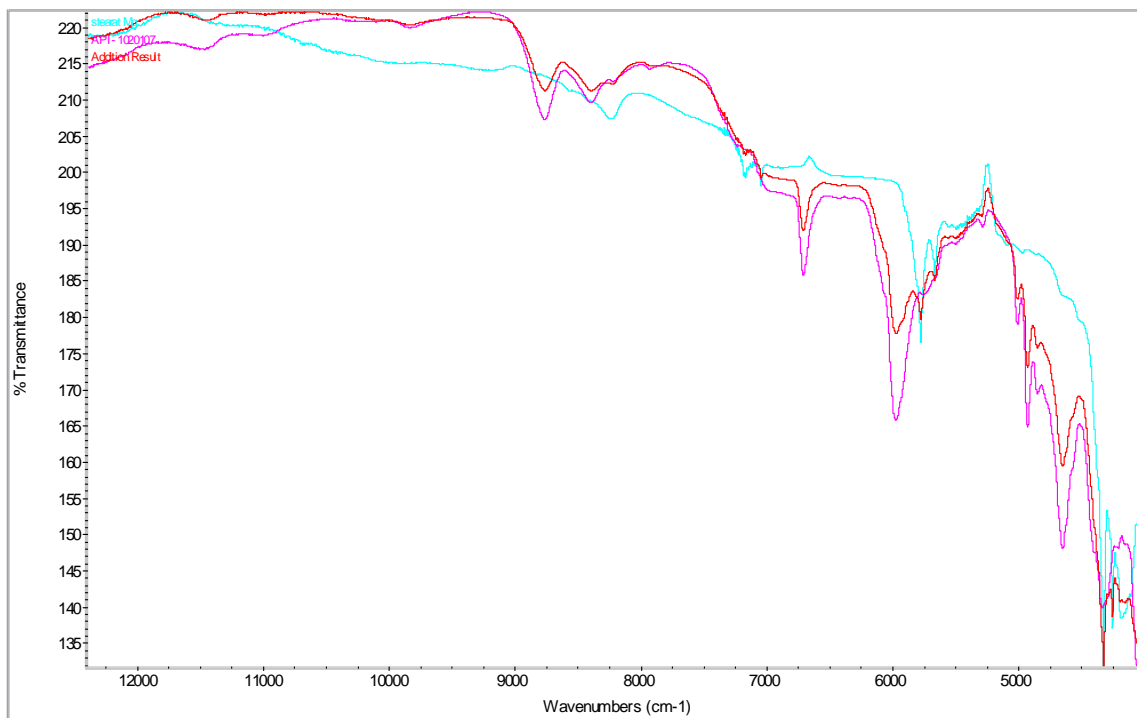


Obrázek 6.3.1.4. Porovnání prostých směsí API – 1010907 a MgST a jejich krystalů z roztoků – viditelná změna polymorfie. (no scale)

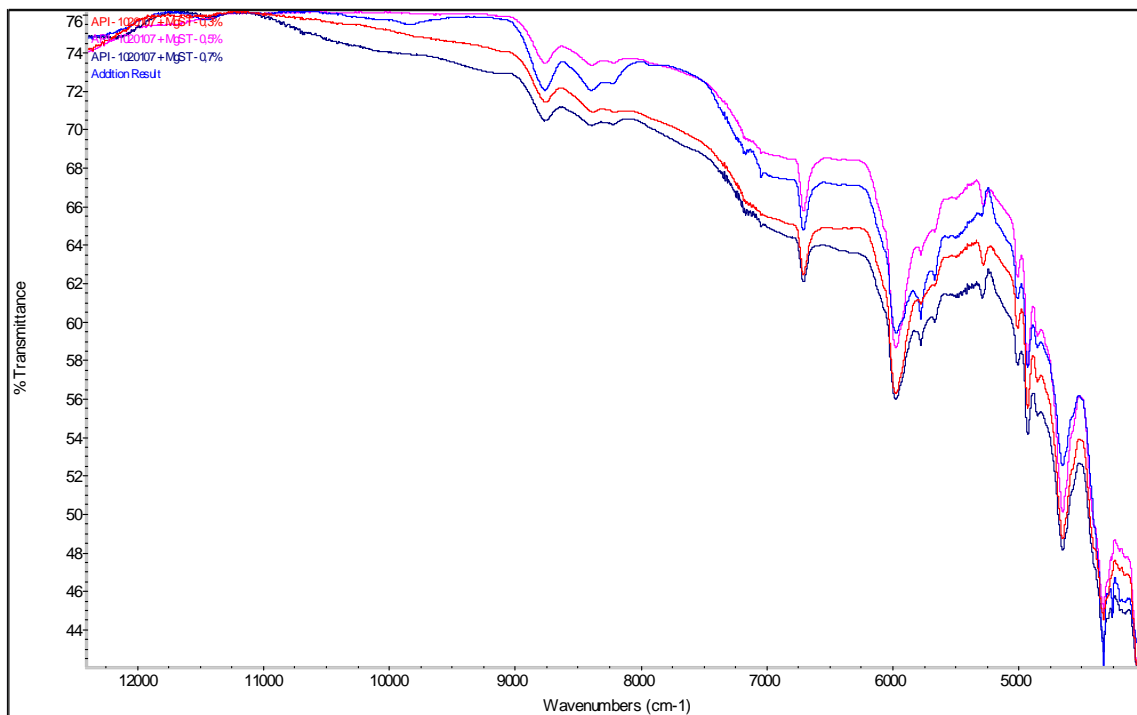


Obrázek 6.3.1.5. Výřez minulého spektra. (no scale)

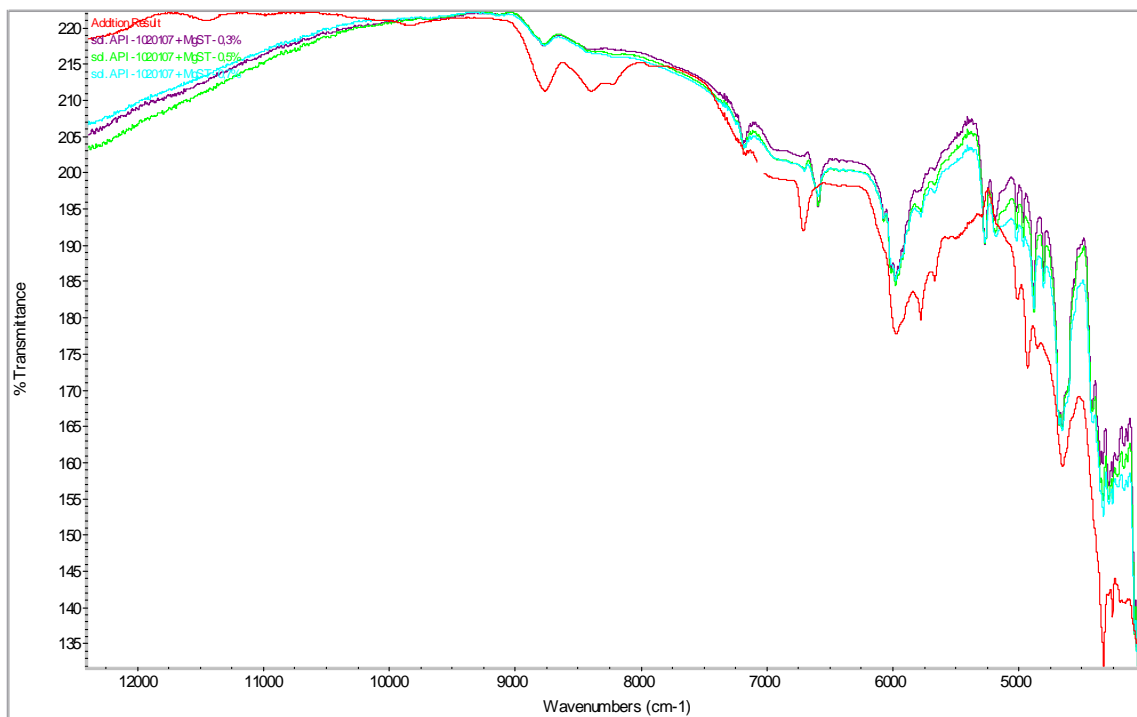
6.3.2. ŠARŽE API – 1020107



Obrázek 6.3.2.1. Spektra standardu MgST a API – 1020107 a jejich počítačový součet. (full scale)



Obrázek 6.3.2.2. Počítačový součet a spektra prostých směsí API a MgST. (full scale)

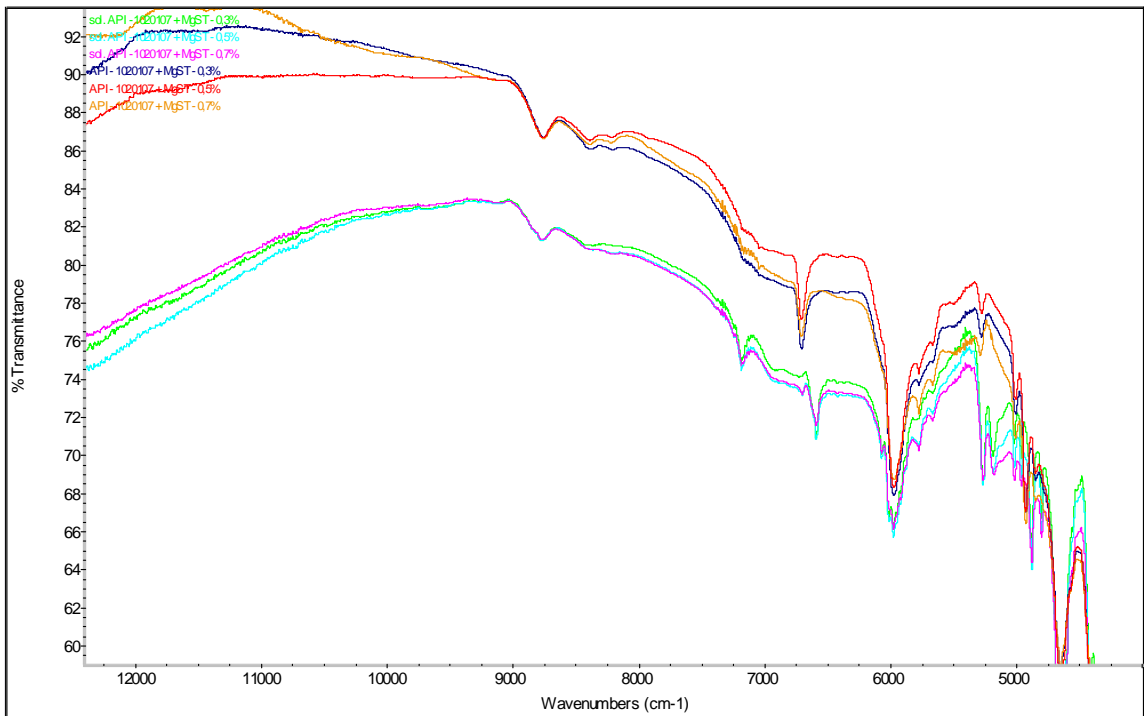


Obrázek 6.3.2.3. Spektrum počítačového součtu a krystalů API a MgST z roztoků. (full scale)

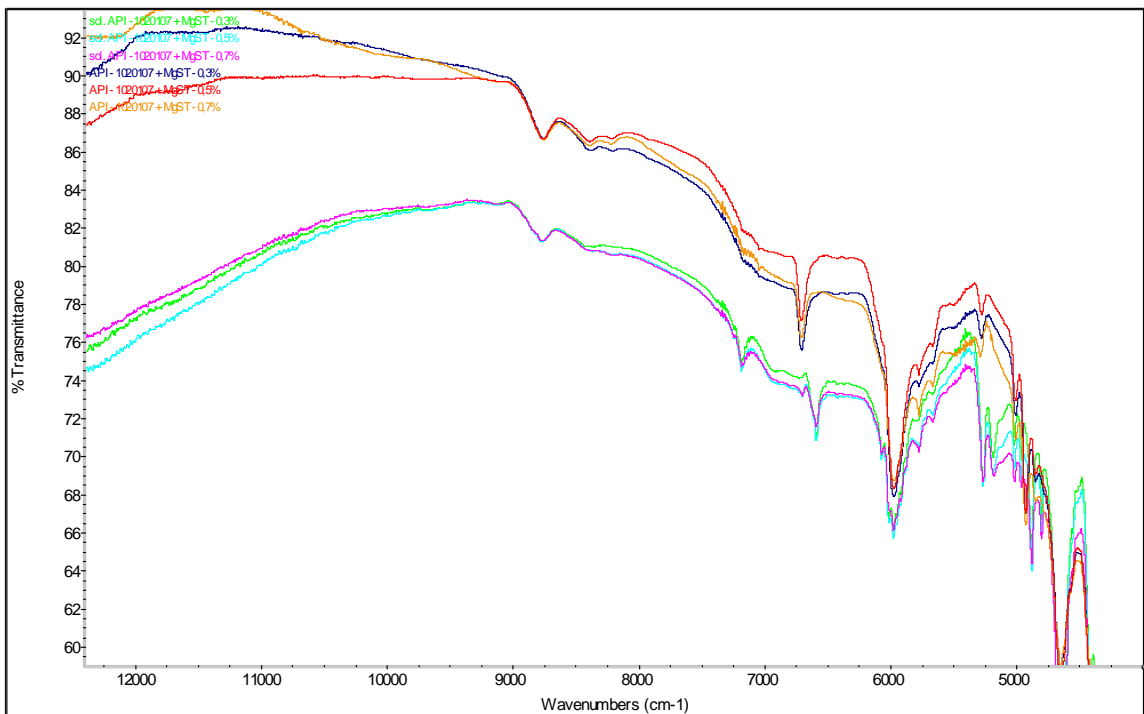
Zde je opět, tak jako na obdobném porovnání u API – 1010907, patrna podobnost se spektrem addition result.

Oproti druhé šarži se zde ukazuje zajímavý fakt, že u API – 1020107 v 0,3% poměru obsahuje vzorek téměř výhradně jen krystalickou formu API, ostatní dva poměry obsahují jejich směs.

Na pás 7050 cm^{-1} patřící stearátu byla opět použita funkce blank.

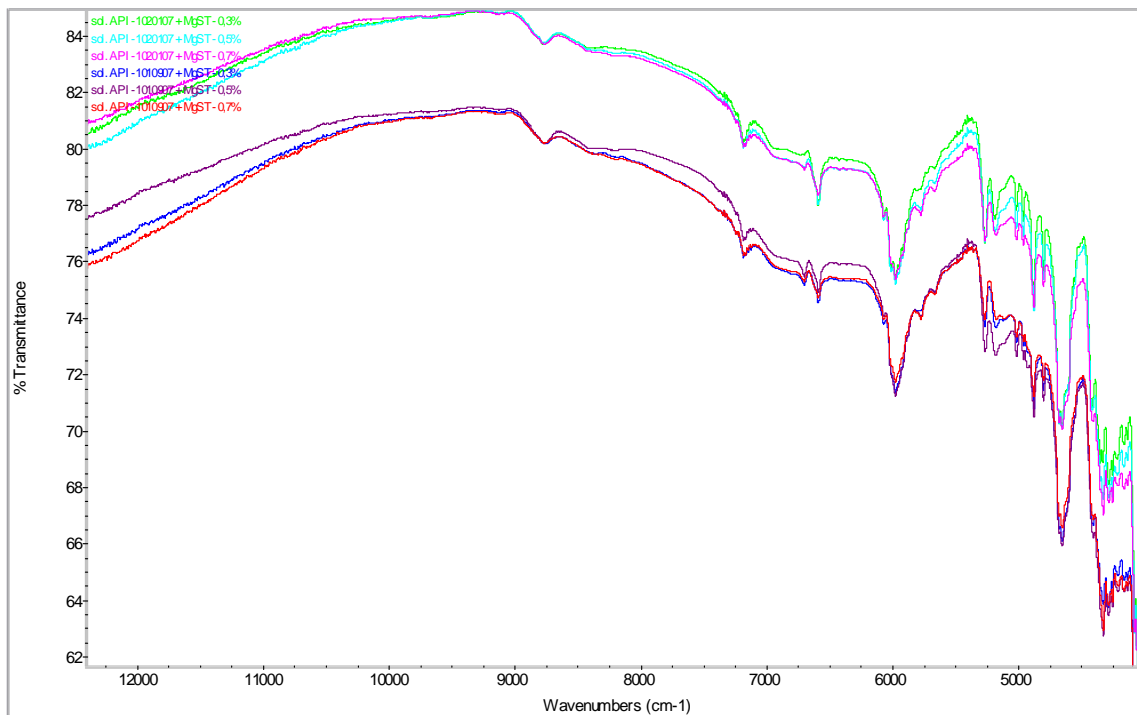


Obrázek 6.3.2.4. Porovnání prostých směsí API – 1010907 a MgST a jejich krystalů z roztoků – dobře patrná změna polymorfů. (no scale)

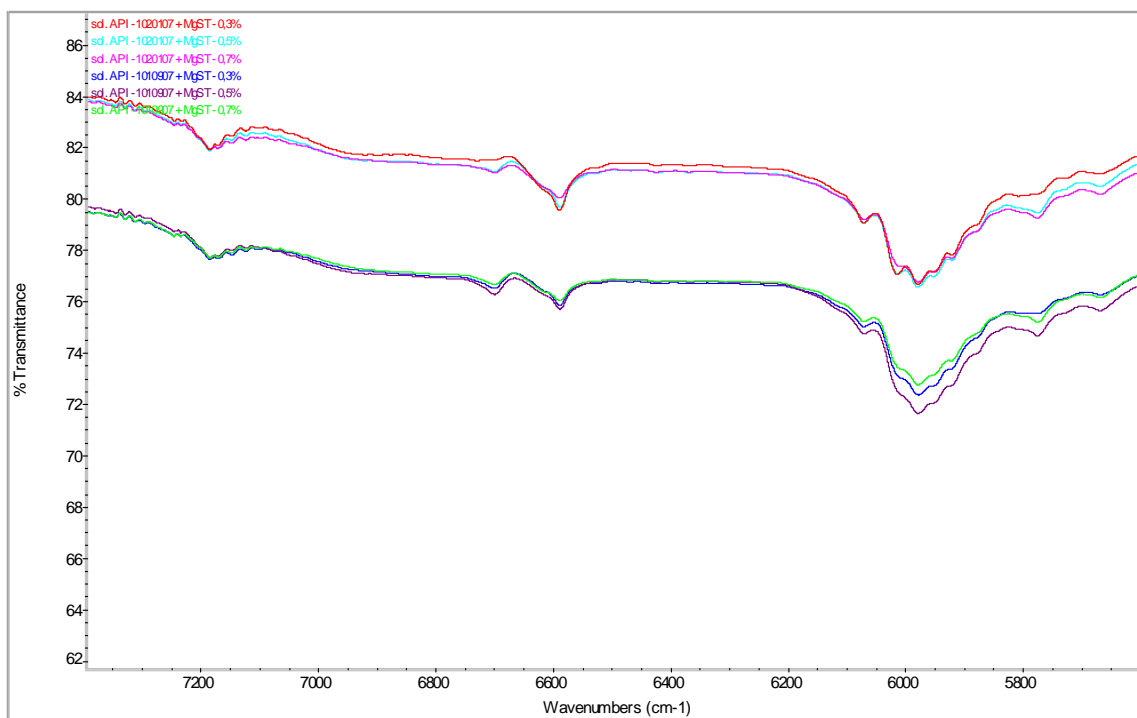


Obrázek 6.3.2.5. Výřez minulého spektra. (no scale)

6.3.3. POROVNÁNÍ ŠARŽÍ API – 1010907 A API – 1020107

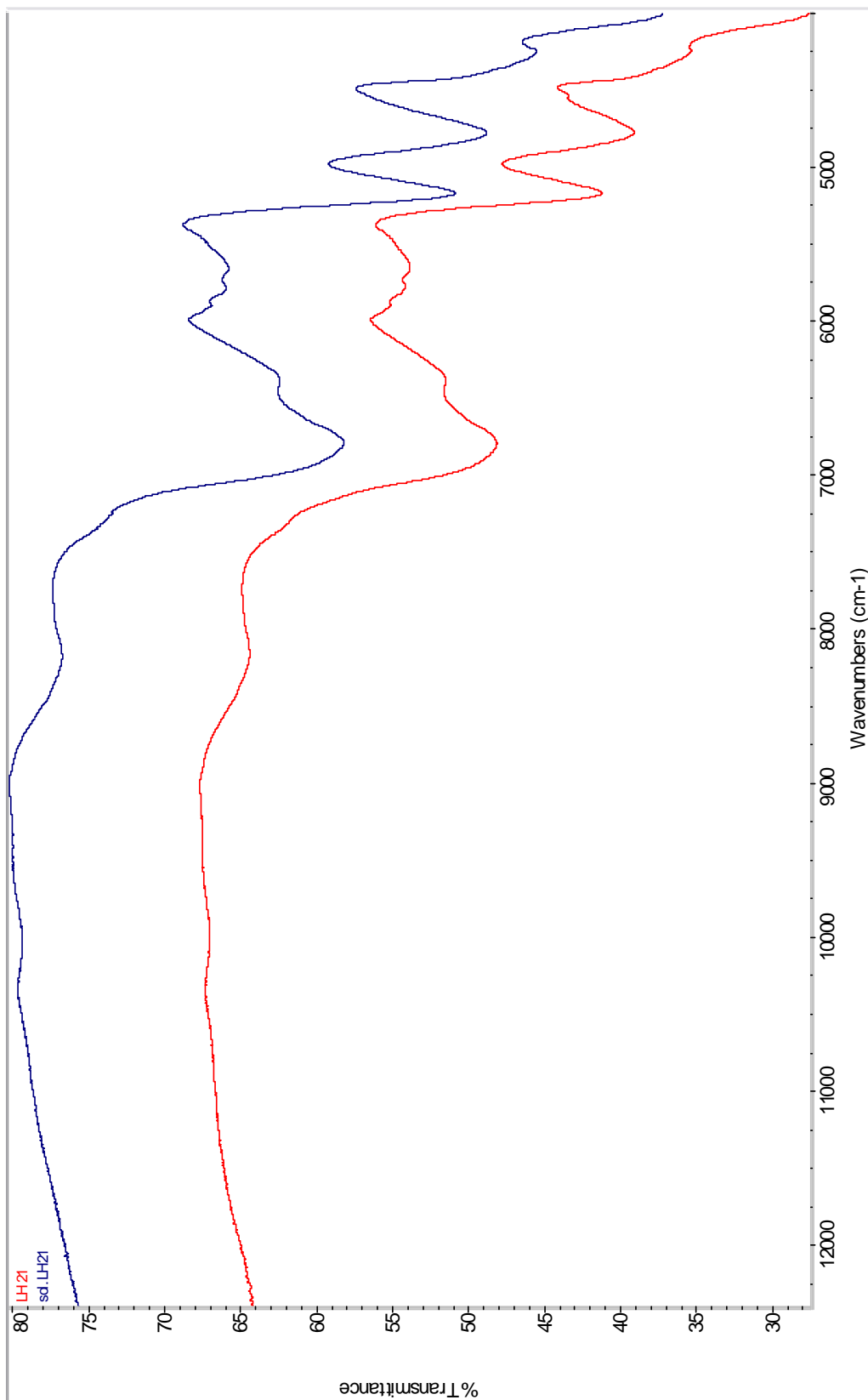


Obrázek 6.3.3.1. Porovnání API – 1010907 a API 1020107. (no scale)



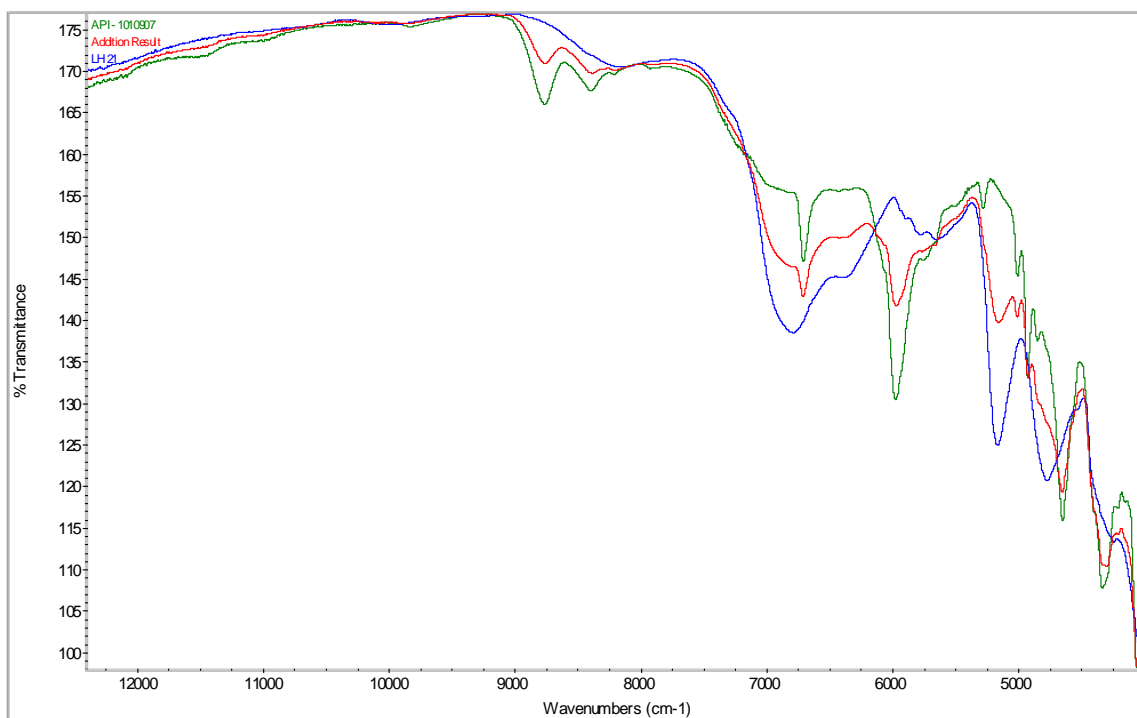
Obrázek 6.3.3.2. Výřez předchozího spektra – 7400-5600 cm^{-1} . (no scale)

6.4. Hydroxypropylcellulosum LH 21



Obrázek 6.4.1. Spektra LH 21 a LH 21 z roztoku – nezměněno.

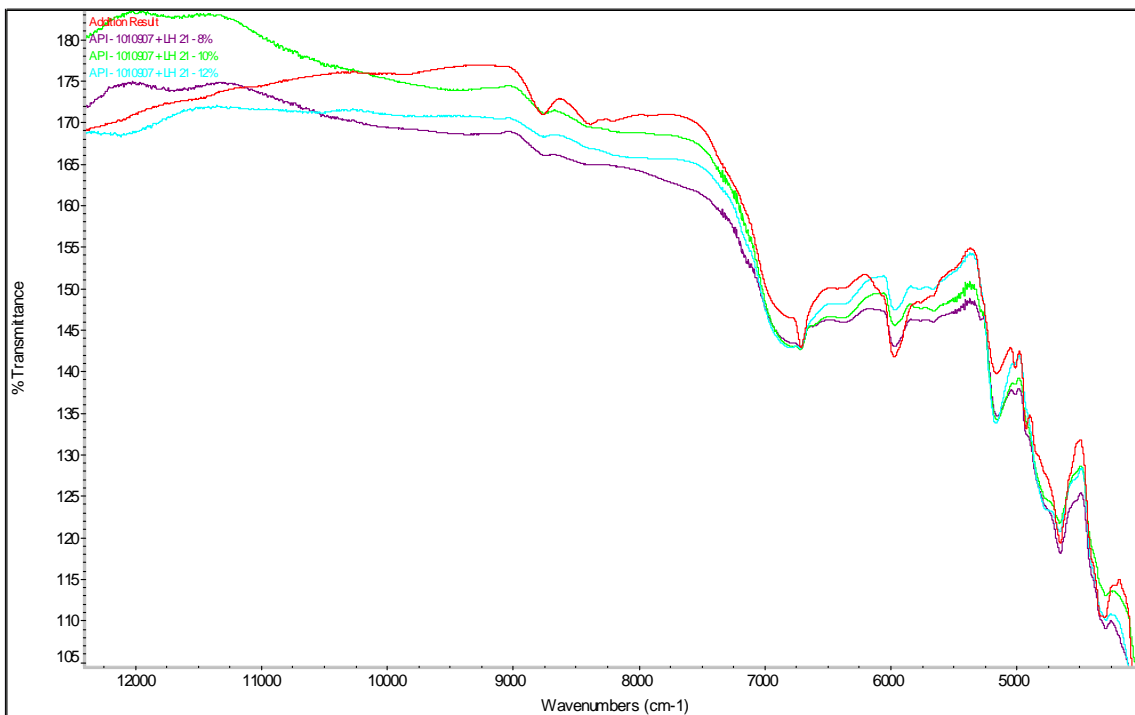
6.4.1. ŠARŽE API – 1010907



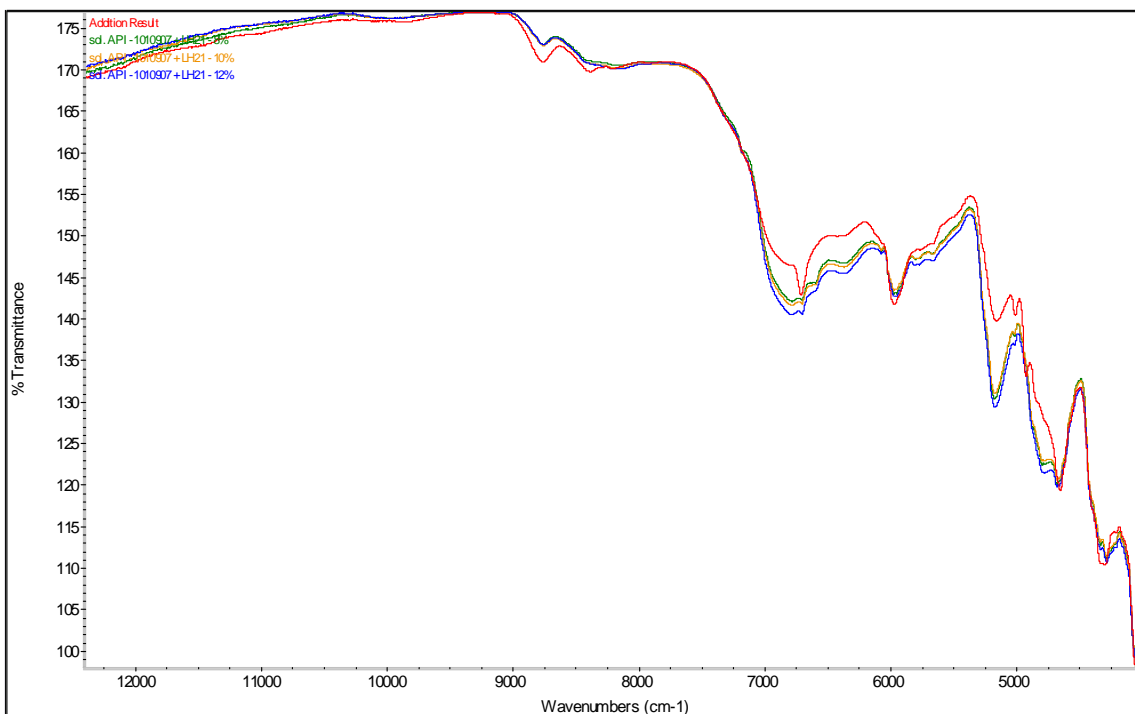
Obrazek 6.4.1.1. Spektra standardu LH 21 a API – 1010907 a jejich počítačový součet. (full scale)

V tomto případě je potřeba opatrnosti, jelikož hlavní pásy API deformují pásy LH 21 (okolo 6800 cm⁻¹).

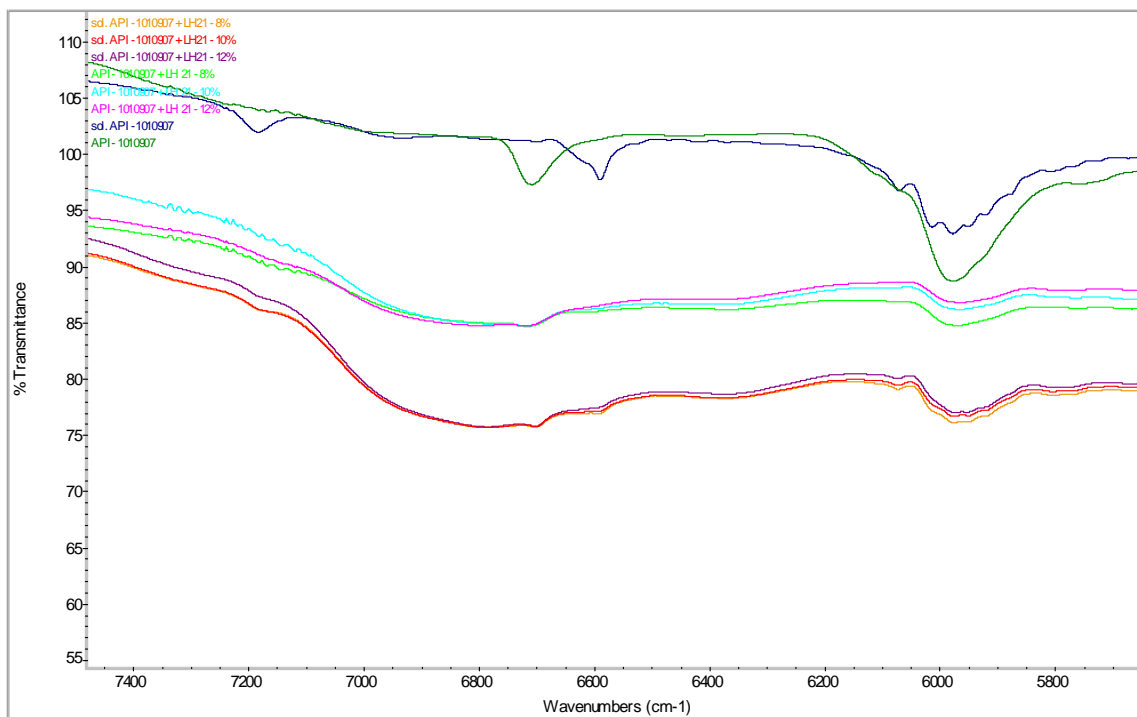
Musí se tudíž zvolit jiný pás, který není žádným (nebo aspoň přípustným) způsobem pozměněn pásy excipientu.



Obrázek 6.4.1.2. Počítačový součet a spektra prostých směsí API a LH 21 – jasně patrná podobnost. (no scale)



Obrázek 6.4.1.3. Spektrum počítačového součtu a krystalů API a LH 21 z roztoků – opět patrné rozdíly v polymorfii. (full scale)



Obrázek 6.4.1.4. Výřez porovnání směsí API a LH 21, krystalů z roztoků a 2 polymorfů API. (no scale)

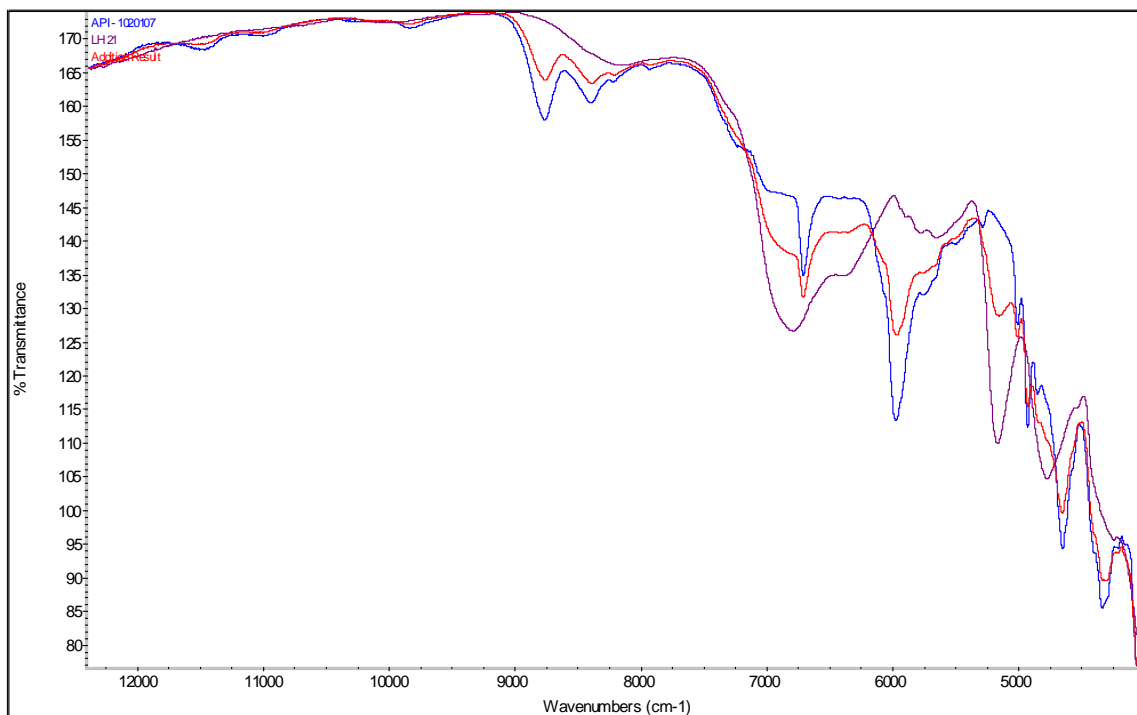
Obrázek 6.4.1.4. ukazuje rozdíly spekter směsí a krystalů z roztoků.

Zde se musí zvolit pás, který není žádným (nebo aspoň přípustným) způsobem pozměněn pásy excipientu.

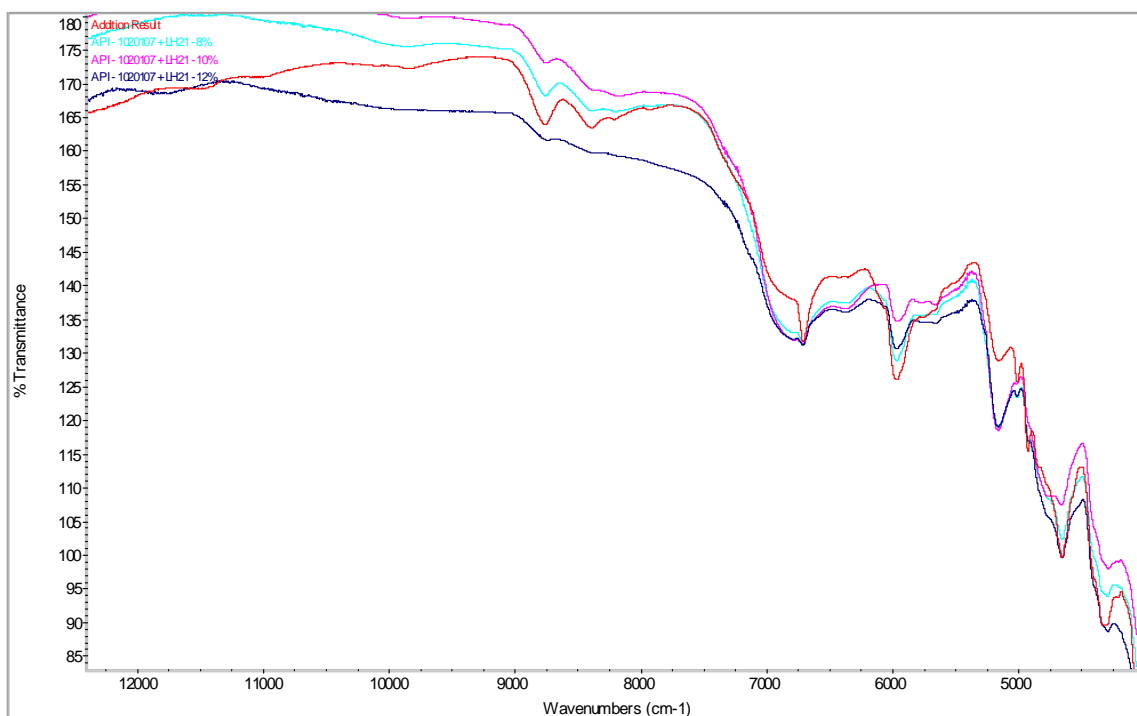
První dvě spektra jsou dva různé polymorfy API – 1010907.

Prostřední série křivek vykazuje pouze známky amorfní polymorfické struktury API, na rozdíl od spodní trojice, která poskytuje jasné známky jak amorfní struktury, tak i struktury krystalické.

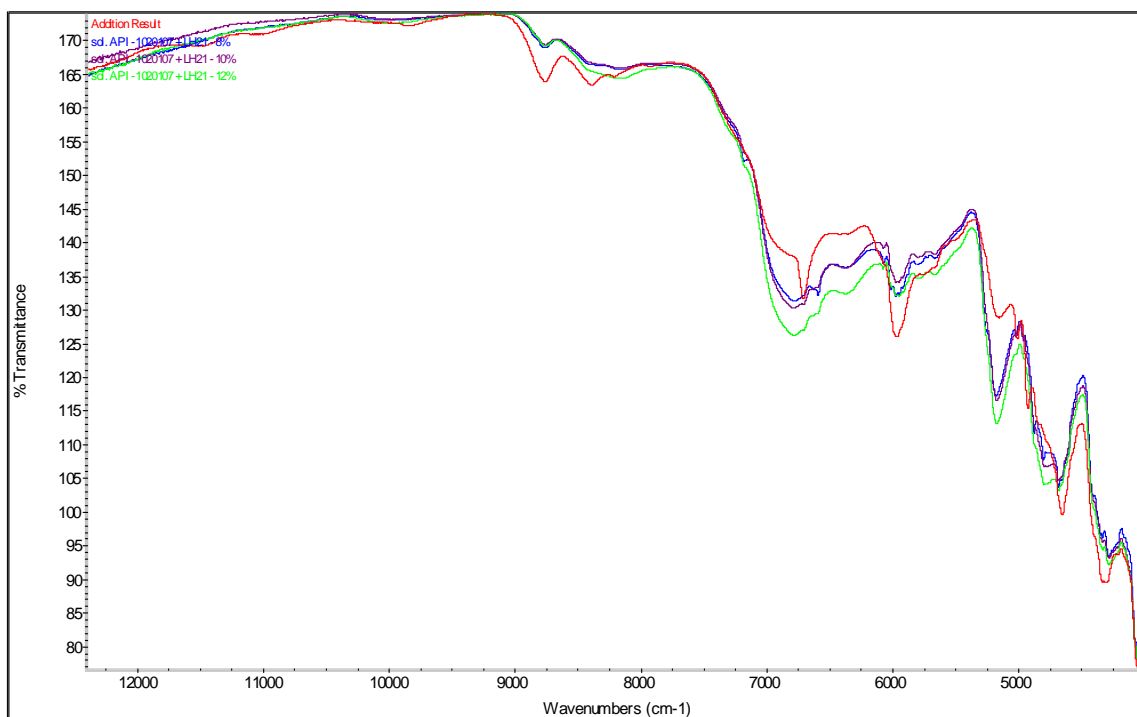
6.4.2. ŠARŽE API – 1020107



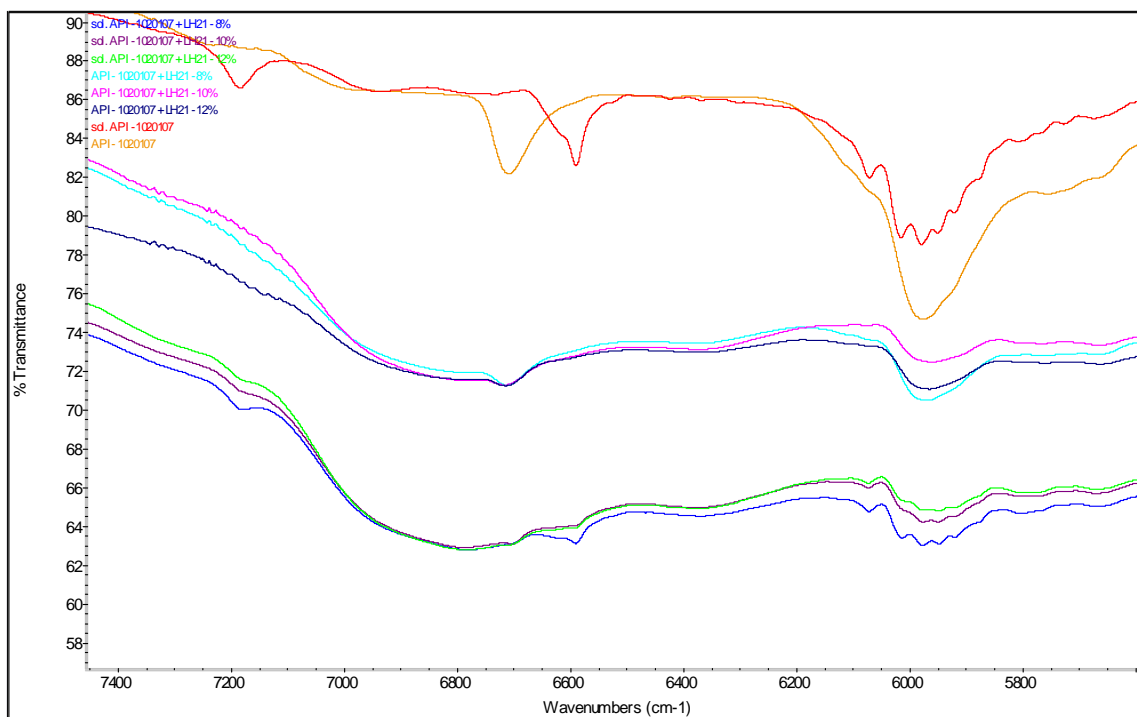
Obrázek 6.4.2.1. Spektra standardu LH 21 a API – 1020107 a jejich počítačový součet. (full scale)



Obrázek 6.4.2.2. Počítačový součet a spektra prostých směsí API a LH 21 – patrná podobnost. (no scale)



Obrázek 6.4.2.3. Spektrum počítačového součtu a krystalů API a LH 21 z roztoků – změna polymorfie. (full scale)



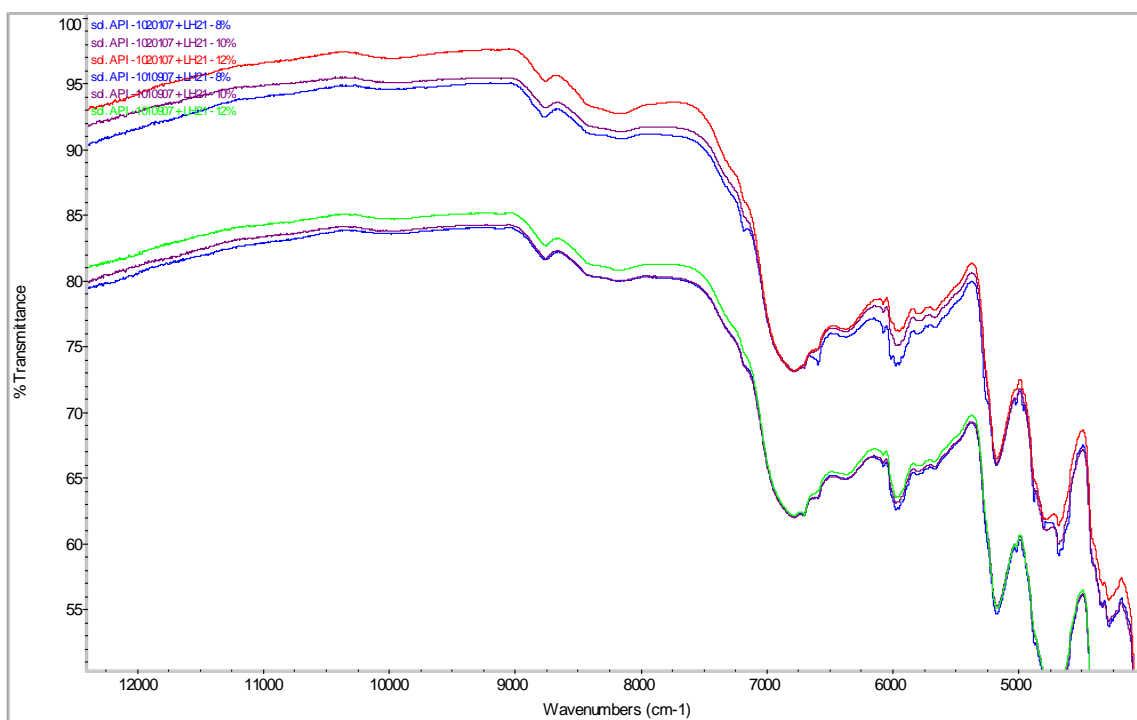
Obrázek 6.4.2.4. Výřez porovnání směsí API a LH 21 , krystalů z roztoků a 2 polymorfů API (no scale)

Obrázek 6.4.2.4. ukazuje rozdíly spekter směsí a krystalů z roztoků.

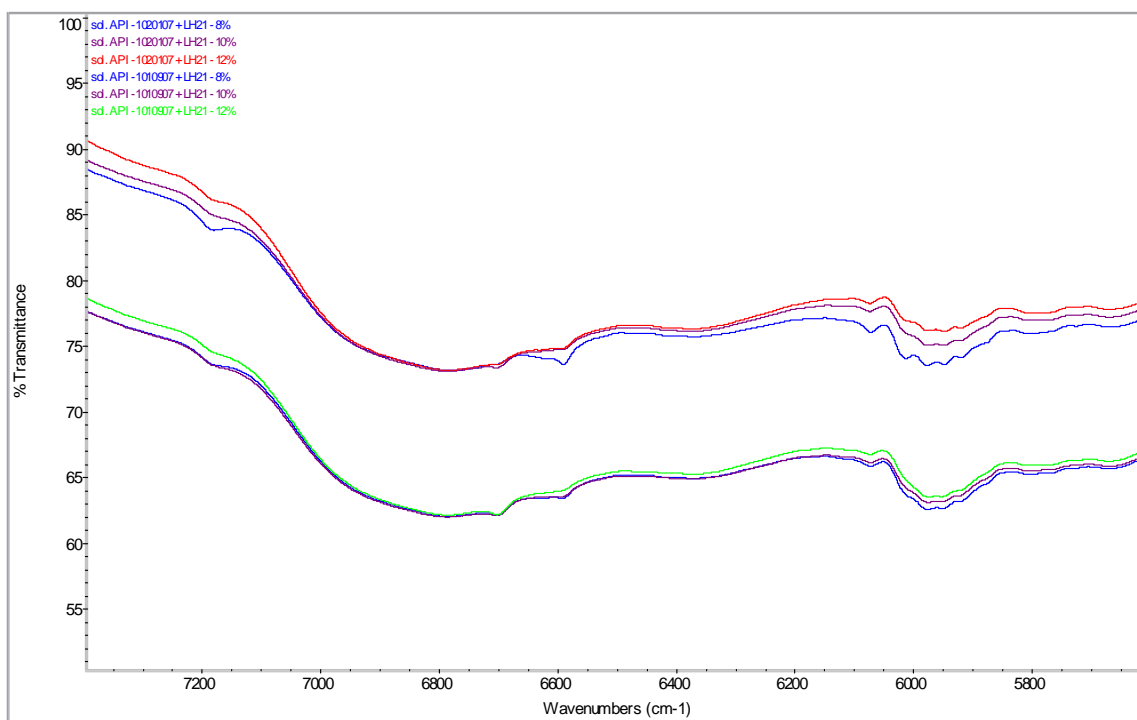
První dvě spektra jsou dva různé polymorfy API – 1020107.

Lze zde pozorovat stejné změny funkcí křivek jako na obrázku 6.5.1.4., avšak s většími rozdíly mezi poměry, jak bude vidět na následujících porovnáních.

6.4.3. POROVNÁNÍ ŠARŽÍ API – 1010907 A API – 1020107

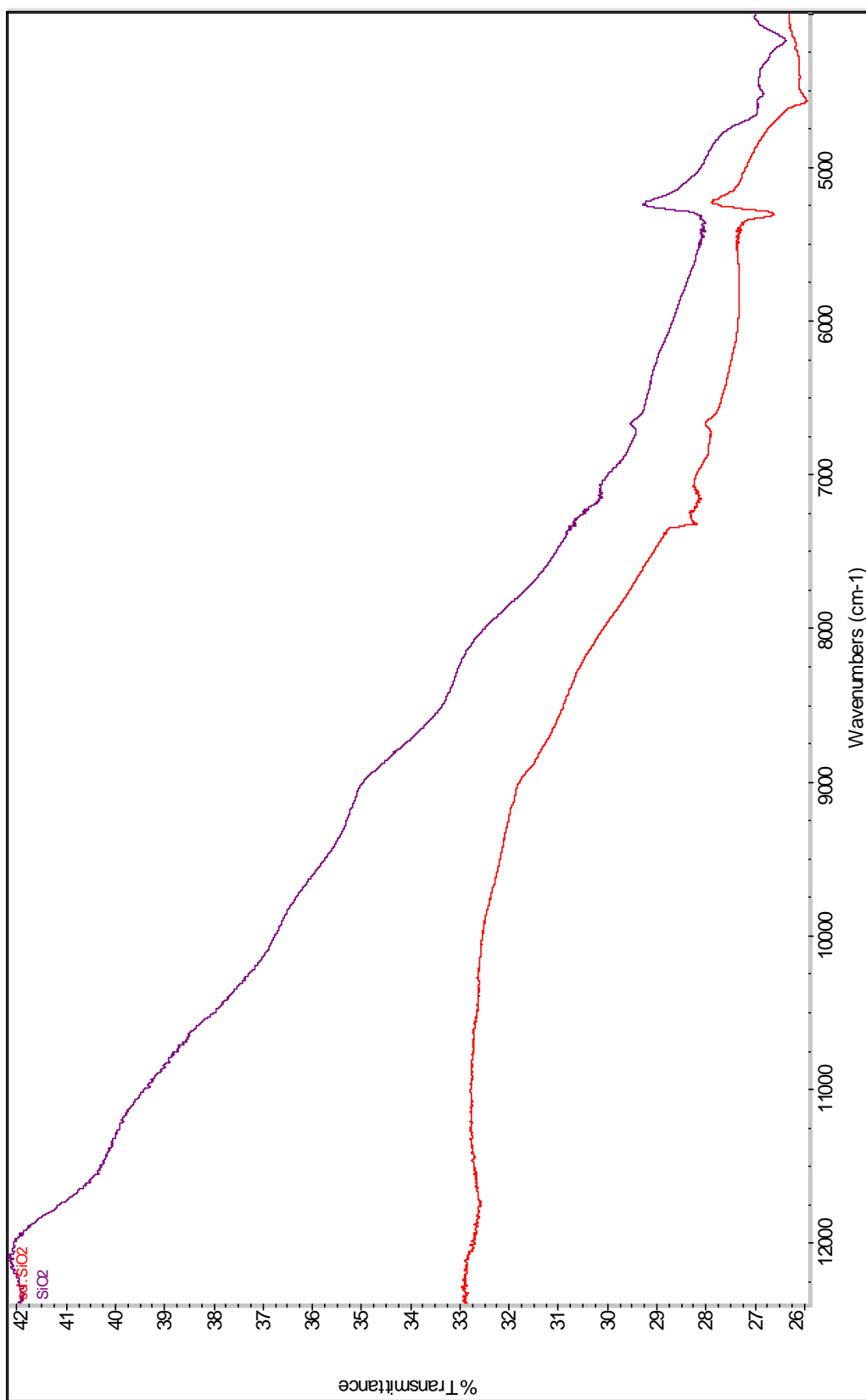


Obrázek 6.4.3.1. Porovnání API – 1010907 a API 1020107. (no scale)



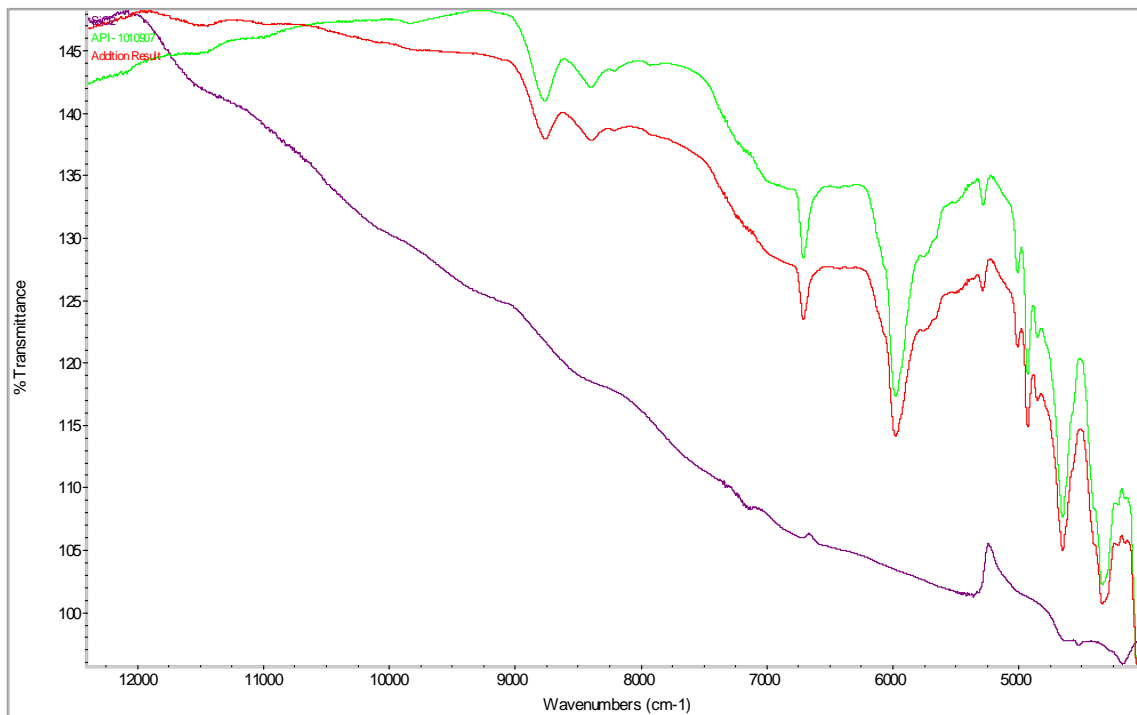
Obrázek 6.4.3.2. Výřez předchozího spektra – 7400-5600 cm^{-1} . (no scale)

6.5. Silica colloidalis anhydrica

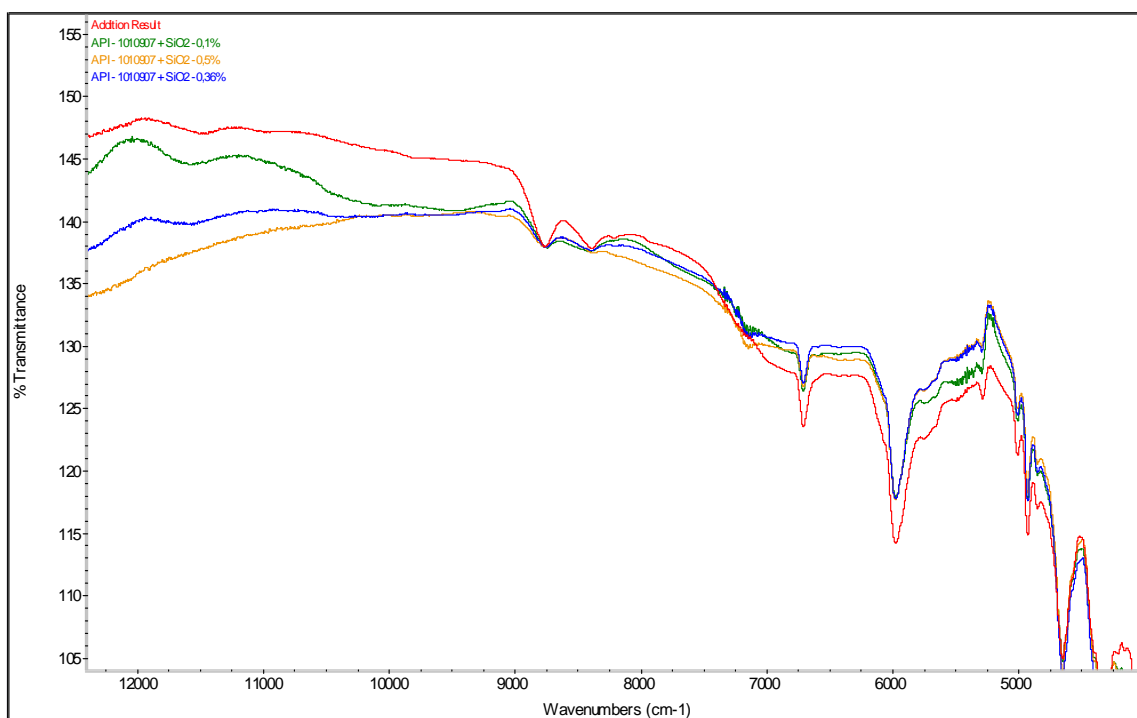


Obrázek 6.5.1.1. Spektra SiO_2 a SiO_2 z roztoku – změny v oblasti okolo 5500 cm^{-1} .

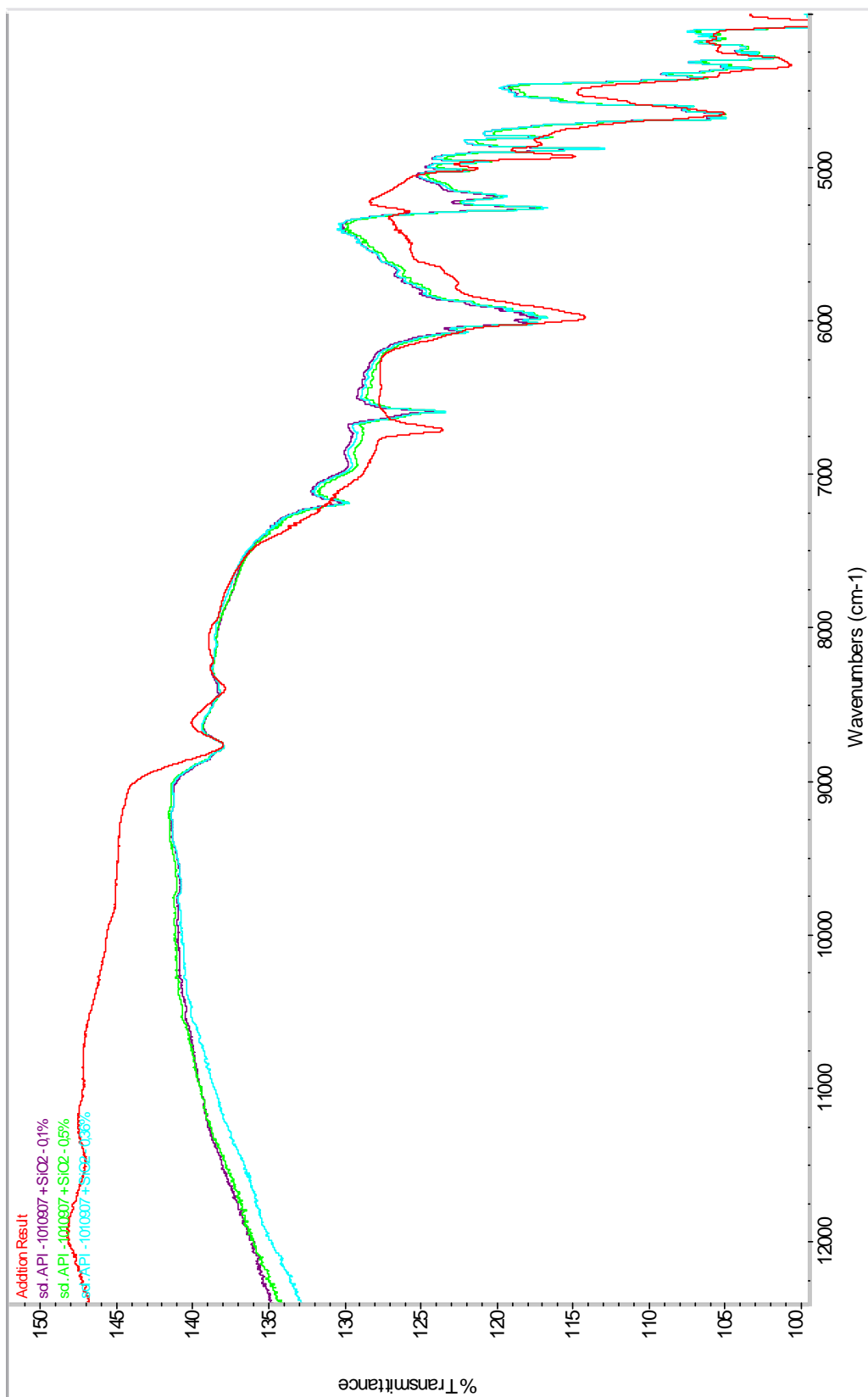
6.5.1. ŠARŽE API – 1010907



Obrázek 6.5.1.1. Spektra standardu SiO₂ a API – 1010907 a jejich počítačový součet. (full scale)

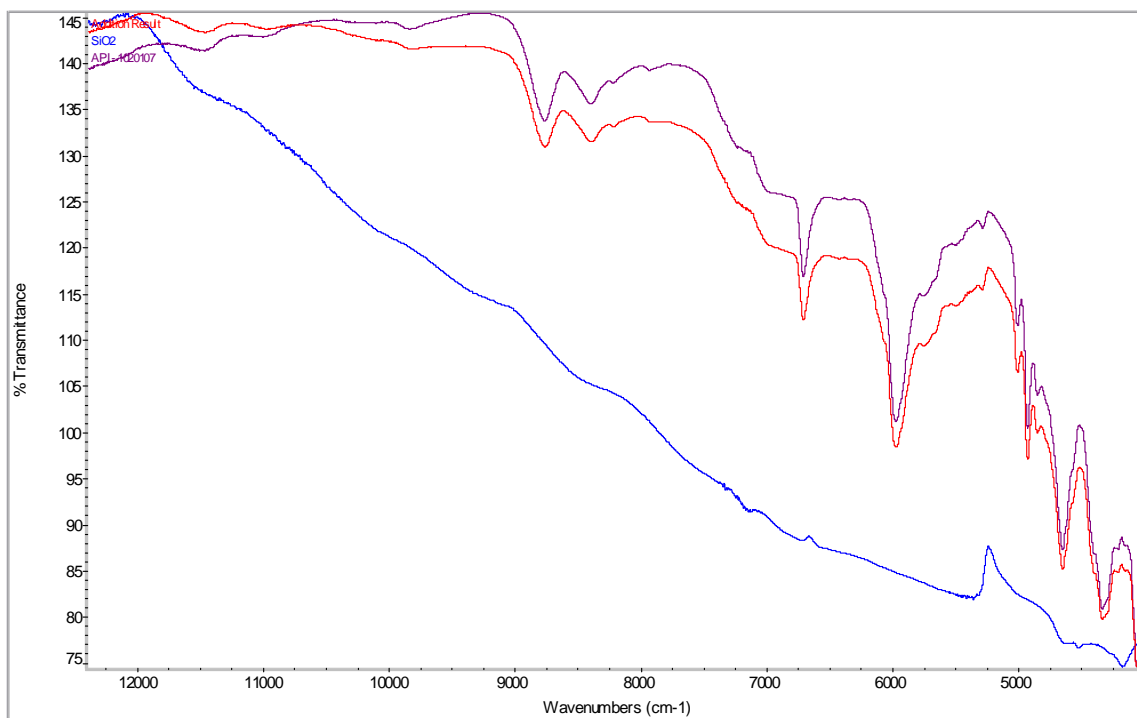


Obrázek 6.5.1.2. Počítačový součet a spektra prostých směsí API a SiO₂ – jasná podobnost spekter. (no scale)

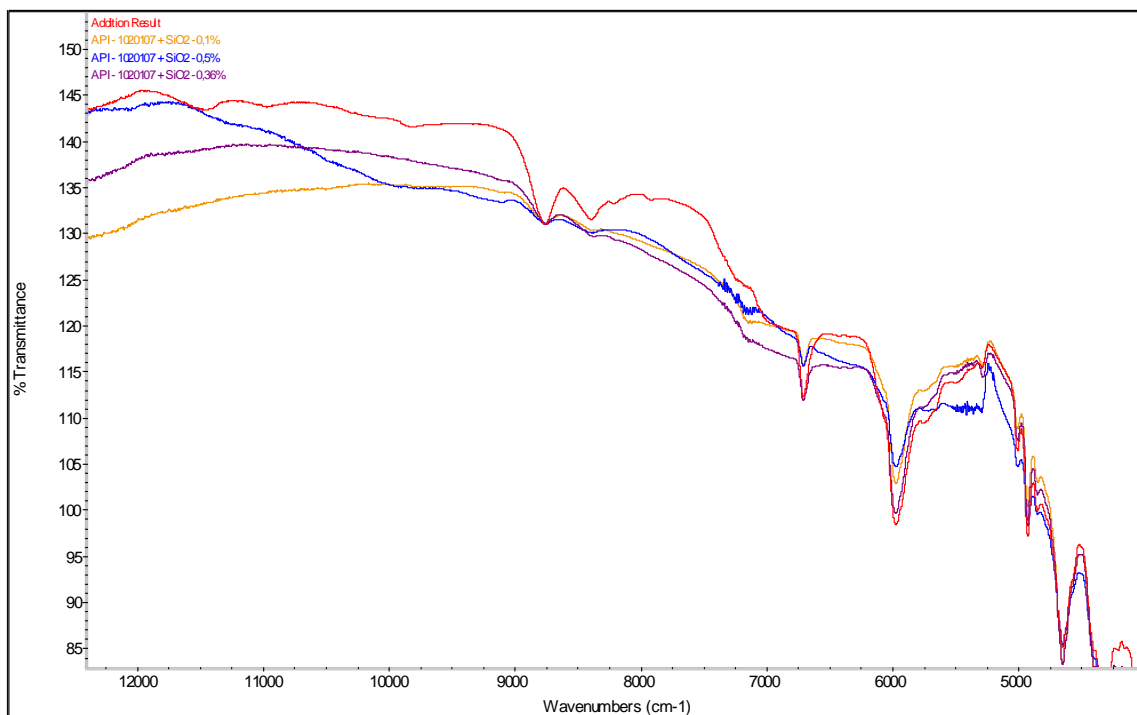


Obrázek 6.5.1.3. Spektrum počítačového součtu a krystalů API a SiO₂ z roztoků – změna polymorfie. (no scale)

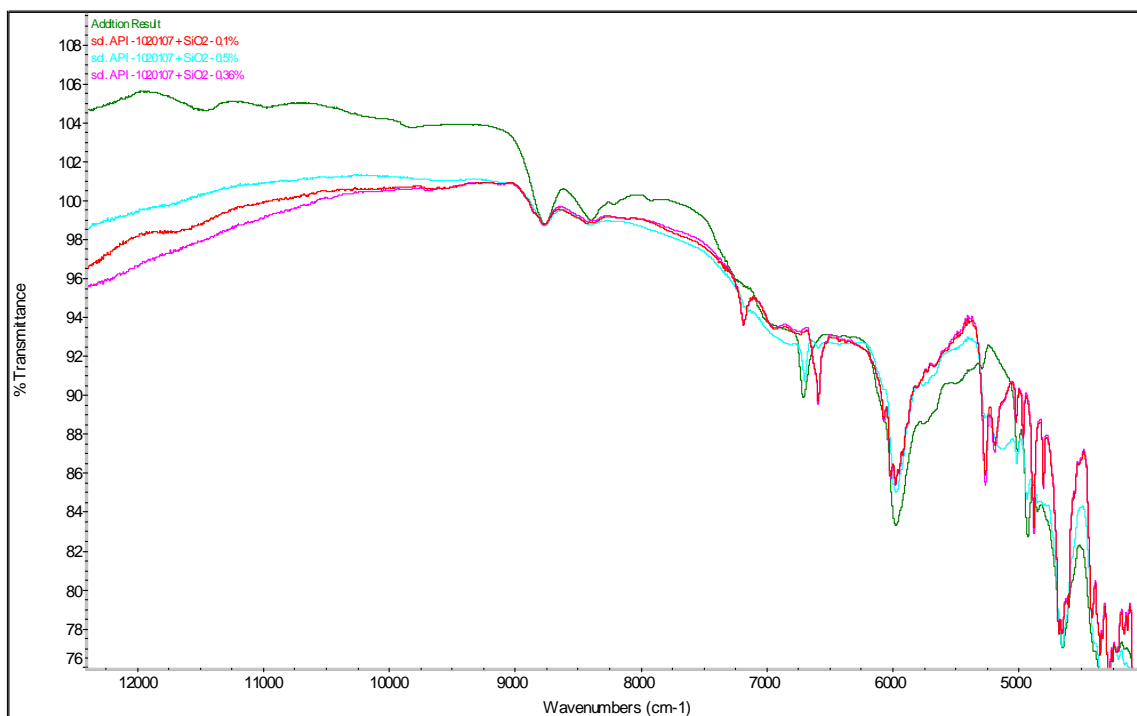
6.5.2. ŠARŽE API – 1020107



Obrázek 6.5.2.1. Spektra standardu SiO_2 a API – 1020107 a jejich počítačový součet. (full scale)



Obrázek 6.5.2.2. Počítačový součet a spektra prostých směsí API a SiO_2 – podobnost jasná. (no scale)

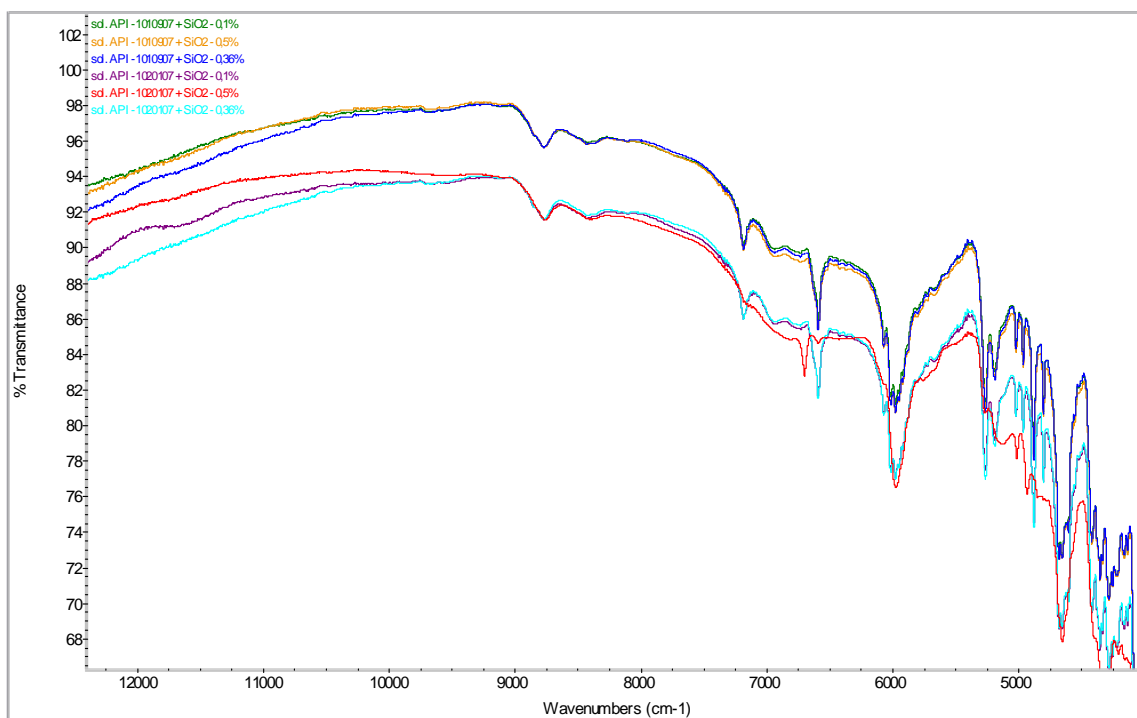


Obrázek 6.5.2.3. Spektrum počítačového součtu a krystalů API a SiO₂ z roztoků. (no scale)

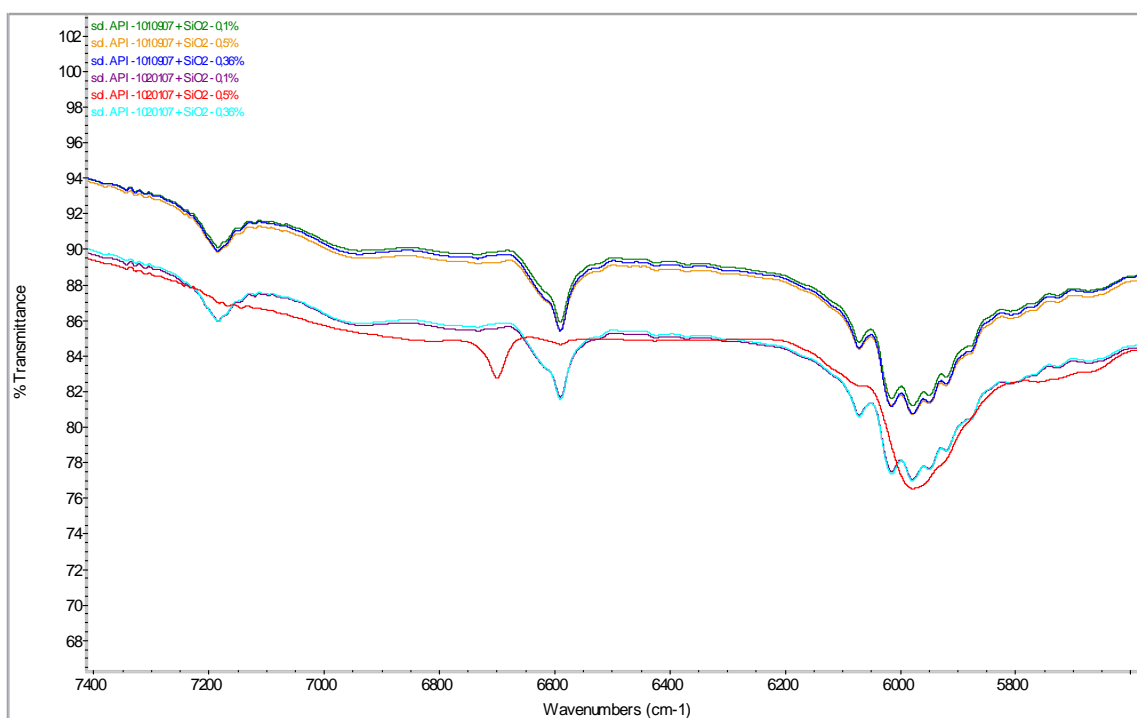
Obrázek 6.5.2.3. ukazuje zajímavou skutečnost: 0,1% poměr a 0,36% poměr se chovají obdobně (tj. jsou bez interakcí, avšak API zde vystupuje jako krystalický polymorf).

Naproti tomu 0,5% poměr vykazuje radikální odlišnost, protože udržuje složku API v amorfní formě polymorfní struktury.

6.5.3. POROVNÁNÍ ŠARŽÍ API – 1010907 A API – 1020107

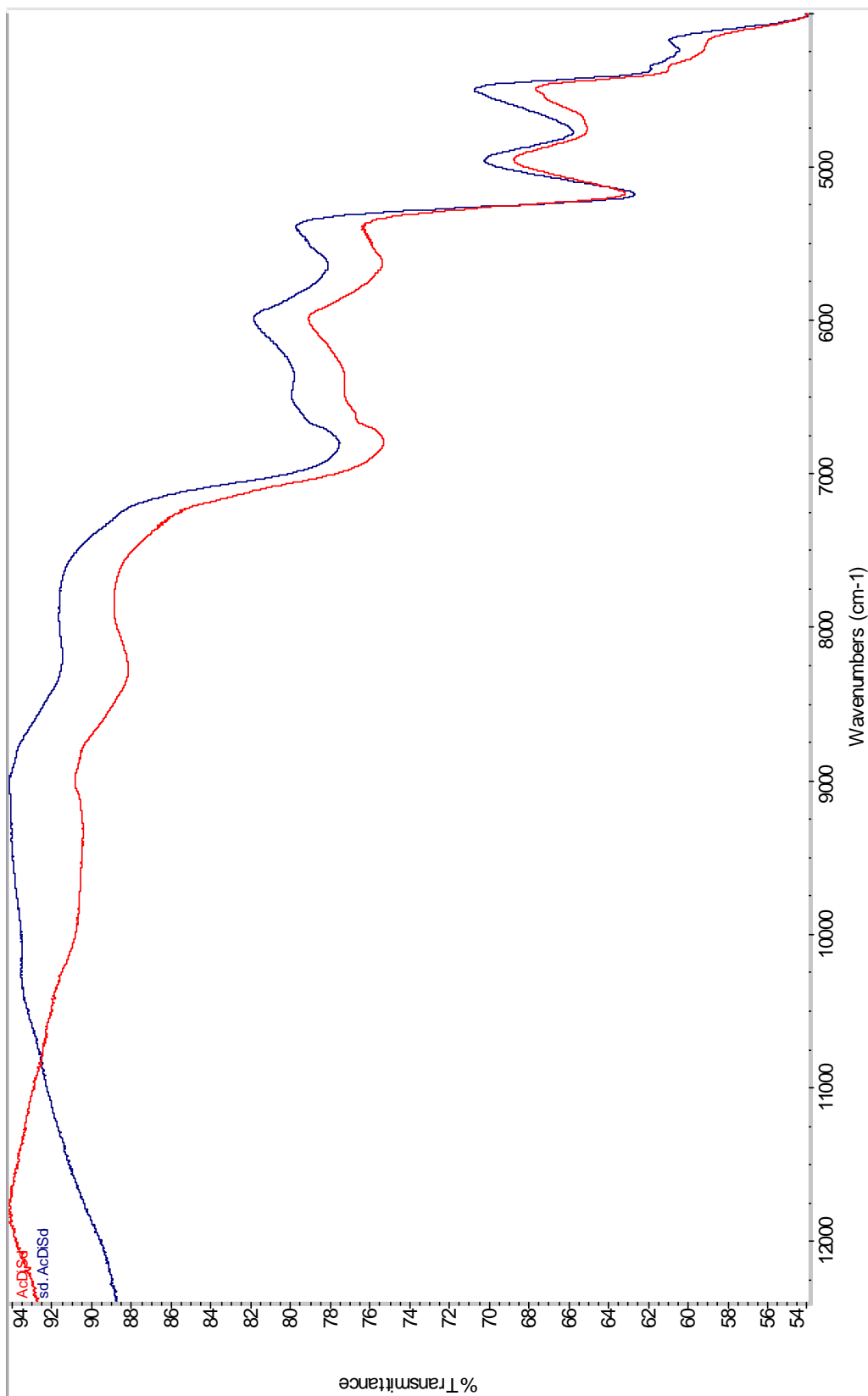


Obrázek 6.5.3.1. Porovnání API – 1010907 a API 1020107 – patrný efekt, popsán již dříve. (no scale)



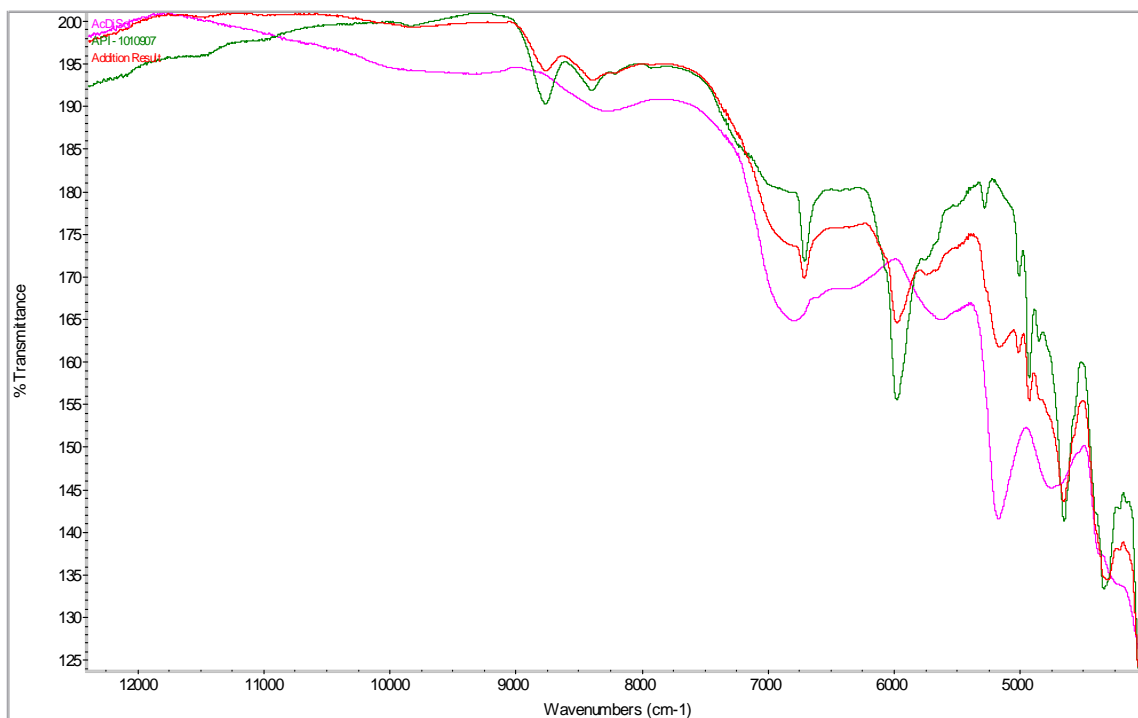
Obrázek 6.5.3.2. Výřez předchozího spektra – 7400-5600 cm^{-1} . (no scale)

6.6. Carmellosum natricum conexum



Obrazek 6.6.1. Spektra AcDiSolu a AcDiSolu z roztoku – beze změny.

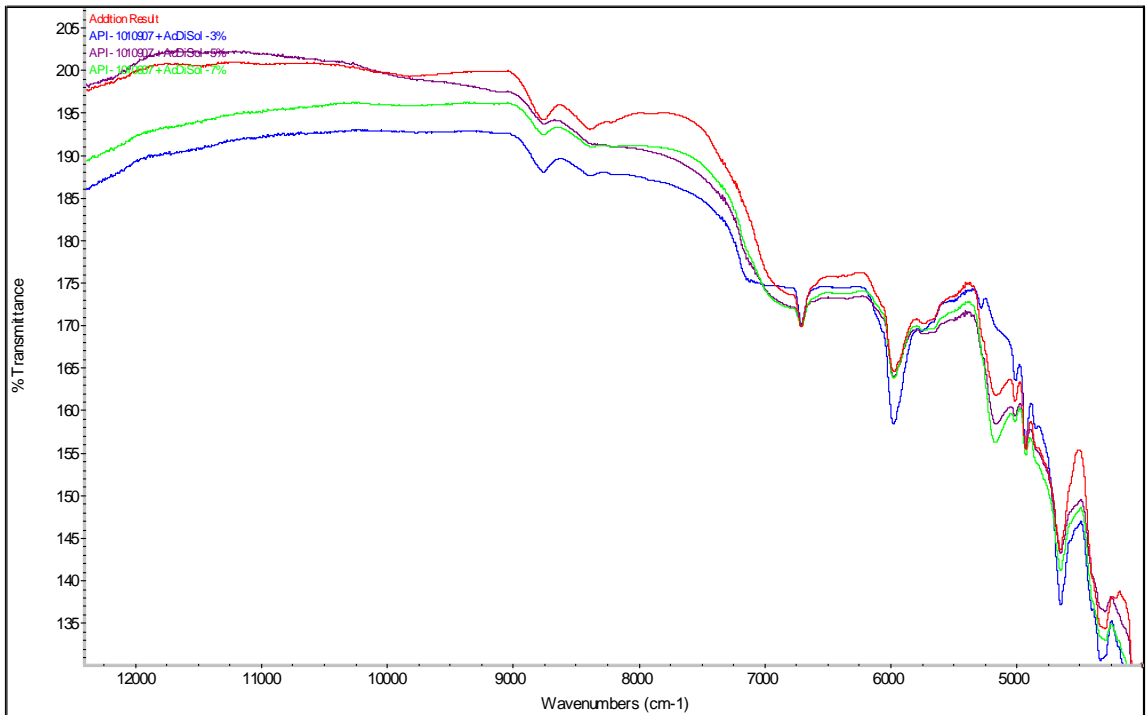
6.6.1. ŠARŽE API – 1010907



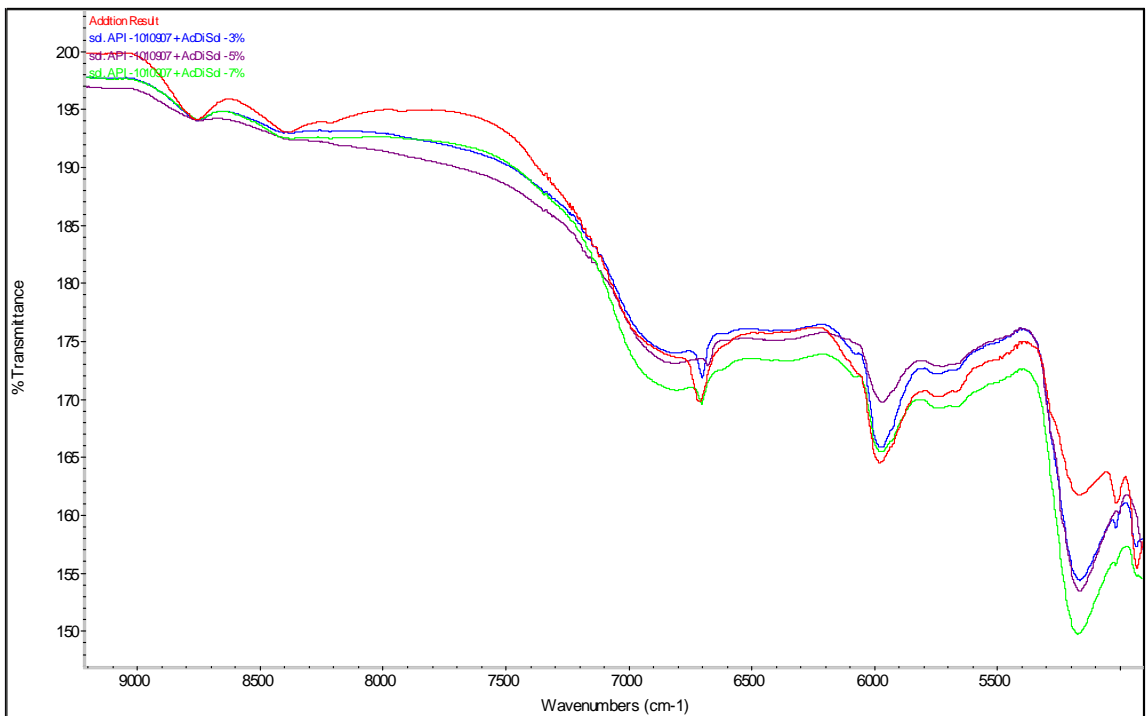
Obrázek 6.6.1.1. Spektra standardu AcDiSolu a API – 1010907 a jejich počítačový součet. (full scale)

I v tomto případě je potřeba opatrnosti, jelikož hlavní pásy API deformují pásy AcDiSolu (okolo 6800 cm⁻¹).

Musí se tudíž zvolit jiný pás, který není žádným (nebo aspoň přípustným) způsobem pozměněn pásy excipientu.



Obrázek 6.6.1.2. Počítačový součet a spektra prostých směsí API a AcDiSolu. (no scale)

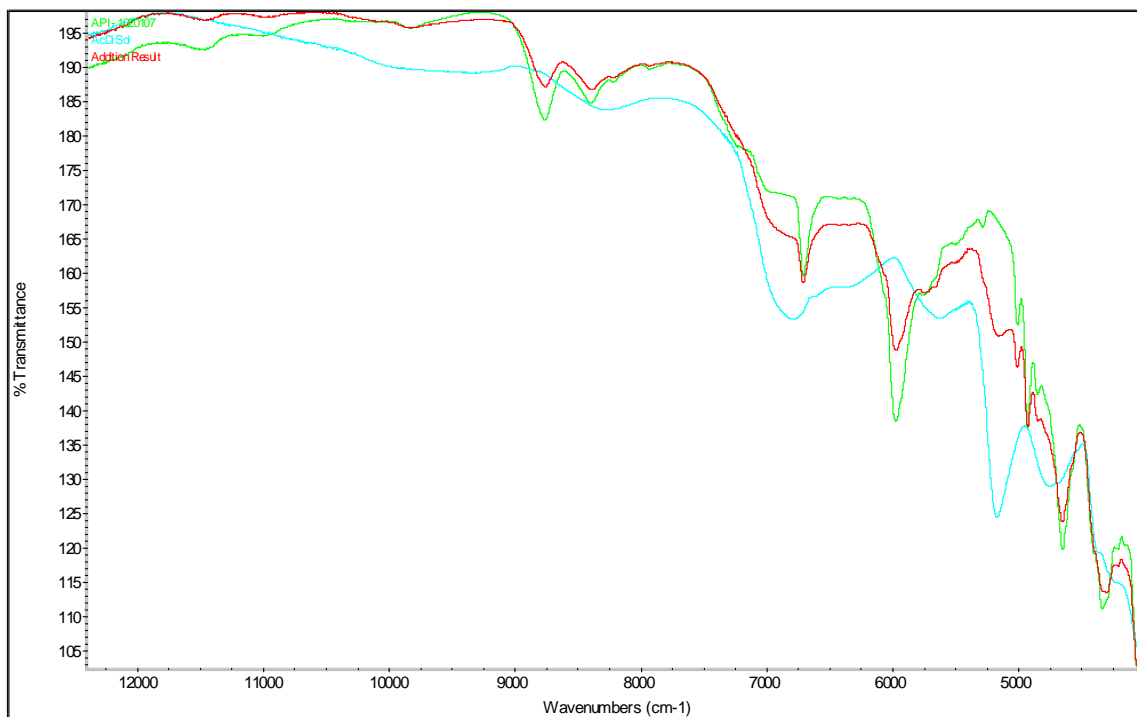


Obrázek 6.6.1.3. Výřez spekter počítačového součtu a krystalů API a AcDiSolu z roztoků. (no scale)

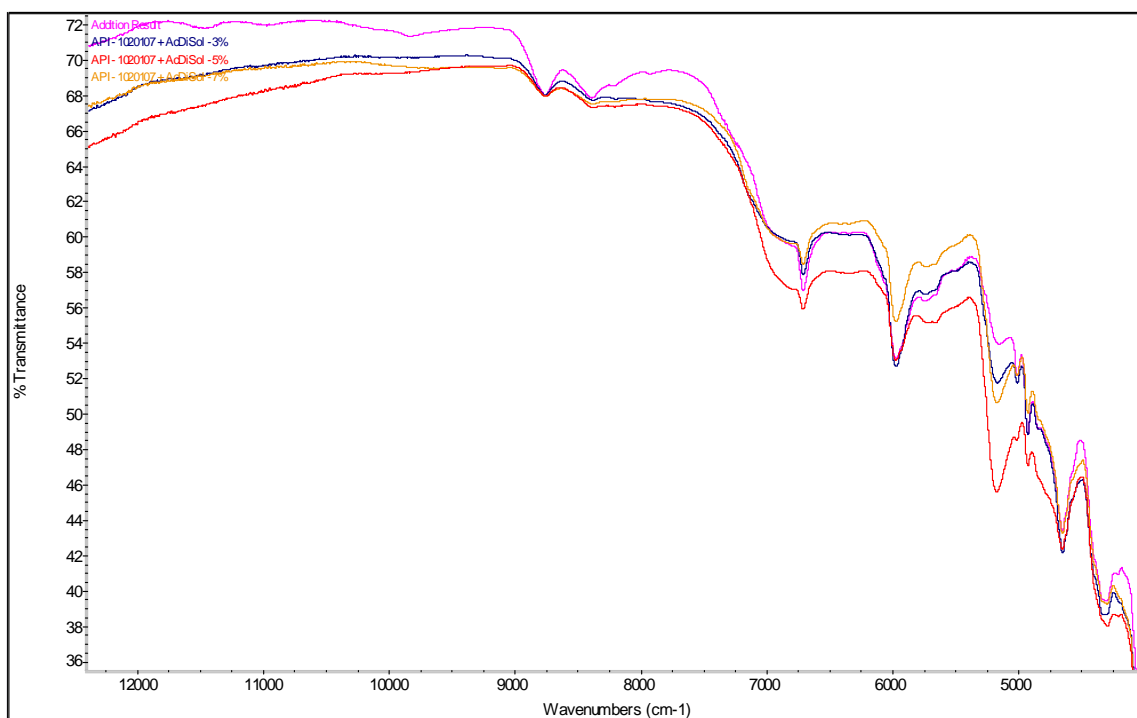
Zde je výborně viditelné, že AcDiSol v 3% a 7% poměru zabraňuje API v přechodu z amorfní polymorfické struktury a nedovoluje její krystalizaci. Vzorky vykazují ještě další změny, ty však budou dále popsány až v kapitole 7.1. Diskuze.

5% poměr je nepatrně odlišný. Více viz. kapitola 7.1. Diskuze.

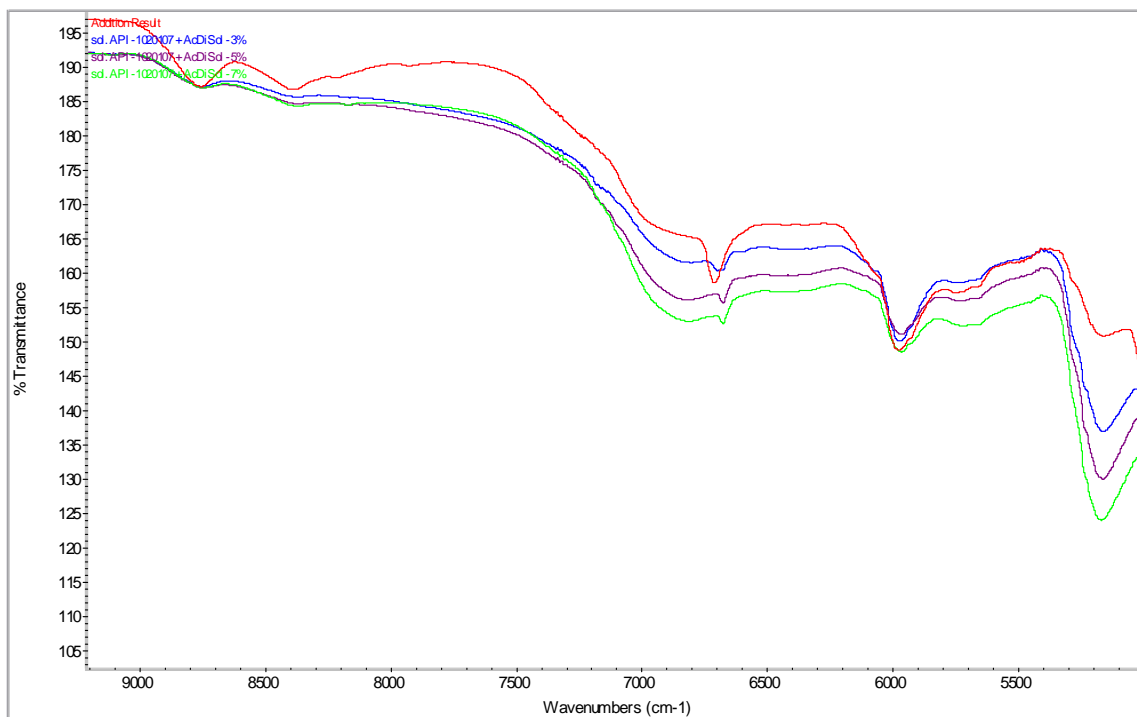
6.6.2. ŠARŽE API – 1020107



Obrázek 6.6.2.1. Spektra standardu AcDiSolu a API – 1020107 a jejich počítačový součet. (full scale)



Obrázek 6.6.2.2. Počítačový součet a spektra prostých směsí API a AcDiSolu – spektra jsou podobná. (no scale)

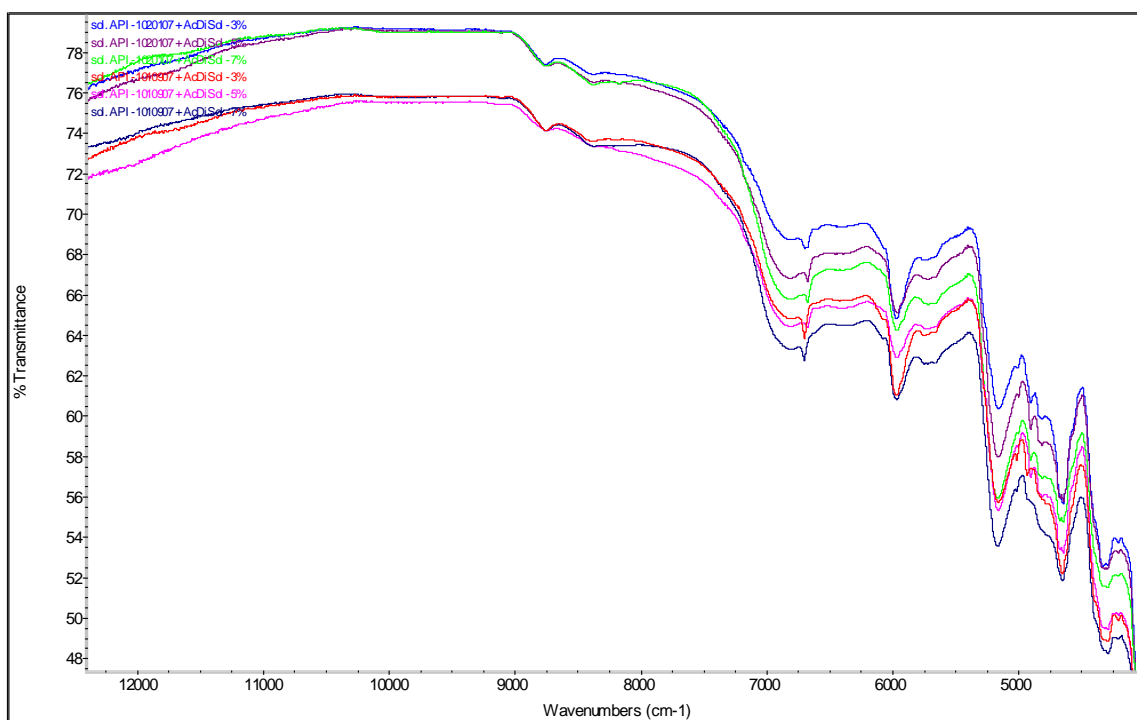


Obrázek 6.6.2.3. Spektrum počítačového součtu a krystalů API a AcDiSolu z roztoků.
(no scale)

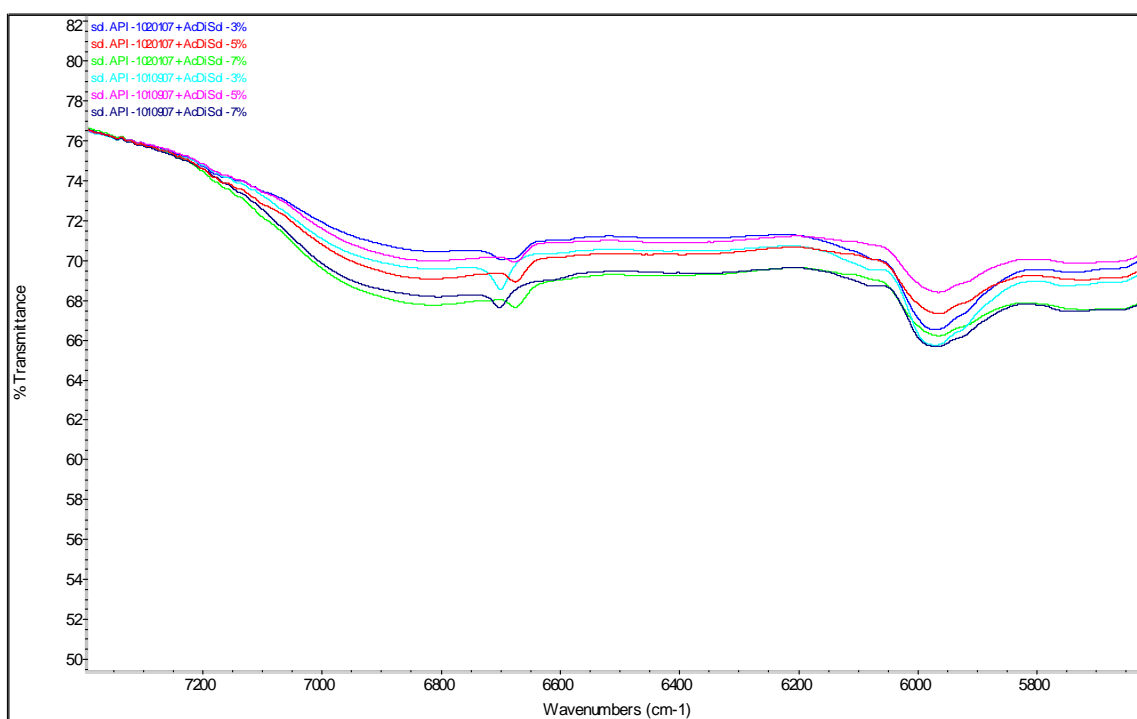
Tento obrázek opět ukazuje, že AcDiSol ve všech poměrech zabraňuje API v přechodu z amorfní struktury a nedovoluje její přechod na krystal. Podobně jako u API – 1010907 vykazují vzorky další odlišnosti, které budou opět probrány v diskuzi.

3% poměr je nepatrně odlišný, ale žádné další pásy nenaznačují přítomnost krystalické formy API – více viz kapitola 7.1. Diskuze.

6.6.3. POROVNÁNÍ ŠARŽÍ API – 1010907 A API – 1020107

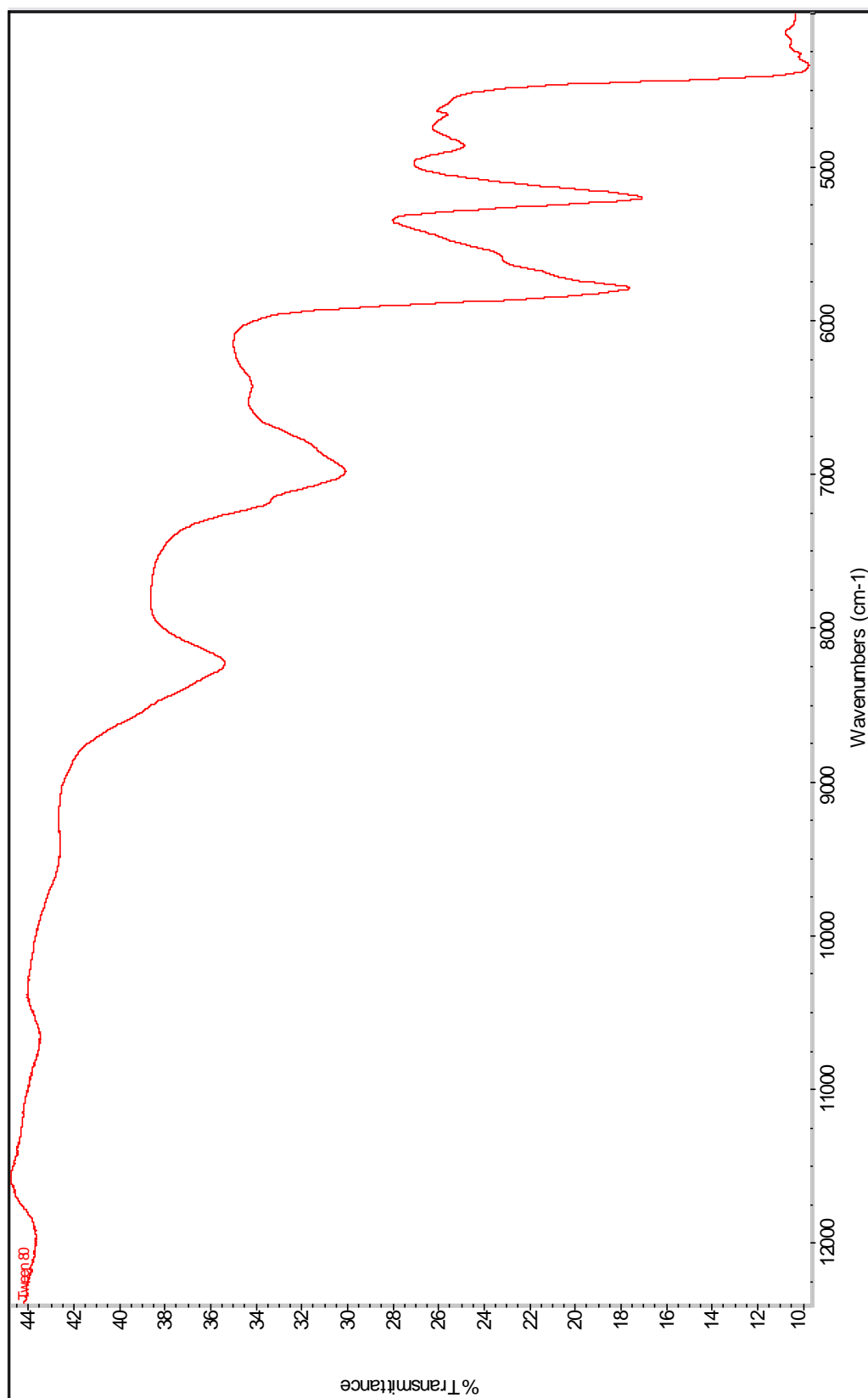


Obrázek 6.6.3.1. Porovnání API – 1010907 a API – 1020107. (no scale)



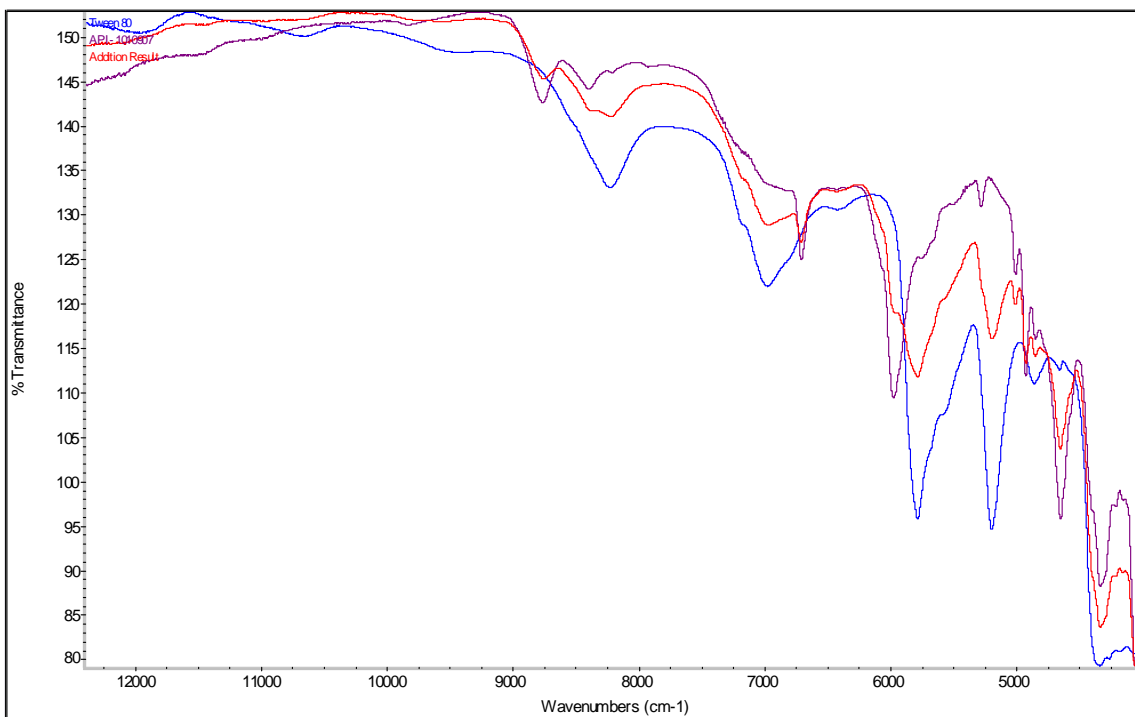
Obrázek 6.6.3.2. Výřez předchozího spektra – 7400-5600 cm⁻¹. (no scale)

6.7. Polysorbatum 80

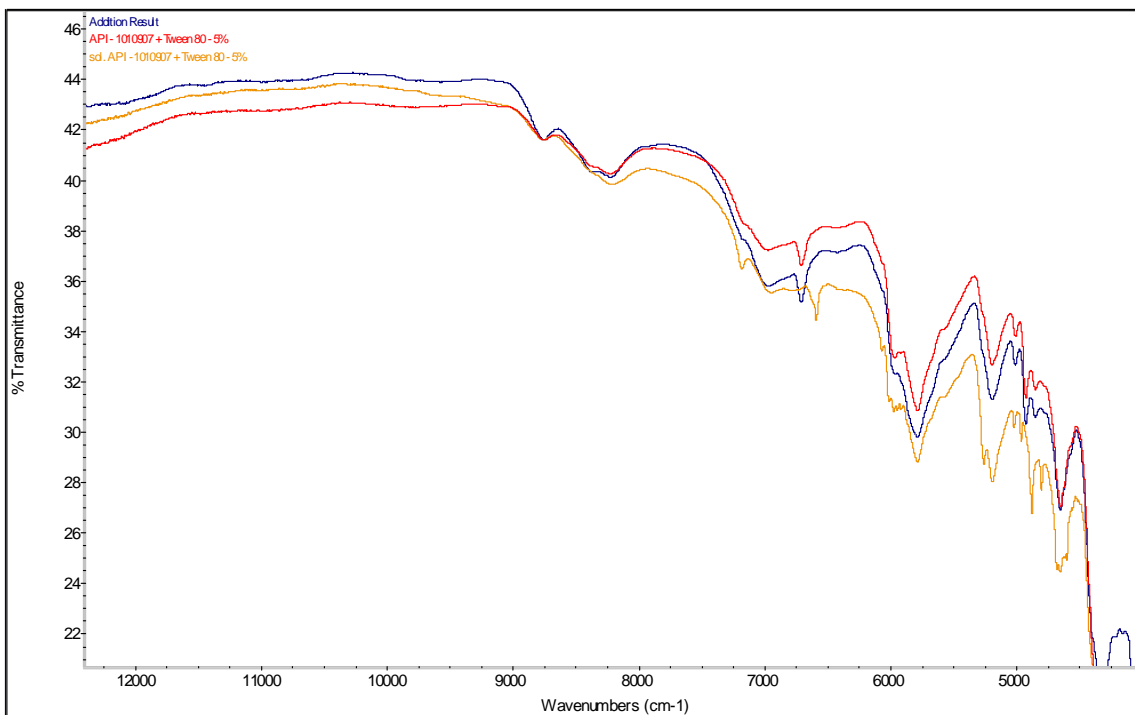


Obrázek 6.7.1. Spektra Tweenu 80 – změřen pouze tween bez rozpuštění.

6.7.1. ŠARŽE API – 1010907

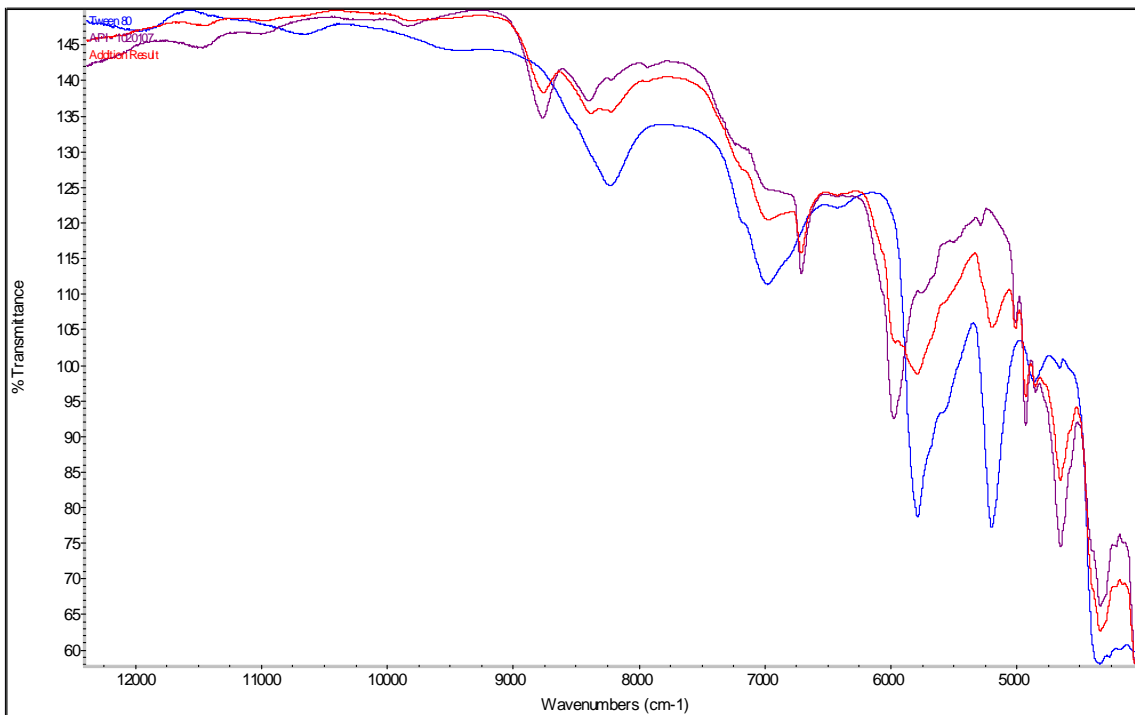


Obrázek 6.7.1.1. Spektra standardu Tweenu[®] 80 a API – 1010907 a jejich počítačový součet. (full scale)

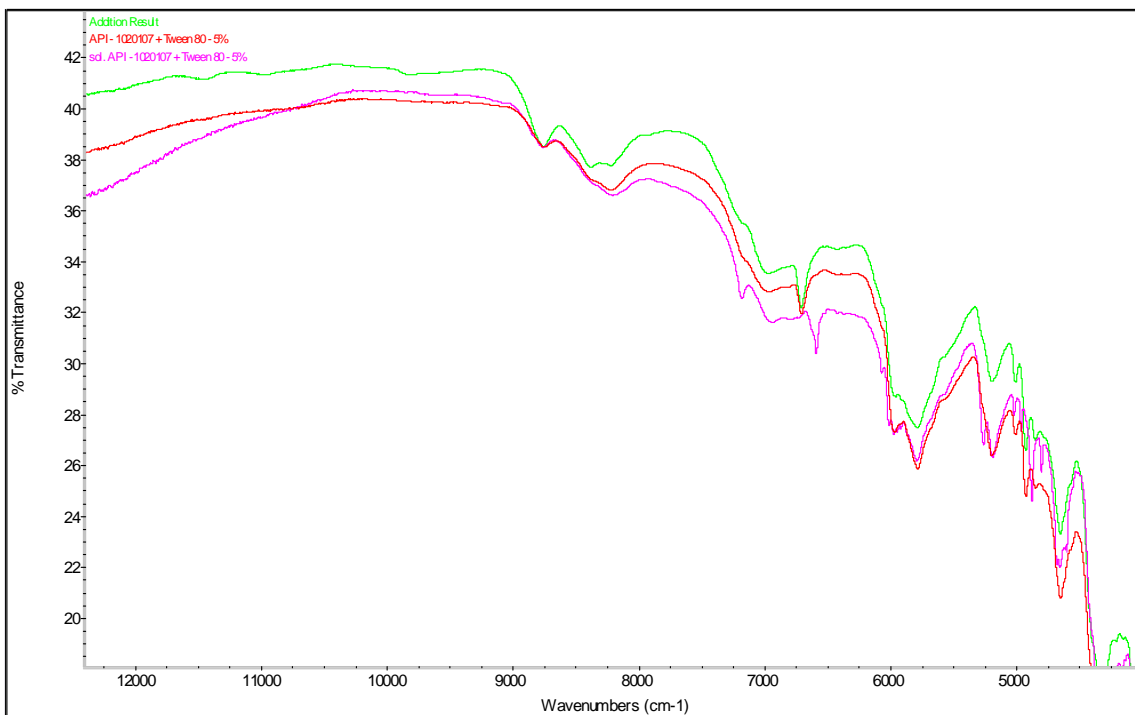


Obrázek 6.7.1.2. Počítačový součet, spektrum prosté směsi API a spektrum krystalů z roztoku – změna polymorfie. (no scale)

6.7.2. ŠARŽE API – 1020107

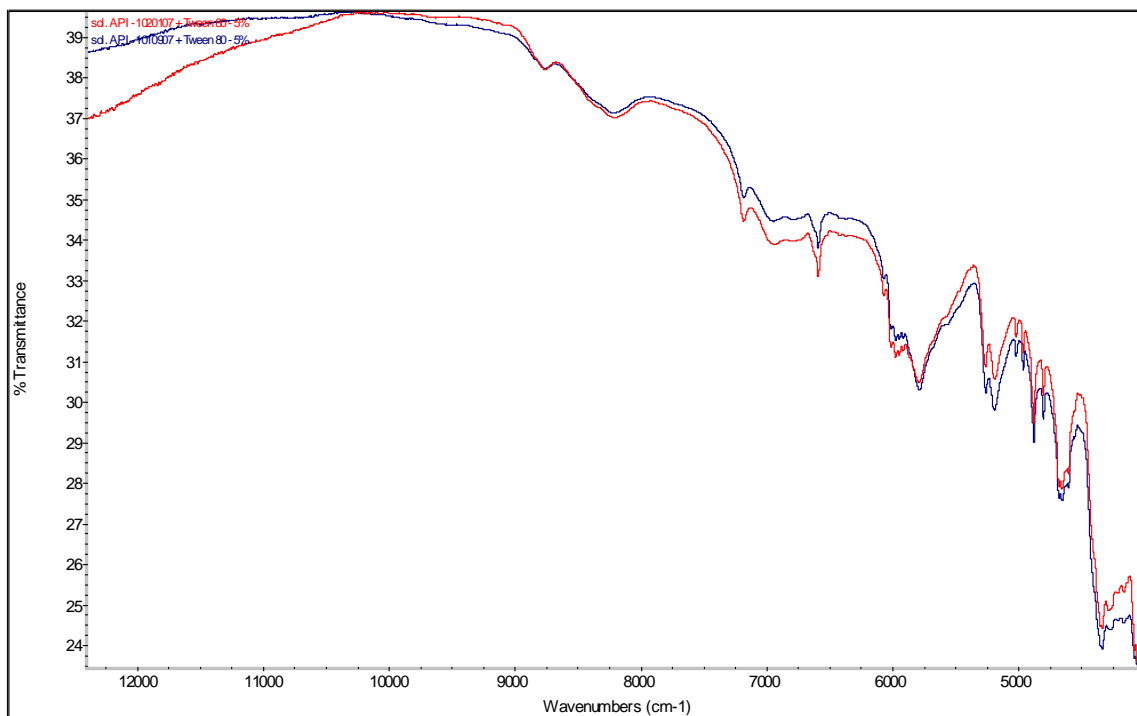


Obrázek 6.7.2.1. Spektra standardu Tweenu[®] 80 a API – 1020107 a jejich počítačový součet. (full scale)

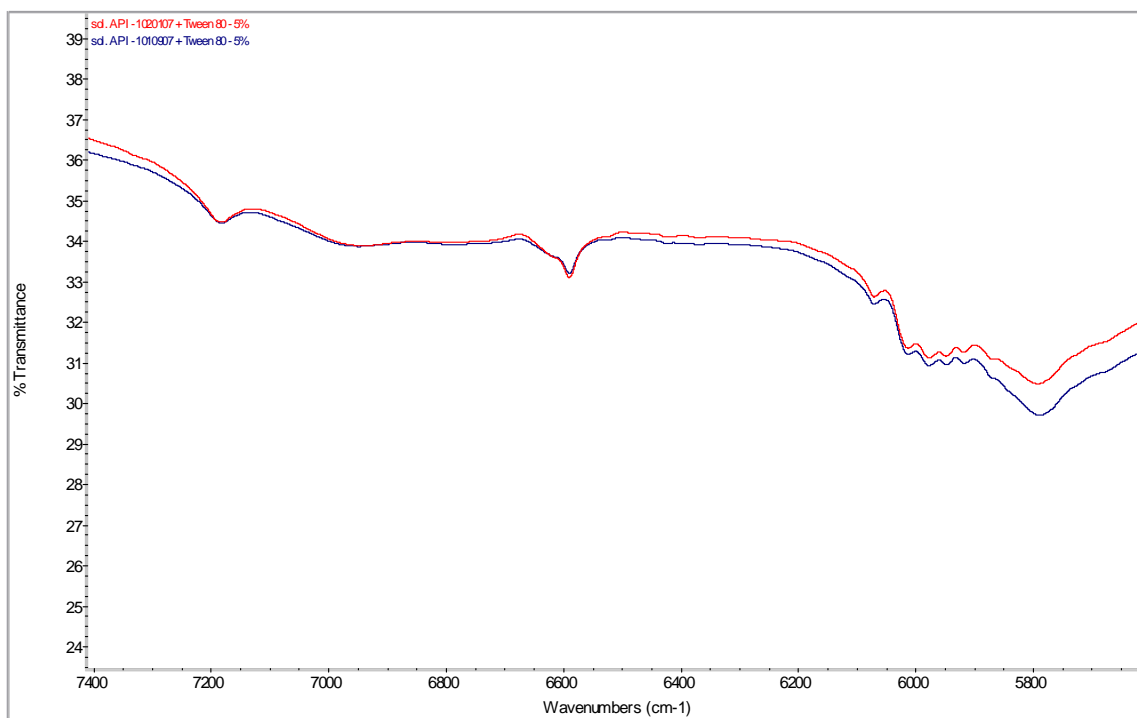


Obrázek 6.7.2.2. Počítačový součet, spektrum prosté směsi API a spektrum krystalů z roztoku – opět viditelná změna polymorfie. (no scale)

6.7.3. POROVNÁNÍ ŠARŽÍ API – 1010907 A API – 1020107

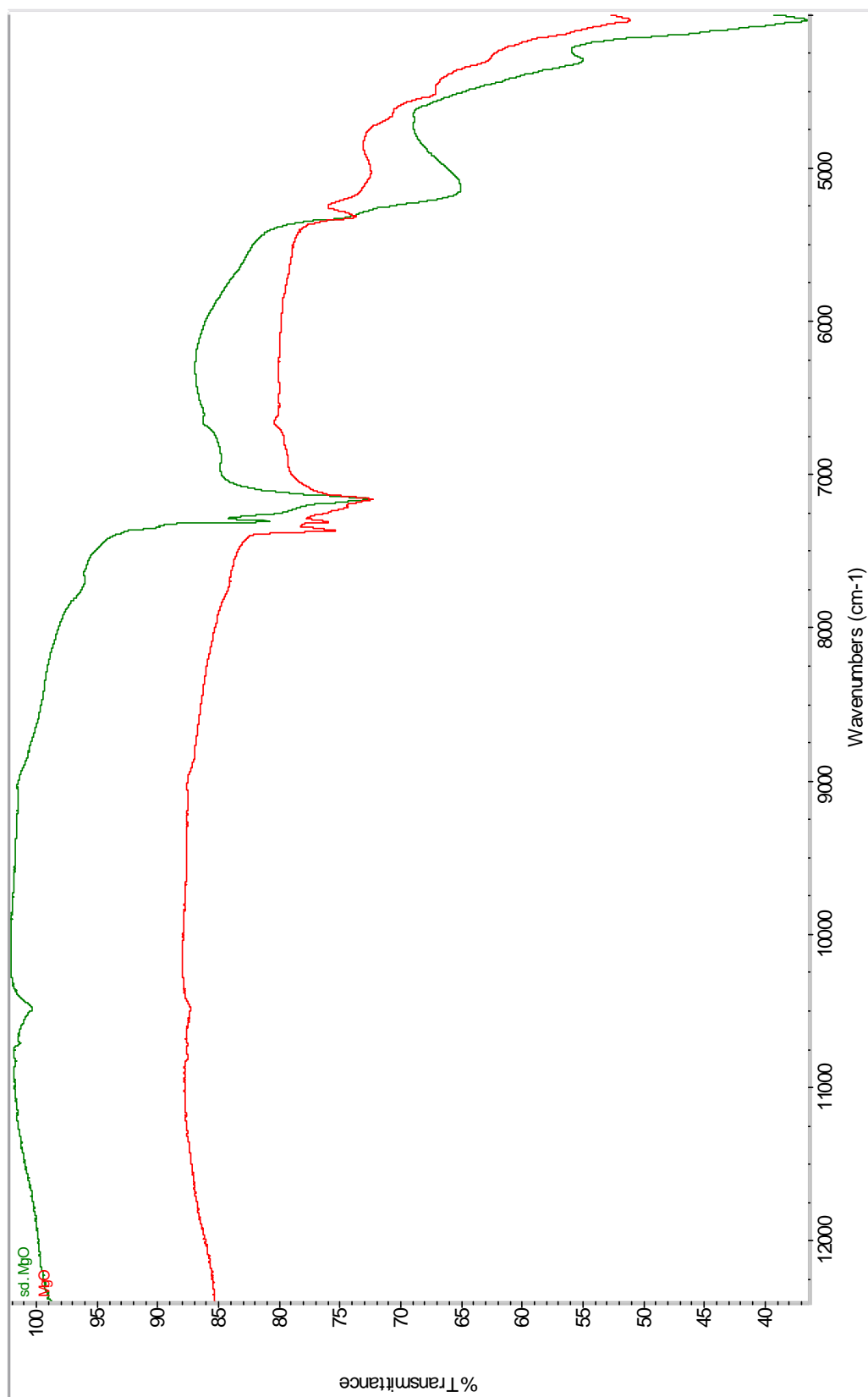


Obrázek 6.7.3.1. Porovnání API – 1010907 a API 1020107. (no scale)



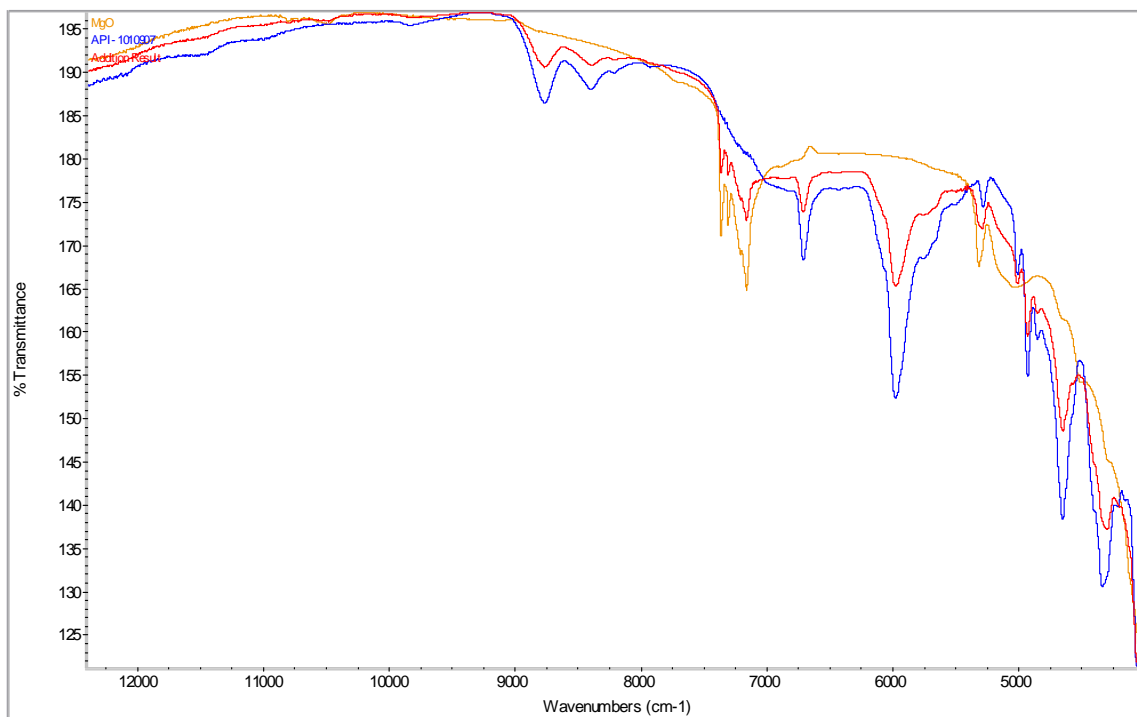
Obrázek 6.7.3.2. Výřez předchozího spektra – 7400-5600 cm^{-1} . (no scale)

6.8. Magnesii oxidum ponderosum

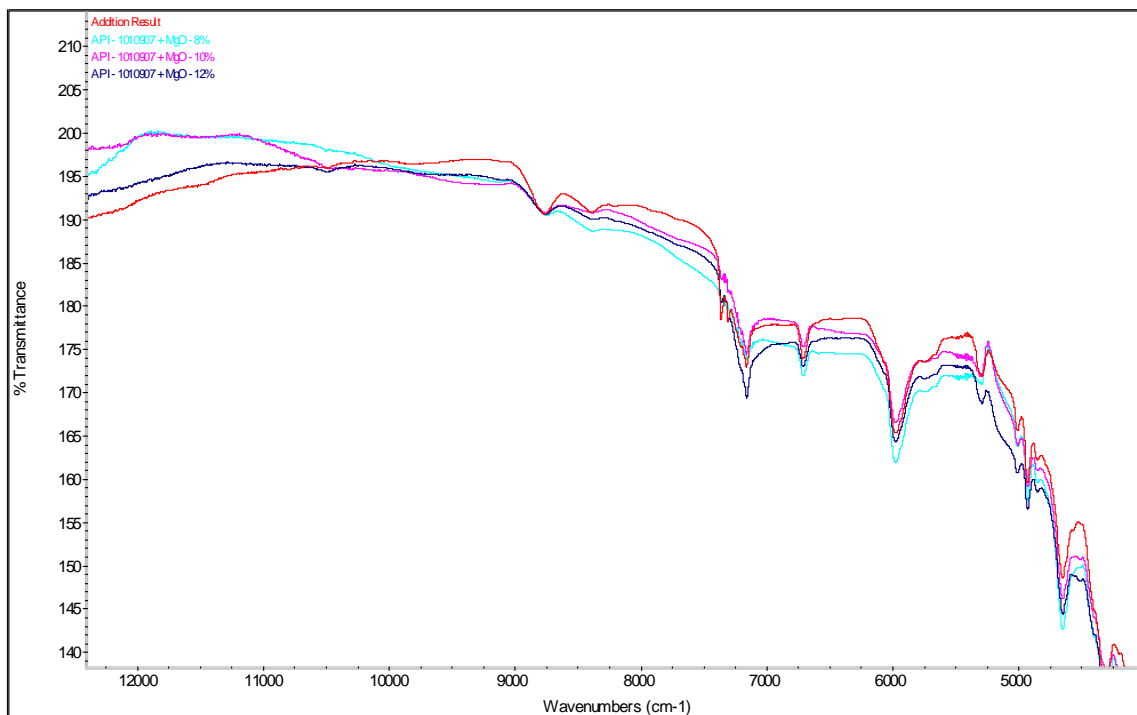


Obrázek 6.8.1. Spektra MgO a MgO z roztoku – viditelné změny okolo 5350 cm⁻¹ až 4800 cm⁻¹, menší změny okolo 10500 cm⁻¹ a 7400-7000 cm⁻¹.

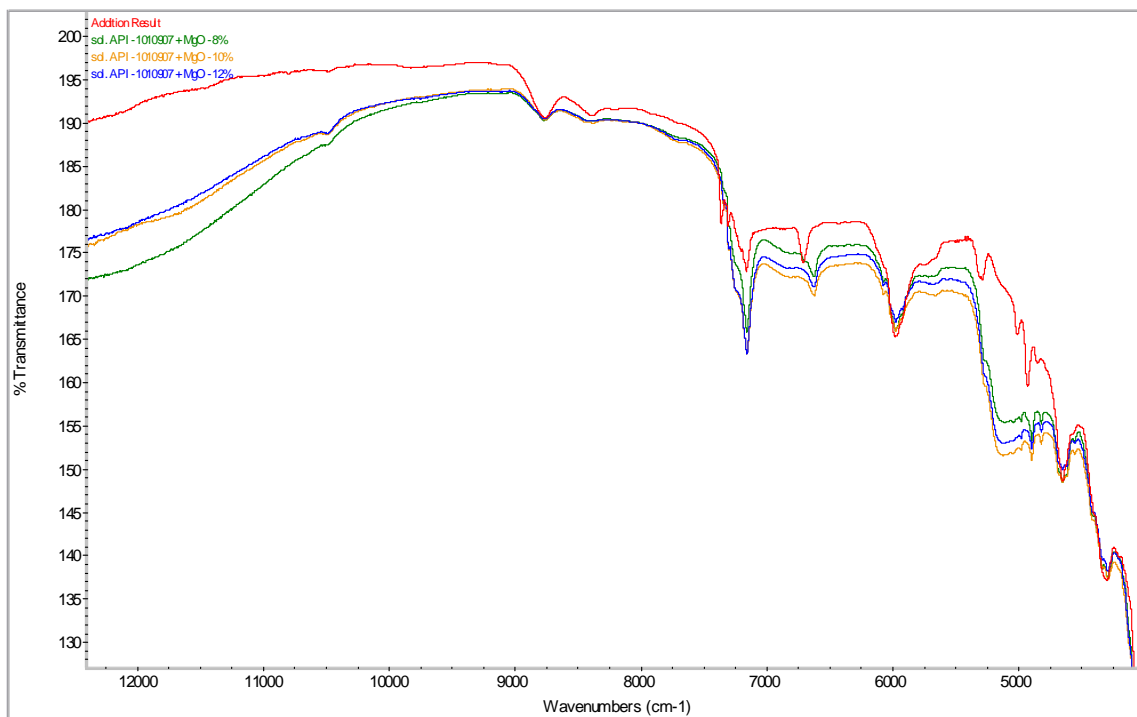
6.8.1. ŠARŽE API – 1010907



Obrázek 6.8.1.1. Spektra standardu MgO a API – 1010907 a jejich počítačový součet.
(full scale)



Obrázek 6.8.1.2. Počítačový součet a spektra prostých směsí API a MgO – patrná podobnost spekter. (no scale)

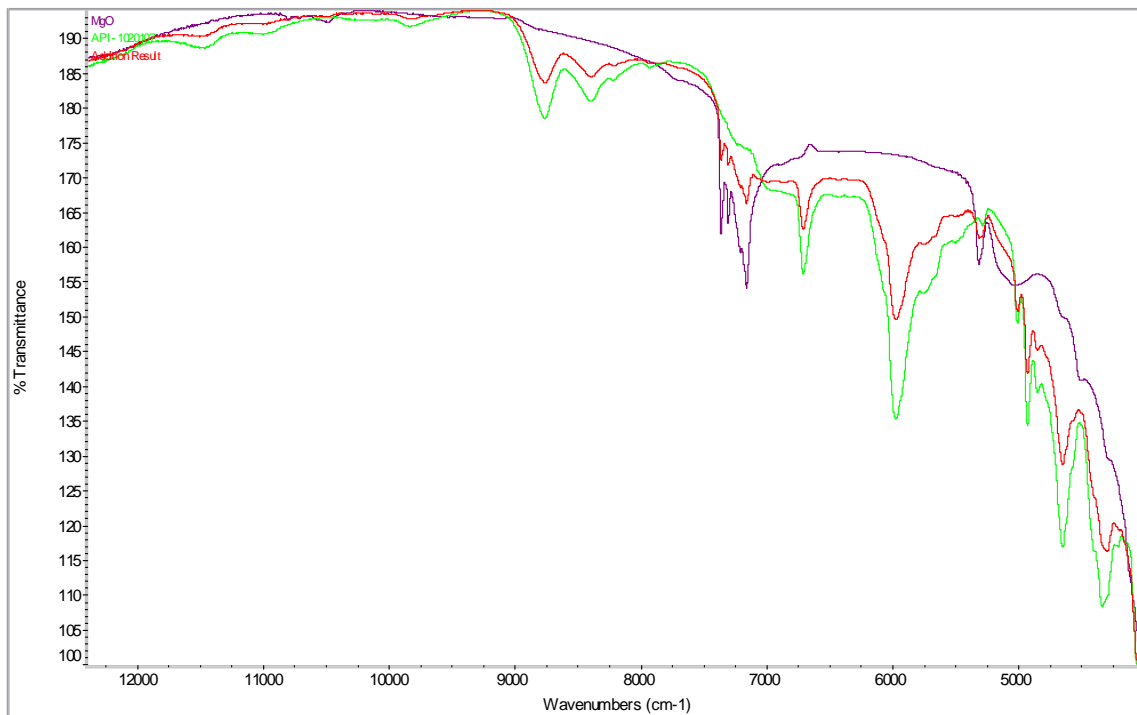


Obrazek 6.8.1.3. Výřez spekter počítačového součtu a krystalů API a MgO z roztoků.
(no scale)

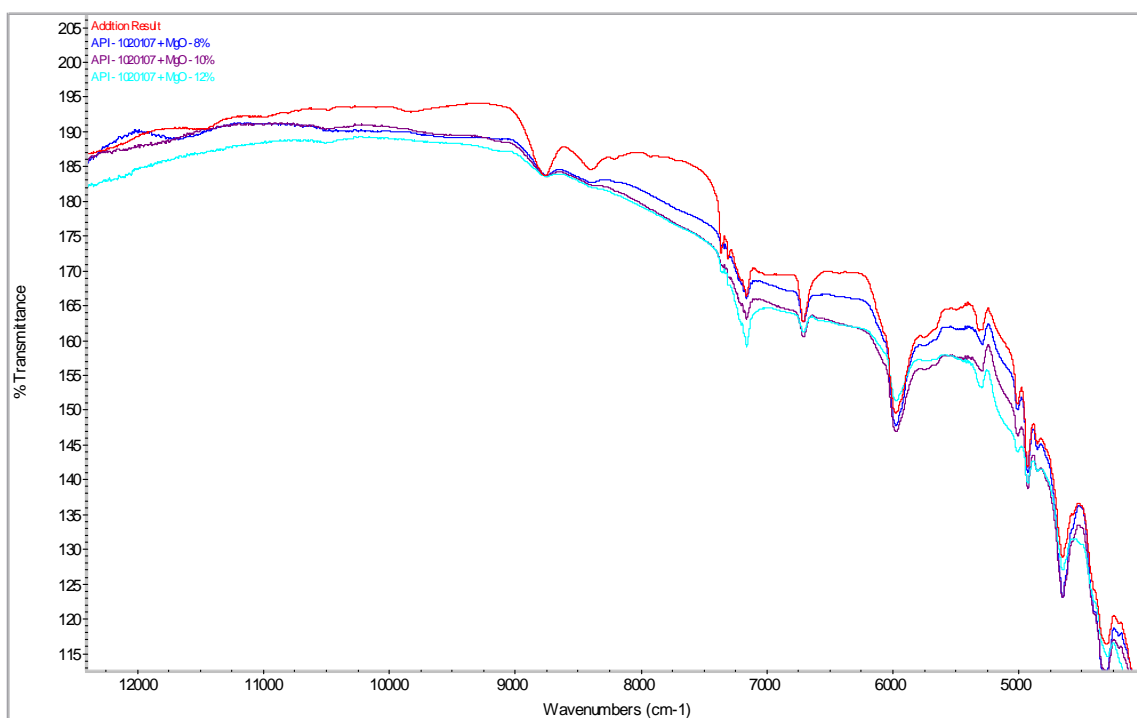
Zde je dobře viditelné, že MgO v roztoku ztrácí pás 7400 cm^{-1} , který je viditelný v „addition result“, ale ve spektrech krystalů z roztoků chybí.

Další změnou je posun pásu 6700 cm^{-1} na hodnotu cca 6630 cm^{-1} , který odpovídá API. Oblast $5300\text{--}4700\text{ cm}^{-1}$ je také pozměněná.

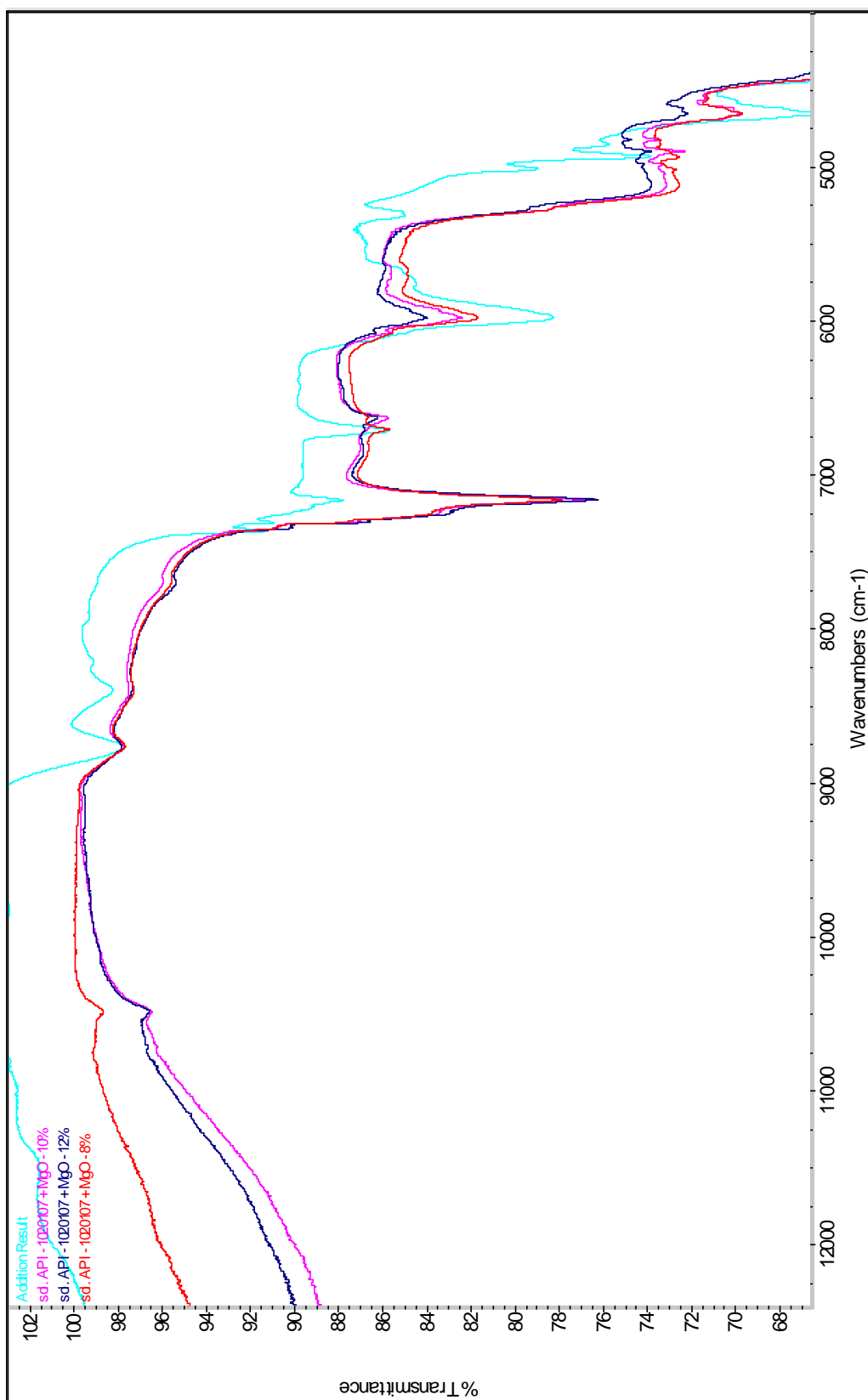
6.8.2. ŠARŽE API – 1020107



Obrázek 6.8.2.1. Spektra standardu MgO a API – 1020107 a jejich počítačový součet.
(full scale)

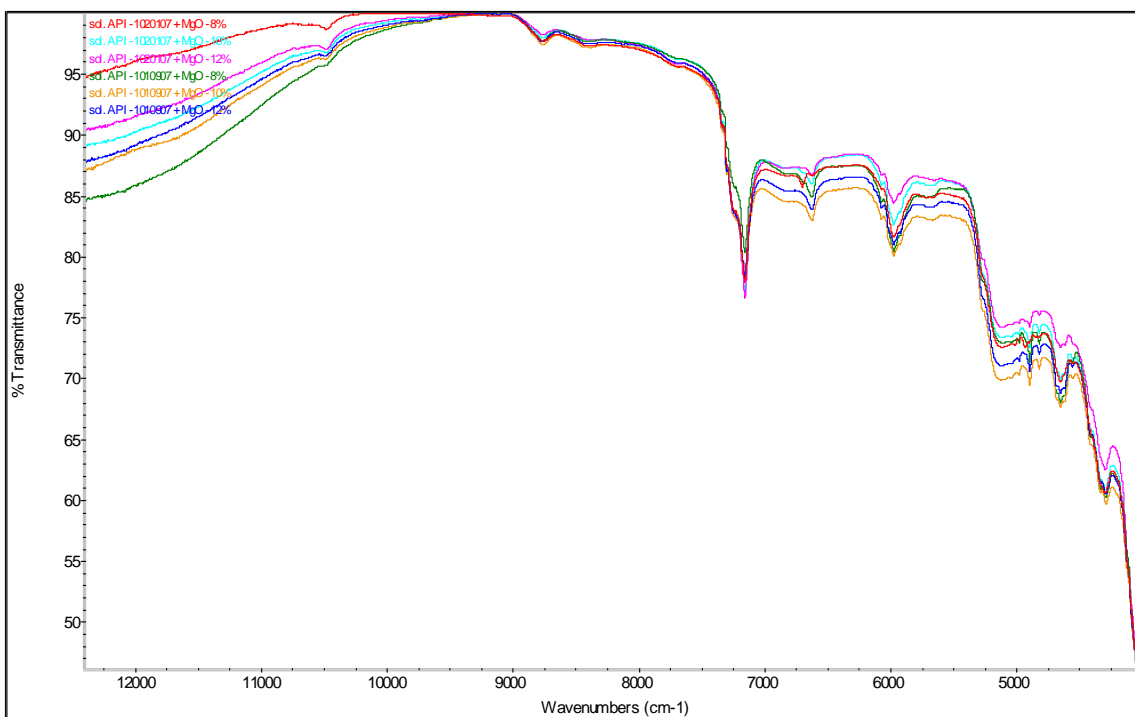


Obrázek 6.8.2.2. Počítačový součet a spektra prostých směsí API a MgO – jasná podobnost spekter. (no scale)

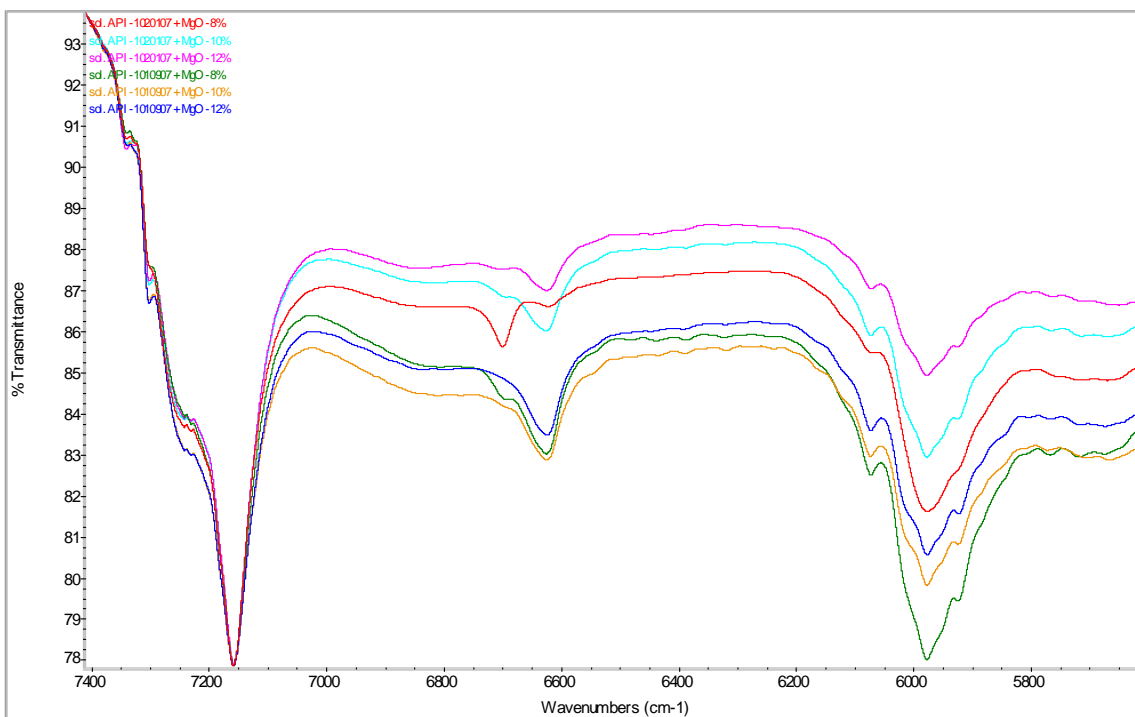


Obrazek 6.8.2.3. Spektrum počítačového součtu a krystalů API a MgO z roztoků – 8% poměr je odlišný. (no scale)

6.8.3. POROVNÁNÍ ŠARŽÍ API – 1010907 A API – 1020107



Obrázek 6.8.3.1. Porovnání API – 1010907 a API 1020107. (full scale)



Obrázek 6.8.3.2. Výřez předchozího spektra – 7400-5600 cm⁻¹. (full scale)

7. Diskuze a závěr

7.1. Diskuze

Po vytvoření binárních směsí bylo přistoupeno k analýze, která probíhala srovnáním spekter počítačového součtu spekter a spekter získaných po vysušení rozpuštěných binárních směsí. Také byly obdobnou metodou vytvořeny a analyzovány standardy jak obou šarží API, tak i standardy jednotlivých excipientů.

STANDARDY API

Ze spekter je jasně patrné, že API před přelitím milli-Q vodou a EtOH měly amorfni formu (potvrzeno XRD), která se posléze při tomto procesu mění na formu krystalickou. Rozdílnost struktury amorfni formy a krystalické formy je nejmarkantněji viditelná v oblasti mezi 9200-7800 cm^{-1} , mezi 7500 cm^{-1} až 6500 cm^{-1} a od 5500 do 4500 cm^{-1} . Potvrzení krystalické struktury bylo opět ověřeno pomocí XRD.

Čistá API – 1020107 vykazovala zvláštní fenomén, který byl k vidění posléze i dále, tj. spektrum vykazovalo vlastnosti jak krystalické, tak amorfni formy API. Dobře viditelný je tento fenomén v oblasti 7000-6000 cm^{-1} , kde jsou viditelné dva ostré pásy, přičemž jeden svou polohou odpovídá pásu z amorfni formy, druhý je však z formy krystalické.

L-METHYL-D-GLUCAMINUM

Spektra jasně prokázala tvorbu interakcí API a MGL při proceduře granulace. Zmizel ostrý pás 9500 cm^{-1} , pásy okolo 7800 cm^{-1} a ostrý pás 6500 cm^{-1} se viditelně zmenšil.

Tento efekt lze pravděpodobně vysvětlit tím, že MGL je amin a studovaná API má ve své struktuře karboxylovou funkci a vytvořila se tedy sůl API a MGL.

U API – 1010907 jedno procentní poměr jasně vykazuje pouze polymorfickou strukturu krystalu. Dvou a tři procentní poměr vykazují jak strukturně polymorfické prvky krystalu, tak i amorfni formy. Sedmi a pěti procentní poměr již vykazuje pásy náležící pouze amorfni formě API a MGL.

API – 1020107 se chová rozdílně: 1%, 3% a 5% poměr vykazují stejné pásy, tj. pásy okolo 7200 cm^{-1} a okolo 6600 cm^{-1} – pásy krystalické formy API. Naopak 2% a 7% poměr ukazuje relativní chybění pásu okolo 7200 cm^{-1} . Lze se i dopátrat lehce vystupujícího pásu okolo 6700 cm^{-1} (7% poměr), avšak i tyto spektra mají ještě pásy krystalické API v oblasti 6600 cm^{-1} . Pravděpodobně tedy obsahují směs amorfni a krystalické formy v blíže nespecifikovaném

poměru. Za pozornost také stojí pás kolem 6475 cm^{-1} , který se výrazněji projevuje v případě 7% poměru a lze ho přiřadit pásu MGL.

MAGNESIUM STEARAS

Pozorovatelné změny jsou v oblasti 7200 cm^{-1} , 6700 cm^{-1} a 6600 cm^{-1} . Pokud tedy zanedbáme drobný pás 7050 cm^{-1} (pás změny MgST, viz. obrázek 6.3.1. a jeho popis), pak z tohoto vyplývá, že v případě API – 1010907 opět dobře pozorovatelná změna spekter v oblastech náležící změně polymorfů API. Avšak oproti druhé šarži se zde ukazuje fakt, že u API – 1010907 se u všech tří koncentrací objevovala jak amorfni tak krystalická forma API, na rozdíl od API – 1020107, kde 0,3% poměr obsahuje téměř výhradně jen krystalickou formu API, ostatní dva poměry obsahují opět jejich směs. Pás amorfni API je posunut o cca -15 cm^{-1} , pravděpodobně kvůli záměně hořčnatých iontů za ionty soli API.

HYDROXYPROPYLCELLULOSUM LH 21

V tomto případě je potřeba opatrnosti, jelikož hlavní pásy API jsou deformovány pásy AcDiSolu (okolo 6800 cm^{-1}).

Jediná viditelná změna opět nastává v polymorfické struktuře API, která se znovu mění z amorfni na krystalickou.

Opět se objevuje fakt, že spektra krystalů z roztoků poskytují jasné známky jak amorfni struktury, tak i struktury krystalické. Rozdíl je však v poměrech, kde je toto pozorovatelné: API – 1010907 mění polymorfickou strukturu na krystal v 8% a 10% poměru (12% poměr vykazuje hlavně znaky amorfni); na rozdíl od API – 1020107, u které změnu polymorfie výrazně pozorujeme hlavně u 8% poměru.

SILLICA COLLOIDALIS ANHYDRICA

Hlavní změny standardu po rozpuštění se odehrávají v oblasti pod 5500 cm^{-1} .

API – 1010907 vykazuje znovu změnu polymorfické struktury na krystal u všech zmíněných poměrů. API – 1020107 však vykazuje skutečnost, že 0,1% poměr a 0,36% poměr se chovají obdobně, tj. jsou bez interakcí, avšak API zde vystupuje jako krystalický polymorf, na rozdíl od 0,5% poměru, kde je zachována amorfni struktura API. Z porovnání obou šarží je patrná podobnost chování API. Jediný rozdílný poměr je 0,5% poměr s API – 1020107, kde API nekystalizuje a zůstává tak v amorfni formě.

CARMELLOSUM NATRICUM CONEXUM

I u tohoto excipientu je potřeba opatrnosti, jelikož hlavní pásy API jsou deformovány pásy AcDiSolu (okolo 6800 cm^{-1}).

AcDiSol ve všech poměrech stabilizuje amorf a nedovoluje změnu polymorfické struktury na krystal. Odehrávají se však další změny, protože pásy neodpovídají ani amorfní ani krystalické struktuře. Další indikátory však nenasvědčují tomu, že by měl amorf přejít na formu krystalu – chybí charakteristický pás 7200 cm^{-1} . AcDiSol v případě API – 1010907 vykazuje rozdílnost v 5% poměru a, jak později ukázalo ss-NMR, vytváří v tomto případě solvát. API – 1020107 se chová podobně, avšak 3% poměr je směsí solvátu a amorfu. 5% a 7% poměr již vykazují znaky pouze solvátů. Tedy 5% poměr u API – 1010907, 5% poměr a 7% poměr u API – 1020107 se chovají podobně. 3% a 7% poměry u API – 1010907 se chovají také podobně. 3% poměr u API – 1020107 je rozdílný od všech ostatních. Pro určitost faktu, že se jedná o solvát, by bylo potřeba ještě změřit difraktogramy (XRD), které nejsou dosud k dispozici.

POLYSORBATUM 80

Experiment v tomto případě byl proveden pouze jednou, protože nebyla dostupná transflektanční kyveta, kterou se dá změřit polotekutý vzorek. Klasickou kyvetou se bohužel vzorek tweenu nedal změřit kvůli vysoké viskozitě vzorku.

Rozdílnost spekter opětně spočívá ve změně polymorfické struktury API z amorfní na krystalickou.

MAGNESII OXIDUM PONDEROSUM

V tomto případě se odehrála dobře viditelná změna již po rozpuštění standardu MgO a to v oblasti 5350 cm^{-1} až 4800 cm^{-1} . Menší změny se odehrály také v oblastech okolo 10500 cm^{-1} a $7400\text{-}7000\text{ cm}^{-1}$.

MgO v roztoku ztrácí pás 7400 cm^{-1} , který je viditelný v počítačovém součtu, ale ve spektrech krystalů z roztoků chybí. Další změnou je posun pásu 6700 cm^{-1} na hodnotu cca 6630 cm^{-1} , který odpovídá API. Oblast $5300\text{-}4700\text{ cm}^{-1}$ je také pozměňená. Za tuto změnu by mohla být zodpovědná záměna hořečnatých iontů v soli API.

Vzorky API – 1020107 ukazují zajímavou skutečnost: 10% poměr a 12% poměr se chovají obdobně – probíhají obdobné změny jako v případě API – 1010907. Naproti tomu 8% poměr

u API – 1020107 vykazuje radikální odlišnost, protože má pás okolo 6700 cm^{-1} , který náleží amorfní formě API, tj. odpovídá svojí polohou počítačovému spektru (je však lehce posunutý o cca -15 cm^{-1} – opět možná způsobené záměnou iontů soli API za ionty Mg^{2+}), z čehož vyplývá, že se v tomto poměru polymorf (resp. „amorfní“) API stabilizuje. Tento jev je pozorovatelný pouze u této API a tohoto poměru. 8% poměr u API – 1010907 má tento pás také lehce naznačený, ale není tak výrazný jako u výše zmiňovaného vzorku.

V případě MgO se ukazuje další zajímavá skutečnost: všechny ostatní vzorky (tj. oba 10% poměry a oba 12% poměry) vykazují vlastnosti jako krystal, avšak pás odpovídající krystalu (měl by být okolo 6600 cm^{-1}) je posunutý k 6630 cm^{-1} .

Spektra měřená ss-NMR spektra naznačují, že se opět s největší pravděpodobností znovu jedná o nějaký druh solvátu. Znovu by bylo pro potvrzení potřeba změřit difraktogramy, které bohužel nejsou k dispozici.

7.2. Závěr

Dle stanovených cílů byla v této práci provedena studie interakcí jednotlivých excipientů se dvěma šaržemi API. Tyto šarže se navzájem lišily velikostí částic. Hlavním důvodem pro přikročení k této práci byly nekorelující bioekvivalenční studie (BES), které dávaly vytušit nějakému problému v technologii lékové formy, resp. v přípravě lékové formy.

Z diskuze vyplývá několik závěrů, které mohou mít nepříznivý vliv na bioekvivalenční studie:

- 1) bylo potvrzeno, že na změnu polymorfické struktury stačí opravdu jen prosté rozpuštění API v roztoku, kterou se směs granuluje a zpětné vysušení
- 2) ve většině případů se amorfní struktura mění na strukturu krystalickou – výjimky jsou popsány v diskuzi
- 3) u vzorků API s megluminem, MgST, AcDiSol-em a MgO je jasně patrná interakce
- 4) některé excipienty v určitých poměrech stabilizují API a neumožňují změnu polymorfní struktury z amorfní na krystalickou formu

Solid-state NMR potvrdilo, že v případě MgO se pravděpodobně nemění polymorfická struktura jen na krystalickou formu, tak jako u jiných excipientů, ale mění se pravděpodobně i na solvát. Stejně tak v případě rozdílností u AcDiSolu a MgST.

Z uvedených závěrů tedy vyplývá, že za zhoršené bioekvivalenční studie (BES) může být zodpovědná změna polymorfické struktury API. Dále také, lze vyslovit předpoklad, že povaha interakcí API s některými excipienty je z části zodpovědná za zhoršení absorpce. Řešením by pravděpodobně mohla být změna operačního listu (technologického postupu).

8. Abstrakt

8.1. Abstrakt v českém jazyce

Léková formulace se obvykle skládá z aktivní farmaceutické látky (látek), které jsou vhodně skombinovány s excipienty. Tyto jsou přidávány z několika důvodů:

1. usnadnění přípravy formulace
2. zajištění potřebné stability léčivé látky v průběhu výrobního procesu
3. skladování
4. funkce DDS (drug delivery system)
5. mnoho dalších

Interakce ve formulaci mohou ovlivnit farmaceutické a biofarmaceutické vlastnosti jako je fyzikální a chemická stabilita, rychlost rozpouštění a obecně celkovou biodostupnost dané účinné látky.

Tato práce se zabývá přípravou binárních směsí API (active pharmaceutical ingredient, aktivní farmaceutická substance) s excipienty, podle stanoveného technologického postupu (vychází z operačního listu), a v následné analýze „produktů“. Analýza probíhala pomocí infračervené spektroskopie v blízké oblasti s Fourierovou transformací (FT-NIR), což je rychlá nedestruktivní metoda, která nabízí mnoho způsobů použití. Cílem práce bylo pozorování možných interakcí API a excipientů a také popis polymorfni struktury API, resp. její změny. Provedené analýzy potvrdily interakce mezi API více než s jedním excipientem, a také potvrdily předpoklad, že i obyčejné rozpuštění API a opětovné vysušení roztoku mění polymorfii API. Dále také, lze vyslovit předpoklad, že povaha interakcí API s některými excipienty je z části zodpovědná za zhoršení absorpce API. Toto tvrzení posléze potvrdily PAMPA experimenty.

8.2. Abstract in English Language

A drug formulation usually consists of an active pharmaceutical ingredient(s) – API(s) – combined with excipients that have been added to the formulation:

1. to facilitate its preparation
2. to ensure the required stability of the drug in the formulation during the manufacturing process
3. during the storage
4. to function as a drug delivery system
5. many others

The interactions in formulations can influence pharmaceutical and biopharmaceutical properties, such as physical and chemical stability, dissolution rate, and total bioavailability, of the final dosage form.

This thesis dealt with the preparation of binary mixtures of API and excipients and their analyses. The preparation of binary mixtures was in correlation with formulation process. The following analyses proceeds by Fourier transform near-infrared spectroscopy (FT-NIR), which is a fast and non-destructive analytical technique that offers many advantages for a broad range of applications. Main topic was to observe the possible interaction of API and excipients and/or to describe the polymorphism of the API, respectively its change. The analyses confirmed interactions between API and more than one excipient. It also confirmed that even the simple dissolution of the API and re-drying of the solution changes API's polymorphism. Also we can say that those interactions between API and the excipients are affecting the absorption of the API. This claim was confirmed by PAMPA experiments.

9. Použitá literatura

Kapitola 3. Infračervená spektroskopie zpracována z:

<http://spectroscopy.lbl.gov/FTIR-Martin/> (září 2009)

http://www.mpcfaculty.net/ron_rinehart/12A/IR/default.htm a přidružené odkazy (září 2009)

<http://orgchem.colorado.edu/hndbksupport/irtutor/tutorial.html> (září 2009)

přednášky uveřejněné ve sborníku kurzů „Měření vibračních spekter“ (19.1. – 23.1. 2009) a „Interpretace vibračních spekter“ (26.1. – 30.1.2009) pořádaných Spektroskopickou Společností Jana Marka Marci ve spolupráci s ÚACH a Centrálními laboratořemi VŠCHT Praha

Kapitola 4. Polymorfismus zpracována z:

BERNSTEIN, J.: Polymorphism in Molecular Crystals; Clarendon Press, Oxford (2002).

GRANT, D. J. W.: Theory and Origin of Polymorphism. In: Polymorphism in Pharmaceutical Solids, BRITTAİN, H. G. (Ed.); Marcel Dekker, Inc.; New York, Basel (1999), pp. 1-33.

BRITTAİN, H. G. and BYRN, S. R.: Structural Aspects of Polymorphism. In: Polymorphism in Pharmaceutical Solids; BRITTAİN, H. G. (Ed.); Marcel Dekker, Inc.; New York, Basel (1999), pp. 73-124.

BRITTAİN, H. G.: Methods for the Characterization of polymorphs and Solvates. In: Polymorphism in Pharmaceutical Solids; BRITTAİN, H. G. (Ed.); Marcel Dekker, Inc.; New York, Basel (1999), pp. 227-278.

BRITTAİN, H. G. and FIESE, E. F.: Effects of Pharmaceutical Processing on Drug Polymorphs and Solvates. In: Polymorphism in Pharmaceutical Solids; BRITTAİN, H. G. (Ed.); Marcel Dekker, Inc.; New York, Basel (1999), pp. 331-361.

BYRN, S. R. and XU, W. and NEWMAN, A. W.: Chemical reactivity in solid state pharmaceuticals: formulation implications.; Adv. Drug Deliv. Revs.; 48; 115-36 (2001).

BYRN, S. R. and PFEIFFER, R. and GANEY, M.: Solid state chemistry of drugs, 2nd edition.; SSCI, Inc.; West Lafayette, IN, USA (1999).

MOTHERWELL, W. D. S.: Crystal structure prediction and the Cambridge Structural Database.; Mol. Cryst. Liq. Cryst.; 356; 559-67 (2001).

BECKMANN, W.: Seeding the desired polymorph: background, possibilities, imitations and case studies.; Org. Process Res. Dev.; 4; 372-83 (2000).

Polymorphism in the Pharmaceutical industry; HILFIKER, R. (Ed.); Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA; Weinheim, Germany (2006).

