

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszerésztudományi Kar

Gyógyszertechnológiai Program
Programvezető: Prof. Dr. Habil. Révész Piroska MTA doktor

Gyógyszertechnológiai Intézet
Témavezető: Prof. Dr. Habil. Révész Piroska MTA doktor

Mártha Csaba

**Gyógyszertechnológiában használt szerves anyagok kristá-
lyosságának változása**

Szigorlati bizottság:

Elnök: Prof. Emer. Dr. Erős István MTA doktor, SZTE Gyógyszertechnológiai Intézet
Tagok: Dr. Dredán Judit PhD, SE Gyógyszerészeti Intézet
Dr. Gáspár Róbert PhD, SZTE Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet

Bíráló bizottság:

Elnök: Prof. Dr. Fülöp Ferenc, akadémikus SZTE Gyógyszerkémiai Intézet
Opponensek: Dr. Fekete Pál PhD, Meditop Gyógyszeripari Kft.
Francsicsné Dr. Czinege Erzsébet PhD, Richter Gedeon Nyrt.
Tagok: Prof. Dr. Soós Gyöngyvér PhD, SZTE Klinikai Gyógyszerészeti Intézet
Dr. Szakonyi Gerda PhD, SZTE Gyógyszeranalitikai Intézet

Szeged
2015

1. Bevezetés

Napjainkban egyre inkább előtérbe kerül a gyógyszeranyagok kristályszerkezetének vizsgálata. A kristályszerkezet változása, mint például polimorf módosulatok vagy az amorf forma megjelenése, jelentős eltéréseket okozhat a hatóanyag oldódási sebességében és biohasznosulásában.

Jelen tanulmány összeállításakor az elsődleges célunk volt, hogy megvizsgáljuk a kiválasztott, különbözően amorfizálható gyógyszeranyagok kristályosságának változását a gyógyszertechnológiában használt eljárások során.

Az amorf állapot a szilárd fázis al-fázisa. Ellentétben a kristályos anyagokkal, az amorf anyagok elemi cellája nem mutat hosszú távú rendezettséget. Az amorf anyagok nem rendelkeznek karakteres olvadásponttal (T_m), alacsony hőmérsékletről melegítve egy adott tartományban, az üveges átmenetnél (T_g) fokozatosan meglágyulnak. T_g alatt az amorf anyagok ridegek, kemények, felette rugalmasak, viszkózusak. Minimális rácsenergiával rendelkeznek, ezért instabilak és nagy hajlandóságot mutatnak a rekristallizációra, továbbá higroszkóposak és kémiai aktivitásuk meghatározó.

A gyógyszergyártás során az anyagok amorf formája több úton is létrejöhet: az anyagot szándékosan amorfizálhatjuk oldószer gyors eltávolításával, olvadéktechnológiával, vagy őrléssel. Manapság a figyelem viszont egyre inkább azon esetek felé fordul, amikor az anyag amorf formában történő előállítása nem kifejezett cél, inkább egy gyártási eljárás következménye. Ehhez fontos, hogy előre prediktálni tudjuk az anyagok amorfizálódási hajlamát. Kerč & Srčič (1995) úgy definiálta az anyagokat, hogy rosszul amorfizálható az, amelyiknél teljesül a: $T_g/T_m < 0,7$, illetve jó amorfizálható az, amelyiknél a $T_g/T_m > 0,7$.

A segédanyagoknak is fontos szerep jut, amikor olyan technológiai megoldást alkalmazunk, ami egy adott anyag kristályosságát is megváltoztathatja. Bizonyos segédanyagok alkalmazása a rosszul amorfizálható anyagok kristályosságának letörését is eredményezheti.

Az amorf és kristályos anyagok kristályszerkezetének vizsgálatára számos módszer dolgoztak ki, amelyek azok eltérő fizikai, illetve fizikai-kémiai tulajdonságain alapszanak, úgymint eltérő megjelenés, molekula-szerkezet, intra-molekuláris kapcsolatok, nagyobb higroszkopicitás. Például: porröntgen diffraktometria (XRPD), termoanalitika, rezgési spektroszkópia, mágneses rezonancia stb.

2. Célkitűzés

Munkánk során célul tűztük ki olyan anyagok kristályosság változásának vizsgálatát, amelyek egymástól eltérő tulajdonságokkal rendelkeznek, különösen az amorfizálhatóságukat tekintve. Ennek érdekében a következő feladatokat jelöltük meg:

- 1.) az amorfizálódás irodalmi háttérének megismerése különös tekintettel az alkalmazható vizsgálati módszerekre, valamint experimentális munkára alkalmas segéd- és hatóanyagok keresése, amelyeken az amorfizálódási hajlam vizsgálható,
- 2.) könnyen kivitelezhető, gyors módszer keresése, amely képes prediktálni a különböző anyagok amorfizálhatósági tulajdonságát,
- 3.) olyan segédanyag-pár kristályosság változásának vizsgálata, amelyek kémiaileg hasonlóak, de kristályszerkezetükben eltérőek, ugyanakkor viszonylag olcsó és széles körben használatos anyagok. Ezen tulajdonságoknak leginkább a mannit és a szorbit felelt meg,
- 4.) meloxicám (MX) kristályosság változásának vizsgálata segédanyag nélkül, valamint polimerekkel polivinilpirrolidon, (PVP) és polietilén glikol, (PEG) együtt őrölve,
- 5.) klopidogrél-hidrogénszulfát (CLP) amorfizálódási hajlamának tanulmányozása együtt őrölve kolloid szilicim-dioxiddal (Aerosil 200).

3. Anyagok és módszerek

3.1. A modell anyagok kiválasztása

30 gyógyszergyártásban használatos anyag amorfizálhatóságát vizsgáltuk meg. A T_m , T_g és T_g/T_m arányukat differenciál pásztázó kalorimetria (DSC) módszerrel állapítottuk meg.

A vizsgálat során először felmelegítettük a mintákat kevéssel az anyagok olvadáspontja felé. Az ekkor kapott endoterm csúcs adta a T_m -et. Ezután visszahűtöttük a mérőkamrát a T_g alá (~ 45 °C/min). Az ezt követő újabb felfűtés során kapott eredmény adta a T_g -t. Amennyiben ekkor is kristályos maradt a minta, rosszul amorfizálhatónak tekintettük, ha a görbéről leolvasható volt a T_g , akkor kiszámoltuk a T_g/T_m arányt és besoroltuk az anyagot. A további vizsgálatokhoz úgy válogattuk össze az anyagokat, hogy legyen köztük jól és rosszul amorfizálható, illetve egymáshoz kémiaileg hasonló és egymástól eltérő egyaránt.

Először a β -D-mannit és D-szorbit került kiválasztásra, mint modell vegyületek. Mindkét anyagot széles körben használják, mint édesítőszer, töltőanyag, vagy nedvességmegkötő segédanyag. Stabil, inert anyagok, így gyakran használatosak, mint segédanyag a tablettázás, fagyasztva szárítás, kapszulázás, vagy őrlés során.

A tiszta, kristályos meloxicámot (MX) (4-hidroxi-2-metil-*N*-(5-metil-2-tiazolil)-2*H*-benzotiazin-3-Karboxamid-1,1-dioxid) az EGIS Zrt.-től (Magyarország) kaptuk.

Az MX nem szteroid gyulladáscsökkentő hatóanyag erős fájdalomcsillapító és gyulladáscsökkentő hatással. Rossz vízoldékonyságú hatóanyag, ugyanakkor nagy membrán-permeabilitással rendelkezik.

A klopidoгрél-hidrogénszulfát (CLP) (metil (+)-(S)-alfa-(2-klorofenil)-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-5(4H)-acetát szulfate) II-es polimorf módosulatát szintén az EGIS Zrt.-től (Magyarország) szereztük be.

A CLP egy szájon át alkalmazható trombocita-aggregáció gátló vegyület, amelyet szív és érrendszeri betegségek kezelésében és megelőzésében használnak. Amorf és polimorf formái egyaránt ismeretesek az irodalomban.

Az őrléshez használt PVP C30-at (molekulatömeg: 58.000) a BASF-től (Németország) vásároltuk, míg a PEG 6000-et a Sigma-Aldrich Chemie GmbH-től (Németország). Az Aerosil 200-at (hidrofil kolloid szilícium-dioxid) a Nippon Aerosil Co.-től (Japan) szereztük be.

4. Minta előkészítési módszerek

A kristályos cukor-alkoholok (mannit és szorbit) és a ko-őrleő anyagok (PVP C30 és PEG 6,000) 1:1 arányú fizikai keverékét kemény poliamid mozsárba mértük. Ugyanannyi tömegű achát őrlő-golyókat helyeztünk el a mozsárba, majd egy Fritsch - Pulverisette® bolygómalomban végeztük az őrlést. A keverékeket 120 percig 400 rpm fordulaton őrltük. Mintákat a következő időpontokban vettünk: 20, 40, 60, 80, 100 és 120 perc.

MX-et, mint hatóanyagot és őrlési segédanyagokat (PEG 6000 vagy PVP C30) rozsdamentes acél mozsárba mértünk 10 db rozsdamentes acél golyóval és Retsch PM 100® bolygómalommal őrltük. Az anyagok arányát egy korábbi munkánk során határoztuk meg, úgy hogy a hatóanyag szemcsemérete a nano-tartományba essen. PVP esetében ez az arány 1:1, míg a PEG esetében 1:2. 140 percig őrltük a keverékeket és mintákat vettünk a következő időpontokban: 20, 40, 60, 80, 100, 120 és 140 perc. Az őrlés során minden mintavétel előtt közvetlenül mértük a mozsár hőmérsékletét. A hőmérséklet egyetlen esetben sem haladta meg az 56 °C-ot.

A CLP és Aerosil 200 együtt őrlése is a fent említett Retsch bolygó malomban történt (Retsch PM 100®). A CLP és Aerosil 200 arány egy korábbi munkánk során került meghatározásra: CLP:Aerosil 200 7:3 arányú keverékét. 240 percig őrltük és mintákat vettünk 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180 és 240 perc őrlés után.

5. Vizsgáló módszerek

5.1. Porröntgen diffrakció (XRPD)

Az XRPD vizsgálatokat Bruker D4 és Bruker D8 Advance diffraktométerrel (Bruker AXS GmbH, Németország) végeztük ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$). A mintákat 40 kV feszültséggel és 40 mA áramerősséggel vizsgáltuk 3° és 40° 2θ között, $0,05^\circ\text{s}^{-1}$ sebességgel $0,010^\circ$ lépésközzel. A kapott görbék csúcs alatti területeit a DIFFRACTplus EVA szoftver segítségével számoltuk ki.

5.2. Differenciál pásztázó kalorimetria (DSC)

A DSC vizsgálatokat Netzsch STA-409 (Netzsch, Németország) és Mettler-Toledo DSC 821e (Mettler-Toledo, Svájc) készülékekkel végeztük. 4,5-5,5 mg mintát helyeztünk lyukasztott alumínium tégelyekbe és 25-200 °C között vizsgáltuk argon gáz öblítése mellett, 10 and 20 °C min^{-1} fűtési sebességekkel dolgoztunk.

5.3. Termogravimetria (TG)

A TG vizsgálatokat Mettler-Toledo TGA/DSC1 (Mettler-Toledo, Svájc) készülék segítségével végeztük. 4,5-5,5 mg mintát helyeztünk lyukasztott alumínium tégelyekbe és 25-200 °C között vizsgáltuk azokat 20 °C min^{-1} fűtési sebességgel.

5.4. Fourier transzformált infravörös (FT IR) spektroszkópia

Az FT IR spektrumok felvétele Bio-Rad Digilab Division FTS-65A/896 FT IR spektrométer (Bio-Rad Digilab Division FTS-65A/869, USA) segítségével történt. A mintákat 4000 és 400 cm^{-1} között vizsgáltuk, 4 cm^{-1} optikai felbontással. Harrick's Meridian SplitPea egyszeres visszaverődésű, gyémánt, ATR készülék. Thermo Scientific GRAMS/AI Suite szoftver (Thermo Fisher Scientific Inc., USA) segítségével történt az analízis.

5.5. Pásztázó elektronmikroszkópia (SEM)

Az MX részecskék morfológiáját SEM (Hitachi S4700, Hitachi Scientific Ltd., Japan) készülék segítségével vizsgáltuk. (Bio-Rad SC 502, VG Microtech, UK) alkalmaztunk, hogy növeljük a minták felszínének vezetőképességét. A légnyomás 1,3-13,0 mPa volt. A mintákat bevonattal láttuk el argon gáz alatt vizsgáltuk őket 10 kV feszültséggel és 10 μA áramerősség alkalmazásával. A részecskeméretet SEM felvételek alapján határoztuk meg ImageJ szoftver alkalmazásával.

6. Eredmények

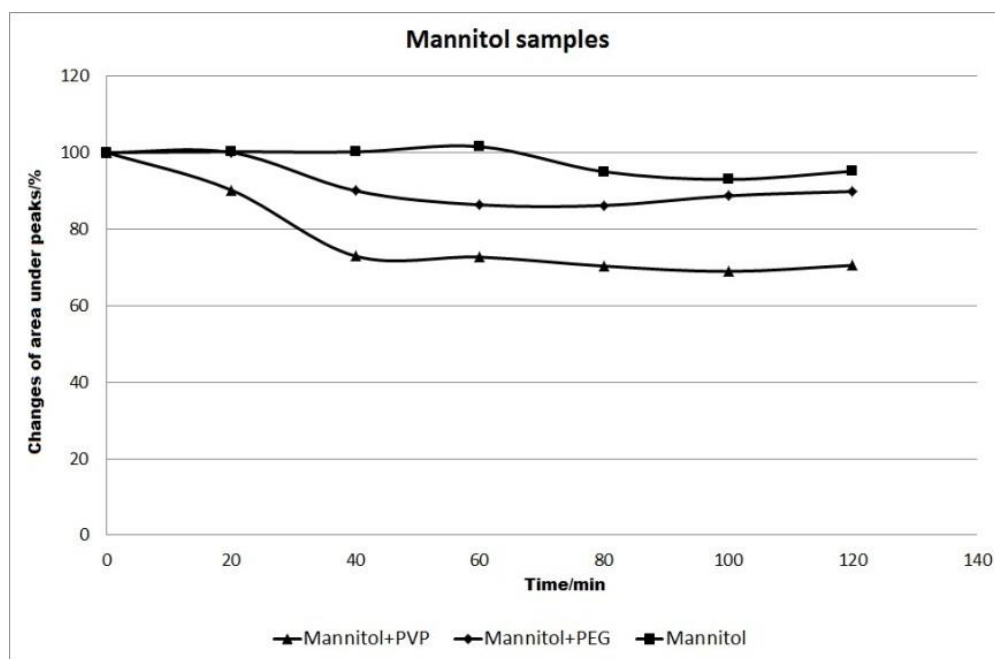
6.1. Cukor-alkoholok vizsgálata

6.1.1. Mannit kristályosságának vizsgálata

DSC vizsgálattal megállapítottuk, hogy a β -D-mannit T_g/T_m aránya kisebb, mint 0,7. (T_g : 285,75 K; T_m : 440,05 K), így azt rosszul amorfizálhatónak tekintjük.

A DSC vizsgálat azt mutatta, hogy a mannit önmagában őrölve nem szenvedett kristályossági fok csökkenést az őrlés során. A polimerekkel együtt őrölt mannit is hasonlóan viselkedett: a keverékek DSC görbéi csak a mannit endoterm olvadáspontját mutatták.

Az XRPD vizsgálat során a PVP önmagában az amorf anyagokra jellemző specifikus csúcs nélküli diffraktogramot adott, amíg a PEG, ami egy szemi-kristályos anyag, kiszélesedő csúcsot mutatott. A tiszta mannit a β -D formára jellemző specifikus csúcsokat adta. 120 perc őrlés után a mannit diffraktogramján ugyanazokat a csúcsokat találtuk, mint az őrlés előtt. A csúcsok nem tűntek, vagy tolódtak el. A következő 2θ fokoknál jelentkező csúcsok görbe alatti területeit ($9.5\text{-}11^\circ 2\theta$; $13.7\text{-}15.5^\circ 2\theta$ és $17.7\text{-}19.9^\circ 2\theta$) integráltuk. Ezen eredmények alapján elmondhatjuk, hogy lényeges változás nem történt az anyag kristályosságában (1. ábra).



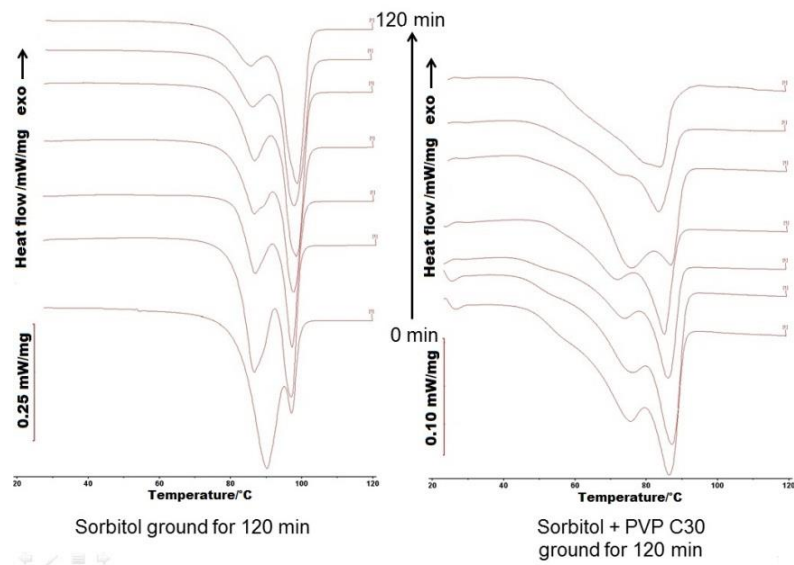
1. ábra. A mannit minták (segédanyag nélkül és PVP illetve PEG segédanyagokkal együtt őrölve) kristályosságának változása az őrlési idő függvényében.

Az őrlési módszert polimerek jelenlétében is megismételtük: a minták, amelyek PEG-gel készültek a mannitra jellemző csúcsokat mutatták a PEG-re jellemző széles csúccsal kiegészülve $22\text{-}24^\circ 2\theta$ -között. A kristályossági fok számítás bebizonyította (a csúcs alatti terület integrálása alapján), hogy csak csekély amorfizációval kell ebben az esetben számolni (40 perc őrlés után). Csúcsok nem tűntek el, nem tolódtak el és nem jelentek meg újak, így polimorf módosulattal nem kell számolnunk. Csak kis mértékben volt eltérő a kristályosság változása a PVP esetében. A csúcsok erőteljesebben csökkentek a növekvő őrlési idő függvényében.

6.1.2. Szorbit kristályosságának vizsgálata

A T_g/T_m (K/K) arány a D-sorbit esetében 0,75 (T_g : 273,92 K; T_m : 364,55 K), amely szerint az anyag jól amorfizálható.

A DSC vizsgálat igazolta, hogy a vizsgált szorbit epszilon (T_m : 364,55 K) és gamma (T_m : 372,05 K) polimorf módosulatok keveréke. A két polimorf egymáshoz viszonyított aránya az őrlés során változott. Kezdetben a szorbit főleg epszilon formát tartalmazott, majd az őrlés hatására a gamma forma került túlsúlyba. Az őrlés során az epszilon forma kristályossága letört és rekrisztallizálódott gamma formában.



2. ábra. A szorbit és PVP ko-őrölt minták DSC görbéi.

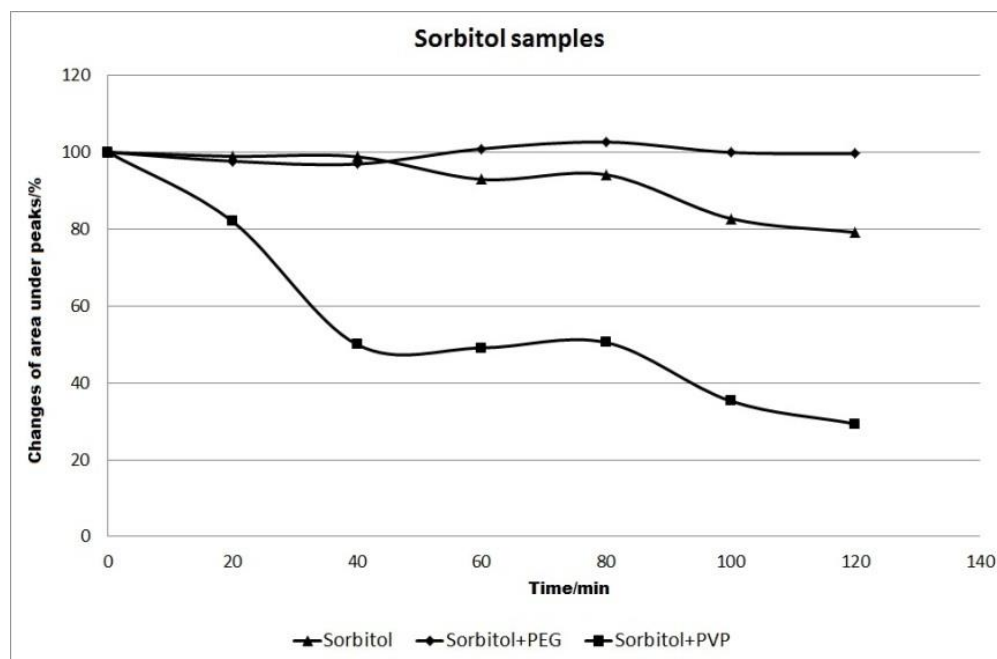
Hasonlóan viselkedett a szorbit PVP segédanyag jelenlétében. A szorbit olvadáspontja lecsökkent a polimerrel való keverés következtében. A DSC görbén megjelent a szorbit mindkét jelen lévő polimorf módosulatra jellemző karakterisztikus endoterm csúcs. Az őrlés hatására mind az epszilon, mind a gamma módosulat kristályossága csökkent a rendszerben, a PVP megakadályozta a szorbit rekrisztallizációját.

A DSC vizsgálat szerint a szorbit kristályossága PEG polimerrel együtt őrlve nem csökkent kimutatható mértékben.

A kristályosság csökkenésének vizsgálatára XRPD módszert is alkalmaztunk, amely lehetővé tette az amorf frakció számítását.

A szorbit röntgen diffraktogramján főleg az epszilon formára jellemző csúcsok voltak láthatóak, de a gamma forma csúcsai is megjelentek. Az őrlés során az epszilon formára jellemző csúcsok jelentősen csökkentek, míg a gamma formára jellemzőek ezzel párhuzamosan, de kisebb mértékben nőttek. Ehhez hasonló polimorf átalakulás volt megfigyelhető akkor,

amikor a szorbitot a PVP-vel őrlték együtt. Az őrlés során az epsilon formára jellemző csúcsok nagymértékben csökkentek.



3. ábra. A szorbit minták (önmagában és PVP illetve PEG segédanyagokkal együtt őrlve) kristályosságának változása az őrlési idő függvényében.

Az epsilon forma kristályosság csökkenését a karakterisztikus csúcsok görbe alatti területei alapján határoztuk meg. A csúcsok a következők voltak: $9,5-11^\circ 2\theta$, $23,15-24,53^\circ 2\theta$ és $28,2-29,6^\circ 2\theta$. Megfigyelhető, hogy a rendszer már az őrlés első 40 percében elveszítette a kristályos frakció 50%-át. 40 perc után a kristályosság csökkenés látszólag lelassul, majd folytatódik. Az őrlés végére kevesebb, mint 30% kristályos szorbit maradt a keverékben (3. ábra). A maradék 70% nagyrészt elveszítette a rendezett kristályos állapotát, kisebb része pedig gamma formává alakult.

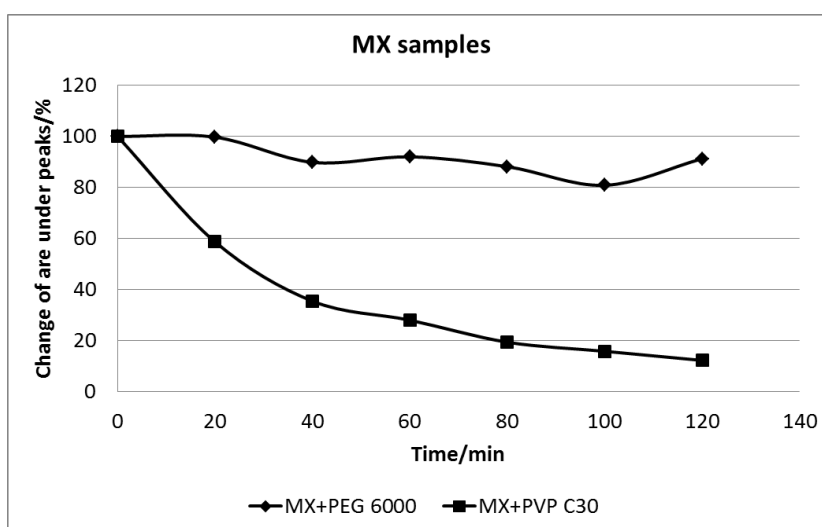
A csúcs, amely $11,5-12,1^\circ 2\theta$ között volt detektálható tisztán a gamma formára jellemző. A többi vagy közös, vagy csak tisztán az epsilon-ra jellemző. A változások, amelyek megfigyelhetők voltak, arra engednek következtetni, hogy a folyamatos kristályosság csökkenés mellett az amorf frakció egy része gamma formává rekrisztallizálódott (3. ábra).

A minták, amelyeket PEG polimerrel őrlték együtt másként viselkedtek az őrlés okozta mechanikai behatásra: a kristályos frakció mennyisége 100%-körül alakult végig az őrlés során.

6.2. Meloxicám kristályosságának vizsgálata

Az MX-et azért választottuk modell vegyületnek, mert kicsi az amorfizálódási hajlama. A T_g/T_m (K/K) aránya 0,63. A segédanyagként használt polimereknek a PVP-t és a PEG-et választottunk.

A minták röntgen diffraktogramján megjelentek az MX karakterisztikus csúcsai. A 4. ábra mutatja a minták kristályossági fok változását az őrlés során. A PEG 6000-rel készült minták esetében látszik, hogy nem történt amorfizáció az őrlés során, a csúcsok görbe alatti területei nem csökkentek. A minták, amelyek PVP-vel készültek másként viselkedtek: a csúcsok görbe alatti területei folyamatosan csökkentek az őrlés során. Az őrlés végén még maradt a rendszerben kristályos frakció.



4. ábra. PEG-gel és PVP-vel együtt őrlött MX minták kristályossági fok változása.

Hogy megvizsgáljuk, az anyag szenvedett-e bomlást az őrlés során, illetve, hogy esetleges kötések után kutassunk, FT-IR spektroszkópiás vizsgálatokat végeztünk. Nem találtunk kimutatható változást a PEG-gel készült minták esetében az őrlés során vett minták vizsgálatkor. Nem mozdult el, nőtt, csökkent, tűnt el, vagy jelent meg csúcs a görbéken.

A PVP-vel őrlött minták ez esetben is máshogy viselkedtek: számos változás figyelhető meg az őrlés hatására. A legfontosabb a $3725\text{-}2600\text{ cm}^{-1}$ közötti csúcsot érinti, amely az asz-szociált -OH csoportokra jellemző tartomány. Hasonló változás figyelhető meg a -CH és -NH csoportokra jellemző tartományban (3000 and 2800 cm^{-1}).

Egyéb nagyobb változások az MX szekunder amid csoportjait érinti az 1620 cm^{-1} (νCONH) és az 1550 cm^{-1} és 1530 cm^{-1} között (νNH).

Az észlelt változások egy gyenge másodlagos kötés kialakulására utalnak az MX karboxil csoportja és a polimer lánc között, ami segíti a hatóanyag stabilizálódását amorf formában.

Az SEM felvételek alapján a PEG helyileg megolvadt az őrlőgolyók katarakt és kaszkád hatása miatt, valamint csökkent szemcseméretű MX részecskék figyelhetőek meg az olvadt és megdermedt polimerben.

A PVP esetében nem figyelhető meg olvadás. Az MX szemcsék nem őrizték meg az éles kontúrjukat, méretük jelentősen csökkent.

6.3. Klopidoგრél-hidrogénszulfát kristályosságának vizsgálata

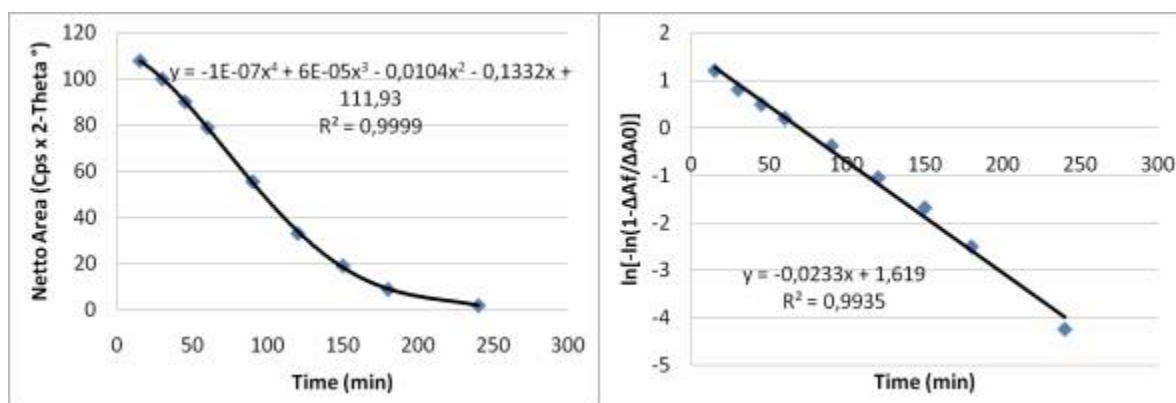
CLP-t, mint modell anyagot, azért választottuk, mert relatíve magas olvadásponttal rendelkezik, ezért nem olvad meg az őrlés során, illetve nagy eséllyel amorfizálható, hiszen a T_g/T_m (K/K) aránya 0,80. Őrlési segédanyagként az Aerosil 200-at választottuk.

Termoanalitikai módszereket gyakran használnak, amikor anyagok kristályosságát vizsgálják. A kiindulási CLP-t, Aerosil-t és a készült mintákat DSC módszerrel vizsgáltuk. A kiindulási CLP kristályos tulajdonságokat mutatott: éles csúcs jelent meg a görbén az olvadáspontjánál, 181,20 °C-nál. Az Aerosil amorf anyag, így nem adott jelet a DSC görbén.

A kivett minták görbéin is megjelent a CLP-re jellemző olvadást jelző endoterm csúcs, kivéve a 240 perc őrlés után vett mintáét. A csúcsok görbe alatti területe az őrlési idő függvényében folyamatosan csökken, míg az őrlés végére teljesen eltűnik - a minták kristályossága folyamatosan csökken az őrlés hatására, míg a keverék teljesen amorffá válik. A csúcsok az őrlés során folyamatosan eltolódtak az alacsonyabb hőmérséklet felé, míg egy új csúcs jelent meg 80 °C körül 120 perc őrlés után, ami folyamatosan nőtt az őrlés végéig.

A CLP por-röntgen diffraktogramján karakterisztikus csúcsok jelentek meg, amelyek arra utalnak, hogy a kiindulási CLP kristályos sajátságú volt.

Az őrlött minták diffraktogramjain is megfigyelhetőek voltak a CLP-re jellemző csúcsok. A fizikai keverék csúcsainak görbe alatti területe kisebb, mint a kiindulási CLP-jé, ami megfelel a kisebb hatóanyag koncentrációnak a mintákban. Az őrlés során a csúcsok alatti területek folyamatosan csökkentek, míg 240 perc őrlés után teljesen eltűntek. Az utolsó minta diffraktogramján csak az amorf anyagokra jellemző háttér látható. Az őrlött minták csúcsai nem tolódtak el, nem tűntek el csúcsok, vagy jelentek meg újak, tehát polimorf átalakulás nem történt. A minták kristályosság csökkenésének kvantifikálását is elvégeztük (5. ábra).



5. ábra A minták kristályosság csökkenésének kvantifikálása.

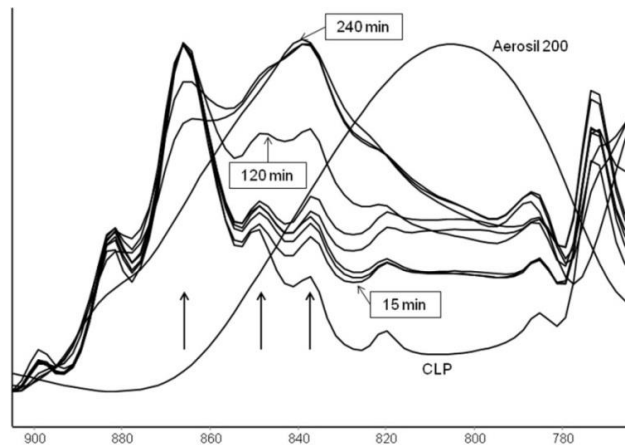
A 120 percnél tovább őrlött minták DSC görbéin megjelent egy új endoterm csúcs 80 °C körül. A csúcs az őrlés során folyamatosan nőtt és élesedett. Hogy meghatározhassuk, a csúcs eredetét az utolsó mintán (240 perc őrlés) TG és szabályozott páratartalmú és hőmérsékletű XRPD vizsgálatokat végeztünk.

A TG görbe alapján megállapítható, hogy a minta termodinamikailag stabil, az összes tömegvesztés a minta tömegének 3,33% volt a CLP olvadáspontjáig melegítve. 80 °C körül nem figyelhető meg semmilyen tömegcsökkenés, tehát az DSC görbén észlelt csúcs nem oldószer eltávozásból adódik.

A szabályozott páratartalmú és hőmérsékletű XRPD vizsgálat megmutatta, hogy a minta 80 °C alatt, felett és 80 °C-on is amorf fázisú, tehát a DSC görbén észlelt csúcs nem átkristályosodás.

A minták FT-IR vizsgálata megmutatta, hogy a minták spektrogramján több változás történt az őrlés során. Az egyik legfeltűnőbb változás az 1752 cm^{-1} -nél jelentkező $\nu\text{C}=\text{O}$ rezgések tartományában van. A csúcsok a 120 percnél tovább őrlött minták esetében folyamatosan eltolódtak az alacsonyabb hullámszámú tartomány felé és kissé csökkent az intenzitásuk és a csúcs alatti területük a növekvő őrlési idő függvényében (6. ábra)..

Változott a spektrogram a 865 cm^{-1} hullámszámnál lévő csúcsnál is, ahol a csúcs intenzitása csökkent 120 perc őrlés után. A dupla csúcs 858 cm^{-1} és 838 cm^{-1} -nél összeolvadt. 1200 cm^{-1} és 1135 cm^{-1} -nél lévő csúcsok intenzitása csökkent, míg 1150 cm^{-1} -nél lévő csúcs intenzitása nőtt folyamatosan 120 perc őrlés után.



6. ábra Az őrlött mintákról FT-IR spektrum csúcsainak változása.

A változások arra utalnak, hogy a CLP és az Aerosil molekuláris diszperz rendszert alkot. 120 perc őrlés után egy gyenge másodlagos kötés alakul ki a CLP és a szilícium-dioxid molekulák között. Ez a kötés elég erős ahhoz, hogy a CLP-t megtartsa amorf állapotában. Hasonló interakcióról számoltak be korábban a CLP és a szilícium-dioxid között, ahol a kialakult kötést hidrogén-híd kötésként jellemezték (Jójárt-Laczkovich & Szabó-Révész, 2011).

7. Összegzés és gyakorlati relevancia

- 1.) Elsődleges célkitűzésünk teljesült, amely szerint összegezzük az irodalmi háttérét az amorf anyagok vizsgálati lehetőségeinek, és hogy keresünk olyan lehetséges modellanyagokat, amelyek a gyógyszertechnológiában használatosak, kis molekulatömegűek, és eltérő hajlandóságot mutatnak az amorfizálódásra.
- 2.) Találtunk olyan egyszerűen és gyorsan kivitelezhető, megbízható és reprodukálható módszert, amelynek segítségével prediktálható volt számos segéd- és hatóanyag amorfizálódási hajlama. Segítségével kiválasztottunk a vizsgált anyagok közül azokat, amelyek a további experimentális munkában felhasználhatók, vizsgálatuk hosszabb távú következtetések levonására is alkalmas lehet. A módszer egyszerű, hiszen egyetlen termoanalitikai módszer segítségével kivitelezhető (DSC), nem szükséges nagy mintamennyiség, ugyanazon mintán vizsgálható az anyag kristályos és amorf fázisa, valamint jellemző termodinamikai tulajdonságai egyaránt. A módszerrel kiválasztottunk két egymással kémiai azonos cukoralkoholt, amelyek eltérőképpen amorfizálódnak, valamint két hatóanyagot: a meloxicámot, amelyet rosszul amorfizálódnak tekintünk, és a klopido-grél-hidrogénszulfátot, amely rendkívül nagy hajlandóságot mutat az amorfizálódásra.
- 3.) Elvégeztük a két kémiai azonos cukoralkohol (mannit és szorbit) őrlését önmagában és polimer segédanyagok (PVP C30, PEG 6000) jelenlétben is, hogy meghatározhassuk a hasonló anyagok eltérő amorfizálódási hajlamát. Az őrlés során a rosszul amorfizálódnak

tekinthető mannit kristályosságát nem sikerült letörni sem önmagában, sem PEG segédanyag jelenlétében, míg PVP-vel együtt őrölve a kristályossága kissé csökkent. A jól amorfizálhatónak prediktált szorbit mind egyedül, mind PVP polimerrel együtt őrölve jelentősen elveszítette a kristályos szerkezetét. A kiinduláskor főleg epsilon polimorf módosulatot tartalmazó polikristályos szorbit folyamatos polimorf átalakuláson ment keresztül az őrlés során: a végére az epsilon forma egy része gamma formává alakult, míg elveszítette kristályos frakciójának közel 70%-át. A PEG segédanyag megvédte a szorbit kristályokat az amorfizálódástól az őrlés során. Megállapítottuk, hogy a két kémiai azonos, egymás sztereoisomerjének tekinthető anyag, rendkívül különbözőek kristályrácsuk stabilitását tekintve. A PEG mint, polimer típusú segédanyag egy jól amorfizálódó minta esetén is képes azt megóvni az üvegesedéstől őrlés során. Továbbá a munka során bebizonyosodott az is, hogy az amorfizálódás folyamánya lehet még egy polimorf átalakulás is, amely az amorf forma rekristallizációja során alakult ki.

4.) A meloxicám őrlése során megállapítottuk, hogy a polimer segédanyagok képesek csökkenteni az őrlési energiát, így a kiindulási anyag szemcsemérete lecsökkenhet akár a nano mérettartományig is, és mindeközben a hatóanyag elveszítheti a szabályos kristályszerkezetét. A különböző polimerek eltérően segítettek, vagy gátolták az amorfizálódást, a PVP elősegítette, míg a PEG ebben az esetben is, akárcsak a szorbit esetén, gátolta az amorf forma létrejöttét. Mindemellett a nano-részecskék kialakulását mindkét segédanyag elősegítette. Továbbá bizonyítottuk, hogy a PVP-vel a hatóanyag gyenge másodrendű kötést alakított ki, amely segítette az amorf komplex létrejöttét és stabilizálta is azt.

5.) A jól amorfizálhatónak tekinthető klopidozól-hidrogénszulfát esetében megállapítottuk, hogy kristályszerkezetének letöréséhez esetünkben hosszú őrlési idő és nagy energia-befektetés volt szükséges. 240 perc őrlési idő volt szükséges a teljes amorf állapot eléréséig. A hatóanyag és a segédanyag között ebben az esetben is másodlagos kötés alakul ki, amely segíti az amorf rendszer képződését és stabilizálja is azt.

Az eredmények alapján a következő megállapítások tehetők:

- a kristályos anyagok amorfizálhatóságának/amorfizálódásának előrejelzésére első helyen a DSC vizsgálat javasolt (T_g , T_m meghatározása),
- a nagy energia befektetéssel járó gyógyszer technológiai műveletek során (pl. őrlés) a kristályos anyag szerkezetének letörésével, amorf frakció megjelenésével abban az esetben is számolni kell, ha a széles körűen alkalmazott T_g/T_m kisebb, mint 0,7,
- a kristályszerkezet letörésével egy időben a polimorf átalakulás lehetősége is megnő,

- bizonyos segédanyagok jelenléte megóvhatja az őrlendő anyag kristályszerkezetét, mások viszont elősegítik az amorf forma kialakulását, illetve másodlagos kötőerők révén stabilizálják azt.

A disszertáció gyakorlati értéke az, hogy a fenti változások kialakulásának lehetőségére, illetve fontosságára hívja fel a figyelmet, különös tekintettel az őrlési technológiák széleskörű ipari alkalmazását tekintve.

A disszertáció témájához kapcsolódó irodalmak

1. **Mártha Csaba**, Jójártné Laczkovich Orsolya, Szabóné Révész Piroska: Amorf forma a gyógyszer technológiai kutatásokban. *Acta Pharmaceutica Hungarica* (2011) 81. 37-42.
2. **Csaba Mártha**, Levente Kürti, Gabriella Farkas, Orsolya Jójárt-Laczkovich, Balázs Szalontai, Erik Glässer, Mária A. Deli, Piroska Szabó-Révész: Effects of polymers on the crystallinity of nanonized meloxicam during a co-grinding process. *European Polymer Journal* (2013) 49. 2426–2432 (**IF: 3,242; citations: 6**)
3. **Csaba Mártha**, Orsolya Jójárt-Laczkovich, Joachim Ulrich, Piroska Szabó-Révész: Investigation of the crystallinity of sugar alcohols co-ground with polymeric excipients. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* (2013) 115. 2479–2486. (**IF: 2,206**)
4. **Csaba Mártha**, Orsolya Jójárt-Laczkovich, Piroska Szabó-Révész: Effect of co-grinding on crystallinity of clopidogrel bisulphate. *Chemical Engineering & Technology* (2014) 37/8. 1393–1398 (**IF: 2,175**)

A disszertáció témájához kapcsolódó előadások

1. **Mártha Csaba**, Jójártné Laczkovich Orsolya, Ambrus Rita, Szabóné Révész Piroska: Hatóanyagok amorfizálhatóságának vizsgálata. *Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XIV. P-64. 2009. 11. 13-15.* Budapest, Magyarország (poszter)
2. Jójártné Laczkovich Orsolya, **Mártha Csaba**, Szabó-Révész Piroska: Kristályos vagy amorf? Az amorfizálhatóság vizsgálata. *XVI. Országos Gyógyszer technológiai Konferencia és VIII. Gyógyszer az Ezredfordulón Konferencia, 2010. 10. 20-22.* Siófok, Magyarország (előadás)
3. **Csaba Mártha**, Orsolya Jójárt-Laczkovich, Piroska Szabó-Révész: Amorphous form in pharmaceutical technological research. *Pharmaceutical Sciences for the future of medicines and Young Scientists Meeting P-50. 2011. 07. 13-17.* (poszter)
4. **Csaba Mártha**, Orsolya Jójárt-Laczkovich and Piroska Szabó-Révész: Amorphization of co-ground clopidogrel hydrogensulphate. *8th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology 2012. 03. 19-22.* Turkey, Istanbul. (poszter)
5. **Mártha Csaba**, Jójárt-Laczkovich Orsolya és Szabó-Révész Piroska: Polimerek befolyása egy hatóanyag kristályosságára ko-örlés során. *XVII. Országos*

Gyógyszertechnológiai Konferencia és IX. Gyógyszer az ezredfordulón konferencia 2012. 09. 27-29. Siófok, Magyarország (előadás)

6. **Csaba Mártha**, Kitti Korcsok, Orsolya Jójárt-Laczkovich and Piroska Szabó-Révész: Investigation of crystallinity of meloxicam co-ground with PVA. From Medicine to Bionics – 1st European PhD Conference 2013. 06. 13-15 Budapest, Hungary (poszter)
7. Jójártné Laczkovich Orsolya, **Mártha Csaba**, Szabóné Révész Piroska: Örlés hatása a hatóanyag kristályosságára gyógyszer technológiai szempontból. *Gyógyszerkémiai és Gyógyszertechnológiai Szimpózium '13 2013. 09. 30 – 10. 01.* — Herceghalom, Magyarország (előadás)
8. **Mártha Csaba**, Jójártné Laczkovich Orsolya: Együttörlés hatása kémiaiilag hasonló anyagok kristályosságára *XI. Clauder Ottó Emlékverseny 2013. 10. 17-18.* Budapest, Magyarország (előadás)
9. Jójártné Laczkovich Orsolya, **Mártha Csaba**, Katona Gábor, Szabóné Révész Piroska: Gyógyszertechnológiai formulálások során alkalmazott cukror, cukoralkoholok amorfizálódási tulajdonságai *MKE Kristályosítási és Gyógyszerformulálási Szakosztály 7. Kerekasztal Konferencia 2014. 05. 16-17 Szeged Magyarország (előadás)*

Egyéb irodalmak

1. **Csaba Mártha**, Sai H. S. Boddu, Mariann D. Churchwell: Physical compatibility of sodium citrate with alcohol and cefepime *American Journal of Health-System Pharmacy 2013. 06. 01. 70. 932-937*
2. **Mártha Csaba**, Doró Péter, Mártha Gabriella, Nagy Andrea, Németh Ákos, Soós Gyöngyvér: Patikaválasztás szempontjai. *Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XIV. P-133. 2009. 11. 13-15.* Budapest, Magyarország (poszter)