

Zarys metod charakterystyki fizykochemicznej układów amorficznych produkowanych metodą suszenia rozpyłowego

Krzysztof Paluch, Lidia Tajber

School of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Trinity College Dublin, Irlandia

Układy amorficzne to zamierzony produkt lub efekt uboczny procesu technologicznego. Suszenie rozpyłowe należy do najbardziej uniwersalnych metod otrzymywania układów amorficznych. Metody kalorymetryczne, dynamiczna sorpcja par, spektroskopia i rentgenografia stanowią podstawowy zestaw metod analitycznych służący do charakterystyki jakościowej i ilościowej systemów amorficznych. Dodatkowo, mikrokalorymetria izotermiczna, odwrócona chromatografia gazowa, czy magnetyczny rezonans jądrowy pozwalają na ich pełną charakterystykę powierzchniową i objętościową. Współczesne standardy jakości produktu końcowego nie pozwalają na pominięcie tematu amorficzności w charakterystyce fizykochemicznej leku.

Accolate® (zafirlukast), Ceftin® (aksetyl cefuroksymu), Accupril® (chlorowoderek chinaprilu), insulina Eli Lilly Humulin L®, to tylko niektóre przykłady postaci leków dostępnych na rynku zawierających w sobie amorficzne substancje czynne. Układ amorficzny to materiał w formie stałej pozbawiony układu krystalicznego, a co za tym idzie mający inne właściwości fizykochemiczne niż krystaliczny surowiec. Można go porównać do cieczy, gdzie występują wzajemne oddziaływania międzycząsteczkowe, np. wiązania wodorowe lub oddziaływania dipol-dipol, ale nie są wystarczająco silne do wytworzenia układu wysokiego uporządkowania, jakim jest sieć krystaliczna. Zgodnie z prawem zachowania energii, każda materia dąży do stanu, w którym jej energia wewnętrzna jest zminimalizowana.

Układ amorficzny jest układem wysokoenergetycznym o wysokiej entalpii wewnętrznej, przez co będzie wykazywał dążność do krystalizacji, czyli przejścia w układ korzystniejszy dla siebie energetycznie. Sam w sobie jest niestabilny w czasie, dodatkowo jest wrażliwy na wilgotność oraz podwyższoną temperaturę. Formy amorficzne stwarzają również problemy na etapie formulacji, gorzej się mieszają i wykazują

Physico-chemical methods of characterisation of amorphous materials produced by spray drying – an outline

Amorphous systems can be produced deliberately or unintentionally during various technological processes. Spray drying is one of the most widespread methods of manufacturing of amorphous systems. Calorimetric methods, dynamic vapour sorption, spectroscopy and X-ray diffraction constitute a basic analytical set-up used for qualitative and quantitative characterisation of disordered materials. Additionally, to enable detailed description of surface and bulk characteristics, isothermal microcalorimetry, inverse gas chromatography or nuclear magnetic resonance may be employed. Modern quality standards require accurate quantification of disorder in the finished product to minimise manufacture issues and batch to batch variations of the medicines.

gorsze właściwości reologiczne w porównaniu z układami krystalicznymi. Do zalet przemawiających za układami amorficznymi należy zaliczyć podwyższoną rozpuszczalność i szybkość rozpuszczania, co może prowadzić do podwyższonej dostępności farmaceutycznej substancji czynnej, a w konsekwencji do poprawy jej biodostępności. Pozwala również na modelowanie kinetyki uwalniania, tak jak w przypadku insuliny Humulin L®. Insulina ta jest rzadkim przykładem postaci leku łączącego w sobie formę amorficzną, odpowiedzialną za szybkie uwalnianie substancji czynnej oraz krystaliczną, odpowiedzialną za przedłużone uwalnianie. We współczesnym przemyśle farmaceutycznym, gdzie coraz częściej nowe substancje czynne mają silnie ograniczoną rozpuszczalność lub w wyniku ograniczonego wchłaniania – dostępność biologiczną, możliwości, jakie prezentują układy amorficzne, skłaniają coraz częściej do opracowywania projektów zakładających użyteczność takich układów

Układ amorficzny to materiał w formie stałej pozbawiony układu krystalicznego, a co za tym idzie, posiadający inne właściwości fizykochemiczne niż surowiec krystaliczny.

i ich przewagę nad formami krystalicznymi, mimo wielu pozornych uniedogodnień.

Celem tego krótkiego artykułu przeglądowego jest przedstawienie zarysu charakterystyki fizykochemicznej i możliwości produkcji układów amorficznych, jakie daje suszenie rozpyłowe. Materiał opiera się głównie na doświadczeniu zdobytym przy pracy z suszarkami typu laboratoryjnego i preformulacyjnego. Praca opisuje ważniejsze techniki charakteryzacji próbek otrzymywanych tą metodą produkcyjną i wspomina o nowych trendach analitycznych.

Metody umożliwiające produkcję układów amorficznych

Jeżeli energia układu amorficznego jest wyższa niż macierzystego dla niego układu krystalicznego, proces produkcyjny musi zapewnić wystarczająco dużą energię aktywacji, pozwalającą na złamanie sieci krystalicznej. Procesy produkcyjne pozwalające na otrzymanie układów amorficznych to między innymi suszenie rozpyłowe (*spray drying*), zamrażanie rozpyłowe (*spray freeze drying*), atmosferyczne zamrażanie rozpyłowe (*atmosphere spray freeze drying*), ekstruzja topliwa, a także prostsze – wytrącenie przez odpa-

rowanie rozpuszczalnika, hartowanie stopionej substancji (*quench cooling*) czy mielenie. Zamrażanie rozpyłowe jest procesem dwuetapowym, który w zasadzie nie wyszedł nigdy poza skalę laboratoryjną. Polega na atomizacji roztworu zawierającego rozpuszczoną substancję aktywną nad powierzchnią ciekłego azotu, który zamraza krople roztworu. Kolejny etap stanowi długotrwała liofilizacja. Liofilizacja ogranicza możliwość użycia rozpuszczalników o niskiej temperaturze topnienia (metanol, etanol, aceton) w gruncie rzeczy

tylko do wody, ponieważ temperatura tego procesu, mierzona na poziomie komory kondensacyjnej, jest dla nich zbyt wysoka i nie pozwala na prawidłową sublimację. Podobne ograniczenia napotyka się w trakcie próby suszenia atomizowanej próbki ekstremalnie schłodzonym gazem atmosferycznym.

Ekstruzja topliwa pozwala na otrzymanie amorficznego ekstrudatu, który stanowi zaledwie półprodukt i wymaga dalszej obróbki technologicznej, jak mielenie i ujednolicanie próbki. Dodatkowo jest to proces, podczas którego próbka jest poddawana relatywnie długotrwałemu, silnemu stresowi termicznemu, co niejednokrotnie jest trudne do zaakceptowania w przypadku substancji termolabilnych.

Wytrącanie układu amorficznego przez odparowanie rozpuszczalnika może dotyczyć układów o bardzo słabej sieci krystalicznej, podatnych na neutralizację oddziaływań międzycząsteczkowych jedynie za

pomocą odpowiednio dobranej polarności rozpuszczalnika. Na skalę laboratoryjną pozwala to na otrzymanie układów amorficznych nawet w temperaturze pokojowej. *Quench cooling* to metoda laboratoryjna polegająca na poddaniu próbki stresowi termicznemu w krótkim czasie. Próbka jest doprowadzana do punktu topnienia i błyskawicznie zamrażana w ciekłym azocie, na co można pozwolić sobie z kolei tylko z próbkami stabilnymi chemicznie, aż do punktu topnienia.

Mielenie jest metodą długotrwałą, podobnie jak liofilizacja i nie pozwala na otrzymanie satysfakcjonująco jednorodnego produktu. Spośród wszystkich wymienionych metod najwięcej zalet ma suszenie rozpyłowe.

Suszenie rozpyłowe

Suszenie rozpyłowe to jednoetapowa metoda produkcji mikrocząstek [1]. Jest to proces używany zarówno w skali laboratoryjnej, jak i przemysłowej. W zależności od właściwości fizykochemicznych substancji, dość często produkt końcowy jest amorficzny, a otrzymane mikrocząstki jednolite morfologicznie. Pozwala to pominąć etap ewentualnego mielenia i ujednolicania, czyli przesiewania próbki. Nie jest to bez znaczenia ekonomicznego ze względu na koszty produkcji. Suszenie rozpyłowe umożliwia produkcję form stałych z roztworów rzeczywistych, koloidalnych, zawiesin i emulsji. Pozwala na użycie dużej liczby rozpuszczalników lub ich mieszanin, nie wykluczając rozpuszczalników łatwopalnych o niskich temperaturach wrzenia, gdyż proces może być prowadzony w środowisku beztlenowym, najczęściej w atmosferze azotu lub, rzadko, dwutlenku węgla [2]. Jest procesem, który może przebiegać w cyklu otwartym lub zamkniętym, pozwalającym na odzyskanie rozpuszczalnika.

Popularnymi suszarkami rozpyłowymi używanymi obecnie na skalę laboratoryjną są Büchi Mini Spray Dryer B-290 oraz Niro SD-Micro™ Spray Dryer. Oba typy są zdolne do pracy w środowisku beztlenowym, a dodatkowo Büchi posiada opcjonalną chłodzarkę B-295, umożliwiającą skraplanie oparów rozpuszczalnika organicznego oraz odwilżacz B-296 do skraplania pary wodnej, które zapewniają bezpieczną pracę z łatwopalnymi rozpuszczalnikami organicznymi i ich mieszaninami z wodą. Suszarka Niro pracuje jedynie w układzie otwartym. Suszarka Büchi pracuje także w układzie zamkniętym, gdzie opary są skraplane w dodatkowych jednostkach chłodzących, osobno jest skraplana woda, a osobno rozpuszczalniki organiczne. Osuszony gaz wraca częściowo do układu. Jednostka chłodząca jest dodatkowym zabezpieczeniem procesu, gdyż monitoruje procentową zawartość tlenu w gazie suszącym.

Prawidłowo zaprojektowany proces produkcyjny pozwala na precypitację i wysuszenie substancji czynnej w niskich temperaturach. Susząc z roztworu

Układ amorficzny jest układem wysokoenergetycznym o wysokiej entalpii wewnętrznej, przez co będzie wykazywał dążność do krystalizacji, czyli przejścia w układ korzystniejszy dla siebie energetycznie.

acetonu o temperaturze wrzenia rzędu 65°C przy użyciu suszarki B-290, można np. otrzymać suchy materiał substancji czynnej lub jej polimerowego kompozytu, na poziomie pozostałości rozpuszczalnika rzędu 1% przy temperaturze początkowej azotu 70°C, a wylotowej mierzonej przed wlotem do cyklonu rzędu 40°C. Zastosowanie ciemnego szkła pozwala na suszenie materiałów światłoczułych.

Suszarki preformulacyjne Niro SD-Micro™ Spray Dryer pozwalają na łatwe skalowanie laboratoryjnych warunków do serii półprodukcyjnych i produkcyjnych.

Sam proces suszenia można podzielić na kilka faz. Pierwszym etapem jest dostarczenie roztworu, zawiesiny lub emulsji do dyszy atomizacyjnej. Na skalę laboratoryjną wykorzystuje się do tego pompy perystaltyczne, pozwalające na precyzyjne, powtarzalne i jednorodne dawkowanie objętości przez przewody odporne na odkształcenia plastyczne i na działanie nierzadko agresywnych rozpuszczalników.

Na tym etapie produkcji można w zasadzie spotkać się z kilkoma problemami. Pierwszy to sedimentacja zawiesiny w przewodzie doprowadzającym. W suszarkach Büchi pompa perystaltyczna znajduje się niżej niż dysza atomizacyjna, co potęguje zjawisko sedimentacji. Z kolei SD-Micro™ pozwala na swobodną modyfikację położenia pompy perystaltycznej i przewodu doprowadzającego wobec dyszy, co pomaga zapobiegać sedimentacji. Zawiesina może w trakcie suszenia zatykać dyszę atomizacyjną, przeciwdziała temu programowalny system wysokociśnieniowego czyszczenia dyszy gazem suszącym. Podczas suszenia emulsji może dojść do jej złamania, koacerwacji, czy śmietankowania. Jedno i drugie będzie skutkowało niejednorodnością fizykochemiczną suszonego materiału.

Etap drugi to atomizacja próbki. Można tutaj używać zestawów standardowych, pozwalających na atomizację gazem jednej cieczy oraz bardziej złożonych, mieszających i atomizujących dwie ciecze, co może stanowić alternatywę dla suszenia układów emulsyjnych. Niro prezentuje w skali przemysłowej również rozpyłowe dysze rotacyjne, trudne do opracowania w skali laboratoryjnej gdyż wymagają dużych (rzędu metrów) średnic komory suszącej. Suszarka B-290 pozwala na pracę z dyszą ultradźwiękową, co stanowi dodatkowy parametr pozwalający na modelowanie morfologii cząstek. W kolejnym etapie rozproszone krople cieczy są suszone filtrowanym powietrzem lub w atmosferze beztlenowej. O ile modele Büchi zadowolają się przepływem gazu pod ciśnieniem maksymalnym 8 bar możliwym do zapewnienia typową butlą z gazem, o tyle Niro wymagają już generatora azotu ze względu na o wiele większe zużycie gazu. Wysuszony materiał dzięki zasadzie cyklonu zostaje odseparowany od oparów rozpuszczalnika i skierowany do naczynia zbiorczego. Opary przed opuszczeniem układu są

dodatkowo filtrowane. W B-290 stosowany jest jeden filtr standardowy: tekstylny albo teflonowy. SD-Micro™ stosuje równolegle cztery wysoko-wydajne powlekanie filtry teflonowe z możliwością wysokociśnieniowego czyszczenia gazem w trakcie suszenia. Dodatkowo Niro daje możliwość pobierania podczas procesu próbek testowych suszonego materiału. Pozwala także na wyeliminowanie cyklonu i pobieranie suszonego materiału dopiero z odbiornika pod komora filtracyjną, co daje wiele możliwości modyfikacji procesu.

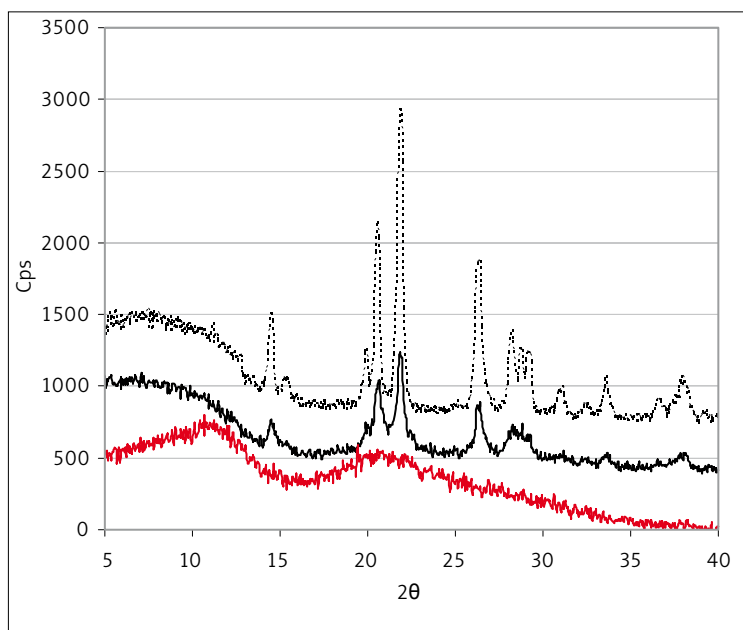
Metody analizy fizykochemicznej próbek amorficznych suszonych rozpyłowo

Do charakteryzacji materiałów otrzymywanych drogą suszenia rozpyłowego używa się wielu różnych technik laboratoryjnych. W celach charakteryzacji fizykochemicznej oraz umożliwienia wykrywania i ilościowego określenia zawartości frakcji amorficznej w próbkach używana jest między innymi dyfrakcja rentgenowska proszkowa (PXRD), analiza termiczna, dynamiczna sorpcja par (DVS), metody spektroskopowe, odwrócona chromatografia gazowa (IGC), magnetyczny rezonans jądrowy w fazie stałej (SS-NMR), pomiary gęstości i inne. W zależności od charakteru pomiarów, metody te można podzielić na dwie grupy, mierzące właściwości materiału na powierzchni, np. dynamiczna sorpcja par i odwrócona chromatografia gazowa oraz w całej objętości próbki, jak np. dynamiczna kalorymetria różnicowa czy metody spektroskopowe. Dlatego należy spodziewać się, że informacja jakościowa i ilościowa o fazie amorficznej może się różnić w zależności od zastosowanej techniki analitycznej.

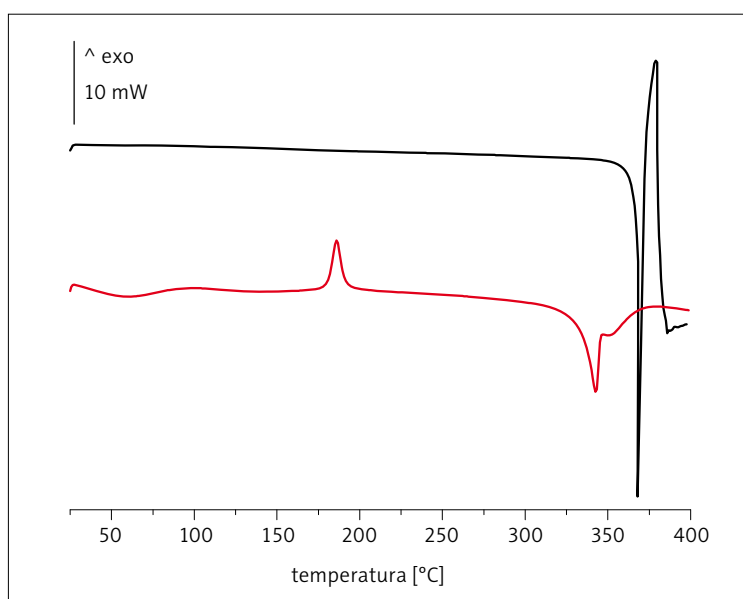
Jedną z prostszych metod pozwalającą w szybkim czasie oszacować stopień amorficzności materiału jest dyfrakcja rentgenowska proszkowa (powder X-ray diffraction, PXRD). Pozwala ona na względne porównanie stopnia krystaliczności otrzymanego produktu z wyjściowym materiałem. Na **rycynie 1** przerywaną czarną linią oznaczono materiał krystaliczny przed suszeniem rozpyłowym. Kolejna krzywa (linia czarna ciągła) to ten sam materiał o wyraźnie zredukowanej krystaliczności dzięki suszeniu rozpyłowemu w połączeniu z polimerem stabilizującym. Czerwona krzywa to typowe „halo”, jakie prezentują układy amorficzne w analizie rentgenograficznej.

PXRD pozwala na ilościowe określenie frakcji amorficznej w układzie poprzez porównanie pól powierzchni pików, szerokości pików w połowie ich wysokości, lub intensywności najbardziej ostrego pików, lub kilku pików. Niedoskonałością tej metody jest dosyć

Procesy produkcyjne pozwalające na otrzymanie układów amorficznych to między innymi suszenie rozpyłowe, zamrażanie rozpyłowe, atmosferyczne zamrażanie rozpyłowe, ekstruzja topliwa, a także prostsze – wytrącenie przez odparowanie rozpuszczalnika, hartowanie stopionej substancji czy mielenie.



Rycina 1. Przykładowe dyfraktogramy (XRD) materiału krystalicznego (linia przerywana), amorficznego (linia czerwona) i o zredukowanej krystaliczności (linia czarna ciągła)



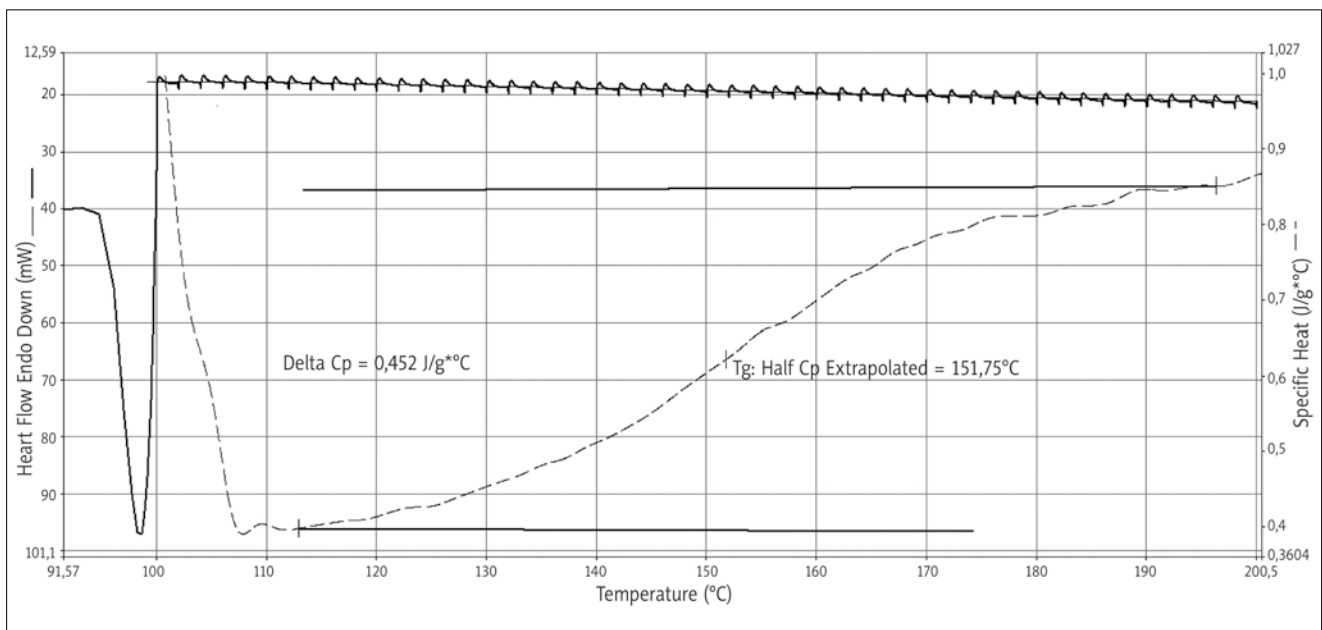
Rycina 2. Analiza DSC: linia czarna to materiał krystaliczny, linia czerwona to amorficzny materiał suszony rozpytowo z 20% dodatkiem polimeru stabilizującego

wysoka granica detekcji fazy amorficznej, pozwalająca na wykrycie nie mniej niż 10% tej fazy w próbce, która jest głównie krystaliczna [3]. Problemem często występującym przy takich porównaniach jest zjawisko preferencyjnej orientacji kryształów względem jednej osi, powodujące uwydatnienie intensywności pików lub kilku pików względem innych. Jest to głównie spowodowane typem układu optycznego używanego w większości dyfraktometrów, a używającym optyki typu Bragg-Brentano charakteryzującym się

doskonałą czułością, ale też i wrażliwością na morfologię i ułożenie próbki w uchwycie pomiarowym. Zmiana układu optycznego na tzw. polikapilarny umożliwia wyeliminowanie efektów preferencyjnej orientacji cząstek, a dodatkowo zastosowanie matematycznej techniki integralnego dopasowania modelu (*whole pattern fitting method*) umożliwia obniżenie poziomu detekcji frakcji amorficznej poniżej 1% [4]. Główną zaletą dyfrakcji rentgenowskiej jest łatwość przygotowania próbki do pomiarów jak również to, że jest to metoda niedestrukcyjna. Dodatkowo, ponieważ cząstki materiału otrzymywanego drogą suszenia rozpytowego są kuliste, wielkości rzędu mikrometrów, a frakcja krystaliczna to nanokryształy, zjawisko preferencyjnej orientacji dosyć często można zaniedbać, co ułatwia porównywanie próbek.

Analiza termiczna to grupa metod zdolnych precyzyjnie określić właściwości fizykochemiczne próbek suszonych rozpytowo. Właściwości te są wyznaczane jako funkcja temperatury lub czasu, podczas gdy próbka jest poddawana ściśle kontrolowanemu programowi zmian temperatury. Ten program może być zarówno egzotermiczny, endotermiczny, jak i izotermiczny. Metodą zaliczaną do grupy analizy termicznej jest skaningowa kalorymetria różnicowa (*differential scanning calorimetry*, DSC), która umożliwia pomiary ilościowe, a nie tylko jakościowe, zjawisk termicznych oraz ich matematyczny opis za pomocą entalpii zmian. W analizie DSC mierzy się zmiany ciepłne jakie zachodzą w próbce względem pustej komory referencyjnej. Pomiar odbywa się w ściśle określonej atmosferze gazu, którym może być powietrze, ale najczęściej, w celu wyeliminowania reakcji utleniania materiału stosuje się azot czy hel, gazy obojętne chemicznie. Przykładowe termogramy substancji krystalicznej i amorficznej przedstawione są na **rycynie 2**. Przy pomiarach opartych na porównywaniu ciepła rekrytalizacji próbek, określa się, że granica wykrywalności fazy amorficznej sięga tylko 10% [3], podobnie jak PXRD. Dosyć częstym problemem występującym przy pomiarach materiałów, zwłaszcza amorficznych, suszonych rozpytowo jest mała gęstość objętościowa proszków oraz ich powierzchniowy ładunek elektryczny, utrudniające precyzyjne nalożenie próbki do naczynka pomiarowego.

Do odmian konwencjonalnego DSC zalicza się DSC modulowane temperaturowo (*modulated temperature DSC*, MTDSC). Metoda ta została udoskonalona o dynamiczną modulację, okresowo zmieniającą temperaturę nałożoną na konwencjonalną funkcję liniową. Modulacja ta może być sinusoidalna (opisywana przez częstotliwość i amplitudę) albo może polegać na naprzemiennym występowaniu okresów dynamicznych i izotermicznych. Sygnał pochodzący z DSC jest dzielony na część odzwierciedlającą odwracalne, takie jak przejście szkliste (charakterystyczne dla substancji amorficznych), oraz nieodwracalne procesy



Rycina 3. Skan SS DSC przedstawiający przejście szkliste materiału amorficznego

termiczne, takie jak rekrytalizacja. Metoda ta umożliwia odseparowanie procesów, które przebiegają jednocześnie w czasie. Materiały amorficzne mają dużą zdolność sorpcji wilgoci czy pozostałości rozpuszczalników organicznych, toteż dosyć często zdarza się, że endotermiczny proces desorpcji tych rozpuszczalników uniemożliwia dokładną detekcję przejścia szklistego. StepScan® DSC (SS DSC) to odmiana modulowanego DSC, w którym program egzotermiczny w regularnych interwałach czasowych jest przedzielony odcinkami izotermicznymi (rycina 3). Pozwala to na precyzyjne określenie zmian ciepła właściwego materiału w zależności od temperatury. Temperaturę można np. podnosić w zakresie co dwa stopnie z szybkością 2–5 stopni na minutę z jednodominutowym przedziałem izotermicznym.

Jedną z ciekawszych odmian MTDSC jest TOPEM®, który umożliwia jednoczesny pomiar właściwości w zakresie wielu częstotliwości podczas jednego pomiaru [5].

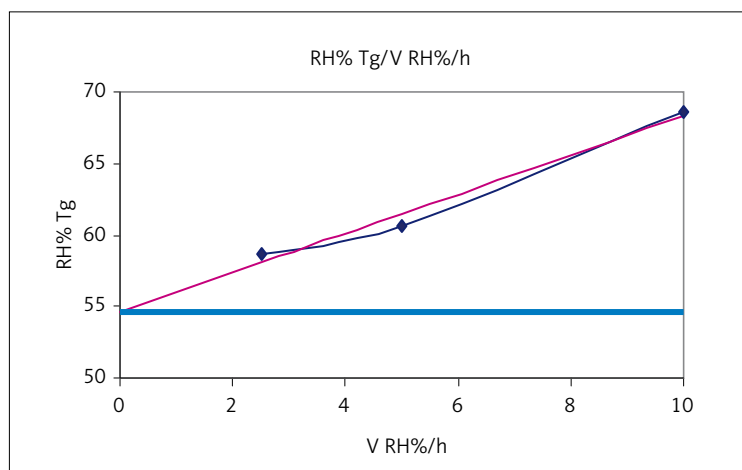
High-speed albo *high-performance* DSC (Hyper-DSC) to odmiana konwencjonalnego DSC, umożliwiająca pomiary przejść termicznych przy ultra szybkich tempach ogrzewania czy chłodzenia. Jedyne dostępne obecnie komercyjne urządzenie jest zdolne do grzania lub chłodzenia próbki z szybkością do 500 stopni na minutę [6]. Inne, obecnie w fazie testowania i znane jako IR-Heated DSC, jest w stanie wykonywać pomiary z szybkością aż do 2000 stopni na minutę [7]. Główną zaletą MTDSC i Hyper-DSC jest to, że są one w stanie wykryć i ilościowo określić bardzo małe ilości, mniej niż 1%, fazy amorficznej w głównej krystalicznej próbce [6, 8].

Mikrokalorymetria izotermiczna (*Isothermal microcalorimetry*, IMC) polega na utrzymywaniu próbki

w stałej temperaturze i wilgotności oraz pomiarze zmian ciepła układu. Podstawą tej metody jest rekrytalizacja próbki, kiedy temperatura przejścia szklistego obniży się poniżej temperatury pomiaru wskutek sorpcji pary wodnej. Mikrokalorymetria izotermiczna jest w stanie mierzyć z dużą dokładnością zmiany w krystaliczności zarówno substancji pomocniczych, jak i czynnych i jest zdolna do wykrywania nawet 0,5% zawartości fazy amorficznej [9].

Dynamiczna sorpcja par (*Dynamic vapour sorption*, DVS) jest metodą alternatywną w stosunku do metod termicznych, pozwalającą na oszacowanie stabilności układu amorficznego. W odróżnieniu od dynamicznej kalorymetrii skaningowej (DSC), gdzie próbka jest kontrolowana pod względem stabilności termicznej, DVS w warunkach izotermicznych podaje próbkę materiału działaniu określonej wilgotności. Pozwala oszacować jak szybko próbka absorbuje wilgoć z otaczającego ją środowiska. Podstawę pomiaru stanowi analiza grawimetryczna. DVS to bardzo czuła odmiana wagi szalkowej. Na jednym ramieniu umieszcza się pustą próbkę referencyjną, na drugim analizowaną. Obie są poddawane przepływowi mieszaniny azotu i pary wodnej o określonej wilgotności. Typowe pomiary to od zera do 90% do zera wilgotności w dziesięciu przedziałach z jednym cyklem powtórzenia, lub alternatywnie bez dosuszania próbki – 40%–90%–40% również w dwóch cyklach w temperaturze 25°C. Każdy przedział trwa do momentu ustalenia się stałej masy

W celach charakteryzacji fizykochemicznej oraz umożliwienia wykrywania i ilościowego określenia zawartości frakcji amorficznej w próbkach używana jest między innymi dyfrakcja rentgenowska proszkowa (PXRD), analiza termiczna, dynamiczna sorpcja par (DVS), metody spektroskopowe, odwrócona chromatografia gazowa (IGC), magnetyczny rezonans jądrowy w fazie stałej (SS-NMR), pomiary gęstości i inne.



Rycina 4. Wykres zależności izotermicznej wilgotności rekrystalizacji od szybkości zmiany wilgotności w czasie dla materiału amorficznego

próbki. Jeden test może trwać wiele dni, typowo około tygodnia, jednak jest i tak o wiele krótszy niż klasyczne testy stabilności. Analiza ta pozwala uchwycić moment rekrystalizacji amorficznej próbki w określonej temperaturze, np. 25°C i wilgotności względnej (RH% T_g – wilgotność rekrystalizacji). Powtórzenie testu w kilku malejących szybkościach liniowego wzrostu wilgotności względnej (ΔV_{RH}) pozwala na ekstrapolację względnej wilgotności rekrystalizacji do zerowej szybkości zmian wilgotności, gdzie prężność pary wodnej jest bliska zeru, co stanowi krytyczny parametr układu (**rycina 4**). Opisowo pozwala on określić krytyczną wilgotność względną dla danej temperatury, poniżej której próbka pozostanie zawsze stabilna.

Odwrócona chromatografia gazowa (IGC), to kolejna po DVS, metoda analityczna, umożliwiająca charakteryzację powierzchniową materiału, ponieważ jest w stanie mierzyć energię powierzchniową próbki. Umożliwia również pomiary objętościowych właściwości danej substancji, jak np. temperatury przejścia szklistego. Sproszkowany materiał jest pakowany do kolumny chromatograficznej, a następnie pary danej sondy (rozpuszczalnik organiczny) są nastrzykiwane na kolumnę. Cząstki sondy są adsorbowane, zależnie od typu interakcji pomiędzy molekułami, na powierzchni podczas przechodzenia ich przez stały materiał. Sondy stosowane w IGC można podzielić na niepolarne, np. heptan, heksan czy oktan itd. oraz polarne, takie jak aceton, octan etylu, tetrahydrofuran itp. Sondy niepolarne dostarczają informacji o składowej dyspersyjnej całkowitej energii powierzchniowej, natomiast sondy polarne umożliwiają charakteryzację materiału ze względu na jej kwasowo-zasadowy charakter. IGC jest dosyć skomplikowaną techniką analityczną, a jakość pomiarów zależy od wprawy

Prawidłowa analiza materiału produkcyjnego pod kątem czystości krystalicznej, polimorficzności, czy amorficzności surowców, czy półsurowców stała się niezbędnym parametrem analitycznym charakteryzującym ostateczny produkt.

i doświadczenia operatora, umiejętności równomiernego upakowania próbki w kolumnie i dobrania odpowiedniej objętości sondy. Mimo to dostarcza dużej ilości danych charakteryzujących badany materiał, dodatkowo przy różnej wilgotności względnej i temperaturze. Właściwości próbki, które można scharakteryzować za pomocą tej metody, to np. składowe dyspersyjna i polarna energii powierzchniowej, ciepło i entropia adsorpcji, przejścia fazowe i szkliste, dyfuzja i rozpuszczalność oraz inne. IGC jest w stanie wykryć różnice w energii powierzchniowej próbek suszonych rozpytowo w różnych warunkach np. różnych temperaturach suszenia, podczas gdy DSC wskazuje na identyczne temperatury przejścia szklistego, a PXRD pokazuje identyczne krzywe dyfrakcyjne [10].

Metody spektroskopowe, takie jak spektroskopia w podczerwieni (**rycina 5**) i Ramana są również używane do detekcji zmian, zarówno polimorficznych, jak i amorficznych w materiałach suszonych rozpytowo. Zaletą pomiarów spektroskopowych jest to, że można je szybko przeprowadzić, a limit wykrywalności fazy amorficznej wynosi około 1%. Dodatkowo dostarczają informacji o strukturze molekularnej. Spektroskopia Ramana i w bliskiej podczerwieni (*near infrared spectroscopy*, NIR) nie wymagają specjalnego przygotowania próbki, obie mogą pracować z przewodami światłowodowymi i nie są specjalnie czułe na zaadsorbowaną wodę, jednak na otrzymane wyniki silnie wpływa metoda przygotowania próbki do analizy w średniej podczerwieni. Pomiary ilościowe polegają na wyodrębnieniu pików charakterystycznych dla fazy krystalicznej i amorficznej i porównaniu stosunku ich intensywności dla próbek semikrystalicznych [11] lub matematycznej regresji wielokrotnej (*multiple linear regression*) wycinka widma [12].

Jedną z nowszych metod zdolnych do charakteryzowania, również ilościowego, frakcji amorficznej w materiałach farmaceutycznych jest spektroskopia w dziedzinie fal submilimetrowych (*Terahertz pulsed spectroscopy*, TPS), w której stosuje się częstotliwości z zakresu 3–130 cm^{-1} . W tym zakresie fal widmo substancji amorficznej wygląda jak linia prosta w przeciwieństwie do materiału krystalicznego posiadającego charakterystyczne widmo pików [13].

Pomiary gęstości mogą również być używane do różnicowania pomiędzy fazami krystaliczną i amorficzną. Podstawą tej techniki jest to, że objętość właściwa, a co za tym idzie i gęstość właściwa substancji amorficznej jest większa niż krystalicznej z powodu nieregularnego ułożenia cząstek. W tych pomiarach typowo stosuje się piknometrię gazową, np. helowe, jednak nie jest to metoda stosowana rutynowo, gdyż obserwowane różnice w gęstości nie są duże [3]. Morfologia próbek suszonych rozpytowo, np. różna grubość powłoki czy porowatość, silnie ponadto wpływa na jakość otrzymywanych wyników.

Pomiary gęstości mogą również być używane do różnicowania pomiędzy fazami krystaliczną i amorficzną. Podstawą tej techniki jest to, że objętość właściwa, a co za tym idzie i gęstość właściwa substancji amorficznej jest większa niż krystalicznej z powodu nieregularnego ułożenia cząstek. W tych pomiarach typowo stosuje się piknometrię gazową, np. helowe, jednak nie jest to metoda stosowana rutynowo, gdyż obserwowane różnice w gęstości nie są duże [3]. Morfologia próbek suszonych rozpytowo, np. różna grubość powłoki czy porowatość, silnie ponadto wpływa na jakość otrzymywanych wyników.

Wnioski

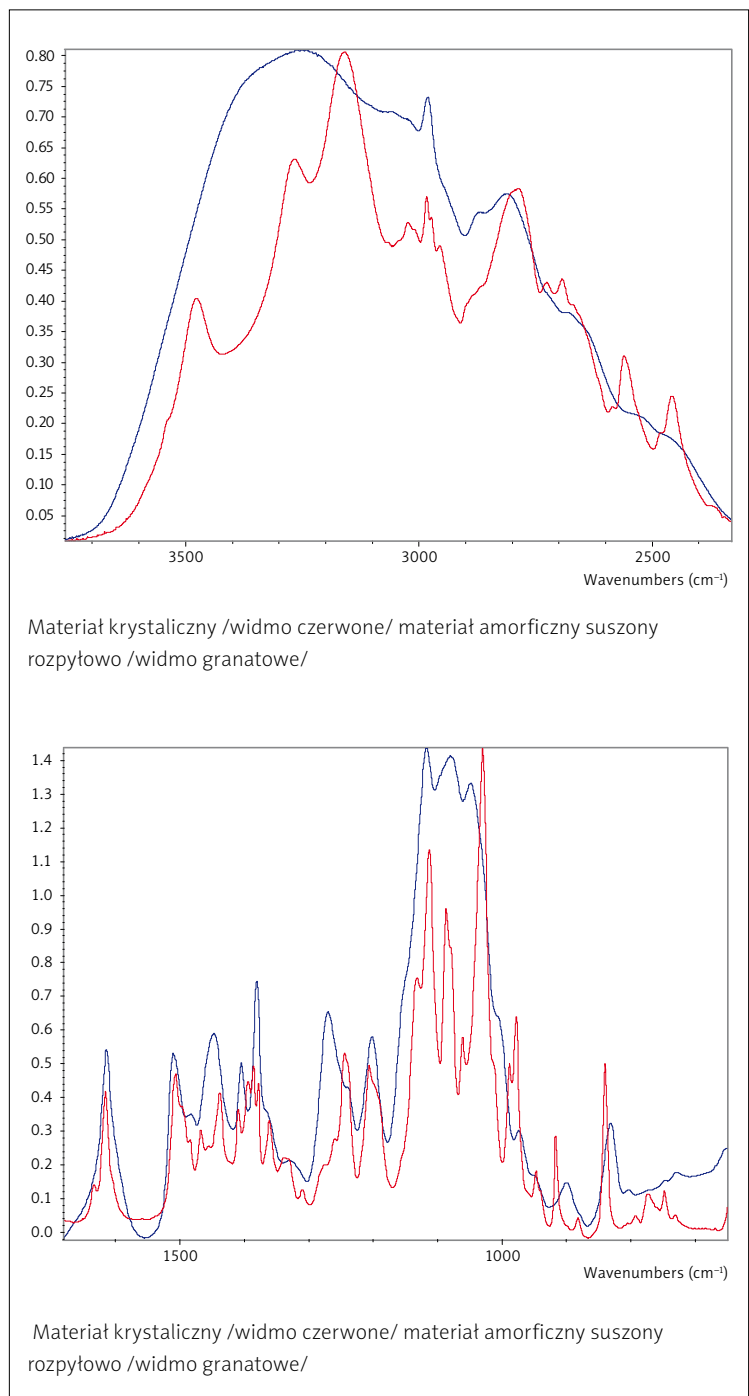
Znajomość właściwości materiałów amorficznych i możliwości ich charakteryzacji jest nieodzowna we współczesnym przemyśle farmaceutycznym. W świetle współczesnych metod analitycznych, produktów dostępnych już na światowym rynku oraz powszechnie publikowanych doniesień naukowych zarzuty dotyczące problematycznej użyteczności materiałów amorficznych są przesadne, a ich zalety zachęcające. Suszenie rozpyłowe może się wkrótce stać wiodącą metodą produkcyjną układów amorficznych na skalę przemysłową, oferując największą uniwersalność procesu produkcyjnego.

Nowoczesne metody charakteryzacji ponadto ułatwiają kontrolę jakości takich materiałów, niezbędną do powtarzalnej produkcji danej formułacji. Jest to o tyle ważne, że niektóre procesy technologiczne stwarzają zagrożenie ubocznego, niezamierzonego powstawania śladowych ilości materiału amorficznego. Prawidłowa analiza materiału produkcyjnego pod kątem czystości krystalicznej, polimorficzności, czy amorficzności surowców, czy półsurowców stała się niezbędnym parametrem analitycznym charakteryzującym ostateczny produkt.

Krzysztof Paluch dziękuje *The Irish Research Council for Science, Engineering and Technology (IRCSET)* za otrzymane stypendium; autorzy dziękują również *Science Foundation Ireland (SFI)* za finansowanie projektu *Solid State Pharmaceutical Cluster (SSPC) – Strategic Research Cluster*.

Piśmiennictwo:

- Broadhead J., Rouan S.K.E., Rhodes C.T.: The spray drying of pharmaceuticals. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1992, Tom 18, 1169-1206.
- Coulter S.T.: The keeping quality of dry whole milk spray dried in an atmosphere of an inert gas. *J. Dairy Sci.* 1948, Tom 31, 995-1002.
- Saleki-Gerhardt A., Ahlneck C., Zografi G.: Assessment of disorder in crystalline solids. *Int. J. Pharm.* 1994, Tom 101, 237-247.
- Chen X., Bates S., Morris K.R.: Quantifying amorphous content of lactose using parallel beam X-ray powder diffraction and whole pattern fitting. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2001, Tom 26, 63-72.
- Schawe J.E.K., Hütter T., Heitz C. i wsp.: Stochastic temperature modulation: A new technique in temperature-modulated DSC. *Thermochim. Acta.* 2006, Tom 446, 147-155.
- Saunders M., Podlunii K., Shergill S. i wsp.: The potential of high speed DSC (hyper-DSC) for the detection and quantification of small amounts of amorphous content in predominantly crystalline samples. *Int. J. Pharm.* 2004, Tom 274, 35-40.
- Gaisford S., Aubuchon S.R., Caulfield P.A.: Use of IR-heated DSC to detect glass transitions in amorphous lactose. *Respiratory Drug Delivery 2008* (Scottsdale, Arizona, 11 do 15 maja 2008 r.). Tom 3, 837-840.
- Guinot S., Leveiller F.: The use of MTDSC to assess the amorphous phase content of a micronized drug substance. *Int. J. Pharm.* 1999, Tom 192, 63-75.
- Gustafsson C., Lennholm H., Iversen T. i wsp.: Comparison of solid-state NMR and isothermal microcalorimetry in the assessment of the amorphous component of lactose. *Int. J. Pharm.* 1998, Tom 174, 243-252.



Rycina 5. Porównanie widma FTIR materiałów krystalicznego i amorficznego suszonego rozpyłowo

- Ohta M., Buckton G.: A study of the differences between two amorphous spray-dried samples of cefditoren pivoxil which exhibited different physical stabilities. *Int. J. Pharm.* 2005, Tom 289, 31-38.
- Taylor L., Zografi G.: The quantitative analysis of crystallinity using FT-Raman spectroscopy. *Pharm. Res.* 1998, Tom 15, 755-761.
- Gombás Á., Antal I., Szabó-Révész P. i wsp.: Quantitative determination of crystallinity of alpha-lactose monohydrate by near infrared spectroscopy (NIRS). *Int. J. Pharm.* 2003, Tom 256, 25-32.
- Strachan C.J., Taday P.F., Newnham D.A. i wsp.: Using terahertz pulsed spectroscopy to quantify pharmaceutical polymorphism and crystallinity. *J. Pharm. Sci.* 2005, Tom 94, 837-846.