

Nieinwazyjne metody analizy instrumentalnej w nowoczesnej technologii farmaceutycznej

Joanna Ronowicz¹, Natalia Piekus-Słomka¹

¹Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Wydział Farmaceutyczny, Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Bydgoszcz, Polska

Farmacja Polska, ISSN 0014-8261 (print); ISSN 2544-8552 (on-line)

Adres do korespondencji

Joanna Ronowicz, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Wydział Farmaceutyczny, Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, ul. Jurasza 2, 85-089 Bydgoszcz, e-mail: joanna.ronowicz@gmail.com

Źródła finansowania

PDB WF 514 (Wydział Farmaceutyczny CM UMK).

Konflikt interesów:

Nie istnieje konflikt interesów.

Otrzymano: 2020.04.06

Zaakceptowano: 2020.04.16

Opublikowano on line: 2020.04.25

DOI

10.32383/farmpol/121027

ORCID

Joanna Ronowicz (ORCID iD: 0000-0002-7959-7924)

Natalia Piekus-Słomka (ORCID iD: 0000-0003-3011-7536)

Copyright

© Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne

To jest artykuł o otwartym dostępie, na licencji CC BY NC



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Jakość produktu leczniczego powinna być zapewniona w oparciu o analizę ryzyka. Efektywne zarządzanie ryzykiem jest możliwe poprzez wdrożenie innowacyjnej technologii analizy procesu (ang. *Process Analytical Technology*, PAT). Strategia PAT jest rekomendowana przez Europejską Agencję Leków (ang. *European Medicine Agency*, EMA) oraz Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (ang. *Food and Drug Administration*, FDA) [1]. Dążenie do uzyskania sprawnego systemu kontroli procesu wytwarzania sprawia, że na znaczeniu zyskują szczególnie techniki nieinwazyjne stwarzające możliwość monitorowania poszczególnych etapów procesu technologicznego, a tym samym szybkiej identyfikacji defektów powstających podczas wytwarzania postaci leku. Tego typu techniki analityczne okazują się bezcenne w analizie właściwości fizykochemicznych surowców, półproduktów oraz produktów końcowych podczas produkcji ciągłej. Sondy światłowodowe umieszczone wewnątrz mieszalników oraz czujniki pomiarowe umieszczane bezpośrednio na linii produkcyjnej umożliwiają monitorowanie jakości procesów produkcyjnych w czasie rzeczywistym [2, 3].

Nowoczesne niedestrukcyjne metody analityczne pożądane są nie tylko na etapie kontroli jakości procesów wytwarzania produktów leczniczych, ale również na etapie badawczo-rozwojowym w ramach prac preformulacyjnych i formułacyjnych. Firmy generyczne coraz chętniej sięgają po zaawansowane metody analityczne na etapie prac preformulacyjnych, aby w pełni scharakteryzować produkt referencyjny i móc go następnie odtworzyć w postaci leku generycznego.

Obrazowanie ramanowskie

Coraz większą popularnością przemysłu farmaceutycznego cieszy się obrazowanie ramanowskie.

Non-invasive instrumental analytical methods in modern pharmaceutical technology

The purpose of this work is the evaluation of the state of knowledge in the scope of the possibility of using of non-invasive analytical methods in the implementation of *Process Analytical Technology* strategy, which is currently recommended by worldwide registration agencies. The drug product quality should be based on risk analysis. Effective risk management is possible through the implementation of innovative process analysis technology (PAT strategy).

The pursuit of an efficient production control system makes non-invasive techniques particularly important. These techniques provide the ability to monitor each stage of the manufacturing process, and thus identify defects during the manufacture of drug dosage forms. The infrared spectroscopy, Raman spectroscopy and pulse terahertz spectroscopy are gaining in importance. Research articles describe the application of Raman imaging, scanning electron microscopy or atomic force microscopy in the evaluation of pharmaceutical formulations. These methods facilitate making accurate technological decisions that guarantee the desired drug product quality.

The need to adapt to current regulations and recommendations of regulatory authorities in the field of process control systems forces the search for new analytical methods allowing for the collection of process data in real-time. In recent years, innovative instrumental analytical methods such as optical coherence tomography, X-ray microtomography and microwave resonance have gained popularity. In comparison to the traditional approach to the drug product quality assurance, the PAT strategy assumes a holistic approach by integrating the manufacturing process with simultaneous control of all production stages.

It seems extremely important to automate the manufacturing process control so that it is carried out without interrupting production as part of so-called continuous process verification. Due to a better process understanding and accurate identification of sources of variation in manufacturing process, the implementation of PAT strategy seems to be necessary to obtain the desired drug product quality in a repeatable manner. The principle of continuous process and product quality improvement focuses on reducing the manufacturing process variability by continuous process monitoring using non-invasive and non-destructive instrumental analytical methods.

Keywords: infrared spectroscopy, pulse terahertz spectroscopy, Raman spectroscopy, Raman imaging, X-ray microtomography.

© Farm Pol, 2020, 76 (3): 163–169

Sprzężenie spektrofotometru ramanowskiego z mikroskopem konfokalnym bądź z mikroskopem sił atomowych (ang. *Atomic Force Microscopy*, AFM) stwarza duże możliwości aplikacyjne. Obrazowanie ramanowskie pozwala na analizę topografii badanych próbek, jak również na pomiary konfokalne. Metoda daje możliwość określenia dystrybucji substancji czynnych oraz użytych substancji pomocniczych w badanej postaci leku, a tym samym pozwala zobrazować

homogeniczność formułacji farmaceutycznej [4–7]. Co ważne, tego typu pomiary są niedestrukcyjne dla badanych materiałów. W kwestii oceny tożsamości badanej próby obrazowanie ramanowskie jest metodą porównawczą, zatem skład chemiczny próbki można określić na podstawie porównania zarejestrowanych dla niej widm Ramana z widmami substancji wzorcowych. Na podstawie wyznaczonych pasm markerowych obecnych w widmach substancji referencyjnych można potwierdzić bądź wykluczyć ich obecność w formułacji, a także przedstawić dystrybucję zidentyfikowanych substancji czynnych i pomocniczych w badanej postaci leku. Wysoka rozdzielczość przestrzenna tej techniki pomiarowej sprawia, że zmapowany obraz dostarcza cennych informacji o badanym materiale. Niekiedy – z uwagi na wielowymiarowość rejestrowanych danych – wymagane jest użycie metod chemometrycznych w celu uzyskania informacji o składnikach formułacji i ich dystrybucji w badanej postaci leku. Metoda obrazowania ramanowskiego pozwala ponadto na identyfikację i rozróżnienie form polimorficznych składników badanej próbki. Jest to szczególnie istotne, gdyż zjawisko polimorfizmu dotyczy wielu związków chemicznych wykazujących aktywność farmakologiczną. Odmiany polimorficzne mogą różnić się między sobą właściwościami fizycznymi, np. twardością, temperaturą topnienia, rozpuszczalnością czy szybkością rozpuszczania. Identyfikacja odmian polimorficznych jest niezwykle istotna, gdyż tylko jedna z nich jest termodynamicznie stabilna. Pozostałe są nietrwałe (metastabilne) i z różną szybkością przechodzą w postać trwałą, którą charakteryzuje zwykle najmniejsza rozpuszczalność i najwyższa temperatura topnienia. Proces transformacji jednej postaci polimorficznej w drugą może zachodzić podczas przechowywania substancji, ale także w trakcie procesu technologicznego, np. pod wpływem ekspozycji na podwyższoną temperaturę w procesie suszenia bądź w wyniku ekspozycji proszku lub granulatu na siły kompresji w trakcie tabletkowania. Polimorfizm substancji leczniczej może wpływać na właściwości mechaniczne tabletek, na szybkość rozpuszczania API, a tym samym na dostępność biologiczną i efekt terapeutyczny. Stąd kontrola oraz ciągłe monitorowanie ewentualnych zmian postaci polimorficznej API na etapie procesu wytwarzania jest jak najbardziej zasadne [8]. W farmacji przemysłowej istnieje zapotrzebowanie na szybkie metody analityczne identyfikujące i trafnie charakteryzujące poszczególne polimorfy. Wykorzystywana jest w tym celu najczęściej rentgenowska analiza dyfrakcyjna, absorpcyjna spektrofotometria w zakresie podczerwieni, spektrofotometria ramanowska, a także metody termiczne,

jak np. różnicowa kalorymetria skaningowa [8, 9]. Mikroskopia ramanowska oprócz możliwości zmapowania badanej formacji farmaceutycznej stwarza również możliwość identyfikacji i rozróżnienia odmian amorficznych, polimorficznych oraz pseudopolimorficznych użytych substancji czynnych.

Metody mikroskopowe (SEM i AFM)

Metody mikroskopowe są coraz częściej wykorzystywane w ocenie formacji farmaceutycznych. Skaningowa mikroskopia elektronowa (ang. *Scanning Electron Microscope*, SEM) jest przydatna w badaniach mikrostruktury, składu ciał stałych czy ocenie stabilności postaci leku [9]. Technika SEM z powodzeniem wykorzystano do oceny stabilności mikrosfer alginianowych pokrytych dwuwarstwową otoczką oraz identyfikacji czynników przyspieszających degradację mikrosfer. Analiza zarejestrowanych obrazów SEM wykazała, że dla uzyskania stabilnych mikrocząstek kluczowe znaczenie miała czystość polimeru wyjściowego, z kolei długość łańcucha polimeru miała znaczenie drugorzędne [10].

Coraz bardziej popularna w przemyśle farmaceutycznym staje się mikroskopia sił atomowych (ang. *Atomic Force Microscopy*, AFM) pozwalająca na uzyskanie informacji o topografii powierzchni, morfologii czy chropowatości badanej próbki. Zaletą metody jest wysoka rozdzielczość oraz brak konieczności specjalnego przygotowywania próbek do badania. Istnieje możliwość przeprowadzenia badania w środowisku wodnym, co ma szczególne znaczenie w przypadku próbek biologicznych. Metoda AFM jest przydatna w nowoczesnej technologii farmaceutycznej w ocenie postaci leku. Hsiang-Fa Liang i wsp. wykorzystali mikroskopię AFM w ocenie morfologii i rozmiaru nanocząstek polimerowych, zawierających paklitaksel stosowany w chemioterapii nowotworów [11].

Metody spektroskopowe w realizacji strategii PAT

Strategia PAT (ang. *Process Analytical Technology*, Technologia z Analizą Procesu) opiera się na pomiarach w czasie rzeczywistym krytycznych cech jakościowych używanych surowców i półproduktów podczas technologicznego procesu wytwarzania produktu leczniczego. Strategia PAT zwraca uwagę na konieczność monitorowania każdego etapu procesu produkcji w czasie rzeczywistym. Realizacja strategii PAT jest możliwa dzięki zaawansowanym nieinwazyjnym metodom analizy instrumentalnej. W tym celu wykorzystywane są często metody spektroskopowe wspomagane chemometrycznymi technikami analizy zebranych

danych pomiarowych, co zdecydowanie ułatwia pozyskanie istotnych informacji o technologicznym procesie wytwarzania, a tym samym pozwala wychwycić i w porę zareagować na ewentualne odchylenia od zalecanych w specyfikacji wartości parametrów procesowych. Priorytetem strategii PAT jest minimalizowanie ryzyka wystąpienia nieprawidłowości podczas procesu produkcyjnego, a tym samym zmniejszenie ryzyka uzyskania produktu leczniczego niespełniającego wymagań specyfikacji.

Metodami analitycznymi zalecanymi w realizacji strategii PAT są techniki nieinwazyjne i niedestrukcyjne, jak np. spektroskopia w zakresie bliskiej podczerwieni czy spektroskopia Ramana. Sonda światłowodowa umieszczona np. w wnętrzu mieszalnika i sprzężona ze spektrofotometrem pozwala na szybką identyfikację substancji czynnej, substancji pomocniczych, ocenę homogenności proszku bez potrzeby pobierania próbek z różnych miejsc wsadu i oznaczania w nich jednolitości zawartości API. Metody spektroskopowe, oprócz ich użycia w potwierdzeniu tożsamości API oraz ocenie zawartości API w półproduktach, znajdują zastosowanie w monitorowaniu procesu granulacji na mokro – w ocenie zawartości wilgoci w granulacie oraz identyfikacji ewentualnych produktów degradacji API na skutek rozkładu hydrolytycznego. Zawartość wody w granulacie jest parametrem krytycznym procesu granulacji na mokro, gdyż zbyt duża zawartość wody może skutkować brakiem stabilności substancji czynnej, jak również w sposób istotny może wpływać na zdolność płynięcia granulatu podczas procesu tabletkowania lub kapsułkowania.

Spektroskopia w zakresie podczerwieni (FTIR oraz ATR-FTIR)

Metody spektroskopowe znalazły szerokie zastosowanie podczas badań preformulacyjnych, formulacyjnych, przy projektowaniu i produkcji leków innowacyjnych oraz generycznych. W badaniach tożsamości substancji wykorzystywane są często właśnie techniki spektroskopowe. Promieniowanie elektromagnetyczne oddziałując z cząsteczką może ulegać absorpcji, odbiciu lub rozpraszaniu. Spektroskopia fourierowska w zakresie podczerwieni (ang. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, FTIR) wykorzystywana jest do badania struktury cząsteczek oraz oddziaływań międzycząsteczkowych. Absorpcja promieniowania z zakresu podczerwieni powoduje w cząsteczce zmianę energii oscylacyjnej i rotacyjnej, stąd rejestrowane widmo jest widmem oscylacyjno-rotacyjnym. Zaletą techniki FTIR jest wysoka czułość i krótki czas pomiaru. Możliwość użycia przystawki

do pomiarów w świetle odbitym, wykorzystującej zjawisko całkowitego wewnętrznego odbicia (ang. *Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, ATR-FTIR) sprawia, że cienka warstwa badanej substancji umieszczona jest na powierzchni kryształu (np. germanu, diamentu, selenku cynku czy krzemu), badanie jest nieinwazyjne i nie wymaga specjalnego przygotowania próbki do analizy.

Spektroskopia w zakresie podczerwieni wykorzystywana jest w analizie jakościowej oraz ilościowej substancji czynnych, substancji pomocniczych, półproduktów oraz finalnej postaci leku. Podstawą analizy ilościowej jest prawo Lamberta-Beera oraz prawo addytywności absorpcji. Widmo w zakresie podczerwieni przedstawia zależność intensywności absorpcji lub transmisji od liczby falowej. Położenie charakterystycznych pasm absorpcyjnych wskazuje na obecność w cząsteczce konkretnych wiązań i grup funkcyjnych. Metodę spektroskopii FTIR z powodzeniem wykorzystano w ocenie efektywności zamykania substancji czynnych w chitozanowych nanosferach. Zarejestrowane widma wskazywały na silne oddziaływanie pomiędzy API a matrycą polimerową, co świadczy o efektywnym zamykaniu substancji czynnej w nanosferach [12].

Metoda FTIR może być wykorzystywana w ocenie kompatybilności substancji czynnej z substancjami pomocniczymi [13, 14]. Przygotowane na etapie prac preformulacyjnych mieszaniny API z substancjami pomocniczymi poddaje się ekspozycji na podwyższoną temperaturę i wilgotność, po czym ocenia się zawartość substancji czynnej w mieszaninie oraz obecność ewentualnych produktów rozkładu. Funkcjonalność substancji pomocniczych oraz ich zgodność chemiczna z substancją czynną stanowią podstawowe kryteria podczas definiowania składu nowej formacji farmaceutycznej [15]. Wybór odpowiednich substancji pomocniczych – w oparciu o przeprowadzone badania kompatybilności – sprzyja opracowaniu stabilnej postaci w zdefiniowanym czasie. Zmiana położenia i intensywności pasm absorpcji, zanik lub pojawienie się nowych pasm absorpcji w widmie FTIR może wskazywać na wystąpienie interakcji chemicznych między badanymi związkami. Wykonanie analizy zgodności API z substancjami pomocniczymi na etapie prac preformulacyjnych pozwala zidentyfikować i wyeliminować problemy dotyczące stabilności opracowywanej postaci leku [15].

Badania wykazały, że metoda ATR-FTIR może stanowić użyteczną technikę przesiewową we wstępnych badaniach zgodności gabapentyny z substancjami pomocniczymi na etapie prac preformulacyjnych. W odróżnieniu od powszechnie

stosowanych metod chromatograficznych i termicznych, technika ATR-FTIR umożliwia przeprowadzanie szybkiej, nieinwazyjnej i niedestrukcyjnej analizy kompatybilności substancji w stanie stałym. Pełna ocena niezgodności powinna być jednak uzupełniona o techniki komplementarne [15]. Wykazano przydatność nieinwazyjnej techniki ATR-FTIR w kontroli fotostabilności chlorowodoru ranitydyny w tabletkach. Spektrofotometr umieszczony bezpośrednio na linii produkcyjnej pozwolił monitorować zawartość fotolabilnej substancji czynnej [16, 17].

Spektroskopia w zakresie bliskiej podczerwieni (NIR)

Spektroskopia w zakresie bliskiej podczerwieni (ang. *Near Infrared Spectroscopy*, NIR) umożliwia nieniszczącą analizę próbek i nie wymaga specjalnego przygotowywania próbki do badania, z tego względu technika NIR stanowi wartościowe narzędzie PAT. Spektroskopia w zakresie bliskiej podczerwieni stosowana jest w ocenie tożsamości substancji czynnej, identyfikacji jej odmiany polimorficznej, a także w analizie ilościowej [18–21]. Niekiedy interpretacja zarejestrowanego widma NIR jest niełatwa. Widmo wymaga często wstępnej obróbki, polegającej na redukcji szumów i zwiększeniu intensywności sygnału pochodzącego od analizowanej substancji chemicznej. Taka matematyczna obróbka odbywa się przy użyciu algorytmów matematycznych i chemometrycznych, które sprawiają, że technika NIR znajduje zastosowanie również w analizie ilościowej. Z uwagi na fakt, że cząsteczki wody silnie absorbują promieniowanie z zakresu bliskiej podczerwieni, spektroskopia NIR jest wykorzystana do szybkiego pomiaru zawartości wilgoci w półproduktach oraz końcowych produktach farmaceutycznych [18]. Wykazano również przydatność techniki NIR w monitorowaniu *in-line* procesu liofilizacji [19].

Spektroskopia Ramana

Proces wytwarzania leku składa się z szeregu operacji jednostkowych, których przebieg musi być stale monitorowany dla zapewnienia pożądanej jakości produktu końcowego. Niekiedy konieczne jest prowadzenie badań z wykorzystaniem kilku komplementarnych metod analitycznych. Technika komplementarna do spektroskopii w zakresie podczerwieni jest spektroskopia Ramana. Widmo ramanowskie przedstawia zależność intensywności promieniowania rozproszonego w funkcji przesunięcia ramanowskiego. W widmach ramanowskich, podobnie jak w widmach IR, występują pasma o częstościach charakterystycznych dla

obecnych w badanej cząsteczce wiązań chemicznych i grup funkcyjnych. Intensywność pasma ramanowskiego zależy od liczby centrów rozpraszających. Liczba ta jest proporcjonalna do zawartości badanej substancji, co sprawia, że metoda znajduje zastosowanie nie tylko w badaniach tożsamości surowców, ale również – po wcześniejszej kalibracji – w analizie ilościowej substancji czynnych. Niewątpliwą zaletą spektroskopii Ramana jest brak konieczności specjalnego przygotowania próbki do badania oraz możliwość użycia dowolnego rozpuszczalnika, w tym wody. Istotnym ograniczeniem klasycznej spektroskopii Ramana może być limit detekcji oraz stosunkowo nieduża intensywność rejestrowanego promieniowania. Wzmocnienie rejestrowanego sygnału jest możliwe poprzez adsorpcję badanej substancji na specjalnie przygotowanej powierzchni metalicznej (nanocząstki srebra, złota, platyny) o dużej chropowatości. Na tak przygotowanej powierzchni pierwotny sygnał zostaje silnie wzmocniony (nawet ponad milion razy), dzięki czemu możliwe jest wykrycie nawet pojedynczych molekuł. Taka technika pomiaru określana jest jako powierzchniowo wzmocniona spektroskopia Ramana (ang. *Surface Enhanced Raman Spectroscopy*, SERS). Innym rozwiązaniem pozwalającym na znaczne wzmocnienie rejestrowanego sygnału jest użycie rezonansowej spektroskopii Ramana czy powierzchniowo wzmocnionej rezonansowej spektroskopii ramanowskiej [9].

Optyczna tomografia koherencyjna (OCT)

Konieczność dostosowania się do aktualnych regulacji oraz zaleceń organów rejestracyjnych (FDA, EMA) w zakresie systemów kontroli procesów wytwarzania, wymusza poszukiwanie nowych metod analitycznych pozwalających na zbieranie danych procesowych w czasie rzeczywistym. W ostatnich latach popularność zdobywają nowatorskie metody analizy instrumentalnej, jak chociażby optyczna tomografia koherencyjna czy rezonans mikrofalowy. Metody te – użyte w kontroli procesu wytwarzania – sprzyjają podejmowaniu trafnych decyzji technologicznych, gwarantujących pożądaną jakość wytwarzanego produktu leczniczego.

Optyczna tomografia koherencyjna (ang. *Optical Coherence Tomography*, OCT) do tej pory była szeroko stosowana w diagnostyce medycznej, szczególnie w okulistyce do nieinwazyjnego badania dna oka i uzyskiwania szczegółowych obrazów wnętrza siatkówki, włókien nerwowych oraz poszczególnych warstw nerwu wzrokowego. Metoda OCT z powodzeniem sprawdza

się w nowoczesnej kardiologii interwencyjnej w diagnostyce choroby niedokrwiennej serca. Ta nowoczesna nieinwazyjna i bezdotykowa metoda trójwymiarowego obrazowania zyskuje zainteresowanie również w przemyśle farmaceutycznym, np. w monitorowaniu procesu powlekania tabletek, peletek oraz ocenie jakości, grubości i homogenności otoczki. Przy użyciu metody OCT nie jest wymagane wcześniejsze przygotowanie próbki, obrazy są rejestrowane bez bezpośredniego kontaktu aparatu z próbką. OCT to szybka metoda, stwarzająca możliwość skanowania powierzchni rdzenia i zebrania nawet 60 obrazów w ciągu sekundy. Innowacyjna technologia OCT pozwala na śledzenie procesu powlekania i szybkie wychwytywanie zmienności w procesie, tak by zapewnić pożądaną jakość i homogenność otoczki. Ocena przyrostu masy otoczki oraz wewnętrznej struktury otoczki (wykluczenie obecności pęcherzyków powietrza) odbywa się w czasie rzeczywistym [22, 23].

Spektrofotometria UV-Vis

Niekiedy w celu monitorowania procesów technologicznych w czasie rzeczywistym wytwórcy sięgają po znane metody analityczne, jak chociażby spektrofotometria UV-Vis. Niestandardowe wykorzystanie tej metody opisali niemieccy badacze. Sonda światłowodowa sprzężona ze spektrofotometrem UV-Vis została umieszczona u wylotu dyszy ekstrudera, co pozwoliło na skuteczne monitorowanie jednolitości zawartości teofiliny oraz karbamazepiny w matrycy polimerowej ekstrudatu [24]. Proces ekstruzji na gorąco (ang. *Hot Melt Extrusion*, HME) jest przykładem produkcji ciągłej, dla której zalecane jest prowadzenie ciągłej weryfikacji jakości w czasie rzeczywistym (ang. *continuous process verification*). Zastosowanie techniki spektrofotometrii UV-Vis pozwoliło monitorować zmiany postaci krystalicznej API, jej zawartość, stabilność oraz obecność ewentualnych produktów degradacji. W technologii HME na skutek działających sił ścinających oraz ekspozycji masy ekstrudacyjnej na podwyższoną temperaturę może dojść do zmiany postaci polimorficznej API w postaci o odmiennej szybkości rozpuszczania, temperaturze topnienia i stabilności termodynamicznej. Wykazano, że spektroskopia UV-Vis może okazać się wartościowym narzędziem PAT w monitorowaniu produkcji ciągłej z udziałem procesu ekstruzji na gorąco. Szybkie wychwycenie ewentualnych problemów technologicznych (mogących się pojawić na etapie wytwarzania ekstrudatu) oraz podjęcie działań naprawczych pozwala istotnie zredukować koszty związane z utylizacją serii produktu leczniczego niespełniającej wymagań specyfikacji.

Znaczenie nieinwazyjnych technik analitycznych w realizacji strategii PAT

Ze względu na duży potencjał praktyczny i istotne korzyści wynikające ze stosowania nieinwazyjnych metod analizy instrumentalnej w technologii farmaceutycznej, metody te cieszą się rosnącym zainteresowaniem przemysłu farmaceutycznego. Koncepcja *Quality by Design* oraz strategia PAT przenoszą ciężar kontroli jakościowej z produktu końcowego na monitorowanie na bieżąco parametrów procesu oraz właściwości surowców i półproduktów, co w rezultacie ma prowadzić do wytworzenia produktu niewymagającego kontroli odbiorczej, a tym samym stwarza możliwość zwalniania serii do obrotu w tzw. czasie rzeczywistym, tj. w momencie zakończenia procesu produkcyjnego [25, 26].

W odróżnieniu od tradycyjnego podejścia do problemu zapewnienia jakości produktu leczniczego, strategia PAT zakłada holistyczne podejście do procesu wytwarzania poprzez zintegrowanie procesu wytwarzania z jednoczesną kontrolą wszystkich etapów produkcyjnych. Niezwykle istotna wydaje się być automatyzacja procesu kontroli, tak by była ona prowadzona bez przerywania produkcji w ramach ciągłej weryfikacji procesu (ang. *continuous process verification*). Wdrożenie strategii PAT, z uwagi na lepsze zrozumienie procesu i trafną identyfikację źródeł zmienności, wydaje się być niezbędne dla uzyskania produktu o pożądanej jakości w sposób powtarzalny.

W nowoczesnej farmacji przemysłowej zainteresowanie skupia się na metodach analitycznych, które pozwalają szybko zidentyfikować niekorzystne zmiany w parametrach procesowych oraz właściwościach używanych surowców i półproduktów. Jakość produktu leczniczego jest wypadkową wielu czynników, które powinny być monitorowane w sposób ciągły. Na znaczeniu zyskują przede wszystkim metody nieinwazyjne, jak spektroskopia terahercowa czy mikrotomografia rentgenowska. W literaturze opisywane są przykłady wykorzystania techniki rezonansu mikrofalowego do monitorowania procesu suszenia fluidalnego [27].

Impulsowa spektroskopia terahercowa

Wśród innowacyjnych metod wpisujących się w realizację strategii PAT jest impulsowa spektroskopia terahercowa stosowana m.in. w ocenie powtarzalności procesu powlekania tabletek. Ta niedestrukcyjna technika pozwala w sposób wiarygodny ocenić grubość oraz jednolitość otoczki pokrywającej rdzeń [28, 29]. Używane w spektroskopii terahercowej promieniowanie terahercowe

charakteryzuje się dużą głębokością penetracji do wewnętrznych warstw próbki. Z uwagi jednak na stosunkowo niedużą energię promieniowania, możliwe jest wykonanie pomiaru bez niszczenia próby. Użyte promieniowanie terahercowe nie indukuje przemian fotochemicznych ani nie powoduje zmiany postaci polimorficznej substancji czynnej, co mogłoby rzutować na stabilność chemiczną API, jej uwalnianie z postaci leku oraz dostępność biologiczną. Spektroskopia terahercowa znajduje zastosowanie w analizie jakościowej i ilościowej, w wykrywaniu i różnicowaniu form amorficznych, polimorficznych i pseudopolimorficznych substancji czynnej [9]. Przykłady podawane w publikacjach świadczą o użyteczności metody w wykrywaniu i lokalizowaniu defektów czy pęknięć w otoczce tabletek powlekanych, co ma szczególne znaczenie w przypadku tabletek o przedłużonym uwalnianiu. Analiza spektroskopowa pod kątem homogenności otoczki pokrywającej rdzeń odbywa się w sposób niedestrukcyjny [28, 29].

Mikrotomografia rentgenowska

Kolejną techniką analityczną znajdującą wykorzystanie w nowoczesnej technologii farmaceutycznej jest mikrotomografia rentgenowska. Jednak jej stosunkowo mała czułość, wyrażająca się niskim stosunkiem sygnału do szumu ogranicza szerokie wykorzystanie tej metody w farmacji przemysłowej. Ograniczeniem może być również konieczność przedłużenia czasu pomiaru do nawet kilku godzin w celu uzyskania lepszej jakości obrazu o wyższej rozdzielczości. Mikrotomografia rentgenowska pozwala na wizualizację wewnętrznej struktury postaci leku, określenie grubości warstw w tabletkach wielowarstwowych, wychycenie ubytków lub uszkodzeń wewnętrznej struktury tabletki, jak również określenie grubości otoczki na tabletkach powlekanych [30, 31]. Wizualizacja wewnętrznej struktury postaci leku może istotnie ułatwić porównawczą ocenę leku oryginalnego i generycznego na etapie prac preformulacyjnych.

Wnioski

Wdrożenie odpowiedniej strategii kontroli procesu wytwarzania, w tym pomiarów w czasie rzeczywistym, ma zasadnicze znaczenie dla zapewnienia jakości produktu leczniczego.

Nowoczesne podejście do problemu zapewnienia jakości zakłada, że straty generowane są poprzez odejście procesu od wartości nominalnych, im większa zmienność w procesie, tym gorsza jakość wytwarzanego produktu. Zasada

ciągłego doskonalenia procesu i produktu, a tym samym proaktywny system zapewnienia jakości (działania korygująco-naprawcze podejmowane jeszcze przed wystąpieniem wyniku poza specyfikacją) koncentruje się na redukcji zmienności procesu poprzez ciągłe monitorowanie procesu wytwarzania, co możliwe jest między innymi przy użyciu omówionych nieinwazyjnych i niedestrukcyjnych metod analizy instrumentalnej.

Pracę zrealizowano w ramach działania naukowego Inicjatywa Doskonałości – Debiuty IDUB 2020-1-NZ-Ronowicz oraz PDB WF 514 (Wydział Farmaceutyczny CM UMK).

Piśmiennictwo

1. FDA Guidance for Industry PAT-A framework for Innovative Pharmaceutical Development, Manufacturing and Quality Assurance, September 2004.
2. Puchert T, Holzhauser CV, Menezes JC, Lochmann D, Reich G. A new PAT/QbD approach for the determination of blend homogeneity: Combination of on-line NIRS analysis with PC Scores Distance Analysis (PC-SDA). *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2011; 78: 173-182.
3. Sulub Y, Wabuye B, Gargiulo P, Pazdan J, Cheney J, Berry J, Gupta A, Shah R, Wu H, Khan M. Real-time on-line blend uniformity monitoring using near-infrared reflectance spectrometry: A non-invasive off-line calibration approach. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2009; 49: 48-54.
4. Kalantri PP, Somani RR, Makhija DT. Raman spectroscopy: a potential technique in analysis of pharmaceuticals. *Der Chemica Sinica* 2010; 1:1-12.
5. Paudel A, Rajjada D, Rantanen J. Raman spectroscopy in pharmaceutical product design. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2015; 89: 3-20.
6. Sašić S. Chemical imaging of pharmaceutical granules by Raman global illumination and near-infrared mapping platform. *Anal. Chem. Acta* 2008; 611:73-79.
7. El-Hagrasy AS, Morris HR, D'Amico F, Lodder RA, Drennen JK. Near-infrared spectroscopy and imaging for the monitoring of powder blend homogeneity. *J. Pharm. Sci.* 2001; 90: 1298-1307.
8. Sznitowska M, Kaliszan R. *Biofarmacja*, wyd. 1, Wydawnictwo Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2014.
9. Jachowicz R. *Postać leku, optymalizacja leków doustnych i do oczu w nowoczesnej technologii farmaceutycznej*, wyd. 1, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2013.
10. Thanos CG. Intraperitoneal stability of alginate-polyornithine microcapsules in rats: An FTIR and SEM analysis. *Biomaterials* 2006; 27: 3570-3579.
11. Liang H, Chen S, Chen M, Lee P, Chen Ch., Sung H. Paclitaxel-Loaded Poly(γ -glutamic acid)-poly(lactide) Nanoparticles as a Targeted Drug Delivery System against Cultured HepG2 Cells. *Bioconjugate Chemistry* 2006; 17: 291-299.
12. Li P, Wang Y, Peng Z, She F, Kong L. Development of chitosan nanoparticles as drug delivery systems for 5-fluorouracil and leucovorin blends. *Carbohydrate Polymers* 2011; 85: 698-704.
13. Alves-Silva I., Sa-Barreto L.C.L., Lima E.M., Cunha-Filho M.S.S., Preformulation studies of itraconazole associated with benzimidazole and pharmaceutical excipients. *Thermochim. Acta.* 2014; 575: 29-33.
14. Lima S.G.B., Pinho L.A.G., Pereira M.N., Gratieri T., Sa-Barreto L.L., Gelfuso G.M., Cunha-Filho M. Preformulation studies of finasteride to design matrix systems for topical delivery. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2018; 161: 273-279.
15. Lata N, Piekus-Słomka N, Ronowicz J. Wykorzystanie spektroskopii osłabionego całkowitego odbicia w podczerwieni (ATR-FTIR) w ocenie interakcji chemicznych gabapentyny z wybranymi substancjami pomocniczymi. *Farm. Pol.* 2020; 76: 3-9.
16. Jamrógiewicz M, Lukasiak J. Short term monitor of photodegradation process in ranitidine hydrochloride observed by FTIR and ATR-FTIR. *J. Food Drug Anal.* 2009; 17: 342-347.
17. Jamrógiewicz M, Lukasiak J. Application of ATR-FTIR and FTIR spectroscopy in photochemical stability testing ranitidine hydrochloride in a chosen pharmaceutical product. *Farm. Pol.* 2011; 67: 353-356.
18. Mainali D., Li J., Yehl P., Chetwyn N. Development of a comprehensive near infrared spectroscopy calibration model for rapid measurements of moisture content in multiple pharmaceutical products. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2014; 95: 169-175.
19. Rosas JG, de Waard H, De Beer T, Vervaet, Remon JP, Hinrichs WLJ, Frijlink HW, Blanco M. NIR spectroscopy for the in-line monitoring of a multicomponent formulation during the entire freeze-drying process. *Pharm. Biomed. Anal.* 2014; 97: 39-46.
20. Puchert T, Holzhauser CV, Menezes JC, Lochmann D, Reich G. A new PAT/QbD approach for the determination of blend homogeneity: Combination of on-line NIRS analysis with PC Scores Distance Analysis (PC-SDA). *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2011; 78: 173-182.
21. Sulub Y, Wabuye B, Gargiulo P, Pazdan J, Cheney J, Berry J, Gupta A, Shah R, Wu H, Khan M. Real-time on-line blend uniformity monitoring using near-infrared reflectance spectrometry: A non-invasive off-line calibration approach. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2009; 49: 48-54.
22. Wahl PR, Peter A, Wolfgang M, Khinast JG. How to measure coating thickness of tablets: Method comparison of optical coherence tomography, near-infrared spectroscopy and weight-height- and diameter gain. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2019; 142: 344-352.
23. Lin H, Zhang Z, Marki D, Zeitler JA, Shen Y. A review of the applications of OCT for analyzing pharmaceutical film coatings. *Appl. Sci.* 2018; 12: 1-12.
24. Wesholowski J, Prill S, Berghaus A, Thommes M. Inline UV/Vis spectroscopy as PAT tool for hot-melt extrusion. *Drug Deliv. Transl. Re.* 2018; 8:1595-1603.
25. Ronowicz J. Narzędzia budowania wiedzy o procesie wytwarzania produktu leczniczego w myśl koncepcji Quality by Design. *Farm. Pol.* 2019; 11: 648-655.
26. Migliaccio G. Implementation of Quality by Design (QbD) - current perspectives on opportunities and challenges: innovator industry perspective. FDA Advisory Committee for Pharmaceutical Science and Clinical Pharmacology, 2011.
27. Buschmüller C, Wiedey W, Döscher C, Dressler J, Breikreutz J. In-line monitoring of granule moisture in fluidized-bed dryers using microwave resonance technology. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2008; 69: 380-387.
28. Ho L, Müller R, Römer M, Gordon KC, Heinämäki J, Kleinebudde P, Pepper M, Rades T, Shen YC, Strachan CJ, Taday PF, Zeitler JA. Analysis of sustained-release tablet film coats using terahertz pulsed imaging. *J. Control. Release* 2007; 119: 253-261.
29. Ho L, Müller R, Gordon KC, Kleinebudde P, Pepper M, Rades T, Shen Y, Taday PF, Zeitler JA. Terahertz pulsed imaging as an analytical tool for sustained-release tablet film coating. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2009; 71: 117-123.
30. Zeitler JA, Gladden LF. In vitro tomography and non-destructive imaging at depth of pharmaceutical solid dosage forms. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2008; 71: 2-22.
31. Hancock BC, Mullarney MP. X-ray microtomography of solid dosage forms. *Pharm. Technol.* 2005; 29: 92-100.