

Nekatere metode stabilizacije amorfni^h učinkovin

Some stabilization methods of amorphous drugs

Odon Planinšek

Povzetek Poznamo veliko metod za amorfizacijo zdravilnih učinkovin. Najpogosteje uporabljamo mletje, liofilizacijo, sušenje z razprševanjem in hitro ohladitev taline. S temi postopki želimo predvsem povečati neravnotežno topnost in hitrost raztapljanja v vodi težko topnih učinkovin in tako povečati njihovo biološko uporabnost. Amorfn^a oblika spojine je termodinamično nestabilna in jo moramo največkrat stabilizirati. V ta namen jo lahko hranimo pri nižani temperaturi, vsaj 50°C pod temperaturo steklastega prehoda (T_g), kar je uporabno le za spojine, ki imajo T_g nad 80°C. Iste tehnike kot za izdelavo amorfni^h učinkovin uporabljamo tudi za njihovo stabilizacijo tako, da dodamo pomožne snovi in izdelamo trdne disperzije, ki z učinkovino tvorijo fizikalne in kemijske vezi ali pa delujejo protimehčalno.

Ključne besede: amorfne zdravilne učinkovine, stabilizacija amorfni^h učinkovin, izboljšanje biološke uporabnosti

Abstract Many methods for preparation of amorphous drug are known. Milling, lyophilization, spray drying and melt quenching are used for this purpose. Using these procedures dynamic solubility and dissolution rate can be altered to improve bioavailability of an insoluble drug. Amorphous drug is thermodynamically unstable and it has to be stabilized in most cases. For this purpose it can be stored at lowered temperature at least 50°C below glass transition temperature (T_g), what is useful only for substances with T_g above 80°C. Identical methods as for preparation of amorphous drugs can be used for their stabilization. Excipients are added with the purpose to prepare solid dispersions that interact physically or chemically with the drug or have anti-plasticising effect.

Key words: Amorphous drugs, stabilization of amorphous drugs, bioavailability improvement

1 Uvod

Pred tremi leti je bil v tej reviji objavljen članek o načini^h izdelave amorfni^h oblik spojin (1), tokrat pa obravnavamo metode za njihovo stabilizacijo, ki omogočajo izdelavo zdravila z ustreznim rokom uporabe. Zaradi nižje termodinamične stabilnosti amorfne snovi kristalizirajo. Od hitrosti te pretvorbe je odvisno, ali je potrebno amorfn^a strukturo stabilizirati. Poznavanje lastnosti amorfne oblike učinkovin in pomožni^h snovi je pomembno predvsem zaradi uporabni^h lastnosti (višja neravnotežna topnost, hitrejše raztapljanje), pogoste pojavnosti in fizikalnokemijske nestabilnosti v primerjavi s kristalno obliko. Amorfn^a trdno snov lahko definiramo v primerjavi s kristalno obliko. Amorfn^e snovi so lahko enako kot kristalne urejene na kratkih razdaljah (v odnosu do sosednji^h molekul), na daljši^h razdaljah pa te urejenosti ni. Do tega pride pri molekulah, ki so konformacijsko dovolj fleksibilne. Ker zdravilne učinkovine in farmacevtske pomožne snovi večinoma ustrezajo temu pogoju, je pojavnost amorf^{ov} v farmaciji zelo pogosta (npr. sladkorji, peptidi, beljakovine, drugi polimeri in učinkovine). Praktično uporabnost amorfne učinkovine izkoriščamo predvsem, kadar je topnost kristalne oblike dovolj nizka. Tako lahko pričakujemo veliko izboljšanje biološke uporabnosti učinkovine, katere topnost v kristalni obliki znaša do 1mg/L.

2 Metode izdelave amorfni^h oblik spojin

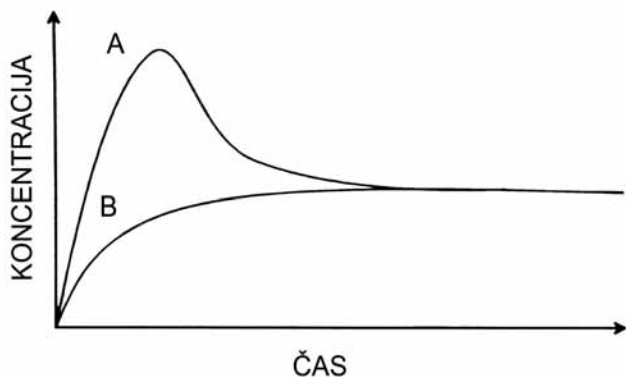
Najbolj znani načini priprave amorfni^h oblik spojin so hitra ohladitev taline, hitro obarjanje z dodatkom netopila, sušenje z zamrzovanjem,

sušenje z razprševanjem in dodatek nečistot (3-6). V procesih, pri katerih prihaja do mehanske ali kemijske aktivacije (mletje, vlažno granuliranje), lahko pride do popolne ali delne amorfizacije vzorca. Amorfn^e snovi lahko nastanejo tudi v trdni^h disperzijah. Dehidracija kristalni^h hidratov je eleganten način priprave amorfni^h oblik spojin. Saleki-Gerhardt in sodelavci so pokazali, da segrevanje rafinoze pentahidrata pri 60°C v vakuumu povzroči nastanek amorfne oblike, identične tisti, ki jo dobimo s sušenjem z zamrzovanjem (7). Li je ugotovil, da postane karbamazepin dihidrat amorfn^e ob delu pri 45°C v dušikovi atmosferi (8).

3 Uporabnost amorfni^h oblik spojin

Najpomembnejša lastnost amorfni^h učinkovin je njihova povečana neravnotežna topnost in hitrost raztapljanja, kar omogoča povečanje biološke uporabnosti v vodi težko topni^h spojin. S termodinamičnega ali kemijskega stališča je topnost spojine pri določenem tlaku, temperaturi in volumnu samo ena. Vrednost je definirana kot nasičena koncentracija spojine v raztopini, ko je v ravnovesju z najbolj stabilno kristalno obliko. V primeru, ko je ta koncentracija povišana, govorimo o metastabilni ali dinamični neravnotežni topnosti, ki po določenem času pade na ravnotežno vrednost (Slika 1) (9).

Na odstopanje od termodinamične ravnotežne topnosti lahko vplivajo nečistote, dodatek ionov, velikost delcev in kristalna oblika.



Slika 1: Raztapljanje amorfne (A) in kristalne oblike (B) učinkovine.

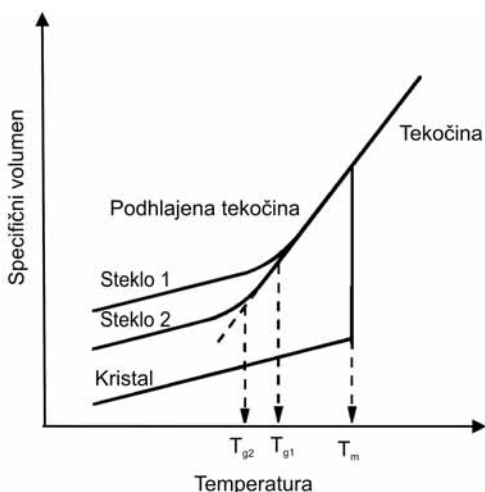
Figure 1: Dissolution of amorphous (A) and crystalline form (B) of a drug.

4 Stabilizacija amorfne oblike

Neurejeno amorfno strukturo stabiliziramo s hitrim sušenjem raztopine, ohlajanjem in/ali z dodatkom stabilizirajočih snovi, s katerimi preprečimo gibanje molekul, ki bi lahko povzročile nestabilnost v času uporabe zdravila.

4.1 Pravilo T_g -50K

Amorfno obliko spojine oziroma steklo pogosto izdelamo s hitro ohlaiditvijo taline. Nad temperaturo tališča T_m so molekule neurejene in zelo gibljive. Pri ohlajanju se spojina lahko obnaša na dva načina. V prvem primeru se pri dovolj počasnem ohlajanju tekoče stanje pretvori v kristalno. Eksotermna reakcija kristalizacije vodi v nenadno spremembo specifičnega volumna in entalpije (Slika 2). Pod tališčem je z zniževanjem temperature zmanjševanje teh dveh



Slika 2: Shema odvisnosti specifičnega volumna od temperature pri tekočinah, ki lahko kristalizirajo in tvorijo steklo (10).

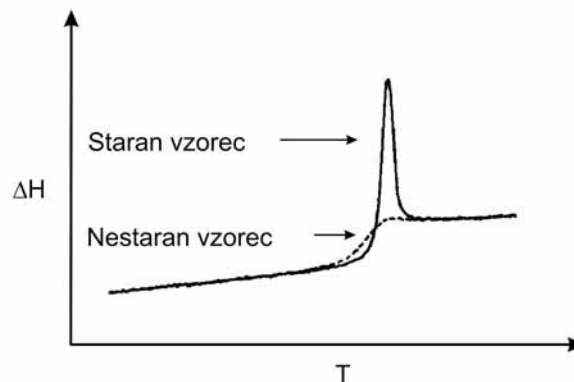
Figure 2: Schematic representation of the specific volume as a function of temperature for a liquids which can both crystallize and form a glass (10).

parametrov majhno. V drugem primeru se lahko s hitrim ohlajanjem izognemo kristalizaciji. Pri T_m v tem primeru ne pride do odmika od premice v diagramu volumen (entalpija) v odvisnosti od temperature. Pri nadaljnjem ohlajanju podhlajene tekočine narašča viskoznost. Molekule se gibljejo vedno manj tako, da se pri nadaljnjem ohlajanju več ne morejo preurejati. Temperaturno območje, kjer ravnotežje sistema izgine, imenujemo temperaturo steklastega prehoda. Pod to temperaturo je gibanje molekul zelo omejeno in govorimo steklastem stanju (1).

Stekla so tekočine, zamrznjene v času, ko izvajamo njihovo vrednotenje (eksperiment). Čeprav so s termodinamičnega stališča nestabilne, so lahko s kinetičnega stališča stabilne toliko časa, da lahko to izkoriščamo tudi v farmaciji. Kot je prikazano na sliki 2, obstaja več steklastih stanj in njihove lastnosti so odvisne od tega, kako jih pridobimo. Pri nižji hitrosti ohlajanja ostane vzorec v podhlajenem stanju do nižje temperature, medtem ko se pri višji hitrosti ohlajanja ravnotežje ohranja do višje temperature. Steklo 2 na sliki 2 je bilo pridobljeno pri nižji hitrosti ohlajanja od stekla 1. Sprememba hitrosti ohlajanja za desetkrat povzroči spremembo T_g za 3-5 K (10).

Medtem ko so amorfne snovi pod temperaturo steklastega prehoda (T_g) relativno stabilne, so nad njo občutljive na mehanske in termične obremenitve, kar vpliva na njihove fizikalno-mehanske lastnosti. Mnoge imajo T_g nad sobno temperaturo, pri večini pa prisotnost ostankov topil oziroma relativna vlaga deluje mehčalno in vpliva na nestabilnost tudi pri nižji temperaturi od sobne. Znano je, da temperatura steklastega prehoda (T_g) ni dovolj dober indikator meje, pod katero molekule niso mobilne. Pod to temperaturo se molekule še vedno lahko dovolj gibljejo tako, da se s staranjem amorfni vzorec spreminja.

Pojav je značilen tako za polimerne kot tudi za majhne molekule, ki tvorijo stekla. Kako hitro potekajo te spremembe, opredeljujemo z računanjem konstante molekulske relaksacije (τ), ki je uporaben parameter za napovedovanje temperature shranjevanja amorfne vzorca. Ta časovna konstanta predstavlja povprečen čas za molekulski premik v vzorcu in jo lahko izračunamo z merjenjem entalpije relaksacije.



Slika 3: DSC krivulji staranega in nestaranega amorfne vzorca.

Figure 3: DSC scans of aged and nonaged amorphous samples.

Pri temperaturi pod T_g lahko prihaja do strukturnih sprememb ter znižanja specifičnega volumna in entalpije, kar imenujemo fizikalno staranje vzorca. DSC (diferenčna dinamična kalorimetrija) krivulja na sliki 3 prikazuje prisotnost endotermnega vrha katerega položaj in velikost sta odvisna od temperature in časa staranja vzorca. Daljši čas staranja omogoča večjo relaksacijo vzorca. Za vsako temperaturo, pri kateri shranjujemo amorfni vzorec (T_a), obstaja maksimalna entalpija relaksacije (ΔH_{∞}), katere vrednost pada z nižanjem temperature shranjevanja vzorca in jo opredelimo z naslednjo enačbo (11):

$$\Delta H_{\infty} = \lim_{t_a \rightarrow \infty} \Delta H_{t_a} = H(T_a, 0) - H_{\infty}(T_a) \quad (1)$$

$H(T_a, 0)$ in $H_{\infty}(T_a)$ sta entalpiji na začetku staranja (0) in po določenem času (a). V farmacevtski literaturi uporabljajo za izračun maksimalne entalpije relaksacije predvsem naslednjo enačbo (10-12)

$$\Delta H_{\infty} = (T_g - T) \Delta C_p \quad (2)$$

T = eksperimentalna temperatura

ΔC_p = sprememba toplotne kapacitete pri T_g

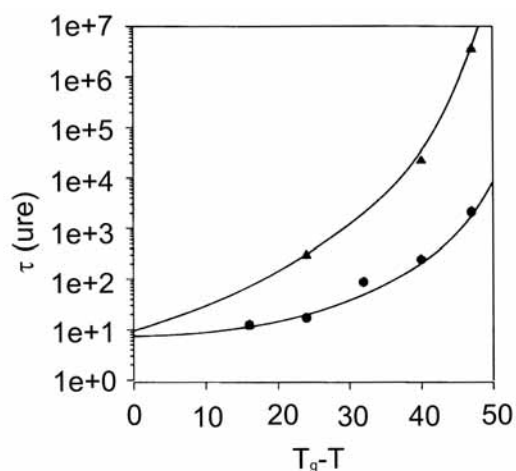
S poznavanjem ΔH_{∞} lahko izračunamo obseg deleža relaksacije v vzorcu (Φ_t) po določenem času hranjenja pri določeni temperaturi T :

$$\Phi_t = 1 - (\Delta H_t / \Delta H_{\infty}) \quad (3),$$

pri čemer je ΔH_t izmerjena entalpija prehoda pri teh pogojih. Ta podatek nato uporabimo za izračun vrednosti τ . Predpostavimo, da v vzorcu obstaja več relaksacijskih procesov s porazdelitvijo relaksacijskega časa tako, da predstavlja τ povprečno vrednost vseh gibanj in ga izračunamo iz naslednje enačbe:

$$\Phi_t = \exp(-t / \tau)^{\beta} \quad (4),$$

pri čemer je β porazdelitveni parameter relaksacijskega časa in znaša med 0 in 1. Enačbo 3 lahko rešujemo z uporabo različnih matematičnih pristopov obdelave eksperimentalnih rezultatov ter tako izračunamo τ in β . Parameter τ lahko podamo kot njegovo porazdelitev v odvisnosti od ($T_g - T$) (Slika 2) (12).



Slika 4: Konstanta molekulske relaksacije dveh modelnih učinkovin v odvisnosti od $T_g - T$ (12).

Figure 4: Relaxation time parameter of two model drugs with scaled temperature $T_g - T$ (12).

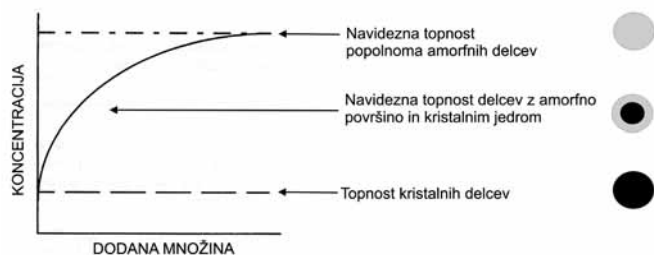
Eksperimentalna merjenja so pokazala, da lahko za določitev ničelne mobilnosti v mnogih primerih uporabimo tudi pravilo $T_g - 50$ (12). To pravilo lahko uporabimo pri večini učinkovin in organskih polimerov, ki jih uporabljamo v farmaciji, oziroma pri sistemih, ki jih opredeljujemo kot krhke. Zaradi šibkih neusmerjenih nekovalentnih interakcij med molekulami teh spojin je sprememba specifične toplote pri T_g velika in jo lahko s termično analizo relativno enostavno določimo. Pri čvrstih steklih (npr. SiO_2), pri katerih je sprememba mobilnosti molekul med steklastim prehodom majhna (s tem tudi majhna sprememba specifične toplote), so pravila za izračun temperature, pri kateri dosežemo ničelno mobilnost molekul, drugačna in prav tako opisana v literaturi (13-15). Med farmacevtsko pomembnimi spojinami sodijo k čvrstim steklom beljakovine, ki so vedno pogostejše predmet raziskovanja tudi s stališča stabilnosti amorfne oblike (16).

V večini primerov je temperatura, pri kateri je treba hraniti amorfni vzorec, da ostane stabilen, mnogo nižja od sobne in je s stališča stabilnosti zdravila neuporabna. Tako potekajo mnoge raziskave uporabe bolj primernih načinov stabilizacije amorfni spojin.

4.2 Amorfizacija in stabilizacija z mletjem

Ena prvih raziskav o vplivu mletja na kristaliničnost učinkovin je bila objavljena leta 1977 (17). Nakai in sodelavci so ugotovili, da mletje modelne učinkovine (benzojska kislina, salicilna kislina, acetilsalicilna kislina) v kombinaciji z mikrokristalno celulozo povzroči amorfizacijo. Amorfnost učinkovin so dokazovali z diferenčno dinamično kalorimetrijo in rentgensko praškovno analizo (17). Predpostavili so, da mletje povzroči nastanek molekulske disperzije učinkovine v nosilcu ali nastanek drobnih kristalov. Isti avtorji so v naslednji raziskavi ugotovili, da tudi mletje lahko hlapnih modelnih učinkovin (naftalen, kofeina, krezol) v kombinaciji z mikrokristalno celulozo povzroči njihovo amorfizacijo. Odporevanje teh učinkovin iz mletih zmesi je bilo pri povišani temperaturi in znižanem tlaku zanemarljivo majhno. Iste učinkovine so iz fizikalnih zmesi pri istih pogojih zelo hitro odparele. Predpostavili so, da se učinkovina v mletih vzorcih nahaja v obliki "entropijsko zmrznjene raztopine", razporejene v porah celuloze. Takšno stabilizacijo naj bi omogočale vodikove vezi. Ko so mlete disperzije izpostavili povišani relativni vlagi, je hitro prišlo do kristalizacije učinkovine, ker naj bi prekinitve vodikovih vezi povečala giljivost molekul (18).

V literaturi lahko najdemo veliko primerov mehanske aktivacije čistih učinkovin in porušenje urejene kristalne strukture (19-21). Spremembe večinoma vplivajo na fizikalno in kemijsko reaktivnost ter tako na hitrost raztapljanja (22). Tudi ti primeri kažejo, da so učinkovine v takšnih vzorcih nestabilne in da pri povišani temperaturi ali vlagi prehajajo v stabilno obliko. Absorbirana vlaga deluje kot mehčalo in poveča mobilnost molekul, kar povzroči rekristalizacijo. Med mletjem prihaja najprej do amorfizacije površine vzorca, medtem ko lahko sredica ostane kristalna (23). Topnost takšnih vzorcev bo pri snoveh z nizko topnostjo odvisna od množine, ki jo dodamo v medij za raztapljanje. Plato koncentracije, ki ga dosežemo s povečevanjem množine mletega vzorca v medij za raztapljanje, ustreza neravnotežni topnosti amorfne oblike te snovi. Primer je podan na sliki 5. Če v topilo dodamo le majhno množino mletega vzorca, se bo amorfna površina takoj raztopila tako, da bo za nadaljnje raztapljanje na voljo le kristalna



Slika 5: Topnost kristalnega, amorfnega vzorca in vzorca z amorfno površino kot funkcija dodane množine v medij za raztapljanje (23).

Figure 5: Solubility of a drug with totally crystalline, totally disordered and disordered surface structure, as a function of the amount added to the dissolution medium (23).

sredica delca in bo topnost vzorca v sorazmerju predvsem s topnostjo stabilne kristalne oblike. S povečevanjem množine mletega vzorca v raztopini bo na voljo več amorfnega vzorca tako, da topnost narašča do nasičene vrednosti neravnotežne topnosti.

Stabilizacijo amorfnе oblike učinkovine lahko dosežemo z dodatkom primerne pomožne snovi in mletjem fizikalne zmesi. Kot primerni pomožni snovi sta se pokazali predvsem polivinilpirolidon (PVP) in SiO₂. Izboljšano raztapljanje učinkovine v tako obdelani zmesi je posledica zmanjšanja velikosti delcev, izboljšanega močenja zaradi dodatka hidrofilne pomožne snovi in amorfizacije učinkovine (24). Splošno velja, da s krogličnim mlinom, ki so ga uporabljali v opisanih raziskavah, ne moremo izdelati delcev manjših od nekaj mikrometrov, zato je malo verjetno, da z mletjem učinkovine v disperziji s pomožno snovjo nastanejo premajhni kristali, ki jih z rentgensko praškovno analizo ne moremo detektirati. Pri proučevanju mletih trdnih disperzij glizentida in PVP so ugotovili, da je za amorfizacijo učinkovine v zmesi potreben mnogo krajši čas mletja kot pri čisti učinkovini. V tem primeru sta bila steklasti prehod in rekristalizacija, določena s termično analizo, dokaz amorfnе oblike učinkovine v mletih vzorcih. Ugotovili so tudi, da so bili amorfni vzorci v disperziji s PVP stabilni najmanj štiri mesece (24).

Natančno so bile proučevane mlete disperzije indometacina in SiO₂ (25). Podobno kot pri glizentidu je potekala amorfizacija učinkovine ob prisotnosti SiO₂ hitreje kot brez nje. Rekristalizacijo indometacina so spremljali z izotermično kalorimetrijo tako, da so merili čas za rekristalizacijo indometacina pri 30°C in relativni vlagi (RH) 11 %. Amorfnа struktura indometacina v mletih zmeseh je bila bolj stabilna kot pri čistem amorfnem indometacinu. Poleg tega so bile razlike v stabilnosti različno dolgo mletih zmesi zelo velike, saj naj bi prisotni mikrokristali učinkovine v ne dovolj zmletih vzorcih predstavljali jedra za kristalizacijo. Z jedrsko magnetno resonanco so proučevali mehanizme interakcij med SiO₂ in indometacinom, do katerih prihaja med mletjem. Ugotovili so, da mletje omogoča tvorbo tako imenovanih mehansko induciranih kemijskih interakcij površine indometacina s silanolnimi skupinami SiO₂ in mehansko poškodovanimi siloksanskimi vezmi. Na ta način pride do omejevanja mobilnosti molekul učinkovine in stabilizacije amorfnе strukture (25).

Poleg tega so s termično analizo ugotovili naraščanje temperature steklastega prehoda s podaljševanjem časa mletja, kar prav tako dokazuje prisotnost interakcij med učinkovino in pomožno snovjo. Za povečanje stabilnosti amorfnega indometacina so izdelali tudi trikomponentne zmesi tako, da so poleg SiO₂ za mletje uporabili še Mg(OH)₂. V tem primeru je prišlo do popolne amorfizacije učinkovine mnogo hitreje kot pri mletju zmesi indometacina in SiO₂. Proces so razložili z merjenjem kislosti mletega SiO₂, Mg(OH)₂ in zmesi teh dveh pomožnih snovi. Ugotovili so, da se s podaljševanjem časa mletja kislost zmesi SiO₂ in Mg(OH)₂ povečuje hitreje kot z mletjem posameznih komponent. Z IR spektroskopijo so pokazali, da pride z mletjem na medfazi obeh pomožnih snovi do mehanokemijske dehidracije, saj se zmanjšujeta vrhova proste OH skupine, značilna za vsako od komponent. Pri mletju obeh pomožnih snovi z indometacinom je tako prišlo do kemijske interakcije med karboksilnimi skupinami na površini učinkovine ter kisló površino, ki je nastala z mehansko inducirano kemijsko interakcijo med SiO₂ in Mg(OH)₂. Zmanjševanje vrhov v IR spektru, značilnih za OH skupino iz karboksilne skupine indometacina in prosto silanolno skupino, je bilo v primeru mletja trikomponentne zmesi najhitrejše. Te interakcije so preprečile kristalizacijo indometacina tako, da je ostal vzorec popolnoma amorfn tudi po dveh mesecih hranjenja pri 30°C in 11 % RH (26). Tudi z mletjem zmesi aluminijevega magnezijevega aluminosilikata in učinkovine so dosegli amorfizacijo in stabilizacijo amorfnе oblike ketoprofena, indometacina, naproksena in progesterona. Predlagani mehanizmi za stabilizacijo so povišanje temperature steklastega prehoda, tvorba vodikovih vezi med učinkovino in pomožno snovjo in mehansko inducirana kemijska interakcija med površinami (27). Z mletjem so v amorfnó obliko uspešno pretvorili naproksen z uporabo necikličnih analogov α in β -ciklodekstrina (28). V tem primeru mehanizmov stabilizacije amorfnе učinkovine niso proučevali.

4.3 Druge metode izdelave trdnih disperzij in stabilizacija amorfnе učinkovine

Čeprav se je mletje pokazalo kot zelo učinkovita metoda za stabilizacijo amorfnе oblike učinkovine, potekajo tudi raziskave učinkovitosti drugih metod izdelave trdnih disperzij. Najbolj znana pomožna snov za izdelavo trdnih disperzij je polivinilpirolidon (PVP). Uporabili so ga za izdelavo trdne disperzije v kombinaciji z več kot šestdesetimi učinkovinami (29). Veliko manj je člankov, ki proučujejo mehanizem stabilizacije amorfnе oblike učinkovine s tem polimerom. PVP uporabljamo za izdelavo trdnih disperzij, ker najpogosteje stabilizira amorfnó obliko učinkovine s protimehčalnim delovanjem. Pomožna snov z visokim T_g in učinkovina z nizkim T_g v zmesi imata višji T_g kot čista učinkovina. Na ta način je zmanjšana mobilnost molekul učinkovine in povečana fizikalna stabilnost zmesi. V primeru, da med komponentama zmesi ni interakcij, lahko T_g izračunamo z uporabo Gordon-Taylor/Kelley-Bueche enačbo (30, 31):

$$T_{g \text{ zmesi}} = \frac{(\omega_1 T_{g1}) + (K\omega_2 T_{g2})}{(\omega_1) + (K\omega_2)} \quad (5)$$

ω_1 in ω_2 sta masna deleža komponent v zmesi K izračunamo ob poznavanju gostote (ρ) obeh komponent iz enačbe 6:

$$K \approx \frac{\rho_1 T_{g1}}{\rho_2 T_{g2}} \quad (6)$$

Odstopanje od idealnega obnašanja zmesi, ki jo opisujemo z Gordon-Taylor/Kelley-Bueche enačbo pomeni, da so med komponentama prisotne medmolekulske interakcije. Protimehčalni učinek so v kombinaciji izkazale tudi citronska kislina (32), dekstroza (33) in vinilni alkohol (34)

Z metodo sušenja z razprševanjem so proučevali stabilnost amorfne laktoze v zmesih s PVP nizke in visoke molekulske mase. Rezultati so pokazali, da dodatek PVP stabilizira amorfno laktozo, s čimer se poveča kritična vrednost relativne vlage (RH), pri kateri poteče rekristalizacija. Ugotovili so, da je PVP z višjo molekulsko maso (K90) učinkovitejši od tistega z nižjo molekulsko maso (K17). Prav tako je učinkovitost večja v primeru, ko je delež PVP v zmesi velik. Kljub temu, da se je T_g pri uporabi PVP-K90 znižala le na 32°C, so bili ti vzorci tudi po šestih mesecih hranjenja pri 25°C in RH 43 % popolnoma amorfni. To pomeni, da je gibljivost molekul laktoze, kljub majhni razliki T_g -T, najverjetneje zaradi tvorbe vodikovih vezi v trdni disperziji s PVP, ustrezno zmanjšana (35). V drugi raziskavi, kjer so proučevali interakcije PVP s ketokonazolom, so ugotovili, da je razlog za povečano stabilnost trdnih disperzij, izdelanih s sušenjem z razprševanjem, odgovoren protimehčalni učinek polimera, ki povzroči dvig T_g učinkovine, poveča viskoznost binarne zmesi in tako zmanjša difuzijo molekul, ki je potrebna za tvorbo kristalne celice (36). ^{13}C jedrska magnetna resonanca in infrardeča spektroskopija sta pokazali, da med komponentama trdne disperzije ne pride do interakcij. Disperzije so bile stabilne en mesec pri temperaturi 30°C in relativni vlagi 52 %. Ta raziskava je pokazala, da naknadno dodani kristali učinkovine povzročijo pretvorbo čiste amorfne učinkovine v disperziji, ker predstavljajo kristalizacijska jedra, medtem ko je bila amorfna oblika učinkovine v disperziji s PVP stabilna tudi ob takšnem dodatku (36).

PVP se je izkazal kot učinkovita pomožna snov za stabilizacijo amorfne ketoprofena s tvorbo trdne disperzije. Z metodo odparevanja topila so izdelali disperzije z amorfno učinkovino, stabilno deset mesecev. Stabilizacijo amorfne učinkovine omogočajo vodikove vezi med karboksilno skupino dispergirane ketoprofena in keto skupino PVP. Poleg tega deluje PVP kot mehanska ovira, ki ločuje delce in molekule učinkovine med seboj in zaradi visoke viskoznosti zmanjšuje njihovo mobilnost (37).

Perng in sodelavci so proučevali vpliv PVP in PEG 8000 na stabilizacijo amorfne oblike učinkovine SB-210661 ((S)-N-hidroksi-N-(2,3-dihidroksi-6-2,3-difluorofenilmetoksi) 3-benzenfuranil)urea) v trdnih disperzijah (38). Te so izdelali z ohlajanjem taline ali mletjem zmesi s PEG in odparevanjem topila v zmesi s PVP. Ugotovili so, da je učinkovina v zmesih s PEG ne glede na način izdelave le deloma amorfna, medtem ko je v zmesih s PVP popolnoma amorfna. Kljub temu, da je bila začetna hitrost raztapljanja učinkovine iz vseh trdnih disperzij enako povečana glede na čisto učinkovino, so bile disperzije s PVP zaradi prisotnih vodikovih vezi med komponentama, ki so jih dokazali z infrardečo spektroskopijo, stabilne najmanj eno leto. Interakcije med PVP in učinkovino so dokazali tudi drugi raziskovalci (39, 40). Proučevali so razlike v IR spektrih fizikalnih zmesi in trdnih disperzij PVP in amorfne indometacina in ugotovili, da je za

povečanje stabilnosti amorfne oblike v trdni disperziji odgovorna tvorba vodikove vezi med hidroksilno skupino učinkovine in karboksilno skupino polimera (39). V disperzijah s PEG tovrstnih interakcij niso dokazali kar je razlog, da se je kristaliničnost učinkovine s časom povečevala, hitrost raztapljanja pa med enoletnim shranjevanjem bistveno znižala (38).

Za stabilizacijo beljakovin najpogosteje uporabljamo postopek sušenja z zamrzovanjem. Ustrezno stabilizacijo lahko dosežemo le z ohranitvijo amorfne strukture produkta. V ta namen uporabljamo predvsem sladkorje, aminokislino in površinsko aktivne snovi (41). Rezultati raziskav so pokazali, da so sladkorji in npr. hidroksipropil- β -ciklodekstrin bolj, aminokislino in manitol pa manj učinkovite spojine za stabilizacijo amorfne strukture zmesi. Pri manj učinkovitih pomožnih snoveh pride med shranjevanjem do kristalizacije in zmanjšanja interakcij z beljakovino, kar zmanjša njeno fizikalno in kemijsko stabilnost (42, 43).

4.4 Spontana amorfizacija učinkovine v fizikalni zmesi ali trdni disperziji

Konno in sodelavci so ugotovili, da se lahko učinkovina v fizikalni zmesi z ustrezno pomožno snovjo spontano pretvori v amorfno obliko (44-47). Tako lahko npr. acetilsalicilna kislina, fenacetin ali flufenaminska kislina v kombinaciji z magnezijevim aluminijevim silikatom ali aktivnim ogljem postanejo amorfne v nekaj dneh. Ugotovili so, da se z znižanjem tlaka hitrost amorfizacije poveča, medtem ko povečana relativna vlaga negativno vpliva na ta proces (47). Predpostavljajo, da proces prehoda učinkovine v amorfno stanje poteka preko parne faze in je odvisen od njenega parnega tlaka. Učinkovina sublimira ter s kristalnih delcev prehaja na površino in v pore pomožne snovi z veliko specifično površino. Hipotezo so potrjevali z izdelavo fizikalnih zmesi spojine z nizkim parnim tlakom (p-hidroksibenzojska kislina) in z visokim parnim tlakom (benzojska kislina) ter z merjenjem hitrosti amorfizacije. Benzojska kislina je postala amorfna mnogo hitreje (nekaj ur) kot p-hidroksibenzojska kislina (več dni) (44). Kasneje je Konno predlagal, da lahko verjetnost pretvorbe učinkovine v amorfno obliko napovemo na osnovi določanjem parnega tlaka učinkovin z uporabo parne destilacije njihovih vodnih raztopin (45).

Raziskave so pokazale, da se učinkovina v ustrezno staranih zmesih, kjer je prišlo do amorfizacije, sprošča mnogo hitreje kot iz kristalne oblike. Tudi stabilnost zmesi je bila ob vzdrževanju nizke vlage ustrezna. Le v primeru acetilsalicilne kisline se je stabilnost zmesi zmanjšala, kar je posledica katalitičnega delovanja adsorbenta, ki je pospešil hidrolizo učinkovine (45). Gupta in sodelavci so ugotovili, da se lahko topnost učinkovine iz trdnih disperzij, izdelanih z granuliranjem s taljenjem Gelucirja 50/13, PEG 8000 in Neusilina US2 (magnezijev aluminosilikat), s časom narašča. Predpostavili so, da lahko učinkovina, ki je proton donor, tvori vodikove vezi, migrira v disperziji in se adsorbira na amorfno pomožno snov Neusilin, ki je proton akceptor. Obstoj tega mehanizma so dokazali na primeru dveh učinkovin s proton donorskimi lastnostmi (BAY 12-9566 in naproksen) tako, da so med shranjevanjem vzorcev merili naraščanje vodikovih vezi z IR spektroskopijo in zmanjševanje kristaliničnosti učinkovin z rentgensko praškovo analizo. V primeru progesterona, ki ni proton donor, tovrstnih sprememb niso dokazali (48)

4.5 Stabilizacija učinkovin in drugih snovi v ozkih porah

Obarjanje spojin v amorfnih obliki lahko dosežemo tudi v ozkih porah oziroma v tankih plasteh. Potrditev takšnega načina amorfizacije in stabilizacije najdemo v elektronski industriji. Za izdelavo večkrat zapisljivih večslojnih optičnih diskov je potrebna dobra prepustnost svetlobe in zato čim tanjša plast aktivne snovi (snov, ki med zapisovanjem kristalizira) (49). Praktično so ugotovili, da snovi, ki jih uporabljajo za večkrat zapisljive zgoščenke (kvarterne zmesi, npr. Ge-Sn-Sb-Te), kristalizirajo v plasti debeline 6 nm ali več (50), medtem ko v tanjši plasti ostanejo amorfne. V primeru zlitin železa in cirkonija so ugotovili naraščanje debeline plasti, ki kristalizira, od 2 nm za čisto železo do 30 nm za železo, ki vsebuje 7 atomskih odstotkov cirkonija (51). Raziskave potekajo tudi na področju stabilizacije amorfnih učinkovin v ozkih porah. Nam in sodelavci so z namenom stabilizacije antioksidanta resveratrola izdelovali polimerne mikrosfere. Ugotovili so, da je učinkovina v mikrosferah z večjimi porami kristalna, medtem ko je v porah velikosti pod 3.9 nm amorfnina. (52). Maver in sodelavci so izdelovali gele silicijevega dioksida, ki so vsebovali nifedipin, z uporabo sol-gel metode. Na ta način so izdelali delce, iz katerih se je učinkovina več ur nadzorovano sproščala. Praktično in teoretično so pokazali, da je učinkovina v kserogelih silicijevega dioksida z velikostjo por od 2 do 3 nm amorfnina in v tej obliki tudi stabilizirana (53).

5 Sklep

Amorfno obliko učinkovine lahko uporabimo v disperzijah z namenom zadržanja ali pospešitve sproščanja glede na kristalno obliko. V primeru netopne učinkovine s tvorbo amorfnih oblik povečamo hitrost raztapljanja in biološko uporabnost. V primeru dobro topnih učinkovin lahko s tvorbo amorfnih oblik izboljšamo stik učinkovine z nosilcem (npr. polimerom) in tako izboljšamo nadzor nad profilom sproščanja. Tudi po več desetletjih raziskav je na tržišču le nekaj zdravil, ki vsebujejo amorfnobliko učinkovine (npr. zdravilo z učinkovino zafirlukast, s cefuroksim aksetilom, s kinaprilijevim hidrokloridom, z nelfiravin mezilatom, z cefpodoxim proksetilom in nekatera zdravila s statini). Na trgu najdemo tudi zdravilo, ki poleg kristalnega vsebuje še amorfnobliko inzulina, kar omogoča hitro in podaljšano delovanje. Izdelava trdnih disperzij je trenutno najbolj uporabljen način stabilizacije amorfnih učinkovin. Za njihovo izdelavo lahko uporabimo energijsko bolj zahtevne postopke, kot sta mletje in liofilizacija. Med energijsko manj zahtevne sodijo izdelava disperzij s taljenjem ($T = \text{do } 70^\circ\text{C}$), razprševanje raztopine učinkovine in pomožne snovi z uporabo organskih topil (npr. etanola) na nosilne delce. Kljub temu, da je pri teh postopkih potrebno upoštevati zahteve, kot so meja vsebnosti zaostalega organskega topila v produktu, recikliranje topila zaradi varovanja okolja in delo z eksplozijsko varno opremo, se tudi ti uporabljajo za izdelavo zdravil.

6 Literatura

1. Ferlan A, Vrečer F. Metode amorfizacije zdravilnih učinkovin. Farm Vestn 2004; 55: 11-21.
2. Yu L. Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization. Adv Drug Del Rev 2001; 48: 27-42.
3. Pikal M. Freeze drying of proteins: process, formulation and stability. V: Cleland LJ, Langer R (urednika), ACS Symposium Series 567, Formulation and delivery of proteins and peptides, ACS, Washington DC 1994: 20-133.
4. Broadhead J, Rouan Edmond SK, Rhodes CT. The spray drying of pharmaceuticals. Drug Dev Ind Pharm 1992; 18: 1169-1206.
5. Niven RW. Delivery of biotherapeutics by inhalation aerosols. Pharm Technol 1993; 17: 72-82.
6. Yu L, Mishra DS, Rigsbee DR. Determination of the glass properties of D-mannitol using sorbitol as an impurity. J Pharm Sci. 1998; 87: 774-777.
7. Saleki-Gerhardt A, Stowell JG, Byrn SR, Zogaei G. Hydration and dehydration of crystalline and amorphous forms of raffinose. J Pharm Sci 1995; 84: 318-323.
8. Li Y, Han J, Zhang GGZ, Grant DJW, Suryanarayanan. In situ dehydration of carbamazepine dihydrate: a novel technique to prepare amorphous anhydrous carbamazepine. Pharm Dev and Tech 2000; 5(2): 257-266.
9. Mosharraf M, Sebhatu T, Nystrom C. The effects of disordered structure on the solubility and dissolution rates of some hydrophilic, sparingly soluble drugs. Int J Pharm 1999; 177: 29-51.
10. Ediger MD, Angell CA, Nagel SR. Supercooled liquids and glasses. J Phys Chem 1996; 100: 13200-13212.
11. Monserat S. Physical aging studies in epoxy resins I. Kinetics of the enthalpy relaxation process in a fully cured epoxy resin. J Polim Sci 1994; 32: 509-522.
12. Hancock BC, Shamblin SL, Zografi G. Molecular mobility of amorphous pharmaceutical solids below their glass transition temperatures. Pharm Res 1995; 12(6): 799-806.
13. Slade L, Levine H. Glass transitions and water-food structure interactions. Adv. Food Nutr. Res 1995; 38: 103-269.
14. Angell CA. The old problems of glass and the glass transition and the many new twists. Proc Nat Acad Sci USA. 1995; 92: 6675-6682
15. Angell CA. Formation of glasses from liquids and biopolymers. Science 1995; 267: 1924-1935.
16. Craig DQM, Royall PG, Kett VL, Hopton ML. The relevance of the amorphous state to pharmaceutical dosage forms: glassy drugs and freeze dried systems. Int J Pharm 1999; 179: 179-207.
17. Nakai Y, Fukuoka E. et. al. Effects of grinding on physical and chemical properties of crystalline medicinals with microcrystalline cellulose. I. Some physical properties of crystalline medicinals in ground mixtures. Chem Pharm Bull 1977; 25(12): 3340-3346.
18. Nakai Y, Fukuoka E. et. al. Effects of grinding on physical and chemical properties of crystalline medicinals with microcrystalline cellulose. II. Retention of volatile medicinals in ground mixture. Chem Pharm Bull 1978; 26(10): 2983-2989.

19. Haleblan JK, Koda RT, Biles JA. Isolation and characterization of some solid phases of fluprednisolone. *J Pharm Sci* 1971; 60: 1485-1491.
20. Hersey JA, Krycer I. Biopharmaceutical implications of technological change *Int J Pharm Tech Prod Manuf* 1980; 1(2): 18-21.
21. Hüttenrauch R. Fundamentals of pharmaceuticals. *Acta Pharm Technol* 1988; 34(1): 1-10.
22. Gubskaya AV, Lisnyak YV, Blagoy YP Effect of cryogrinding on physico-chemical properties of drugs I. Theophylline: Evaluation of particle sizes and the degree of crystallinity, relation to dissolution parameters. *Drug Dev Ind Pharm* 1995; 21(17): 1953-1964.
23. Elamin AA, Ahlneck C, Alderborn G, Nyström C. Increased metastable solubility of milled griseofulvin, depending on the formulation of a disordered surface structure. *Int J Pharm* 1994; 111: 159-170.
24. Mura P, Cirri M, Faucci MT et al. Investigation of the effects of grinding and co-grinding on physicochemical properties of glisentide. *J Pharm Biom Anal.* 2002; 30: 227-237.
25. Watanabe T, Wakiyama N, Usui F et al. Stability of amorphous indomethacin compounded with silica. *Int J Pharm* 2001; 226: 81-91.
26. Watanabe T, Ohno I, Wakiyama N et al. Stabilization of amorphous indomethacin by co-grinding in a ternary mixture. *Int J Pharm* 2001; 241: 103-111.
27. Gupta MK, Vanwert A, Bogner RH. Formation of physically stable amorphous drugs by milling with neusilin. *J Pharm Sci* 2003; 92(3) 536-551.
28. Sorrenti M, Negri A, Betinetti P. DSC study of crystallinity changes of naproxen in ground mixtures with linear maltooligomers. *J Therm Anal.* 1998; 51: 993-1000.
29. Ford JL. The current status of solid dispersions. *Pharm Acta Helv* 1986; 61: 69-88.
30. Gordon M, Taylor JS. Ideal copolymers and the second-order transitions of synthetic rubbers 1: Non-crystalline copolymers. *J Appl Chem* 1952; 2: 493-498.
31. Kelley FN, Bueche F. Viscosity and glass temperature relations for polymer diluent systems. *J Polym Sci* 1961; 50: 549-556.
32. Summers MP. Glass formation in barbiturates and solid dispersion systems of barbiturates with citric acid. *J Pharm Sci* 1978; 67: 1606-1610.
33. Timko RJ, Lordi NG. Thermal analysis studies of glass dispersion systems. *Drug Dev Ind Pharm* 1984; 10: 425-451.
34. Six K, Verreck G, Peeters J et al. Increased Physical stability and improved dissolution properties of itraconazole, a class II drug, by solid dispersions that combine fast- and slow-dissolving polymers. *J Pharm Sci* 2004; 93: 124-131.
35. Berggren J, Alderborn G. Long-term stabilisation potential of poly(vinylpyrrolidone) for amorphous lactose in spray-dried composites. *Eur J Pharm Sci* 2004; 21: 209-215.
36. Van sen Mooter G, Wuyts M, Bleton N et al. Physical stabilisation of amorphous ketoconazole in solid dispersions with polyvinylpyrrolidone. *Eur J Pharm Sci* 2001; 12: 261-269.
37. Di Martino P, Joiris E, Gobetto R et al. Ketoprofen-poly(vinylpyrrolidone) physical interaction. *J Cryst Growth* 2004; 265: 302-308.
38. Perng CY, Kearney AS, Patel K et al. Investigation of formulation approaches to improve the dissolution of SB-210661, a poorly water soluble 5-lipoxygenase inhibitor. *Int J Pharm* 1998; 176: 31-38.
39. Taylor LS, Zoografi G. Spectroscopic characterization of interactions between PVP and indomethacin in amorphous molecular dispersions. *Pharm Res* 1997; 14: 1691-1698.
40. Khougaz K, Clas SD. Crystallization inhibition in solid dispersions of MK-0591 and poly(vinylpyrrolidone) polymers. *J Pharm Sci* 2000; 89: 1325-1334.
41. Izutsu K, Yoshioka S, Terao T. Decreased protein stabilizing effects of cryoprotectants due to crystallization. *Pharm Res* 1997; 10 (8): 1232-1237.
42. Pikal M.J. Freeze-drying of proteins. II. Formulation selection. *Biopharm* 1990; 3: 26-29.
43. Pikal MJ, Dellerman KM et al. The effects of formulation variables on the stability of freeze-dried human growth hormone. *Pharm Res* 1991; 8: 427-436.
44. Konno T, Kinuno K. et al. Physical and chemical changes of medicinals in mixtures with adsorbents in the solid state. I. Effect of vapor pressure on the medicinals on changes in crystalline properties. *Chem Pharm Bull* 1986; 34(1): 301-307.
45. Konno T. Physical and chemical changes of medicinals in mixtures with adsorbents in the solid state. II. Application of reduced pressure treatment for the improvement of dissolution of flufenamic acid. *Chem Pharm Bull* 1989; 37(8): 2481-2484.
46. Konno T. Physical and chemical changes of medicinals in mixtures with adsorbents in the solid state. III. Determination of vapor pressure of solid drugs by steam distillation. *Chem Pharm Bull* 1990; 38(4): 1032-1034.
47. Konno T, Physical and chemical changes of medicinals in mixtures with adsorbents in the solid state. IV. Study on reduced-pressure mixing for practical use of amorphous mixtures of flufenamic acid. *Chem Pharm Bull* 1990; 38(7): 2003-2007.
48. Gupta KG, Bogner RH et al. Mechanism for further enhancement in drug dissolution from solid dispersion granules upon storage. *Pharm Dev Technol* 2002; 7(1): 103-112.
49. Hyot B, Poupinet L, Desré PJ Stabilization of the amorphous state of a thin layer sandwiched between two crystals. *Thin Solid Films* 2003; 2003: 290-294.
50. Kojima R, Yamada N. Acceleration of crystallization speed by Sn addition to Ge-Sb-Te phase-change recording material. *Jpn J Appl Phys* 2001; 40: 5930-5937.
51. Herr H, Geisler H et al. Polymorphic crystallization of interface stabilized amorphous Fe-Zr thin films under variable driving force. *Phys Rev B* 1999; 21: 13719
52. Nam JB, Ryu JH, Kim JW et al. Stabilization of resveratrol immobilized in monodisperse cyano-functionalized porous polymeric microspheres. *Polymer* 2005; 46: 8956-8963.
53. Maver U, Godec A, Bele M. et al. Novel hybrid silica xerogels for stabilization and controlled release of drug. *Int. J Pharm.* 2007; 30: 164-174.