

TECHNIKY MLETÍ A SPOLEČNÉHO MLETÍ JAKO PŘÍSTUPY KE ZVÝŠENÍ RYCHLOSTI ROZPOUŠTĚNÍ ŠPATNĚ ROZPUSTNÝCH LÉČIV

TEREZA ŠKOLÁKOVÁ a PETR ZÁMOSTNÝ

Ústav organické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
skolakot@vscht.cz

Došlo 20.3.19, přepracováno 5.3.20, přijato 16.3.20.

Klíčová slova: mletí, společné mletí, suché mletí, mokré mletí, zlepšování rychlosti rozpouštění, Rehbindervův efekt, Ostwaldovo zrání, mechanochemicky aktivované povrchy

Obsah

1. Úvod
2. Typologie a vlastnosti částic mletých materiálů
3. Zlepšování rozpustnosti
4. Proces mletí
5. Procesy a aplikace společného mletí
6. Závěr

1. Úvod

Pro mnoho kandidátů na léčivé látky je špatná rozpustnost ve vodě hlavní překážkou jejich dalšího vývoje a případné klinické aplikace. K dosažení požadované terapeutické koncentrace v plazmě, především po perorálním podání, by byla totiž vyžadována vysoká dávka takového léčiva. Vzhledem k tomu, že tradiční formulace vykazují obvykle i nízkou biologickou dostupnost, nevyhovující farmakokinetické vlastnosti či některé v nich použité excipienty (nejčastěji v podobě nosičů se solubilizační schopností) mohou vést k systémové toxicitě (např. přípravek Taxol® obsahuje nosič Cremophor® EL, který může vést k neuropatii), musela farmaceutická technologie poskytnout jiné metody, které zlepšují rozpustnost a rozpouštěcí rychlost^{1,2}. Příkladem jsou fyzikální modifikace, které jsou zaměřeny převážně na zmenšení velikosti částic nebo na tvorbu amorfní fáze. Výsledkem je nejčastěji zvětšení povrchu a zlepšení rychlosti rozpouštění či smáčivosti práškových částic léčivé látky².

Zmenšování velikosti částic patří mezi nejstarší a stále široce používané strategie ke zlepšení rychlosti rozpouštění, a to zejména léčiv II. třídy Biofarmaceutického klasifikačního systému. V tomto případě dochází totiž ke zvětšení specifického i celkového povrchu jejich částic^{3–5}. Zmenšování velikosti částic léčiva však není používáno pouze za účelem zlepšení rychlosti rozpouštění. Farmaceutické prášky jsou obvykle polydisperzní, což značně kom-

plikuje výrobu lékových forem. Pro farmaceutické účely jsou tedy ideální pouze monodisperzní částice nebo směsi s co nejužší distribucí velikosti částic, které zamezují vzniku problémů při dalším zpracování, pokud je zmenšování velikosti částic navíc kombinováno se síťováním⁶. Kromě zlepšení rychlosti rozpouštění lze usnadnit i následnou manipulaci s práškem a jeho zpracování⁷. Dále je možné získat částice o vhodném aerodynamickém průměru, optimalizovat složení léčivého přípravku a snížit terapeutickou dávku^{6,8}. Jemné částice léčiva jsou navíc zvláště žádoucí ve formulacích, které jsou určeny pro parenterální, inhalační či transdermální podání nebo pro aplikace do očí^{9,10}. Na druhou stranu byla v tomto ohledu značně malá pozornost věnována vlivu tvaru částic na rychlost rozpouštění, rozpustnost a biologickou dostupnost léčiva. Některé studie však již prokázaly, že tvarové faktory částic ve tvaru destiček nebo jehliček úzce souvisí s mírou rychlosti rozpouštění⁹.

Tento článek shrnuje poznatky a informace o technikách mletí a společného mletí, které mohou být využity právě ke zvýšení rychlosti rozpouštění léčiva, a tím většinou i ke zlepšení jeho biologické dostupnosti.

2. Typologie a vlastnosti částic mletých materiálů

Mletí patří mezi jednotkové operace vedoucí díky technologickým pokrokům ke zmenšení velikosti částic na mikronovou či až na submikronovou úroveň^{3,9}. Částice v rozmezí 1 až 10 μm se potom nazývají jako mikročástice, zatímco částice koloidních rozměrů (menších než 1 μm) lze označovat jako nanočástice⁵. Prakticky každé léčivo může být rozemleto na jemné částice bez ohledu na svou rozpustnost ve vodných či nevodných roztocích. Fragmentace však probíhá snadněji u léčiv s relativně vysokou rozpustností, i když pro to neexistují žádné korelace či teoretické podklady^{5,9}. Mleté materiály určené k perorálnímu podání jsou následně nejčastěji zpracovány vlhkou granulací¹¹.

Jak již bylo uvedeno, vývoj mlecích procesů umožnil produkci částic submikronové velikosti či dokonce v rozsahu nanometrů. Tento proces se poté nazývá nanonizace. Vzniklé nanočástice, někdy také označované jako nanokrystaly, mají velikost typicky ležící v intervalu 200 až 500 nm a jsou velmi žádané při přípravě formulací pro parenterální podání. Oproti mikročásticím mají celou řadu výhod, protože nanonizací se daleko více zvětšuje povrch, a tedy i rychlost rozpouštění částic léčiva⁹. Navíc bylo zjištěno, že perorálně podávané nanočástice vykazují silné adhezivní vlastnosti na povrchu sliznice gastrointestinálního traktu, které vznikají v důsledku nárůstu mezipovrchových přitažlivých sil mezi nanočásticemi a stěnami střev.

To dále přispívá ke zvýšení absorpce a biologické dostupnosti léčiv díky prodloužení doby jejich kontaktu se sliznicí GIT (cit. ^{9,10}). Nanonizace také nabízí možnost překonání mukózních bariér¹². Kromě zlepšení rozpustnosti a farmakokinetiky léčiva se mohou snížit i systémové vedlejší účinky a nanonizované produkty rovněž mohou být použity pro řízené uvolňování¹. Dále se předpokládá, že nanočástice mohou být transportovány přes bariéry přímo do krevního oběhu bez předchozího rozpouštění¹². Nanočástice léčiv se nejčastěji vyrábí mokřým mletím nebo vysokotlakou homogenizací (viz dále)^{1,9}.

3. Zlepšování rozpustnosti

Zmenšení velikosti částic patří mezi bezpečné metody, které nezpůsobují změny v chemické povaze léčiva⁴. Mechanismy, kterými mletí zvyšuje rychlost rozpouštění léčiva, zahrnují změny velikosti, tvaru (mleté částice obvykle nejsou izometrické nebo sférické) a povrchu částic, amorfizaci indukovanou mletím nebo strukturální neuspořádaností léčiva (mechanochemická aktivace)⁹. Zmenšením velikosti částic dochází ke zvýšení specifického povrchu, čímž se získá větší povrch a dochází tak ke zmenšení tloušťky difuzní vrstvy obklopující částice během rozpouštění. To dále vede ke zvýšení součinitele přestupu hmoty a ovlivnění kinetiky rozpouštění daného léčiva^{4,5}. Rozpustnost léčiva je všeobecně závislá na teplotě i typu rozpouštědla a saturační koncentrace je lokálně výrazně zvýšena při zmenšení velikosti pod 1 μm, kdy se rovnovážná koncentrace zvyšuje v důsledku silného zakřivení povrchu částic, podle Ostwaldovy-Freundlichovy rovnice. Dále dochází také k narušení interakcí v rozpouštěné látce,

a tím je usnadněna i solubilizace^{4,9}. Pro vyjádření zvýšené rozpustnosti nanočástic o poloměru r lze tuto rovnici vyjádřit v nejjednodušší podobě dle vztahu (1):

$$\frac{(c_i)_r}{(c_i)_\infty} \exp \frac{2\gamma V_m^{s,l}}{RT r} \quad (1)$$

kde $(c_i)_r$ je rozpustnost malých krystalů o poloměru r , $(c_i)_\infty$ je rozpustnost velkých částic ($r \rightarrow \infty$), γ je mezifázová energie na rozhraní pevná látka – nasycený roztok a $V_m^{s,l}$ je molární objem pevné fáze¹³.

Zvýšením rozpustnosti léčiva se zvýší koncentrační gradient pro difuzi léčiva a je tak podpořena i jeho absorpce⁹. V tab. I jsou shrnuty výsledky studií, které se věnovaly právě zvýšení rozpustnosti nanočástic léčivých látek v různých rozpouštědlech¹³.

4. Proces mletí

4.1. Zmenšování velikosti částic

Zmenšení velikosti částic může probíhat působením tlaku, otěrem, třením, nárazem či stříhem⁴. Obecně může být mletí provedeno s léčivem v suchém stavu (tzv. suché mletí) nebo jej lze nechat suspendovat v kapalném médiu (tzv. mokré mletí)^{9,14}. Při suchém mletí však mechanická energie podporuje interakce mezi léčivem a excipientem prostřednictvím van der Waalsových sil či vodíkových vazeb, čímž je snižována účinnost mletí^{9,15}. Pro zmenšení velikosti částic byla použita celá řada technik, mezi které patří rekrystalizace částic rozpouštěné látky z roztoku anti-

Tabulka I

Vybrané experimentální údaje vlivu velikosti a tvaru částic léčivých látek na jejich rozpustnost (upraveno podle cit. ¹³)

Léčivá látka	Rozpouštědlo	Teplota [°C]	Velikost částic, průměr [nm]	Změna rozpustnosti c_i / c_∞
Karbamazepin	voda	25	320,0	1,26
			540,0	1,17
			960,0	1,11
Simvastatin	fosfátový pufr pH 6,8	37	360,0	2,03
Valsartan	voda	37	30,7	2,27
Tadalafil	voda	neuvedena	78,9	6,38
	methanol		5,84	
	fosfátový pufr pH 6,8		7,29	
Griseofulvin	voda	25	362,0	1,10
			122,0	1,30
Celecoxib			341,0	1,11
Fenofibrát			290,0	1,11
Itrakonazol	voda + D-R-tokoferyl-	25	220,0	1,14
Lovirid	-polyethylenglykol sukcinát		162,0	1,10
Fenytoin			406,0	1,07

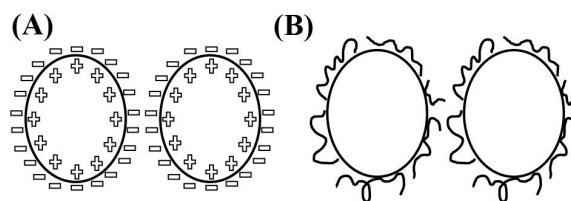
solventů, mechanické rozmělnění (mletí), sprejové sušení či lyofilizace¹⁶. Mezi nevýhody při použití těchto technik v závislosti na typu léčivé látky patří obecně hrozba tepelné a chemické degradace produktů, velké množství potřebného rozpouštědla a související problémy s jeho likvidací, široká nerovnoměrná distribuce velikosti částic a požadavek na vysoký přísun energie s výslednou malou účinností^{4,16}. Konvenční techniky mletí jsou rovněž považovány za procesy, které se velmi obtížně řídí z hlediska velikosti, tvaru, morfologie, povrchových vlastností či elektrostatického náboje. Vedou navíc obvykle ke konečnému produktu vyznačujícímu se heterogenním tvarem částic či může obsahovat dokonce aglomeráty či agregáty⁴. Pro dosažení požadované velikosti a tvaru částic je proto vyžadována rozsáhlá optimalizace velkého množství procesních a materiálových proměnných⁹. Mechanické rozmělnění hrubého práškového léčiva je poměrně jednoduchá technika, která však vede k částicím o velikosti 2 až 5 μm a pouze velmi malá část má velikost pod 1 μm (cit.⁴). Navíc zmenšování velikosti částic ovlivňují vlastnosti vstupního materiálu, jako je pevnost, houževnatost, lepi-
vost, kluznost, obsah vlhkosti, teplota tání, abrazivita, struktura materiálu, velikost, tvar, tokovost, sypaná hustota a další⁶.

4.2. Stabilizace mletého materiálu

Mikro- a nanočástice vyrobené mletím mají velký povrch, vysokou povrchovou energii a nižší termodynamickou stabilitu⁹. Všechny tyto faktory podporují aglomeraci či agregaci částic, čímž se zmenšuje dostupný povrch pro rozpouštění. Navíc mohou s časem mletí postupně nahradit vznik lomů, což vede ke snížení účinnosti mlýnů, a rovněž způsobují variabilitu v dávkách léčiva či zhoršení jeho sypaných vlastností a dispergovatelnosti^{9,17,18}. Větší celkový povrch částic vznikající mletím je totiž termodynamicky nepříznivý a vede ke snaze o jeho zmenšení aglomerací či agregací, ke kterým může dojít již během nebo po dané jednotkové operaci. Aglomerace částic vycházející z van der Waalových či jiných sil (např. elektrostatických) se stává problematickou především pro částice o velikosti pod 30 μm a pro hydrofobní částice o velikosti pod 5 μm . To je přičítáno právě vysoce přitažlivým mezičásticovým kohezním silám a adhezi v důsledku změny v ploše povrchu, povrchové energii a velikosti částic po mikronizaci^{3,9,18}. K řešení tohoto problému může být použita celá řada polymerů a povrchově aktivních látek jako stabilizátorů (nebo tzv. aktivátorů mletí), které se adsorbují na povrchu částic léčiva a poskytují tak iontovou nebo sterickou bariéru. Proto je i z tohoto důvodu preferováno mokré mletí (viz dále)^{3,5}.

Jemné částice mají tendenci tvořit aglomeráty či agregáty v důsledku vysoké povrchové energie je možné stabilizovat⁵. Účinnost takové stabilizace závisí především na tvorbě interakcí mezi daným léčivem a stabilizátorem⁹. Za tímto účelem byly studovány účinky hydrofobicity kopolymerů, molekulové hmotnosti či povrchové energie polymerů na stabilizaci částic léčiva. Různé screeningové studie ukázaly, že nejlepší stabilizační vlastnosti mají po-

vrchově aktivní látky, za nimi následují lineární syntetické a semisyntetické polymery. Množství polymeru potřebné pro stabilizaci nanočástic je vyšší díky vyššímu specifickému povrchu ve srovnání s mikročásticemi⁵. Bylo rovněž zjištěno, že přidání povrchově aktivních látek s malou molekulovou hmotností má za následek další zmenšení velikosti částic. Aniontové i kationtové tenzidy však způsobují podobné zmenšení velikosti, což značí, že interakce typu náboj-náboj mezi složkami nejsou významné¹⁹. Nicméně, testování a výběr stabilizátorů jsou stále prováděny na bázi pokus-omyl, protože v této oblasti výzkumu stále chybí systematické porozumění mechanismu účinku^{10,19}. Navíc pro parenterální aplikace je seznam přijatelných excipientů jako stabilizátorů omezen ve srovnání s perorálními lékovými formami²⁰. V souvislosti se stabilizátory je často zkoumán i tzv. Rehbindervův efekt, který je definován jako snadnost štěpení krystalů oslabením vazeb na jejich povrchu a dále poklesem jejich pevnosti v důsledku adsorpce povrchově aktivních látek a zmenšení specifické povrchové energie. To vede ke zvýšení tažnosti a rovněž ke snadnějšímu šíření trhlín. Mletí může být proto usnadněno i díky této adsorpci stabilizátorů na strukturálních defektech povrchu částic^{5,15}. V případě neiontových polymerů spočívá jejich dispergační a stabilizační účinek v jejich sterickém efektu, kdy je však nutná silná adsorpce a kompletní pokrytí jemných částic léčiva⁵. Sterické stabilizace je dosaženo pouze v případě, že polymer s dlouhým řetězcem je adsorbován na povrchu částic tak, že vytvoří fyzickou bariéru, která brání přibližování částic na malé vzdálenosti (obr. 1)^{5,9}. Účinná adsorpce, a tedy sterická stabilizace, závisí na koncentraci, délce řetězce, molekulové hmotnosti, hydrofobicitě, tvaru a povrchové energii polymeru, poměru léčivo-polymer, povrchu a velikosti částic, chemické struktury léčiv, viskozitě a funkčních skupinách stabilizátoru^{5,9,10}. Pro stabilizaci vzniklé suspenze je možné nalézt i minimální množství stabilizátoru či vhodný poměr léčivo-stabilizátor⁵. Další možností k zabránění aglomerace či agregace je využití elektrostatické stabilizace. Lze jí dosáhnout v případě, pokud se po adsorpci nabitých polymerů nebo iontově povrchově aktivních látek na povrchu částic léčiva zmenší zdánlivý náboj (obr. 1)^{5,9}. Nicméně, bylo zjištěno, že sterická stabilizace je účinnější než elektrostatická. Sterický či elektrostatický účinek (disperzní) a Rehbindervův efekt povrchově aktivních látek představují proto dva hlavní mechanismy, které mletí usnadňují. Stále však neexistuje jednoznačná shoda



Obr. 1. Interakce částic po adsorpci stabilizátoru na povrchu léčiva: elektrostatická stabilizace (A) a sterická stabilizace (B) (upraveno podle cit.⁵)

na tom, který mechanismus je dominantní⁵. V případě suchého mletí jsou obvykle navíc výsledné kompozitní částice léčiva a excipientu stabilní a vykazují nízkou tendenci k aglomeraci⁹. Stabilita nanosuspenzí může být určena i zeta potenciálem. Pro fyzikálně stabilní nanosuspenzi stabilizovanou pouze elektrostatickou odpudivostí je vyžadována minimální hodnota zeta potenciálu ± 30 mV (cit.²¹).

Dalším problémem částic menších než několik mikrometrů je Brownův pohyb molekul probíhající i během skladování. Tento jev vede ke srážkám mezi částicemi a případně k agregaci či aglomeraci, pokud repulzní síly nepřekonají přitažlivé síly mezi částicemi. Repulzními silami, které působí v důsledku přítomnosti adsorbovaných stabilizátorů, je možné obecně minimalizovat tendenci k agregaci či aglomeraci. U částic menších než 1 μm může navíc dojít i k významnému růstu v důsledku tzv. Ostwaldova zrání, ke kterému dochází vlivem supersaturace roztoku nad zakřiveným povrchem (tzv. Kelvinův efekt). Nanočástice totiž z termodynamického hlediska zmenšují povrchovou energii nejen aglomerací či agregací, ale také rozpouštěním a rekrystalizací menších částic na větší⁵. Absence Ostwaldova zrání proto indikuje dlouhodobou fyzikální stabilitu nanosuspenze²¹. Pokud na druhou stranu dojde k Ostwaldovu zrání, je možné jej snadno detegovat pomocí přítomnosti mikronových částic ve tvaru destiček nebo tyčinek²⁰. Použité stabilizátory mohou rovněž zabránit růstu krystalů, které by nepříznivě ovlivnily rychlost rozpouštění a biologickou dostupnost suspenze léčiva během skladování⁹.

4.3. Jevy pozorované během mletí

Proces mletí může způsobit i další nežádoucí jevy z hlediska léčiva, jako je indukce elektrostatického náboje, mechanochemická transformace, degradace či zvýšená reaktivita v pevné fázi, což vede k omezení použití mlecího procesu^{22,23}. V případě konvenčních technik je navíc zmenšování velikosti částic vždy ukončeno v okamžiku, kdy je dosaženo meze, za níž se materiál rozměňuje obtížně⁹. Pokud je dosažena kritická minimální hodnota velikosti částic, mechanická energie je dále přenášena z mlýna na léčivo bez vyvolání fragmentace, což vede k akumulaci defektů v krystalech dané látky, k následnému narušení krystalové struktury a ke zvýšení Gibbsovy volné energie^{9,24}. Akumulace defektů v krystalu během mletí poté způsobuje narušení uspořádanosti v polohách atomů nebo molekul a ztrátu pravidelnosti uspořádání na dlouhou vzdálenost, která může být postupná nebo spontánní^{9,25}. Tyto defekty mohou být přítomny v celém krystalu, což vede k úplné amorfizaci léčivé látky, nebo mohou být vytvořeny pouze amorfni vrstvy kolem krystalického jádra⁹. Jakmile je dosaženo kritické meze defektů, má amorfni fáze větší termodynamickou stabilitu než porušená krystalová struktura, a tak může dojít k transformaci²⁵. Tímto způsobem vzniká léčivo tzv. aktivované mletím či mechanochemicky přeměněné⁹. Mechanochemicky aktivované povrchy částic a amorfni oblasti generované během mletí také zvyšují povrchovou energii částic, což rovněž vede

k termodynamicky výhodnějším aglomerátům či agregátům^{5,9}. Rekrystalizací amorfni oblastí totiž vznikají pevné můstky, které dále vedou k vytvoření právě kohezničních aglomerátů¹⁸. Obecně se amorfizace léčiva zvyšuje s rostoucím časem mletí^{25,26}. Na druhou stranu se amorfizací rovněž zlepšuje zdánlivá rozpustnost léčiva ve vodě a většinou i biologická dostupnost díky vyšší Gibbsové volné energii ve srovnání s krystalickým protějškem^{4,9,27}. Existuje několik způsobů, jak krystalické léčivo amorfizovat mletím. Amorfni léčivo může být připraveno dokonce i bez použití excipientů. Vytvořená amorfni látka může mít však nižší stabilitu ve srovnání se svým krystalickým protějškem kvůli právě vyššímu energetickému stavu²². Dalším způsobem je inkorporace inhibitorů krystalizace. Nejčastěji se jedná o hydrofilní nosiče v podobě polymerů či sacharidů, které amorfizaci indukovanou mletím zmírňují a mohou zlepšit i smáčivost^{9,22}. Nevýhodou těchto transformací v pevném stavu je ovšem termodynamická nestabilita amorfni oblastí, která vede k interkonverzi amorfni a krystalické látky během skladování či při vystavení prostředí s vysokou vlhkostí. Dále dochází ke změně distribuce velikosti částic, specifického povrchu, chemické a fyzikální reaktivitě či rychlosti rozpouštění^{9,18}. Právě volba způsobu přípravy amorfni formy ovlivňuje fyzikální stabilitu z hlediska entalpické relaxace a krystalizačního chování. V závislosti na krystalové struktuře může mletí vést při vysokém mechanickém namáhání buď ke krystalům s malou velikostí, nebo k tvorbě amorfniho stavu po ztrátě krystalické struktury²². Případný příjem molekul vody je primárně závislý na relativní vlhkosti prostředí a hygroskopičnosti materiálu. Navíc suchý prášek je obecně citlivý na jakékoli změny v relativní vlhkosti během jeho dalšího zpracování, přepravy nebo skladování. Zvýšení relativní vlhkosti může mít významný vliv na stabilitu prášku či aerosolovou účinnost formulací obsahujících suchý prášek. Amorfni oblasti zavedené do materiálu mikronizací mohou vést k významnému zvýšení příjmu vody¹⁸. Vzhledem k tomu, že amorfni oblasti se vyznačují vyšším energetickým stavem ve srovnání s krystalickým protějškem, příjem molekul vody amorfni materiálem usnadňuje rekrystalizaci při zvýšené relativní vlhkosti (nad 75 %) díky zvýšené molekulární mobilitě^{18,25}. Amorfni forma má tedy nejen tendenci k přeměně na krystalickou formu, ale i k chemické degradaci²⁵. Rekrystalizace amorfni oblastí může opět vést k tvorbě velkých a kohezničních aglomerátů prostřednictvím tvorby pevných můstků¹⁸. Pro překonání tohoto problému bylo zjištěno, že společné mletí léčiva s excipienty snižuje tvorbu amorfni oblastí v mikronizovaných částicích a následně zlepšuje fyzikálně-chemickou stabilitu prášku^{18,28}. Potahování povrchu např. hydrofobními excipienty již mikronizovaných materiálů během procesu společného mletí může rovněž snížit sorpci vlhkosti a rekrystalizaci amorfni oblastí během skladování při zvýšené vlhkosti¹⁸. Pomocí společného mletí mohou být překonány problémy související s klasickým mletím, což zlepšuje efektivitu mletí týkající se však pouze léčiva^{22,29}. Dále bylo zjištěno, že částice připravené mechano-fúzí (viz dále) rovněž méně absorbují molekuly vody díky souvislému potahu částic léčiva. Společným mletím

lze rovněž zabránit dalším změnám ve fyzikálním stavu léčiva. I když je třeba provést další studie, aby byla vyřešena otázka týkající se toxikologických či farmakologických účinků excipientů, a to především u vysokých dávek při inhalaci¹⁸.

Dále je třeba také počítat s tím, že jemné částice jsou kohezivní a vykazují tak špatné sypané vlastnosti či dispergovatelnost, což je způsobeno především vyšší povrchovou energií ve srovnání s jejich hrubšími protějšky^{9,18}. Pro zlepšení sypaných vlastností prášku je možné k mletým částicím léčiva rovněž přidat inertní farmaceutické excipienty, jako je fosforečnan vápenatý, laktosa, mannitol a další sacharidy. Alternativně mohou být částice léčiva granulovány s těmito excipienty v podobě plniv za vzniku granulátu, který má lepší sypané vlastnosti a obsahovou stejnoměrnost než odpovídající fyzikální směs. Tato plniva navíc mohou plnit i jiné funkce, např. pro modifikaci uvolňování léčiva, zvyšování stability či maskování chuti⁹.

4.4. Metody mletí

Existuje mnoho typů zařízení pro zmenšování velikosti částic, které jsou často vyvíjeny empiricky na základě konkrétního materiálu. Znalost vlastností materiálu je proto pro mletí zásadní⁶. Po výběru optimálního typu mlecího zařízení následuje úprava podmínek, jako je doba mletí, rychlost dávkování materiálu a další nastavení parametrů provozu či zařízení. V některých případech je potřeba pro dosažení požadovaných výsledků nutná i kombinace různých technik mletí⁹. V současné době mezi zavedené pokročilé technologie mletí patří Gran-U-LizerTM, Jet-O-MizerTM, Microfluidizer[®] či NanoCrystal[®], jejichž princip je podrobně popsán v cit.^{6,30}.

4.5. Pomocné látky pro společné mletí

Pomocné látky jsou inertní, netoxické, nedráždivé a případně i snadno metabolizovatelné farmaceutické excipienty, které fungují jako nosič či stabilizátor léčiva v mletém produktu^{9,18}. Jedná se obvykle o hydrofilní látky, jejichž množství použité pro společné mletí se pohybuje v rozmezí poměrů od 1:3 do 50:1 (hm. %) léčivo-pomocná látka⁹. Mezi tyto excipienty lze nejčastěji zařadit polymery, jako je polyvinylpyrrolidon, ethery celulosy, polyethylenglykoly, polyvinylalkoholy, poloxamery, povrchově aktivní látky (iontové i neionogenní) a anorganické materiály, jako jsou aluminosilikáty hořčíku a cykloextriny^{9,14}. Díky těmto pomocným látkám je také zvýšena smáčivost, rozpustnost a zpravidla i biologická dostupnost špatně rozpustného léčiva, protože jeho hydrofobní povrch se stává hydrofilnějším⁹. Zvláště výhodný a efektivní při zmenšování velikosti částic je amorfni polyvinylpyrrolidon, protože během procesu mletí nepodléhá tavení na rozdíl od semikrystalického polyethylenglykolu, který má nízkou teplotu tání a tendenci se během procesu roztavit¹². Jejich vliv na povrchovou energii je však stále předmětem diskuse¹⁵. Tyto pomocné látky mohou mít i antiadhezivní vlastnosti, které snižují kohezivní či adhezivní interakce mezi částicemi léčiva, což vede ke zmenšení pevnosti

aglomerátů či agregátů a ke zlepšení tokovosti prášku¹⁸. Některé z těchto pomocných látek mohou mít i hydrofobní vlastnosti, kterými minimalizují rekrystalizaci amorfních oblastí mikronizovaných částic během skladování v prostředí s vyšší vlhkostí^{18,28}.

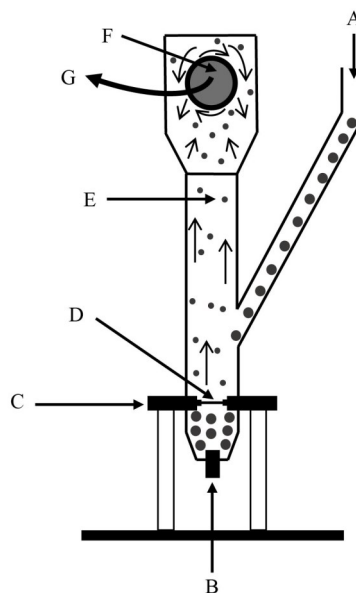
Přestože složení směsi pro společné mletí je podobné jako u pevných disperzí, může být do určité míry zachována krystalinita léčiva³¹. Procesem společného mletí je možné získat nejen amorfni pevné látky, nanočástice, inkluzní komplexy a pevné disperze, ale mohou být připraveny i částice s prodlouženým uvolňováním či kokrystaly²³.

5. Procesy a aplikace společného mletí

5.1. Techniky společného mletí pro výrobu mikročástic

5.1.1. Tryskové mletí

Tryskové mletí představuje nejoblíbenější ověřenou mikronizační techniku, ve které je využita energie vysokotlakého vzduchu k dosažení velmi jemného mletí farmaceutických prášků vhodných pro inhalaci (obr. 2)^{4,18}. Při této metodě je proud stlačeného vzduchu vstříkovan velkou rychlostí do komory, do které je přiváděn i výchozí materiál. Jak částice vstupují do proudu vzduchu, zvýší se jejich rychlost a začnou tak narážet mezi sebou či o stěnu mlecí komory. Zmenšení velikosti částic je tak způsobeno kombinací nárazu a otěru. Z mlecí komory jsou poté proudem vzduchu odváděny pouze částice požadované velikos-

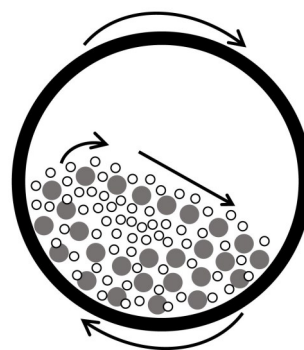


Obr. 2. Schéma tryskového mlýna: dávkování materiálu (A), vzduch + fluidní vrstva (B), stlačený vzduch nebo dusík (C), tryska pro mletí (D), fluidní lože (E), třídič částic (F) a produkt (G) (upraveno podle cit.⁴)

ti. Léciva jsou mleta buď samostatně, nebo jsou společně mleta (tzv. ko-mleta) s vhodnými excipienty. Mikročástice léčiva vyrobené tryskovým mletím mohou být dále použity v procesu pro přípravu nanočástic⁹. Oproti jiným technikám navíc nabízí hned několik výhod. Především poskytuje zmenšení velikosti částic na několik mikrometrů, účinně zmenšuje velikost částic léčiva z rozsahu 20–100 μm na méně než 10 μm , což je velikost vhodná např. právě pro inhalaci. Dále umožňuje získání úzké distribuce velikosti částic, nepřetržitou přípravu velkého množství prášku, nehrozí zde riziko kontaminace a nabízí i možnost mikronizovat léčiva citlivá na teplo^{4,9}. V případě tryskového mletí ibuprofenu je možné navíc vyhnout se i jevům, ke kterým dochází po mikronizaci konvenčními metodami, jako je aglomerace částic a s ní spojená ztráta očekávaného velkého povrchu, špatné sypné vlastnosti prášku, nízká sypná hustota a nepodstatné či žádné zlepšení v rychlosti rozpouštění⁴. Až na zcela výjimečné případy jsou nevýhodami tohoto procesu možné především změny ve fyzikálně-chemických vlastnostech mikronizovaných léčiv a dále aglomerace částic z rekrystalizace amorfních oblastí. Interakce mezi mikronizovanými částicemi také zhoršují sypné vlastnosti a dispergovatelnost prášku, dále jsou zde komplikace spojené s řízením velikosti, tvaru a morfologie mletých částic a omezení pro mletí křehkých a porézniích materiálů¹⁸.

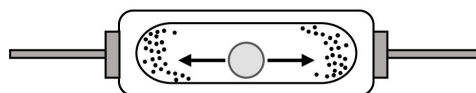
5.1.2. Kulové mletí

Kulové mletí (mletí v kulových mlýnech) patří mezi populární metody pro výrobu mikročástic, a to zejména ve výzkumných laboratořích⁹. Rovněž může být použito i k mikronizaci materiálů na velikost vhodnou pro inhalaci (pod 5 μm). Obecně kulové mletí vyžaduje několik kroků zpracování. Proces mikronizace je proto závislý na dvou hlavních silách, které jsou během procesu aplikovány na vstupní materiál. Jedná se o síly působící mezi vstupním materiálem a mlecím zařízením a síly způsobující namáhání vstupního materiálu vlivem pohybu mlecího zařízení¹⁸. Kromě zmenšení velikosti částic na rozsah vhodný pro inhalaci lze technologii kulového mletí použít pro přípravu amorfních prášků léčiva, pokud je proces proveden společně s polymerními látkami⁴. Dále je možné získat směsi léčiva společně mletého s hydrofilními excipienty či využít současně mikronizace a potahování léčiva excipientem^{9,18}. Kulový mlýn je obvykle válcové mlecí zařízení, které se používá k mletí prášků otáčením kolem vodorovné osy při určité rychlosti nebo frekvenci (obr. 3)^{4,9}. Nárůst teploty uvnitř mlecí nádoby je řešen externím pláštěm pro odvod tepla⁹. Přístroj je před mletím částečně naplněn materiálem a mlecím médiem, obvykle koulemi, které jsou zhotovené z keramiky či korozivzdorné oceli⁴. Zmenšování velikosti částic léčiva je poté provedeno nárazem koulí a otěrem mezi pohybujícími se koulemi⁹. Rozsah zmenšení velikosti obecně závisí na následujících parametrech. V první řadě se jedná o rychlost otáčení mlecí nádoby. Při nízké rychlosti otáčení je dosaženo minimálního zmenšení velikosti částic v důsledku vytváření mikronizačních sil s nízkou intenzitou. Při vysokých rychlostech je mlecí médium společně se vstupním materiálem přitlačeno ke



Obr. 3. Schéma kulového mletí: větší částice reprezentují mlecí médium a menší částice znázorňují mletý materiál (upraveno podle cit.⁴)

stěně nádoby odstředivou silou, což rovněž vede k minimálnímu zmenšení velikosti. Přibližně při dvou třetinách kritické rychlosti se mlecí nádoba otáčí kaskádově, což je neúčinnější rychlost pro zmenšení velikosti částic nárazem a otěrem. Dalším důležitým parametrem je doba mletí. K většímu zmenšení velikosti částic obecně dochází při delších dobách mletí¹⁸. Stupeň zaplnění nádoby či intenzita a účinnost procesu mletí jsou rovněž ovlivněny množstvím výchozího materiálu, velikostí mlecích koulí či výběrem mlecího média^{18,32}. Jejich nadměrné množství může vést ke snížení mikronizační účinnosti a naopak malé množství vede k abrazivnímu opotřebením mlecí nádoby¹⁸. Typicky je nádoba naplněna z 25 až 50 % z celkového objemu nádoby a rotace je nastavena na 50 až 80 % z kritické rychlosti otáčení. Pokud se rychlost rotace zmenšuje, vliv otěru v procesu mletí převládne, čímž se získají jemnější částice, ovšem doba mletí je výrazně prodloužena⁹. Konverze vstupní energie na mechanickou energii je proto ovlivněna především frekvencí pohybu mlecí nádoby a jejím stupněm zaplnění. Pohyb koulí je také velmi komplikovaným parametrem, a tak mají získané výsledky většinou fenomenologický význam a platí pouze pro konkrétní kulové mlýny za omezených provozních podmínek. Použití jedné mlecí koule (obr. 4) proto nabízí snížení počtu komplikovaných výpočtů souvisejících s pohybem mnoha koulí a umožňuje tak předpovídat množství energie, které přejde do prášku⁷. Existují různé metody kulového mletí, které lze rozdělit na základě způsobu pohybu mlecích koulí a mlecí nádoby. Nejčastěji se jedná o vibrační mlýn, planetový mlýn a tzv. attritor³².



Obr. 4. Schéma mletí s jednou mlecí koulí (upraveno podle cit.⁷)

V případě planetového kulového mlýna je mlecí nádoba uspořádána excentricky na talířovém kole mlýna. Směr pohybu kolem tzv. talíře je poté opačný vůči pohybu mlecí nádoby. V mlecích zařízeních typu attritor je mlecí nádoba stacionární a materiál rotuje společně s mlecími koulemi kolem oběžného kola rotoru³³. U vibračního mlýna je materiál společně s mlecími koulemi vystaven krouživému pohybu, který je vyvolán vibracemi. Kmitavý pohyb vzniká poté díky excentricky uloženému závaží na rotující hřídeli³⁴.

5.2. Techniky společného mletí pro výrobu nanočástic

5.2.1. Mokrě mletí

Předchozí techniky mletí zahrnovaly zmenšení velikosti částic léčiva především v suchém stavu. Navíc bylo zjištěno, že je-li rozpustnost léčiva velmi nízká, zmenšení částic na mikrometrovou velikost je pro zvýšení jeho rychlosti rozpouštění a absorpce nedostatečné⁹. Mezi nejpoužívanější techniky přístupu shora dolů patří mokré mletí vedoucí k mikrosuspencím (suspenze s částicemi o velikosti v rozmezí 1–10 μm) či k nanosuspencím (suspenze s částicemi o velikosti pod 1 μm)^{5,35}. Nanosuspenci je poté možné definovat jako submikronovou koloidní disperzi částic léčiva, která je stabilizovaná povrchově aktivními látkami, polymery nebo směsmi obou látek. Umožňuje tak podání vysokých dávek léčiva, vykazuje nízký výskyt vedlejších účinků excipientů (především nosičů) a nevyžaduje vysoké náklady¹⁰. Jak již naznačuje název, mokré mletí spočívá ve zmenšení velikosti částic léčiva suspendovaných v kapalném médiu vodné či nevodné povahy, mechanickým otěrem a zaklíněním částic pomocí mlecích koulí. Při mokřém mletí jsou k léčivé látce přidány nejčastěji povrchově aktivní látky (např. laurylsulfát sodný či polysorbát 80) nebo polymery (např. hydroxypropylmethylcelulosa, hydroxypropylcelulosa, polyvinylpyrrolidon či poloxamer). Tím je minimalizována aglomerace či agregace suspendovaných částic. Mokré mletí lze rovněž považovat za modernizovanou verzi kulového mletí, při němž je dostatečně koncentrovaná disperze částic léčiva ve vodném nebo nevodném kapalném médiu podrobena tradičnímu kulovému mletí⁹. V tomto případě je mlecí komora naplněna koulemi, disperzním médiem (např. vodou), práškovým léčivem a stabilizátory¹. Mlecí nádoba zůstává během mokřého mletí stacionární na rozdíl od kulového mletí⁹. V případě mletí v perlovém mlýnu se mlecí koule otáčejí velmi vysokou rychlostí díky kotoučům umístěným na centrálním hřídeli, který se otáčí až 20 000 a více otáčkami za minutu. Tím totiž vznikají smykové síly, které rozměňují léčiva na nanočástice^{1,9}. Kapalným médiem brání adhezi a následně kompaktaci mletých částic léčiva na stěně nádoby nebo povrchu mlecích koulí, což je běžný jev, který se vyskytuje během suchého kulového mletí. Tím je rovněž zlepšena výtěžnost nanočástic. Kapalnu lze také využít jako lubrikant či k potahování nově vytvořených povrchů částic prostřednictvím různých fyzikálně-chemických interakcí, jako jsou elektrostatické a hydrofobní. Mokré mletí je zvláště vhodné pro vysoce účinná léčiva (např. fentanyl) a látky, které mají vysoký obsah

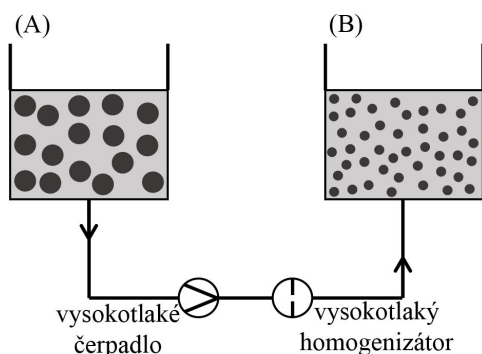
zbytkové vlhkosti (nad 50 %), protože suché mletí by v tomto případě mohlo být problematické⁹. Konečným produktem je obvykle nanosuspence léčiva s optimální stabilitou, ve které jsou Ostwaldovo zrání či hydrolytické degradace léčiva minimalizovány. Následně může být formulována do konvenčních pevných lékových forem (např. tablety, tobolky, pelety či suspenze pro injekce) granulací, lyofilizací či sprejovým sušením za použití vhodných excipientů, nejčastěji v podobě sacharidů^{1,9}. Je však samozřejmě vyžadováno odstranění rozpouštědla pro suspenzi a dále potřeba inkorporovat nanokrystaly léčiva do lékové formy, aniž by byly ovlivněny fyzikální, chemické a farmaceutické vlastnosti¹. Vzniklé nanočástice mohou být dále inkorporovány do polymerních filmů nebo mohou být součástí vrstvené struktury⁹.

Ve většině studií, které se zabývají mokřím mletím použitého speciálně pro přípravu nanosuspencí, je vždy na počátku procesu přidán jeden či více stabilizátorů a poté je provedeno mletí. Existuje jen málo studií, které by se zabývaly i periodickým dávkováním stabilizátoru⁵. Bylo totiž ukázáno, že způsob přidávání polymerů jako stabilizátorů může ovlivnit nejen jeho stabilizační vlastnosti, ale i distribuci velikosti jemných částic během mokřého mletí^{5,9}. V případě pravidelného dávkování polymeru je možné získat nejužší distribuci nejjemnějších částic. Navíc přidání stabilizátorů na počátku celého procesu mletí není z hlediska energetiky či nákladů nijak výhodnější. Na počátku mletí jsou totiž částice velké s relativně malým specifickým povrchem, pro který není potřeba mnoho polymeru pro sterickou stabilizaci. Kromě toho přidání celé dávky polymeru na počátku procesu zvyšuje viskozitu kapaliny či suspenzní směsi a spotřebu energie před samotným mletím. Proto lze říci, že pravidelné dávkování polymeru může pozitivně ovlivnit mokré mletí z hlediska nákladů, rovněž může mít vliv i na interakce mezi částicemi polymeru a léčiva a následně i na reologii suspenze. Způsob přidávání polymeru tedy dynamicky ovlivňuje disperzi, rychlost rozpouštění či adsorpci polymerních částic, stabilizující účinnost polymeru v závislosti na čase a viskozitu suspenze⁵. Fyzikální vlastnosti výsledných nanokrystalů závisí proto nejen na množství léčiva a stabilizátoru, ale také na počtu mlecích koulí, objemu mlecí nádoby, době mletí, rychlosti a teplotě^{1,12}.

Finální nanosuspence musí být vždy analyzována na stopové nečistoty vznikající z média nebo mlecí komory²⁰. Tento způsob mletí je také zcela nevhodný pro elastická prášková léčiva¹. Někdy je zmiňována i značná citlivost na proměnlivé vlastnosti vstupního materiálu, jako je různá distribuce velikosti jeho částic či rozdílný stupeň krystalinity²¹. Navzdory těmto omezením je mokré mletí nejčastěji používanou mlecí metodou ve farmaceutickém průmyslu díky jeho nízkým nákladům a velké kapacitě zaručující rychlou výrobu¹.

5.2.2. Vysokotlaká homogenizace

Vysokotlaká homogenizace je široce používaná technika pro přípravu nanosuspencí špatně rozpustných léčiv, kterou je možné rovněž provádět ve vodném i nevodném prostředí (obr. 5)^{1,4}. Nevodné médium je vhodné např. pro



Obr. 5. Schéma vysokotlaké homogenizace: prášek v suspenzi (A) a homogenizovaná suspenze (B) (upraveno podle cit.⁴)

léčiva citlivá na vodu¹. I pomocí této techniky lze zabránit nežádoucím jevům, které se objevují při použití konvenčních metod mletí, jako je amorfizace, polymorfní přechody či kontaminace kovy z mlecí nádoby či koulí v důsledku použité vysoké mechanické energie⁴. Jedná se o vysokoenergetický proces, při němž je zmenšení velikosti částic léčiva dosaženo cyklickým opakováním průchodu suspenze krystalického léčiva a stabilizátoru přes velmi úzkou štěrbinu homogenizátoru při vysoké rychlosti (přibližně 500 m s^{-1}) a tlaku 50 až 200 MPa (cit.^{1,9}). Šířku štěrbinu je možné nastavit podle viskozity suspenze a aplikovaného tlaku⁹. V tomto procesu se rozmělnění dosáhne vzájemnými srážkami částic, kolizemi s homogenizátorem, střihem či kavitačními silami vznikajícími při tvorbě a zániku bublin^{1,4,9}. Proces je ovlivněn především dvěma faktory, tj. poklesem tlaku a počtem průchodů přes homogenizátor (obvykle nad 200 cyklů)^{4,9}. Výsledná velikost částic může být však ovlivněna i teplotou během procesu homogenizace. Obecně platí, že menší nanokrystaly lze získat zvýšením homogenizačního tlaku a počtu homogenizačních cyklů¹. Před homogenizací může být někdy nezbytná i tzv. premikronizace výchozího materiálu za použití tryskového mletí, čímž se minimalizuje riziko ucpání homogenizační štěrbinu a zkracuje se doba mletí. Výsledný produkt je ovlivněn především mechanickými vlastnostmi (pevností) výchozích částic léčiva, přičemž u měkčích částic je obvykle dosaženo nižšího rozsahu nano velikosti (200 až 300 nm)⁹. Vysokotlaká homogenizace je vhodná rovněž pro přípravu formulací pro parenterální podání, protože neexistuje zde žádné riziko kontaminace mlecími médii a díky vysokému tlaku je produkt chráněn i před mikrobiální kontaminací či jinými potenciálními kontaminanty⁴. Navíc může být vysokotlaká homogenizace snadno upravena pro aseptickou výrobu nanočástic. Stejně jako v případě mokrého mletí se jedná o robustní a ekonomicky výhodný proces, který lze také jednoduše převést do většího měřítka a je rovněž snadněji přijímán regulačními autoritami⁹. V nanosuspensích připravených vysokotlakou homogenizací nedochází navíc k Ostwaldovu zrání díky uniformní velikosti získaných částic²¹. Na druhou stranu, uvolněná vysoká energie může

vést k mechanické aktivaci částic léčiva a následnému vzniku poruch vyvolaných procesem, což potenciálně může vést k částečné nebo úplné amorfizaci produktu^{9,36}. Jedná se o tzv. procesně indukované poruchy, které mohou být definovány jako preamorfní pevné stavy nevykazující skelný přechod na rozdíl od amorfního stavu, který má zřetelný skelný přechod při tepelném zpracování³⁶. Obecně pro všechny procesy mletí bylo také zjištěno, že při snížení teploty mletí má léčivo větší tendenci amorfizace, zatímco mletí nad teplotou skelného přechodu může způsobit polymorfní přechody. Toto pozorování proto vyvrátilo obecný předpoklad, že mletí mění fyzikální povahu pouze účinkem tepla vedoucího k lokálnímu tání. Výraznou citlivost na teplotu mletí je možné očekávat u léčiv, jejichž molekulární a krystalická symetrie je nízká, kinetika krystalizace je velmi pomalá, lze je snadno zesklinit, teplota tání a skleného přechodu jsou nízké a intramolekulární interakce jsou slabé. Změnou teploty mletí se kontroluje, zda je tendence amorfizace zesílena, nebo ne. Za tímto účelem se využívají disacharidy trehalosa či laktosa a jejich anhydřaty, které mají vysokou teplotu skelného přechodu, např. nad $100 \text{ }^\circ\text{C}$ (cit.²⁴). I když je vysokotlaká homogenizace velmi efektivní v laboratorním měřítku, zatím stále nebyla použita pro komerční výrobu, na rozdíl od mokrého mletí³. Na druhou stranu, je zde opět problém s variabilitou mezi šaržemi z hlediska krystalinity, což komplikuje kontrolu kvality²¹.

5.2.3. Kryogenní mletí

Zmenšení velikosti materiálu začíná v okamžiku, ve kterém vnější aplikované napětí způsobí dostatečné napětí uvnitř částic a vytvoří tak trhliny, které se dále šíří přes oslabené části v materiálu. Nové trhliny se tvoří neustále a dochází následně ke kaskádovému efektu a výslednému lomu v materiálu. Snadnost tvorby a šíření trhlin během mletí jsou pravděpodobně ovlivněny mechanickými vlastnostmi léčiva, jako je jeho pevnost a elasticita⁹. Materiály s vyšší pevností vyžadují přísun většího množství energie odpovídající tvorbě nového povrchu a úměrně přerušným interakcím mezi částicemi. Proto trhliny nevznikají působením napětí tak snadno^{6,9}. Křehkost i plasticita materiálu rovněž významně ovlivňují zmenšování velikosti částic léčiva. Obecně je jednodušší rozmělnit pevné a křehké materiály než měkké a viskoelastické. Plasticke materiály jsou totiž schopné absorbovat velké množství energie prostřednictvím viskoelastické deformace, aniž by se vytvořila trhlinka. Kromě vysoké odolnosti vůči lomům se tyto materiály rovněž vyznačují i schopností se roztavit po vystavení teplu, které vzniká během mletí, a mají tendenci se spíše deformovat než fragmentovat^{9,35}. Léčivé látky, které jsou charakterizovány právě těmito vlastnostmi, nelze proto rozmělnit tak snadno běžnými způsoby suchého či mokrého mletí. Kryogenní mletí, neboli kryomletí, je metoda zmenšování velikosti částic, která byla speciálně navržena pro měkké, elastické, plastické, méně křehké či termolabilní materiály⁹. Tento proces může být proveden buď mletím již zmrazeného materiálu, nejčastěji kapalným dusíkem, nebo mletím materiálu za kryogenních podmínek, tj. obvykle v přítomnosti kapalného dusíku jako kryo-

genního média. Expozice kapalnému dusíku vede ke zkrhnutí materiálu, což usnadňuje šíření trhlin. Dále se snižuje i specifická energie potřebná pro mletí a celkově se zkracuje doba mletí. Mletý materiál je také chráněn před tepelným poškozením a nežádoucími chemickými reakcemi mezi fázemi či je snížena aglomerace nebo agregace částic^{9,25}. Při kryomletí se pracuje při teplotách nižších, než je teplota skelného přechodu léčiva. Uvádí se, že mletí léčiva pod touto teplotou je účinnější pro přípravu amorfního materiálu ve srovnání s mletím při laboratorní teplotě. Kryomletá léčiva však vykazují sníženou fyzikální stabilitu. Tento problém může být odstraněn výběrem vhodných excipientů (nejčastěji polymerů), které léčivo stabilizují. Bylo rovněž prokázáno, že kryogenní médium efektivně snižuje teplotu prášku během mletí²⁵. Kryomletí umožňuje výrobu mikročástic i nanočástic, ale ve farmaceutickém průmyslu nebylo zatím pro mletí léčiv přijato. Tento proces díky nízkému povrchovému napětí a viskozitě kapalného dusíku také minimalizuje možnou degradaci termolabilních léčivých látek, ztrátu těkavých složek formulace, snižuje riziko výbuchu či oxidace složek formulace a agregace či aglomerace částic během mletí. Kapalným dusíkem totiž proniká do porů částic, což vytváří fyzickou bariéru, která zabraňuje také aglomeraci či agregaci částic⁹. Dále bylo zjištěno, že kryogenním mletím se získá daleko větší povrch léčiva ve srovnání s mletím při laboratorní teplotě²⁶. Rovněž bylo prokázáno, že lze obecně dosáhnout i vyšší amorfizace ve srovnání se společným mletím při laboratorní teplotě. Během procesu je totiž účinně zachyceno v mletém materiálu více amorfni fáze díky odstranění tepelné energie potřebné pro opětovnou krystalizaci⁹. Rovněž bylo zjištěno, že za kryogenní teploty povrchová energie prášku roste se zvyšujícími se cykly mletí, což pravděpodobně souvisí právě s tvorbou amorfních oblastí na povrchu²⁶. Kryogenní mletí umožňuje výrobu amorfního materiálu bez použití toxických rozpouštědel či ohřevu, čímž se snižuje riziko vlivu změn indukovaných teplotou^{9,25}. Většina studií je však zaměřena pouze na použití kryomletí za účelem získání amorfni fáze léčiva a hodnocení fyzikální stability. Vliv chemické degradace léčiva spolu s narušením výchozí krystalové fáze byl prozkoumán velice málo. Předpokládá se, že čím vyšší je obsah polymeru, tím je degradace léčiva nižší. Je však třeba sledovat i obsah vody obsažené v hygroskopických nosičích, které naopak rozklad léčiva mohou opět podpořit. Polymerem katalyzované fyzikálně-chemické modifikace léčiva (amorfni či polymorfni přechody nebo molekulární disperze v polymeru) během mletí jsou poté uváděny jako mletí podporované polymerem. Urychlování těchto modifikací je specifické a striktně závislé na polymerním nosiči²⁴. Stále však existují problémy související s nevýhodným poměrem cena *versus* výkon, výrobou většího množství a se zvětšováním měřítka³⁷.

5.3. Specifické techniky mletí

Hygroskopický materiál musí být rozmělnován v uzavřeném systému s přívodem pouze vzduchu neobsahujícího vlhkost. Tepelně labilní, snadno oxidovatelné

a hořlavé materiály by měly být mlety v uzavřeném systému s inertní atmosférou oxidu uhličitého nebo dusíku a s kontrolou teploty. Vzhledem k tomu, že pouze malá část energie mletí je využita k tvorbě nového povrchu, je většina energie převedena na teplo. Aby se předešlo změnám v materiálu a zabránilo se i zničení mlýnu, mlecí komora by měla být chlazená pomocí chladicího pláště nebo výměníku. Pokud je zapotřebí extrémní regulace velikosti, je třeba větší částice recyklovat. Volba suchého nebo mokrého mletí závisí především na použití a následném zpracování produktu. Pokud produkt prochází fyzikální nebo chemickou změnou ve vodě, je doporučeno suché mletí, kdy je však dosaženo pouze velikosti 100 μm z hlediska jemnosti prášku. Další možností je využití sonokrystalizace, která využívá ultrazvuk charakterizovaný frekvencí o rozsahu 20 až 100 kHz pro indukci krystalizace, čímž je zvýšena nukleace⁶. Řízení krystalizované léčivo není elektrostaticky nabitě a je méně kohezivní a adhezivní³⁸. Jedná se tak o účinnou metodu pro zmenšení velikosti částic a řízení distribuce velikosti částic léčiva⁶. Mezi další specifické techniky mletí se řadí i sprejové sušení či procesy využívající nadkritické tekutiny^{6,16}. Při tomto procesu se léčivo rozpouští v superkritické tekutině (např. oxid uhličitý) a následným snížením tlaku se získají jemné částice s úzkou distribucí velikosti částic. Nízká kritická teplota rozpouštědla může být použita i pro srážení tepelně nestálých materiálů bez rizika degradace¹⁶.

5.4. Technika společného mletí bez zmenšení velikosti částic – Mechanofúzní techniky

Mechanofúze je proces suchého potahování, při kterém se excipienty spojují vlivem vysokých střížných a kompresních sil generujících tepelnou energii k fúzi s povrchem částic „hostitele“ (obvykle léčivá látka či excipient) za vzniku kompozitních částic. Obecně je dosaženo nanometrického povlaku excipientu na povrchu „hostitelské“ částice a je také možné získat i uspořádanou směs^{17,39}. Zařízení pro mechanofúzi se skládá z rotující vnější nádoby, stacionární vnitřní části a tzv. škrabky. Prášek je umístěn do rotující nádoby a pohybuje se směrem ke stěnám zařízení. Škrabka poté odstraňuje kompozitní částice na vnitřních stěnách nádoby³⁹. Proto je cílem vybrat vhodné excipienty s antiadhezivními či antifrikčními vlastnostmi, které zlepšují sypné vlastnosti či dispergovatelnost výsledných kompozitních částic. Na druhou stranu dochází k deformaci morfologie částic s malým nebo žádným zmenšením jejich velikosti a dále je rovněž vyžadováno více kroků během zpracování. Smykové a kompresní síly, které se vyskytují u částic, mohou vést i k aglomeraci či agregaci větších „hostitelských“ částic. Jejich povrchy jsou totiž dostupné pro jiné excipienty, které se deformují nebo spojují s povrchem „hostitelské“ částice. Vzhledem k tomu, že tyto excipienty jsou obecně menší a měkčí než částice „hostitele“, k povrchu „hostitelské“ částice jsou pevně vázány silnými van der Waalsovými interakcemi a vytváří tak souvislou vrstvu. V některých případech zvýšení teploty generované vysokými střížnými a kompresními silami během mechanofúze

ního procesu vede ke vzniku kompozitních částic obsahujících daný excipient na povrchu částic „hostitele“ silnými fyzikálně-chemickými vazbami, které dále zlepšují proces potahování. Proto termín společného mletí v kontextu mechanofúze označuje deaglomeraci kohezních částic hostitele, které jsou následně spojeny vrstvou dalšího excipientu. Smykové a kompresní síly typicky nevedou ke zmenšení velikosti částic, ale je pozorována výrazná změna v povrchové morfologii částic¹⁸.

6. Závěr

Většina léčiv může být rozemleta v různém rozsahu s cílem zvýšit jejich zpracovatelnost, rozpustnost či rychlost rozpouštění, a to především u špatně rozpustných léčivých látek. Mletí patří mezi tzv. přístupy shora dolů, které vedou k získání jemných částic, které jsou zvláště žádoucí v lékových formách určených pro perorální, parenterální, respirační a transdermální použití. Významné pokroky v technologii mletí umožňují snadnou výrobu mikro- či nanočástic, které se vyznačují větším specifickým povrchem. Kromě změny ve velikosti částic může mletí vést i ke změně jejich tvaru, k amorfizaci či k mechanochemické aktivaci povrchu. Na druhou stranu, velký povrch zhoršuje i výslednou termodynamickou stabilitu, což výsledně vede k aglomeraci či agregaci jemných částic a s nimi spojenými dalšími jevy, které mohou zhoršit např. účinnost mletí, sypané vlastnosti, dispergovatelnost či dokonce i rozpustnost léčiva. K řešení tohoto problému lze využít celou řadu stabilizátorů. Nicméně, v této oblasti stále chybí systematické porozumění a jejich výběr je stále prováděn na bázi pokus-omyl.

V současné době existuje celá řada technik mletí, které mají určité výhody i nevýhody. Výběr optimálního typu zařízení pro mletí je ovlivněn především vlastnostmi daného léčiva. Podrobné informace a znalosti procesu mletí jsou proto nezbytné pro úspěšné použití této techniky ke zvýšení rychlosti rozpouštění, a tím zpravidla i ke zlepšení biologické dostupnosti.

LITERATURA

- Chen H., Khemtong C., Yang X., Chang X., Gao J.: *Drug Discov. Today* 16, 354 (2011).
- Vogt M., Kunath K., Dressman J. B.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 68, 283 (2008).
- Varghese S., Ghoroi C.: *Int. J. Pharm.* 533, 145 (2017).
- Khadka P., Ro J., Kim H., Kim I., Kim J. T., Kim H., Cho J. M., Yun G., Lee J.: *Asian J. Pharm. Sci.* 9, 304 (2014).
- Bhakay A., Merwade M., Bilgili E., Dave R. N.: *Drug Dev. Ind. Pharm.* 37, 963 (2011).
- Patel R. P., Baria A. H., Patel N. A.: *Asian J. Pharm.* 2, 216 (2008).
- Chen Y., Ding Y., Papadopoulos D. G., Ghadiri M.: *J. Pharm. Sci.* 93, 886 (2004).
- Giry K., Péan J. M., Giraud L., Marsas S., Rolland H., Wüthrich P.: *Int. J. Pharm.* 321, 162 (2006).
- Loh Z. H., Samanta A. K., Heng P. W. S.: *Asian J. Pharm. Sci.* 10, 255 (2015).
- Liu P., Rong X., Laru J., van Veen B., Kiesvaara J., Hirvonen J., Laaksonen T., Peltonen L.: *Int. J. Pharm.* 411, 215 (2011).
- Heng J. Y., Thielmann F., Williams D. R.: *Pharm. Res.* 23, 1918 (2006).
- Kürti L., Kukovecz Á., Kozma G., Ambrus R., Deli M. A., Szabó-Révész P.: *Powder Technol.* 212, 210 (2011).
- Leitner J.: *Chem. Listy* 112, 741 (2018).
- Hamishehkar H., Emami S., Lamei B., Valizadeh H., Jouyban A.: *J. Drug Delivery Sci. Technol.* 24, 653 (2014).
- Prziwara P., Breitung-Faes S., Kwade A.: *Adv. Powder Technol.* 29, 416 (2018).
- Charoenthaikool M., Dehghani F., Foster N. R., Chan H. K.: *Ind. Eng. Chem. Res.* 39, 4794 (2000).
- Barzegar-Jalali M., Valizadeh H., Shadbad M. R. S., Adibkia K., Mohammadi G., Farahani A., Arash Z., Nokhodchi A.: *Powder Technol.* 197, 150 (2010).
- Lau M., Young P. M., Traini D.: *Drug Dev. Ind. Pharm.* 43, 1229 (2017).
- Lee J., Choi J. Y., Park C. H.: *Int. J. Pharm.* 355, 328 (2008).
- Merisko-Liversidge E., Liversidge G. G.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 63, 427 (2011).
- Hu J., Johnston K. P., Williams R. O. 3rd: *Drug Dev. Ind. Pharm.* 30, 233 (2004).
- Lim R. T. Y., Ng W. K., Tan R. B. H.: *Powder Technol.* 240, 79 (2013).
- Lin S. Y., Hsu C. H., Ke W. T.: *Int. J. Pharm.* 396, 83 (2010).
- Descamps M., Willart J. F., Dudognon E., Caron V.: *J. Pharm. Sci.* 96, 1398 (2007).
- Zanolla D., Perissutti B., Passerini N., Invernizzi S., Voinovich D., Bertoni S., Melegari C., Millotti G., Albertini B.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 153, 82 (2018).
- Shah U. V., Wang Z., Olusanmi D., Narang A. S., Hussain M. A., Tobyn M. J., Heng J. Y. Y.: *Int. J. Pharm.* 495, 234 (2015).
- Kogermann K., Veski P., Rantanen J., Naelapää K., ve sborníku: *Proceedings of the The 1st Electronic Conference on Pharmaceutical Sciences* (Rantanen J., Naelapää K., He J. ed.), str. 1. Molecular Diversity Preservation International, Basel 2011.
- Vogt M., Kunath K., Dressman J. B.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 68, 330 (2008).
- Isaac J., Ganguly S., Ghosh A.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 101, 43 (2016).
- Merisko-Liversidge E., Liversidge G. G., Cooper E. R.: *Eur. J. Pharm. Sci.* 18, 113 (2003).
- Sugimoto M., Okagaki T., Narisawa S., Koida Y., Nakajima K.: *Int. J. Pharm.* 160, 11 (1998).
- Zhang F. L., Zhu M., Wang C. Y.: *Int. J. Refract. Met. Hard Mater.* 26, 329 (2008).
- Vasamsetti S., Dumpala L., Subbarao V. V.: *Int. J.*

- Mech. Eng. Technol. 9, 1579 (2018).
34. Andres K., Haude F.: J. South Afr. Inst. Min. Metall. 110, 125 (2010).
 35. Plakkot S., de Matas M., York P., Saunders M., Sulaiman B.: Int. J. Pharm. 415, 307 (2011).
 36. Zimper U., Aaltonen J., Krauel-Goellner K., Gordon K. C., Strachan C. J., Rades T.: Pharmaceutics 2, 419 (2010).
 37. Watano S., Matsuo M., Nakamura H., Miyazaki T.: Chem. Eng. Sci. 125, 25 (2015).
 38. Rasenack N., Steckel H., Müller B. W.: J. Pharm. Sci. 92, 35 (2003).
 39. Saharan V. A., Kukkar V., Kataria M., Kharb V., Choudhury P. K.: Asian J. Pharm. Sci. 3, 240 (2008).

T. Školáková and P. Zámostný (*Department of Organic Technology, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Milling and Co-milling Techniques as Approaches to Increase the Dissolution Rate of Poorly Soluble Drugs**

Milling and co-milling are widely used techniques for reducing particle size of drugs leading to an increase of their surface area. Therefore, these approaches can subsequently improve the processability and drug delivery characteristics, such as dissolution rate, solubility, bioavailability and uniform mixing related to content uniformity, stability, etc. However, milled particles are also known to have certain typical disadvantages, namely agglomeration, poor flowability or no dissolution improvement. A number of different methods of particle size reduction can be used; they include wet and dry milling techniques having advantages as well as disadvantages. The paper summarizes the backgrounds on milling and co-milling followed by an introduction of their benefits and drawbacks. Attention is also paid to the types of mills for particle size reduction and factors affecting their selection.

Keywords: milling, co-milling, dry milling, wet milling, improving solubility, Rehbinder effect, Ostwald ripening, mechanochemically-activated surfaces