



**BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM
VEGYÉSZMÉRNÖKI ÉS BIOMÉRNÖKI KAR
OLÁH GYÖRGY DOKTORI ISKOLA**

**Sokváltozós görbefulbontási és regressziós módszerek a
Raman-térképezésben**

Tézisfüzet

Szerző: Vajna Balázs

Témavezető: Dr. Marosi György egyetemi tanár

Szerves Kémia és Technológia Tanszék

2012

Tézisfűzetben előforduló rövidítések és betűszavak jegyzéke

CLS	klasszikus legkisebb négyzetek módszere (<i>classical least squares</i> , keverékspektrumok modellezési eljárása a tiszta összetevők referencia-spektrumainak felhasználásával)
GA	genetikus algoritmus v. algoritmusok (<i>genetic algorithms</i> , változókiválasztási módszer)
iPLS	intervallum-PLS (változókiválasztási módszer, PLS jelentését ld. alább)
MAF	maximális autokorrelációs faktorelemzés (<i>maximum autocorrelation factors</i>)
MCR-ALS	többváltozós görbefelbontás – váltakozó legkisebb négyzetek módszere (<i>multivariate curve resolution – alternating least squares</i>)
PC	főkomponens (<i>principal component</i>)
PCA	főkomponens-elemzés (<i>principal component analysis</i>)
PLS	részleges legkisebb négyzetek módszere (<i>partial least squares</i> , a dolgozat ezzel jelöli az ezzel végzett regressziót is)
PMF	pozitív mátrixfelbontás (<i>positive matrix factorization</i> , görbefelbontási módszer)
$R^2_{(C,CV,P)}$	determinációs együttható (kalibráció, keresztellenőrzés, ill. előrebecslés esetén)
RMSE (C,CV,P)	kalibráció, keresztellenőrzés, ill. előrebecslés közepes négyzetes hibája (<i>root mean square error</i>)
SISAL	változófelosztással megvalósított, kibővített Lagrange módszer (<i>simplex identification via split augmented Lagrangian</i>)
SMCR	görbeillesztés nélküli profilkinyerés (<i>self-modelling curve resolution</i> , görbefelbontásra használható kemometriai módszerek összefoglaló neve)
SMMA	görbeillesztés nélküli keverék-elemzés (<i>self-modelling mixture analysis</i>)
SRD	rangsámkülönbségek abszolútérték-összegének módszere (<i>sum of ranking differences</i> , matematikai eljárás módszerek, jellemzők stb. összehasonlítására)
SS2D	minta-minta kétdimenziós korrelációs spektrometria (<i>sample-sample 2D correlation spectroscopy</i>)
SVM	támogatóvektor-módszer (<i>support vector machines</i> , nemlineáris gépi tanulási, ill. regressziós eljárás)

1. Bevezetés

A kémiai térképezés (*chemical imaging*) a spektroszkópia legdinamikusabban fejlődő területeinek egyike. Megvalósítása egy rezgési (jellemzően középtartományú vagy közeli infravörös, illetve Raman-) spektrometriai módszer és egy alkalmas optikai rendszer összekapcsolásával történik. A szűkebb értelemben vett *térképezés (point mapping)* esetében ez utóbbi általában egy mikroszkóp, mellyel – nagyítástól függően – általában kb. 0.5-5 mikrométerig terjedő átmérőjű pontból vehető fel rezgési spektrum. Ekkor a térképezés a tárgyasztal mozgásával, több spektrum felvételével történik a minta felületének különböző pontjaiból, előre meghatározott elrendezés szerint.

A kémiai térképek minden *képpontját* egy-egy, a felület adott mérési pontjáról felvett spektrum alkotja. Tekintve, hogy mind a térképet alkotó képpontok száma, mind az egyes spektrumokon belüli hullámszám-csatornák száma igen nagy, a létrejövő óriási méretű adattömb tradicionális módszerekkel nem elemezhető jól. A mélyreható értékeléshez sokváltozós adatelemzési, ún. *kemometriai* módszerek alkalmazására van szükség. A kémiai térképek kemometriai elemzése azonban meglehetősen új terület, ezért a jelen doktori munka során ennek lehetőségeit kívántuk felderíteni elsősorban gyógyszer- és polimertechnológiai területeken (bár a vizsgálati eljárással és a kemometriai értékeléssel kapcsolatos megállapítások az alkalmazási területtől függetlenek és általános érvényűek).

A kemometriai értékelési módszerek mélyreható vizsgálatával három területen kívántunk a kémiai térképezés alkalmazhatóságát javítani:

- (1) **Fejlesztés alatt álló gyógyszerkészítmények vizsgálata.** - E vizsgálatok motivációját a gyógyszeriparban napjainkban elterjedő *tervezhető minőség (Quality by Design)*, illetve a *folyamatfelügyelő analitikus technológia (Process Analytical Technology)* koncepciói adták. Ezek célkitűzése az, hogy egy gyártástechnológiához kapcsolódó, megfelelően megválasztott analitikai eljárásokkal és optimalással pontosan előre becsülhető és biztosítható legyen a végtermék minősége. Arra kerestük a választ, hogy a kemometriai módszerekkel támogatott kémiai térképezés miként segítheti a minták belső szerkezete és a készítmény fizikai, ill. biológiai tulajdonságai közötti összefüggések feltárását.
- (2) **Illegális és hamisított készítmények vizsgálata Raman-térképezéssel.** - E vizsgálatok motivációját az a kihívás jelentette, amit az egyre tökéletesebb gyógyszerhamisítványok jelentenek, s ami miatt egyre több információt kell szerezni a készítményeket alkotó komponensekről, azok összetételéről és szerkezeti jellegzetességeiről, úgy, hogy a mintákról igen gyakran semmilyen előzetes információ nem áll rendelkezésre.
- (3) **Műanyag hulladékok minőségi és mennyiségi elemzése.** - E vizsgálatok környezetvédelmi aktualitása nyilvánvaló, az értékelést azonban két körülmény nehezíti: a hulladékokról készült térképek igen rossz jel-zaj viszonya és az a tény, hogy az összetevők általában nem ismertek. Az egy-egy térkép esetében is órákig tartó „szemrevételezéses” spektroszkópai pontelemzés helyett kívántunk kemometriai módszereken alapuló automatizálható eljárást fejleszteni.

2. Szakirodalmi háttér

A kémiai térképezés előnye, hogy lehetővé teszi a lokális elemzést, illetve az összetevők térbeli elhelyezkedésének feltárását. Az összetevők eloszlottságának jellege és mértéke összefügg a minták fizikai-kémiai tulajdonságaival, ezáltal térképezést alkalmazva számos olyan következtetés vonható le, amely makroszkopikus spektrometriai módszerekkel rejtve marad^{1,2}.

Egy összetevő eloszlottsága, illetve térbeli elhelyezkedése legegyszerűbben úgy jeleníthető meg, hogy az adott összetevőre jellemző sáv görbe alatti területét ábrázoljuk a mérési pontok térkoordinátáinak függvényében. Értelemszerűen ez csak akkor valósítható meg, ha kiválasztható olyan (elegendően éles) rezgési sáv, mely kizárólag egyetlen összetevőre jellemző. Korlátai ellenére ez az egyik leggyakrabban alkalmazott eljárás.

Az alkotók sávjainak átlapolása esetén a klasszikus legkisebb négyzetek módszere (CLS) alkalmazható, mely során az egyes képpontokban található spektrumokat a tiszta összetevők referencia-spektrumainak lineáris kombinációjaként (súlyozott átlagaként) modellezzük. A referencia-spektrumok ismeretében e lineáris kombináció súlyfaktorai egyszerű matematikai műveletekkel számíthatók³, és – szükség esetén megfelelő skálázás után – a koncentrációk becslésére alkalmazhatók. Ez az egyváltozós (sávok görbe alatti területén alapuló) megközelítés mellett a másik legelterjedtebb értékelési módszer.

Számos gyógyszer technológiai probléma sikerrel megoldható e két hagyományos értékelési eljárást alkalmazva is. Erre a porkeverékek és belőlük készülő tabletták homogenitásától kezdve a gyártási hibák elemzésén túl egészen a késztermékek végellenőrzésig számos példa található a szakirodalomban^{1,2,4}. A térképek alapján következtetéseket vonhatunk le a készítmények makroszkopikus tulajdonságairól, illetve a gyártási technológia egyes sajátosságairól.

¹ C. Gendrin, Y. Roggo, C. Collet, J. Pharm. Biomed. Anal. 48 (2008) 533-553.

² A.A. Gowen, C.P. O'Donnell, P.J. Cullen, S.E.J. Bell, Eur. J. Pharm. Biopharm. 69 (2008) 10-22.

³ H. Mark, J. Workman: Chemometrics in Spectroscopy, first ed., Academic Press, 2007.

⁴ K.C. Gordon, C.M. McGoverin, Int. J. Pharm. 417 (2011) 151-162.

Nem található azonban tanulmány eltérő technológiával előállított készítmények térképeinek szisztematikus vizsgálatáról és összehasonlításáról.

Bizonyos esetekben, például szilárd diszperziós készítmények, illetve különböző kristálymódosulatok keverékeinek vizsgálatában kifejezetten a *Raman-térképezés* alkalmazható jól. A szakirodalomban főként hagyományos módszerekkel készült szilárd diszperziók vizsgálata található meg, **nincs példa a legmodernebb módszerekkel, pl. szuperkritikus extrúzióval, illetve elektrosztatikus szálképzéssel készített minták vizsgálatára.** Illetve, noha a hatóanyag készítménybeli homogenitása elméletileg kapcsolatba hozható a kioldódási jellemzőkkel, **nem található olyan tanulmány, amely a szilárd diszperziós készítményekről készült Raman-térképeket konkrét kioldódásvizsgálatok eredményeivel vetné össze.**

A hatóanyagok polimorfijának készítménybeli vizsgálata is legtöbbször egyváltozós vagy CLS modellezéssel történik, még a legújabb vizsgálatokban is⁵. A nagyon kis mennyiségben jelenlévő, előre nem várt (esetleg ismeretlen) kristálymódosulatok észlelése és azonosítása azonban már többváltozós módszerek alkalmazását igényli. A többváltozós módszereket alkalmazó tanulmányok közül kvalitatív vizsgálatokkal is eddig mindössze egy foglalkozott, melyben felderítő statisztikai módszerekkel mutatták ki a makroszkopikus módszerek kimutatási határa alatti koncentrációjú polimorf szennyeződések⁶. **Teljesen nyitott kérdés volt tehát nyomnyi kristályos szennyezések kémiai térképezéssel megvalósított mennyiségi becsülésének problematikája.**

Napjaink egyik igen komoly kihívása a hamisított és illegális készítmények fokozódó megjelenése a gyógyszer- és feketepiacokon¹. E mintákról a vizsgálat előtt igen gyakran nincs (vagy nincs elegendő) előzetes információ, legtöbbször maguk az alkotóelemek sem ismertek. Ez esetben mind a jelenlévő összetevők spektrumát, mind a koncentrációterképeiket a vizsgálat során kapott adattömböt alkotó keverékspektrumokból kell megbecsülni². A kemometriai módszerek közül a felderítő statisztika, és ezen belül is különösen a *görbeillesztés nélküli profilkinyerés* (SMCR) módszerei alkalmazhatók. Kémiai térképezésben az alapvető felderítő statisztikai módszerek közül a *főkomponens-elemzés* (PCA), az SMCR módszerek közül pedig a *többváltozós görbefelbontás – váltakozó legkisebb négyzetek módszere* (MCR-ALS) a legjelentősebb. Ez utóbbi lényege, hogy a CLS egyenleteit és a Raman-térkép adatmátrixát felhasználva felváltva becsüli a tisztaösszetevő-spektrumokat és a koncentrációkat, úgy, hogy az egyes iterációs lépések között fizikai *megszorításokat* alkalmaz (pl. *nemnegativitás*: a koncentrációk és jel-intenzitások ne legyenek negatívak; *anyagmérleg*: a különböző összetevők koncentrációjának összege minden képpontban 1-et adjon; *bezárt szög*: a kinyert spektrumok a lehetséges megoldások hamazán belül a lehető legkevésbé korreláljanak, azaz vektorként bezárt szögük a legnagyobb legyen, stb.)

Alkalmaztak további módszereket is, mint a *mintaminta kétdimenziós korrelációs spektrometriai elemzést* (SS2D), illetve a szintén az SMCR módszerei közé tartozó *görbeillesztés nélküli keverékelemzést* (SMMA), a *pozitív mátrixfelbontást* (PMF), valamint a *változófelosztással megvalósított, kibővített Lagrange módszert* (SISAL). Ugyanakkor az ismeretlen készítmények vizsgálatával kapcsolatosan számos hiányosság tapasztalható a szakirodalomban. Egyrészt a képfeldolgozásban és tömegspektrometriás térképezésben jól használható ***maximális autokorrelációs faktorelemzést* (MAF) eddig egyáltalán nem alkalmazták rezgési spektrometriás térképezésben.** Másrészt, ugyan van példa különböző módszerek összehasonlítására⁷, ezt eddig csak „optimális” körülmények között (az értékelést nehezítő tényezők hiányában) végezték el. A szakirodalom alapján **nem állapítható meg, hogy a spektrumokat terhelő zaj, illetve az összetevők heterogenitása hogyan befolyásolja az egyes értékelési algoritmusokkal kapott eredményeket, és ennek megfelelően teljesen ismeretlen**

⁵ S. Šašić, S. Mehrens, Anal. Chem. 84 (2012) 1019-1025.

⁶ E. Widjaja, P. Kanaujia, G. Lau, W. Kiong Ng, M. Garland, C. Saal, et al., Eur. J. Pharm. Sci. 42 (2010) 45-54.

⁷ C. Gendrin, Y. Roggo, C. Collet, J. Near Infrared Spectrosc. 16 (2008) 151-157.

készítmények Raman-térképeinek értékelését melyik kemometriai módszerrel (és hogyan) érdemes végezni. Mindkettő fontos körülmény, hiszen a zajszint hatása a vizsgálati paraméterek értékeinek megfelelő megválasztását segíti, az összetevők eloszlottságának mértéke és jellege pedig a minta tulajdonsága, s olyan értékelési módszert kell alkalmazni, mely erre nem érzékeny.

A görbefelbontási módszerekkel segített Raman-térképezés másik lehetséges alkalmazási területe a műanyag hulladékok vizsgálata, hiszen e módszer család lehetővé teszi mind a főtömeget alkotó, mind a nyomokban jelenlévő összetevők vizsgálatát. Közeleli infravörös spektrometriás képalkotást már alkalmaztak erre a célra, ahol osztályozási (felügyelt mintázatfelismerési) algoritmusok segítségével rendelték hozzá a képen megjelenő hulladékokat az őket alkotó polimerekhez⁸. A hulladékok mennyiségi vizsgálata azonban továbbra is megoldatlan, ugyanis egyrészt e tanulmányokban nagyítás nélküli kamerát alkalmaztak képalkotó optikaként (amely az alkalmazott formában nem teszi lehetővé a reprezentatív összetétel-vizsgálatot), másrészt az alkalmazott kemometriai (*osztályozási*) módszerek előzetes „tanítást” igényelnek egy ún. *tanítóhalmaz* segítségével (azaz olyan polimerek azonosíthatók, melyek szerepelnek a tanítóhalmazban). Hulladékok vizsgálatakor azonban kikerülhetetlenül jelen vannak **előre nem várt, ismeretlen összetevők is, és ezekre is szükséges mennyiségi becslést adni.** A műanyag hulladékok Raman-térképezésének további kihívása, hogy **a térképek rendkívül rossz minőségű spektrumokat tartalmaznak** a besugárzó lézer hatására eltérően viselkedő összetevők miatt. **A szakirodalomban nem található utalás arra, hogyan lehet – e két kihívásra egyszerre megfelelően – műanyag hulladékok Raman-térképezéssel történő mennyiségi elemzését megvalósítani.**

A Raman-térképezéssel végzett mennyiségi elemzés lehetősége a gyógyszer technológiában is fontos kérdés. Ennek különösen a segédanyagok esetében van kiemelt jelentősége, ugyanis ezek mennyiségi elemzésére ritkán dolgoznak ki célspecifikus analitikai módszert, ugyanakkor a koncentráció-eloszlásuk pontos ismerete fontos tényező a készítmények fizikai-kémiai tulajdonságainak jellemzésében. Noha a hagyományosan alkalmazott CLS módszer alkalmas az összetevők mennyiségének közelítő (és ismeretlen pontosságú) becslésére, esetenként szükség lehet ismert pontosságú pontbeli koncentrációk és koncentráció-térképek meghatározására. A kémiai (és különösen a Raman-) térképezés e területen igencsak gyerekcipőben jár. Egyrészt a kemometriai módszerek közül szinte kizárólag a *részleges legkisebb négyzetek módszerét* (PLS) alkalmazzák⁹ (esetenként helytelenül¹⁰, illetve Raman-térképezésnél mindössze egyetlen tanulmányban¹¹), noha ennél modernebb módszerek is léteznek. A PLS regresszió (is) például javítható **változó kiválasztási algoritmusokkal** (pl. intervallum-PLS, genetikus algoritmusok), azonban **ezek tesztelésére a kémiai térképezés területén nincs példa.** Noha a Raman-sávok intenzitása bizonyos körülmények között nemlineárisan függ az összetevők koncentrációjától, szintén **nem található meg a szakirodalomban a nemlineáris regressziós eljárások alkalmazása és összehasonlítása.**

Módszerek összehasonlítására – amire a disszertációban gyakran sor kerül – hazánkban fejlesztettek ki a közelmúltban egy nemparaméteres statisztikai eljárást, a *rangszámkülönbségek abszolútérték-összegének módszerét* (SRD). **Az egyes problémákhoz legmegfelelőbb értékelési módszer kiválasztásához a hagyományosan alkalmazott modelljóság-jellemzők mellett a kemometria legfrissebb eredményei közé tartozó SRD eljárást is alkalmaztuk.** A disszertáció célja volt a felmerülő gyakorlati problémák megoldása mellett a kemometriai módszerek működésének alapos megismerése is.

⁸ A. Kulcke, C. Gurschler, G. Spock, R. Leitner, M. Kraft, J. Near Infrared Spectrosc. 11 (2003) 71-81.

⁹ C. Ravn, E. Skibsted, R. Bro, J. Pharm. Biomed. Anal. 48 (2008) 554-561.

¹⁰ Z. Rahman, A.S. Zidan, M.A. Khan, Int. J. Pharm. 400 (2010) 49-58.

¹¹ K.M. Balss, F.H. Long, V. Veselov, A. Orana, E. Akerman-Revis et al., Anal. Chem. 80 (2008) 4853-4859.

3. Kísérleti és értékelési módszerek

A disszertáció középpontjában álló analitikai módszer a **Raman-térképezés**, melyet egy Horiba Jobin Yvon gyártmányú, Labram típusú Raman-mikroszkóppal valósítottunk meg. A gerjesztő lézert, a mikroszkópi nagyítást, a felvételi időt és az egyes képpontokban átlagolt spektrumok számát, a térképek méretét és képpontok közti lépésközt úgy választottuk meg, hogy a lehető legrövidebb vizsgálati idővel készült térképek a lehető legtöbb hasznos információt tartalmazzák, illetve reprezentatívak legyenek a vizsgált mintákra. A spektrumok feldolgozása során szakaszosan lineáris alapvonalkorrekciót és egységnyi görbe alatti területre történő normálást alkalmaztunk (Horiba LabSpec 5.41) a fluoreszcens háttér eltávolítása, illetve a minták felületi egyenetlenségeiből eredő fókuszálási bizonytalanság hatásának kiküszöbölése érdekében. Ezután minden vizsgálatnál az adott problémához legmegfelelőbb spektrometriai vagy kemometriai módszerrel végeztük a térképek értékelését, illetve – ahol előzetesen nem lehetett tudni, melyik módszer alkalmazása optimális – több módszert is összehasonlítottunk.

A gyógyszerhatóanyagok polimorfiai stabilitásvizsgálatához (ipari együttműködésben), különböző – iparjogvédelmi okokból itt nem közölhető – módon előállított **donepezil-tartalmú granulátumokat**, illetve tanszékünkön előállított **spironolakton-tartalmú extrudátumokat** (HAAKE Minilab) használtunk. A készítmények gyártástechnológiával összefüggő fizikai-kémiai tulajdonságainak megértéséhez magunk állítottunk elő tablettákat különböző technológiákkal: direkt préssel (Fette EX-1), illetve az örvényáramú (Pro-C-ept 4M8) és fluidizációs (Glatt GCPG-1) granulálás különböző változataival, illetve szilárd diszperziós gyógyszerformákat **olvadékos** (HAAKE Minilab) és **szuperkritikus** (SCAMEX Rheoscam) **extrúzióval, valamint elektrosztatikus szálképzéssel**. Az ezekről készült Raman-térképeket kiválasztott sávok görbe alatti területén alapuló, illetve CLS módszerrel elemeztük a készítmények technológiával összefüggő szerkezetének megértése céljából. **Ellenőrzésként jellemzően por-röntgendiffrakciót** (PANalytical X'Pert Pro MPD) **használtunk**, illetve in-vitro kioldódásvizsgálatot (Erweka DT6) végeztünk.

A hatóanyag-segédanyag kölcsönhatás Raman-térképezéssel történő vizsgálatához vízben rosszul oldódó (ipari együttműködésben előállított, s iparjogvédelmi okokból meg nem nevezhető) **hatóanyag és ciklodextrin** (számos típusának) 1:1 molarányú kombinációját tartalmazó szilárd gyógyszerformákat állítottunk elő **fagyasztva szárítással** (Leybold Lyovac GT-3). A Raman-térképezés mellett a minták kristályosságát por-röntgendiffrakcióval, homogenitásukat pedig pásztázó elektronmikroszkópiás elemanalízissel (JEOL JSM-6380LA) vizsgáltuk. A Raman-térképeket CLS és MCR-ALS módszerekkel dolgoztuk fel.

Az **ismeretlen tabletták elemzésének modellezéséhez** három mintasorozatot használtunk. A zaj szintjét figyelembe vevő módszer-összehasonlításhoz egy kereskedelmi forgalomban lévő gyógyszerkészítményt vizsgáltunk (melyet iparjogvédelmi okokból itt nem nevezhetünk meg). A hatóanyag homogenitásának a kemometriai feldolgozásra gyakorolt hatását a saját magunk által többféle technológiával előállított – s az előbb már bemutatott – tablettákon elemeztük. Több összetevő homogenitásának esetét a kereskedelemben kapható, **hagyományos úton gyártott Isoptin SR és extrúzióval előállított Isoptin SR-E készítményen** határoztuk meg. A kemometriai módszerek közül a **PCA, MAF, SS2D, SMMA, SISAL, MCR-ALS és PMF algoritmusokat hasonlítottuk össze**, minden esetben az algoritmusok belső paramétereinek (illetve a görbefelbontás ún. fizikai megkötéseinek) optimalizálásával.

A **műanyag hulladékok mennyiségi elemzésére** vonatkozó eljárás kifejlesztéséhez darált és mágneses sűrűségseparációs módszerrel különböző **sűrűségfrakciókra szétválasztott autóiipari hulladékot vettünk alapul**.¹² A képpontok polimerhez rendeléséhez SMCR mód-

¹² B. Bodzay (témavez. Gy. Marosi): doktori disszertáció, BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék, 2011.

szereken alapuló empirikus hozzárendelési módszert fejlesztettünk ki. A szilárd diszperziós gyógyszerkészítmények mennyiségi elemzéséhez **koffein modellhatóanyagot** és **poli-tejsav-ko-glikolsav segédanyag-polimert** tartalmazó mintákat állítottunk elő **porlasztva szárítással** (Pro-C-Ept MicroSpray), tizenegy különböző koffein-koncentrációval. Számos egy- és sokváltozós regressziós módszert teszteltünk a *kalibráló sorozaton* vett keresztellenőrzési és a független, ún. *validáló sorozat* mintáin számított előrebecslési hibáik összehasonlításával.

A többváltozós statisztikai számításokat Matlab 7.6 (Mathworks) és PLS_Toolbox 6.2. szoftverekkel végeztük. A SISAL számításokat a fejlesztők által ingyenesen közzétett Matlab kiegészítővel, a PMF számításokat a fejlesztőtől kapott PMF2 szoftverrel végeztük. Az egyváltozós statisztikai számításokat Matlab, Excel, ill. Statistica 8.0 (Statsoft) programokkal végeztük.

4. Eredmények

4.1. Gyógyszerkészítmények polimorf-stabilitásának vizsgálata egyváltozós értékeléssel

A gyógyszer technológia egyik legjelentősebb kihívása napjainkban a hatóanyagok előállítására amorf módosulatként és ennek az állapotnak a stabilizálása. Az erre irányuló kísérletek összehasonlításához szelektív és érzékeny analitikai módszerre van szükség.

A legkézenfekvőbb módszer, a por-röntgendiffrakció alkalmazásának egyik fő korlátja, hogy nagy mennyiségű kristályos segédanyagot tartalmazó környezetbe ágyazott kis mennyiségű hatóanyag (át)kristályosodása sok esetben nehezen észlelhető. Ezért éppen ilyen rendszerekben, mikrokristályos cellulózt és keményítőt tartalmazó granulátumokban vizsgáltuk egy 5 tömegszázalék körüli dózisú amorf hatóanyag kristályosodását Raman-térképezéssel. Megállapítottuk, hogy a Raman-térképek választott sáv alatti területen alapuló értékelésével a makroszkopikus vizsgálati módszerek kimutatási határa alatt is megkülönböztethetők a különböző mértékű kristályosodást mutató minták.

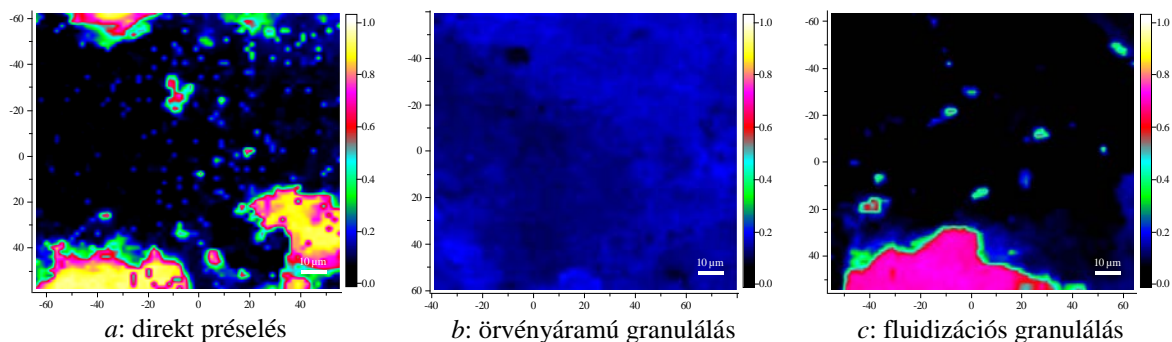
A hatóanyagot amorf módosulatban tartalmazó szilárd diszperziós készítmények esetében elengedhetetlen a nyomnyi mennyiségű kristálygócok azonosítása a későbbi stabilitás előrejelzése céljából. Különböző körülmények között extrudált minták Raman-térképeinek egyváltozós értékelésével sikerült különbséget tenni – a röntgendiffrakció kimutatási határa alatt – kristálygócok mennyiségében és a hatóanyag homogenitásában. Ezáltal hosszas stabilitásvizsgálat nélkül ki lehet választani az optimális előállítási körülményeket.

4.2. Technológiai elemzés megvalósítása többváltozós, referencia-spektrumokon alapuló modellezéssel

A gyakorlatban sokszor előfordul, hogy egyes összetevőknek nincs a többitől élesen elkülönülő sávja, ezért térbeli elhelyezkedésük nem vizsgálható a többitől függetlenül. Ugyanakkor fontos kérdés mind a hatóanyag, mind egyes segédanyagok térbeli koncentrációeloszlásának jellemzése a kioldódási jellemzők és egyéb fizikai-kémiai tulajdonságok megértése céljából.

Azonos összetételű, hétféle különböző technológiával előállított gyógyszer tabletta vizsgálatával fényt derítettünk a hatóanyag egyes technológiákra jellemző eloszlottságának jellegzetességeire (1. ábra). Mivel e minták egyes alkotóinak Raman-sávjai erősen átlapolnak egymással, a térképek értékelését a tiszta összetevők referencia-spektrumainak felhasználásával, CLS módszerrel végeztük. Az egyes térképeken belüli, képpontonkénti koncentrációk leíró statisztikai vizsgálatával számszerűsíthetők az egyes technológiák közötti különbségek. Vizsgáltuk a térképezési módszer reprodukálhatóságát, ami megerősítette a technológiák ösz-

szehasonlításával kapcsolatos tapasztalatokat. Az elemzést nagy nagyítás és kis képpontok közti lépésköz alkalmazásával is elvégeztük a finom részletek felderítése céljából: kimutattuk, hogy ily módon meghatározható a csúsztatószerként alkalmazott Mg-sztearát elhelyezkedése, mely egyértelmű összefüggést mutatott a tabletták törési szilárdságával. A hatóanyag sávjainak szemrevételezésével következtetések vonhatók le a gyártási technológia során végbemenő polimorfia-változással kapcsolatban. A térkép-spektrumok összintenzitása egyértelmű, nemlineáris összefüggést mutat a gyártáskor alkalmazott préselési erő mértékével (és így közvetve a törési szilárdsággal). Kimutattuk azt is, hogy a CLS módszerrel létrehozott koncentráció-térképek a gyógyszerkészítmények sajátosságait figyelembe vevő empirikus korrekcióval alkalmassá tehetők az összes alkotó egyidejű mennyiségi becslésére is.



1. ábra Hatóanyag eloszlottsága különböző technológiával készült tablettákban (100× objektívvel végzett mikro-Raman vizsgálat)

Az előzőekkel összefüggésben vizsgáltuk szuperkritikus extrúzióval és elektrosztatikus szálképzéssel előállított minták homogenitását is a koncentráció-térképek segítségével, mivel a szakirodalomban ilyen készítmények vizsgálatára korábban nem volt példa. A Raman-térképek igen érzékenyen mutatják igen kismértékű lokális heterogenitás megjelenését is, mely összefüggésbe hozható a hatóanyag kristályosodásával (a por-röntgendiffrakció kimutatási határa alatt). A koncentrációk statisztikai jellemzőit összefüggésbe hoztuk a hatóanyag kioldódási sebességével.

4.3. Hatóanyag-segédanyag kölcsönhatás vizsgálata sokváltozós görbefelbontási módszerekkel

A szilárd diszperziós készítményekben található lokális dúsulások esetében mindig felmerül a kérdés, hogy megjelennek-e bennük kristálygócok, vagy a tömbfázishoz hasonlóan amorf állapotban tartalmazzák a hatóanyagot. Hasonlóképpen, a hatóanyaggal kölcsönhatásba lépő segédanyag alkalmazásakor elvárható, hogy detektálni lehessen, ha bizonyos területeken komplexálatlan hatóanyag marad (vagy keletkezik). A Raman-térképezés alkalmas mikroszkópi nagyítással ennek a követelménynek megfelel ugyan, azonban a megjelenő kristályos módosulatról, illetve a létrehozott komplexről nem mindig áll rendelkezésre tiszta referenciaspektrum. Ezekben az esetekben az alkotóknak mind a spektrumait, mind a koncentrációit az SMCR módszerek valamelyikével kell megbecsülni.

Egy hatóanyag ciklodextrinokkal képzett komplexeinek vizsgálatával bemutattuk, hogy a váltakozó legkisebb négyzetek módszerével (MCR-ALS) becsült összetevő-spektrumok alapján egyértelműen bizonyítható a komplexképzés végbemenetele vagy hiánya. Ha van fennmaradó komplexálatlan hatóanyag, akkor a kinyert spektrumok alapján ez is egyértelműen látszik, sőt, a mennyiségére is adható becslés az MCR-ALS algoritmussal kapott koncentrációk felhasználásával, mely új eredmény a szakirodalomhoz képest. Mindez megtehető a röntgen-

diffrakció kimutatási határa alatt, illetve akkor is, ha a segédanyaggal képzett komplex maga is kristályos.

4.4. Teljesen ismeretlen készítmények vizsgálata felderítő statisztikai módszerekkel

Illegális vagy hamisított készítmények vizsgálata esetén sokszor egyáltalán nem ismertek sem az összetevők, sem a gyártási technológia. Elsőként így egy ismeretlennek tekintett modellekészítmény esetében teszteltünk különböző főkomponens-elemzésen alapuló (PCA, MAF), kovariancia-elemzésen alapuló (SS2D) és görbeillesztés nélküli profilkinyerési (SMMA, MCR-ALS, PMF) módszereket. A zajszint hatását is vizsgáltuk a spektrumok és koncentrácioprofilok kinyerésére. Ezután a 4.2. fejezetben bemutatott, többféle technológiával előállított tabletták segítségével vizsgáltuk a hatóanyag eloszlottságának, illetve homogenitásának hatását a kinyert profilok minőségére, illetve a koncentrációterképek becslésének pontosságára (a valódi referenciákat alkalmazó CLS módszerhez viszonyítva). Itt az SMMA, MCR-ALS, PMF és SISAL módszereket hasonlítottuk össze.

Erre vonatkozó eredményeink a következő pontokban foglalhatók össze:

- Eljárást dolgoztunk ki a készítményben jelenlévő összetevők számának meghatározására.
- Hagyományosan alkalmazott modelljóság-jellemzők és SRD rangsorolási módszer alapján megállapítottuk, hogy az MCR-ALS módszer szolgáltatja a legjobb minőségű becsült (valódi referenciát legjobban megközelítő) spektrumokat és a CLS-sel számoltatott leginkább összhangban lévő koncentrációkat. Ez magas zajszint mellett is érvényes, és akkor is, ha a hatóanyag eloszlása gyakorlatilag homogén a tablettákban, így spektruma mindenhol keveredik más alkotók sávjaival.
- Ismeretlen készítményeket Raman-térképezéssel vizsgálva, és a térképeket az általunk javasolt módszerrel feldolgozva a lehető legtöbb összetevő spektruma és koncentráció-térképe kinyerhető. A kinyert spektrumok spektrumkönyvtár segítségével azonosíthatók, a koncentrációterképek pedig a 4.2. fejezet eredményei szerint részletes technológiai elemzésre használhatók.

Az extrúzióval készült Isoptin SR-E készítmény és a hagyományos nedves granulálással készült Isoptin SR összehasonlító vizsgálatával bemutattuk, hogy MCR-ALS algoritmussal lehetséges több homogén eloszlású összetevő spektrumának elválasztása is, ha fizikai megköteztéként a nemnegativitási, anyagmérlegi és a Windig-féle legnagyobb bezárt szög („kontrasztosítás”) kritériumának mindegyikét alkalmazzuk. Ezáltal szilárd diszperziós készítmények vizsgálata is lehetségessé válik. A módszerrel fényt derítettünk az Isopin SR-E készítmény vizsgálatát bemutató közleményben¹³ feltüntetett téves információra, majd a koncentráció-térképek elemzésével, az MCR-ALS módszerrel kapott helyes információ birtokában magyarázatot adtunk a vonatkozó közleményben szerzett tapasztalatokra.

4.5. Mennyiségi elemzés Raman-térképek csoportosítási és görbefelbontási eljárásokkal végzett értékelésével műanyag hulladékok vizsgálata példáján

A műanyag hulladékok összetétele az illegális és hamisított gyógyszerjellegű készítményekhez hasonlóan igen gyakran részlegesen vagy teljesen ismeretlen. További probléma, hogy a minták szennyezettsége és a bennük lévő alkotók sokfélesége miatt igen sok zavaró tényező lép fel (pl. széles tartományban változó jel-zaj viszony, erős fluoreszcens háttér, detektor-telítődés miatt „levágott” spektrumok, festékanyagok jelenléte). Ezek miatt az egyváltozós és CLS módszerek nem alkalmazhatók, a térképek spektrumainak képpontonkénti vizuális értékelése és azonosítása pedig óriási mennyiségű időt vesz igénybe.

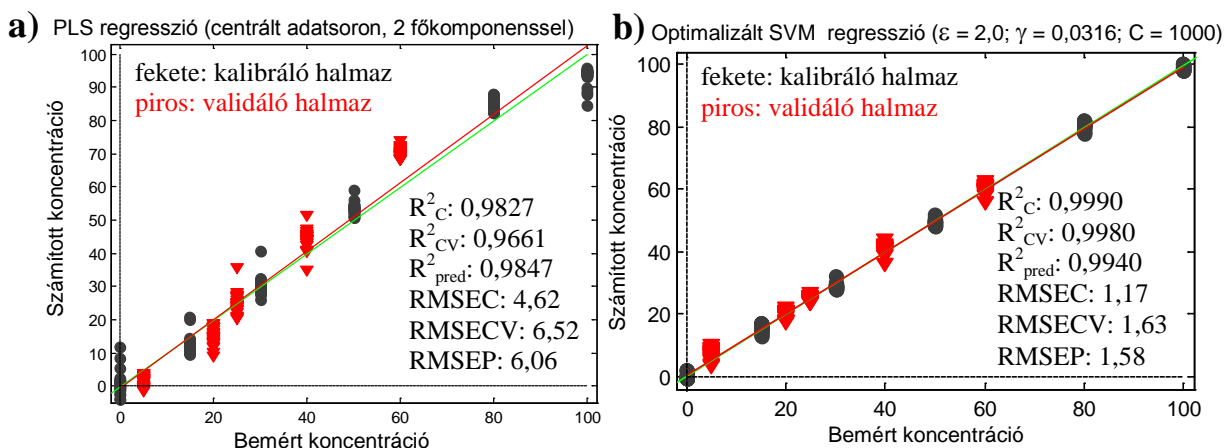
¹³ W. Roth, B. Setnik, M. Zietsch, A. Burst, J. Breitenbach, et al., Int. J. Pharm. 368 (2009) 72-75.

Görbeillesztés nélküli profilkinyerési módszereken alapuló empirius eljárást dolgoztunk ki a hulladék-minták Raman-spektrometriával detektálható összetevőinek azonosítására és mennyiségi becslésére. Lényege, hogy minden képpontot hozzárendeljük a benne található (legnagyobb koncentrációjú) polimerhez a képpontokban valamely SMCR módszerrel becsült koncentrációk alapján. A képpont ahhoz a polimerhez rendelődik, amelynek a koncentrációja elér egy bizonyos küszöbszintet (több ilyen polimer esetén pedig a nagyobb koncentrációjúhoz). Több görbeillesztés nélküli profilkinyerési módszer összehasonlításával megállapítottuk, hogy az eljárás alapjául MCR-ALS algoritmust érdemes választani, s ezzel mind a fő alkotók, mind a nyomokban jelenlevő összetevők koncentrációjának becslése egyaránt megvalósítható a területen megengedhető hibahatáron belül.

4.6. Raman-térképezésen alapuló mennyiségi meghatározás pontosságának növelése regressziós és gépi tanulási algoritmusokkal

A 4.2. fejezetben bemutatott CLS módszer már alkalmasnak bizonyult az összetevők közelítő becslésére, azonban a becslés bizonytalansága csupán a referencia-spektrumok alkalmazásával nem számítható. Ismert hibájú koncentrációtérképek létrehozásához kalibráló mintasorozatra és regresszióra van szükség. Mivel az irodalomban Raman-térképezés esetében egyáltalán nem található összehasonlító tanulmány, a legegyszerűbb egyváltozós módszerektől kezdve a nemlineáris gépi tanulási algoritmusokig számos különböző bonyolultságú modell alkalmazását vizsgáltuk.

Eredményeink alapján a spektrumok normálása – melyet a mikroszkópi fókuszálási bizonytalanság miatt szinte mindig alkalmazni kell – a számított és bemért koncentrációk között nemlineáris összefüggést eredményez, mely különösen erősen fellép, ha az összetevők Raman-aktivitása (egységnyi időtartam alatt felvett spektrumuk teljes görbe alatti területe) között nagy a különbség. A kemometriában már elterjedt (a Raman-térképezésben viszont még önmagában is alig használt) PLS regresszió ugyan a hagyományos értékelési módszerekkel ellentétben már jól használható (2. a ábra), a meghatározás hibája nagymértékben tovább javítható (és javítandó) változó kiválasztási módszerek alkalmazásával. E módszerek segítségével kiszűrhetők azok a sávok, melyek rontják a becslés jóságát, és kiválaszthatók a koncentráció-meghatározás szempontjából informatív hullámszám-tartományok. E sávok az általános spektrometriai tapasztalatokkal ellentétben általában nem a legintenzívebb csúcsok (éppen az erős nemlineáris viselkedésük miatt), hanem a kis és közepes intenzitású, de szelektív sávok.



2. ábra Számított és bemért koncentrációk összehasonlítása optimált a) PLS és b) SVM regresszióval

A meghatározási hiba mind az ún. intervallum-PLS, mind a genetikus algoritmusok segítségével képpontonként 3,5 tömegszázalék körüli értékre csökkenthető. Kimutattuk, hogy in-

tervillum-PLS alkalmazásával az egyváltozós regresszió jósága is nagymértékben javítható, mert a disszertációban bemutatott eljárással automatizált módon kiválasztható a legnagyobb meghatározási pontosságot biztosító sáv. Rámutattunk, hogy a térkép normálása esetében az iPLS-sel kiválasztott sáv általában **nem** a legintenzívebb sávok egyike, mert nagyon intenzív sáv választása esetén az ingadozás és a nemlineáris függés is erős.

A kémiai térképezésben elsőként hasonlítottunk össze nemlineáris regressziós módszereket a normálás és egyéb tényezők okozta hatások figyelembevételére. Kimutattuk, hogy a meghatározási hiba az ún. támogatóvektor-módszerrel (SVM) csökkenthető a legkisebbre, az általunk vizsgált szilárd diszperziós modellrendszer esetében minden képpontban 2 tömegszázalék alá (2. b ábra).

A különböző regressziós módszerek összehasonlítását modellek hagyományos jellemzői (előrebecslési hiba, determinációs együttható stb.) mellett a nemrég publikált rangszám-különbségek abszolútérték-összegének módszerével (SRD) is elvégeztük. A módszer igen jól alkalmazhatónak bizonyult nemcsak a regressziós modellek, hanem a jellemzésükre használt jósági mutatók összehasonlításában is.

5. A disszertáció tézisei

1. Felismertem és igazoltam, hogy a gyógyszerösszetevőknek a készítmény Raman-térképeinek CLS modellezésével kapott koncentrációtérképei alkalmasak a **gyógyszerkészítmények előállítási módjával összefüggő összetevő-elrendeződés** jellemzésére, s így az alkalmazott gyártástechnológiai eljárások utólag is felderíthetők. A számszerűsített statisztikai jellemzők és a megjelenített koncentráció-térképek együttes figyelembevételével következtések vonhatók le a készítmények kioldódási és mechanikai tulajdonságaival kapcsolatban. [I-V,XVI-XVIII,XXIV]

2. Kimutattam, hogy **kompleképzés végbemenetele** bizonyítható Raman-térképek MCR-ALS algoritmussal történő feldolgozásával. Az általam javasolt eljárás két becsült spektrumot szolgáltat eredményül, melyek közül az egyikből megállapítható, hogy történt-e kompleképződés, vagy sem. A másik becsült spektrum komplexálatlan hatóanyag jeleit tartalmazza annak jelenléte esetén. Megállapítottam, hogy az MCR-ALS módszerrel becsült, kristályos hatóanyagra vonatkozó koncentrációtérképek segítségével – akár a por-röntgendiffrakció kimutatási határa alatt is – **becslés adható a komplexálatlan szennyezés mennyiségére** függetlenül attól, hogy a kialakult komplex kristályos, vagy amorf. [VI,1,6,9,12]

3. Felismertem, hogy **ismeretlen összetételű tablettákban is megvalósítható az alkotók számának meghatározása** SMMA módszerrel kis és közepes (0-15%) zajszint, valamint a polarizációs effektusok kis mértéke esetén. Magas zajszint (30-50%) esetén kiegészítésként a PCA módszer alkalmazása is javasolt. A polarizációs effektusok nagy mértéke esetén alkalmazandó eljárás 10-12 spektrum kinyerése az alkotók valódi számának túlbecslése érdekében, majd a vélhetőleg ugyanahhoz a komponenshez tartozó spektrumok átlagolása. [VII,VIII]

4. Kimutattam, hogy **ismeretlen készítményeket alkotó összetevők spektrumainak és koncentrációtérképeinek becslése** legjobban MCR-ALS vagy PMF módszer alkalmazásával valósítható meg a **zajszint és a hatóanyag homogenitásától függetlenül**. A spektrumbecslés pontossága csak kis mértékben függ az alkalmazott kezdő becsléstől. Az MCR-ALS módszer csupán a nemnegativitási kritériumok alkalmazásával is nagy pontossággal képes egy homogen összetevő spektrumának és koncentrációprofiljának becslésére, míg a PMF esetében az ún. forgatási paraméter hangolásával lehet a különböző összetevők becsült spektrumának mi-

nőségét javítani. A görbefelbontási módszerek közül az MCR-ALS módszerrel kapott pontbeli koncentrációk közelítik legkisebb hibával a tiszta összetevők referenciaspektrumainak felhasználásával (CLS modellezéssel) kapott koncentrációkat. [VII,VIII,XVII,XVIII,2-6,10-12,14]

5. Elsőként sikerült **kolloid szilárd diszperziót alkotó összetevők** tiszta spektrumait elválasztani egymástól Raman-térképek MCR-ALS algoritmussal történő feldolgozása során a Windig-féle bezártszög- (*angle*), az anyagmérlegi (*closure*), valamint a nemnegativitási algoritmikus megszorításokat együttesen alkalmazva. Az eljárás feltétele, hogy az összetevők valódi (keresett) spektrumai közötti korrelációs együttható értéke kicsi legyen. Ennek teljesülése esetén e módszerrel extrúzióval gyártott készítmények összetevőinek spektrumai is nagy pontossággal becsülhetők. [V]

6. Elsőként dolgoztam ki **ipari műanyag hulladékok összetevőinek azonosítására** alkalmas Raman-térképezésen alapuló **összetétel-meghatározási eljárást**. Az új, automatizálható, MCR-ALS görbefelbontási algoritmuson alapuló empirikus hozzárendelési („osztályozási”) módszer a hulladékról felvett Raman-spektrumok igen rossz minősége esetén is megközelíti a pontonkénti spektrum-azonosítással kapott eredmények pontosságát. A módszer a fő alkotók valamint a nyomokban jelenlevő összetevők koncentrációjának becslésére egyaránt alkalmas a területen megengedhető hibahatáron belül. [IX,XIX]

7. Sikerült **mennyiségi elemzés** megvalósítására alkalmassá tenni a Raman-térképezést. Kimutattam, hogy a fókuszálási bizonytalanság kiküszöböléséhez alkalmazott normálás nemlineáris összefüggést eredményez a koncentráció és a sávok görbe alatti területe között. Sokváltozós regressziós és nemlineáris tanulási algoritmusok összehasonlító vizsgálatával kimutattam, hogy a nemlinearitás mértéke és a meghatározási hiba csökkenthető változó-kiválasztási eljárások alkalmazásával, melyek a nemlineáris viselkedés miatt a legintenzívebb sávokat ki szűrik és kis, illetve közepes intenzitású, szelektív sávokhoz tartalmazó hullámszám-változókat hagynak meg. Az egyváltozós, **sáv alatti területen alapuló regresszió hibája is csökkenthető** a sávok mérettartományával összemérhető ablakszélességgel végzett **iPLS változó kiválasztási eljárással**. A Raman-térképek egyes mérési pontjaiban levő **koncentrációk hibája támogatóvektor-módszeren (SVM) alapuló regresszióval csökkenthető legkisebbe**, 2 tömegszázalék alá. [I,XXIX,6,12,13,18]

6. Alkalmazási lehetőségek

A doktori disszertációban bemutatott vizsgálatok mindegyikét ismert és aktuális gyógyszer- és/vagy polimertechnológiai gyakorlati problémák megoldása vezérelte. Mindegyik problémakör feldolgozása során megkerestük a legmegfelelőbb vizsgálati körülményeket a térképek felvételéhez és a legalkalmasabb kemometriai módszert a vizsgálatok értékeléséhez. Ennek megfelelően az itt bemutatott, általunk javasolt vizsgálati eljárások mindegyike közvetlenül alkalmazható a gyakorlatban.

Az egyik legfontosabb alkalmazás az amorf hatóanyagok vizsgálatában várható, hiszen a Raman-térképezés lehetővé teszi a lokálisan megjelenő kristálygócok detektálását. A módszer alkalmazható nemcsak a tárolásos stabilitásvizsgálatban, hanem a stabilitás kvalitatív előrejelzésére is közvetlenül a gyártás után. A por-röntgendiffrakció kimutatási határa alatt végzett mennyiségi becslés is komoly érdeklődésre tart számot ipari együttműködő partnereink részéről.

Az ismeretlen készítmények vizsgálatával kapcsolatos eredményeink gyakorlati alkalmazása főként az illegális és hamisított készítmények területén várható a rendészeti és gyógyszerhatóságok részéről. A térképek általunk javasolt értékelési eljárásával és megfelelő spektrumkönyvtár birtokában ugyanis nemcsak maguk az alkotóelemek azonosíthatók, hanem térbeli eloszlottságuk alapján következtetések vonhatók le az előállítás körülményeivel kapcsolatban. Ez nagymértékben segítheti például annak eldöntését, hogy két kábítószer-tabletta ugyanabból a forrásból származik-e. A módszerrel „gondosan” előállított hamisítványok is megkülönböztethetők az eredetitől, melyre jelenleg más hatékony módszer nem létezik. (A „jó minőségű” hamisítványok ugyanúgy veszélyesek lehetnek a páciensekre, hiszen a hamisítók nem tartják be a gyógyszergyártásra vonatkozó igen szigorú előírásokat.) Fontos kiemelni, hogy a **Raman-térképezés** alkalmas körülmények megválasztása esetén **teljesen roncsolásmentes** vizsgálatot tesz lehetővé, így a vizsgált minta szükség esetén tovább elemezhető más analitikai módszerekkel.

A műanyag hulladékok vizsgálatának eljárását szintén részletesen tárgyalja a disszertáció. A vázolt értékelési módszerrel jelentős mértékben meggyorsítható a mennyiségi elemzés, melynek segítségével a doktori munka során autóiipari, elektronikai és építőipari hulladékok számos különböző sűrűségfrakciójának meghatározását elvégeztük. A gyakorlati alkalmazhatóság részleteit egy másik, kutatócsoportunkban készült doktori munka részletezi¹².

A szilárd diszperziós készítmények mennyiségi elemzése során szerzett tapasztalataink egy jelentős része általánosságban is hasznosítható, nemcsak a kémiai térképezésben, de a rezgési spektroszkópia egyéb változataiban is. A dolgozat bemutatja több kemometriai módszer, köztük változókiválasztási és nemlineáris tanulási algoritmusok optimalizálásának módszerét.

A gyógyszeripari gyakorlatban sok esetben – a modellek átláthatósága érdekében – csak egyváltozós regressziós eljárások alkalmazhatók. Rávilágítottunk arra, hogy a többváltozós módszerek ekkor is hasznosíthatók, hiszen legjobb előrebecslést biztosító sáv automatizált módon kiválasztható az intervallum-PLS módszer alkalmazásával.

7. A doktori munkához kapcsolódó közlemények

7.1. Hatásfaktoral rendelkező folyóiratokban

[I] **B. Vajna**, I. Farkas, A. Szabó, Zs. Zsigmond, Gy. Marosi: *Raman microscopic evaluation of technology dependent structural differences in tablets containing imipramine model drug*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 51 (2010) 30-38. IF: **2,733** Idézte: 16 (10*)

[II] G. Patyi, A. Bódis, I. Antal, **B. Vajna**, Zs. Nagy, Gy. Marosi: *Thermal and spectroscopic analysis of inclusion complex of spironolactone prepared by evaporation and hot melt methods*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 102 (2010) 349-355. IF: **1,752** Idézte: 9 (4*)

[III] Zs. Nagy, M. Sauceau, E. Rodier, **B. Vajna**, K. Nyúl, Gy. Marosi, J. Fages: *Use of Supercritical CO₂ aided and Conventional Melt Extrusion for Enhancing the Dissolution Rate of an Active Pharmaceutical Ingredient*, Polymers for Advanced Technologies, 23 (2011) 909-918. IF: **1,776** Idézte: 1 (0*)

[IV] Zs. Nagy, A. Balogh, **B. Vajna**, A. Farkas, G. Patyi, Gy. Marosi: *Comparison of electrospun and extruded, Soluplus® based solid dosage forms of improved dissolution*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 101 (2011) 322-332. IF: **3,031** Idézte: 6 (6*)

[V] **B. Vajna**, H. Pataki, Zs. Nagy, I. Farkas, Gy. Marosi: *Characterization of melt extruded and conventional Isoptin formulations using Raman chemical imaging and chemometrics*, International Journal of Pharmaceutics, 419 (2011) 107-113. IF: **3,607** I: 1 (1*)

[VI] **B. Vajna**, I. Farkas, A. Farkas, H. Pataki, Zs. Nagy, J. Madarász, Gy. Marosi: *Characterization of drug-cyclodextrin formulations using Raman mapping and multivariate curve resolution*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 56 (2011) 38-44. IF: **2,733** Idézte: 3 (3*)

[VII] **B. Vajna**, G. Patyi, Zs. Nagy, A. Farkas, Gy. Marosi: *Comparison of chemometric methods in the analysis of pharmaceuticals with hyperspectral Raman imaging*, Journal of Raman Spectroscopy, 42 (2011) 1977-1986. IF: **3,137** Idézte: 6 (2*)

- [VIII] **B. Vajna**, A. Farkas, H. Pataki, Zs. Zsigmond, T. Igricz, Gy. Marosi: *Testing the performance of pure spectrum resolution from Raman hyperspectral images of differently manufactured pharmaceutical tablets*, *Analytica Chimica Acta*, 712 (2012) 45-55. IF: **4,310** Idézte: 1 (1*)
- [IX] **B. Vajna**, B. Bodzay, A. Toldy, I. Farkas, T. Igricz, Gy. Marosi: *Analysis of car shredder polymer waste with Raman mapping and chemometrics*, *Express Polymer Letters*, 6 (2012) 107-119. IF: **1,575** Idézte: 1 (0*)
- [X] B.B. Marosfői, Gy. Marosi, A. Szabó, **B. Vajna**, A. Szép: *Laser pyrolysis micro-spectroscopy for modelling fire-induced degradation of ethylene-vinyl acetate systems*, *Polymer Degradation and Stability* 92 (2007) 2231-2238. IF: 1,752 Idézte: 2 (0*)
- [XI] M. Berkesi, K. Hidas, T. Guzmics, J. Dubessy, R.J. Bodnar, Cs. Szabó, **B. Vajna**, T. Tsunogae: *Detection of small amounts of H₂O in CO₂-rich fluid inclusions using Raman spectroscopy*, *Journal of Raman Spectroscopy*, 40 (2009) 1461-1463. IF: 3,147 Idézte: 13 (6*)
- [XII] F. Billes, H. Pataki, O. Ünsalan, H. Mikosch, **B. Vajna**, Gy. Marosi: *Solvent effect on the vibrational spectra of Carvedilol*, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 95 (2012) 148-164. IF: **2,098**
- [XIII] G. Szebényi, G. Romhány, **B. Vajna**, T. Czvikovszky: *EB treatment of carbon nanotube-reinforced polymer composites*, *Radiation Physics and Chemistry*, 81 (2012) 1383-1388. IF: **1,132**
- [XIV] I.M. Szilágyi, B. Fórizs, O. Rosseler, Á.Szegedi, P. Németh, P. Király, G. Tárkányi, **B. Vajna**, K. Varga-Josepovits, K. László, A.L. Tóth, P. Baranyai, M. Leskelä: *WO₃ photocatalysts: Influence of structure and composition*, *Journal of Catalysis*, nyomtatásban, **online elérhető**, DOI: 10.1016/j.jcat.2012.07.013 IF: **6,002**
- [XV] H. Pataki, I. Csontos, Z. K. Nagy, **B. Vajna**, M. Molnár, L. Katona, Gy. Marosi: *Implementation of Raman Signal Feedback to Perform Controlled Crystallization of Carvedilol*, *Organic Process Research and Development*, nyomtatásban, **online elérhető**, DOI: 10.1021/op300062t (2012) IF: **2.391**

* Független idézők száma

7.2. Hatásfaktorial nem rendelkező folyóiratokban

- [XVI] **Vajna B.**, Nagy Zs.K., Patyi G., Zsigmond Zs., Antal I., Marosi Gy.: *A kémiai térképezés alkalmazási lehetőségei a gyógyszerkezelésben*, *Acta Pharmaceutica Hungarica* 79 (2009) 104-116.
- [XVII] **B. Vajna**, P. Szepesváry, Gy. Keglevich, Gy. Marosi: *Kémiai térképek felvételi módszerei és elemzése kemometriai módszerekkel*, *Magyar Kémiai Folyóirat*, 116 (2010) 77-85.
- [XVIII] **B. Vajna**, A. Bódis, Gy. Marosi: *Többváltozós adatelemzési módszerek a kémiai térképezésben*, *Magyar Kémikusok Lapja*, 65 (2010) 313-319.
- [XIX] **B. Vajna**, K. Palásti, B. Bodzay, A. Toldy, S. Patachia, R. Buican, C. Catalin, M. Tiorean, *Complex analysis of car shredder light fraction*, *The Open Waste Management Journal*, 3 (2010) 47-56.
- [XX] Nagy Zs. K., Patyi G., Bodzay B., **Vajna B.**, Marosi Gy.: *Kompozitoktól a nano-gyógyszerekig*, *Műanyag és Gumi*, 12 (2009) 450-454.
- [XXI] Z.K. Nagy, G. Patyi, B. Bodzay, **B. Vajna**, G. Marosi: *Prüfungen und Herstellungsverfahren von Composites bis zu Nanomedikamenten*, *Gummi Fasern Kunststoffe* 64 (2011) 100-104.
- [XXII] Marosi Gy., Patyi G., Nagy Zs.K., **Vajna B.**, Szabó A., Anna P.: *Néhány példa a szabályozott szerkezetű gyógyszerkészítmények technológiájára és analízis területéről*, *Magyar Kémiai Folyóirat* 114 (2008) 137-140.
- [XXIII] **B. Vajna** (szerk: K. László): *Conference of MSc students - abstracts of the best contributions October 2007, ezen belül: Application of Raman-microspectrometry in pharmaceutical developments*, *Periodica Polytechnica Chemical Engineering* 52 (2008) 73-74.
- [XXIV] Pataki H., Palásti K., **Vajna B.**, Csontos I., Marosi Gy.: *Gyógyszerhatóanyag-kristályosodás valós idejű vizsgálata és módosítása segédanyaggal*, *Acta Pharmaceutica Hungarica*, 81 (2011) 109-124.

7.3. Nemzetközi konferencia kiadványában

- [XXV] H. Pataki, **B. Vajna**, Zs. Nagy, Gy. Marosi: *Investigation of crystallization processes using in-line Raman spectroscopy*, in: 4th BBBB International Conference on Pharmaceutical Sciences, conference proceeding book, page 116; *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 44 (2011) Suppl. 1: 116. IF: **3,291**

7.4. Elküldött és elküldésre váró kéziratok

- [XXVI] H. Pataki, I. Markovits, **B. Vajna**, Zs. K. Nagy, Gy. Marosi: *In-line monitoring of carvedilol crystallization using Raman spectroscopy*, *Crystal Growth and Design*, közlésre beküldve (2012)
- [XXVII] S. Lakio, **B. Vajna**, I. Farkas, H. Salokangas, Gy. Marosi, J. Yliruusi: *Challenges in detecting Magnesium stearate distribution in tablets*, *The AAPS Journal*, közlésre beküldve, javításra visszaküldve (2012)

[XXVIII] B. Gyarmati, **B. Vajna**, Á. Némethy, A. Szilágyi: *Redox- and pH-responsive cysteamine-modified poly(aspartic acid) showing reversible sol-gel transition*, Macromolecular Rapid Communications, közlésre beküldve (2012)

[XXIX] **B. Vajna**, I. Farkas, P. Sóti, Zs. Nagy, F. van der Gucht, H. Pataki, A. Farkas, Gy. Marosi: *Quantitative characterization of solid dispersions with nonlinear regression and variable selection methods*, előkészületben

7.5. Fontosabb szóbeli előadások

[1] **B. Vajna**, G. Marosi: *Polimorfia lokális vizsgálata mikro-Raman spektrometriával*, Gyógyszerkémiai és Gyógyszertechnológiai Szimpózium '2008, Zalakaros, 2008. szeptember 29-30.

[2] **B. Vajna**: *Kemometriai módszerek alkalmazási lehetőségei a Raman-térképezésben*, Molekulaspektroszkópiai Ankét, ELTE, Budapest, 2009. december 11.

[3] **B. Vajna**, K. Palásti, P. Szepesváry, G. Marosi: *Kemometriai módszerek alkalmazási lehetőségei a Raman-térképezésben*, Analitikai Napok, MKE, Budapest, 2010. január 28-29.

[4] **B. Vajna**, G. Marosi: *Kemometriai módszerek alkalmazási lehetőségei a Raman-térképezésben*, KeMoMo-QSAR szimpózium, MTA Székház, Szeged, 2010. április 29-30.

[5] **B. Vajna**, P. Szepesváry, G. Marosi: *Testing the performance of pure spectrum resolution from Raman images of differently manufactured pharmaceutical tablets*, 5th International Symposium on Computer Applications and Chemometrics in Analytical Chemistry, MTE SZ székház, Budapest, 2010. június 21-25.

[6] **B. Vajna**, P. Szepesváry, G. Marosi: *Kemometriai módszerekkel támogatott gyógyszervizsgálatok*, Gyógyszerkémiai és Gyógyszertechnológiai Szimpózium '2010, Velence, 2010. október 4-5.

[7] **B. Vajna**, G. Marosi: *Multivariate data analysis (chemometrics) in Raman spectroscopy and imaging*, PANNON Tudományok Közhasznú Egyesület, Vörösberény, 2009. jún. 27-28.

[8] **B. Vajna**, G. Marosi: *Introduction to multivariate data analysis (chemometrics)*, PANNON Tudományok Közhasznú Egyesület, Erdőtarcsa, 2010. jún. 18-20.

7.6. Fontosabb poszter előadások

[9] **B. Vajna**, A. Szabó, G. Marosi: *Micro-Raman spectrometry for detection of local polymorphic forms in solid pharmaceuticals*, 7th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology and Biodelivery Systems, Ljubljana, 2008. szeptember 18-20.

[10] **B. Vajna**, H. Pataki, G. Marosi: *Characterization of unknown tablets with micro-Raman mapping and chemometrics*, 7th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Valletta, Málta, 2010. március 8-11.

[11] **B. Vajna**, A. Farkas, P. Szepesváry, G. Marosi: *Chemometric resolution of pure component spectra in Raman chemical imaging*, 12th Chemometrics in Analytical Chemistry, Antwerpen, Belgium, 2010. október 17-21.

[12] **B. Vajna**, H. Pataki, G. Marosi: *Raman Mapping and Chemometrics for the Characterization of Unknown Pharmaceuticals*, 4th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress & AAPS Annual Meeting and Exhibition, New Orleans, USA, 2010. november 13-18.

[13] I. Farkas, **B. Vajna**, A. Farkas, Zs. Nagy, Gy. Marosi: *Characterization of poly(lactic co-glycolic acid) with Raman mapping using different chemometric regression methods*, Conferentia Chemometrica 2011, Sümeg, Magyarország, 2011. szeptember 18-21.

[14] A. Farkas, A. Balogh, Zs. Nagy, **B. Vajna**, I. Farkas, Gy. Marosi: *Combined use of Raman mapping for the analysis of pharmaceutical products with narrow concentration distribution and highly correlated Raman spectra*, Conferentia Chemometrica 2011, Sümeg, Magyarország, 2011. szeptember 18-21.

[15] H. Pataki, **B. Vajna**, G. Marosi: *Investigation of crystallization processes using in-line Raman spectrometry*, 7th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Valletta, Málta, 2010. március 8-11.

[16] A. Krupa, R. Jachowicz, **B. Vajna**, G. Marosi, D. Majda: *Orodispersable tablets containing solid dispersions of ibuprofen with neusilin US2 to improve the the insoluble drug delivery*, 7th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Valletta, Málta, 2010. március 8-11.

[17] A. Farkas, **B. Vajna**, T. Firkala, I. Farkas, Gy. Marosi: *Investigation of small trace amounts of drug by surface enhanced Raman chemical imaging supported by MCR-ALS method*, 13th Chemometrics in Analytical Chemistry, Budapest, 2012. június 25-29.

[18] I. Farkas, **B. Vajna**, A. Farkas, Zs. Nagy, H. Pataki, Gy. Marosi: *Transmission Raman technique: an innovative instrument in chemometric regression*, 13th Chemometrics in Analytical Chemistry, Budapest, 2012. június 25-29.