



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

RAMAN-SPEKTROMETRIA ÉS TÖBBVÁLTOZÓS STATISZTIKAI MÓDSZEREK
GYÓGYSZERTECHNOLÓGIAI FEJLESZTÉSEKBE

Tézisfüzet

Szerző:
Farkas Attila

Témavezető:
Dr. Csontos István

Konzulens:
Dr. Marosi György

Szerves Kémia és Technológia Tanszék

2017

1. Bevezetés

A Raman-spektrometria felhasználásában rohamos előretörést figyelhetünk meg. A technika fokozódó jelentősége abban rejlik, hogy a vizsgált mintát fénnel gerjesztve úgy nyerhetünk - érintkezés nélkül - információt annak szerkezetéről, hogy a mintában gyakorlatilag semmilyen változás nem történik. A gyógyszeripar is felismerte, hogy a Raman-spektrometria alkalmazása a ható- és segédanyagok gyors karakterizálását egyaránt megkönnyíti.

A gyógyszeriparban az utóbbi évtizedben, két fontos irányelv került előtérbe, melyeknek megvalósítása felgyorsítja a folyamatos gyártástechnológiák elterjedését. A tervezhető minőség (*Quality by Design*, QbD) és a folyamatfelügyelő és -analizáló technológia (*Process Analytical Technology*, PAT) koncepciójának alkalmazásával biztosíthatjuk, hogy a termékbe a folyamatok során beépülő minőséget folyamatosan ismerjük és becsülhessük annak állandó nyomon követésével. Ezáltal válik lehetővé a szakaszos gyógyszergyártási technológiákban használt költség-, idő- és energiaigényes végellenőrzési lépések kiváltása. Az új elvek rutinszerű alkalmazásáig azonban még számos fejlesztés megvalósítása szükséges, ami az elkövetkezendő évek legnagyobb kihívása a gyógyszeripar számára.

A gyógyszeripari minták Raman-spektrometriás vizsgálatával minőségi, mennyiségi - kiváló idő- és térbeli felbontású - információkat is nyerhetünk. Az ismeretlen vagy részben ismeretlen minták (hamisított, illegális készítmények vagy originális gyógyszerek) felderítése során számos kérdést dönthetünk el megfelelően egzakt kiértékelési eljárások kifejlesztésével.

A mennyiségi elemzéshez használt módszerek hatékonyságának növelése szintén kiemelt fontosságú, ha folyamatos nyomon követést vagy a kritikus paraméterekre vonatkozó visszacsatolást is meg szeretnénk valósítani.

A műszeres analitikai eljárások rengeteg adatot szolgáltatnak, amelyeket a fontos információk kinyerése és feldolgozása érdekében kezelni szükséges. Ez fokozottan érvényes a Raman-spektrometriai eljárásokra, különösen a *kémiai térképezésekre*, amelyek egy-egy felvételénél ezres nagyságrendű spektrumhalmaz képződhet. A vizsgált analitikai jelek a szükséges hatékonysággal csak több szempontnak is megfelelő *sokváltozós adatelemzési*, más néven *kemometriai* eljárásokkal kezelhetők.

Ezeket az eljárásokat olyan irányba és úgy kívántuk fejleszteni, hogy az a gyógyszer technológiai folyamatok több szintjén is jól hasznosítható legyen. A Raman-

spektrometria alkalmazhatóságát a következő főbb irányok mentén kívántuk javítani:

- Teljesen ismeretlenek feltételezett készítményekben kívántuk a **térbeli eloszlottságot jellemezni**, hogy abból a készítményben található komponensek számára és a gyártástechnológia körülményeire is fényt derítsünk. A Raman-térképek homogenitásának jellemzésére szolgáló eljárást úgy is általánosítani akartuk, hogy az alkalmas legyen különböző **gyártástechnológiák kvantitatív összehasonlítására**.
- Az **amorf-kristályos hányad meghatározása** számos gyógyszerkészítmény esetében kulcskérdés. Fontos volt tisztázni, hogy lehet-e olyan **szelektív spektrumtartományokat kijelölni**, amelyek alkalmasak az amorf és kristályos hatóanyag mennyiségi meghatározására, valamint **amorf formában nem előállító hatóanyagok** részleges amorfitásának **vizsgálata** is megvalósítható-e szilárd diszperziókban?
- Keverékspektrumok halmazából tiszta összetevőket **görbefelbontási eljárásokkal** nyernek ki. Egy olyan **új módszer kifejlesztését** kíséreltük meg, amely a várható beállítandó **összetevők számának becslésére** szolgál ezekben az eljárásokban.
- A Raman-spektrometriában eddig nem alkalmazott **új** - mennyiségi meghatározásra és a hatékony regressziós modellépítésre szolgáló - **módszerek** kipróbálását és kritikusan **összehasonlítását** egymással szintén el kívántuk végezni. Továbbá arra is választ kerestünk, hogy a kvantifikálásra alkalmas módszerek és hatékony modellek hogyan segítik a minőség valós idejű nyomon követését és ezáltal a PAT elvek ipari realizálását.
- Egy olyan **kémiai reakcióvezetésre** alkalmas rendszert is fejleszteni kívántunk, amelyben a folyamat a PAT kívánalmaknak megfelelően, a **kritikus tényezők kézbentartásával** és a saját fejlesztésű **szabályozási algoritmussal** valósul meg.

2. Szakirodalmi háttér

A rezgési spektrometriai eljárásoknak fontos elméleti és gyakorlati jelentősége van. Kémiai térképezéssel a minták számos pontját tudjuk felderíteni. A mikroszkopikus vizsgálattal számos olyan új részletet megfigyelhetünk, amelyre makroszkopikus úton nem nyílik lehetőség^{1, 2}. Nemcsak a kémiai térképezés területén történt az utóbbi évti-

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

² K.C. Gordon, C.M. McGoverin, Int. J. Pharm. 417 (2011) 151-162.

zedben előrelépés³, hanem a gyógyszeripar mind inkább kezdi felismerni a PAT jelentőségét⁴, amelynek egyik eszközévé válhat a Raman-spektrometria szondán keresztüli reflexiós vagy transzmissziós módú felhasználása⁵, amely a folyamatokhoz kapcsolatos valós idejű analízist tesz lehetővé⁶. Ezek a fejlett analitikai eszközök azonban akkor tehetők igazán hatékonyá, ha a mért adatok feldolgozása többváltozós adatelemzési módszerekkel történik.

A Raman-térképezéssel elérhető térbeli információkra (pl. a heterogenitás meghatározására) a gyógyszeriparban fokozott szükség van. Nemcsak egy hatóanyag megfelelő tartalmi egységességére tudunk következtetni, hanem szükséges lehet ismeretlen összetételű minták ilyen célú elemzése (pl. a gyógyszerhamisítás elleni küzdelemben), vagy a gyártástechnológiákra lehet következtetni a homogenitások alapján. Ezek fontos eredményeket szolgáltatnak originális és generikus gyártók számára egyaránt. Egy térképen a szomszédos képpontokból alkotott csoportokat makropixelek nevezik. A makropixelek méretét fokozatosan növelve egyre nagyobb pixeleket alkothatunk az egyes képpontokból. Eközben minden lépésben vizsgálhatjuk a homogenitást. Ezt az elvet makropixel-elemzésnek nevezik. Két formája ismert: a diszkrét szintű beborításos technika⁷ (*discrete-level tiling*, DLT) és a mozgó blokkok módszere⁸ (*continuous-level moving block*, CLMB). Ezeket még senki sem vizsgálta és hasonlította össze eltérő gyártástechnológiák megkülönböztetésére.

Amorf és kristályos hatóanyag vizsgálatokat olyan esetekben is meg kell tudni valószínűsíteni, amikor nem áll rendelkezésre elegendő információ a készítményre vonatkozólag, vagy amikor az amorf anyag tisztán elő sem állítható. Ilyen vizsgálatokat korábban még nem végeztek.

Egy ismeretlen összetételű tablettára esetén a különböző spektrum-feldolgozási módszerek alkalmazásához szükséges tudni⁹ a megjelenő spektrális összetevők számát. Erre azonban megfelelően hatékony eljárások nem ismertek. Erre a kihívásra kíséreltünk meg a disszertációban egy újfajta megközelítéssel változó-csoportosításon¹⁰ alapuló eljárást kidolgozni, melyet Raman-térképekre még sosem alkalmaztak.

A kémiai térképezés mennyiségi elemzésre történő alkalmazása szintén hiánypótló

³ G.P.S. Smith, C.M. McGoverin, S.J. Fraser, K.C. Gordon, *Adv. Drug Delivery Rev.* 89 (2015) 21-41.

⁴ A.A. Gowen, C.P. O'Donnell, P.J. Cullen, S.E.J. Bell, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 69 (2008) 10-22.

⁵ J. Rantanen, *J. Pharm. Pharmacol.* 59 (2007) 171-177.

⁶ J. Rantanen, J. Khinast, *J. Pharm. Sci.* 104 (2015) 3612-3638.

⁷ J.G. Rosas, M. Blanco, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 70 (2012) 680-690.

⁸ P.Y. Sacré, P. Lebrun, P.F. Chavez, C.D. Bleye, L. Netchacovitch, E. Rozet, R. Klinkenberg, B. Streel, P. Hubert, E. Ziemons, *Anal. Chim. Acta*, 818 (2014) 7-14.

⁹ B. Vajna, A. Farkas, H. Pataki, Z. Zsigmond, T. Igricz, G. Marosi, *Anal. Chim. Acta*, 712 (2012) 45-55.

¹⁰ E. Vigneau, E.M. Qannari, *Commun. Stat.-Simul. C.* 32 (2003) 1131-1150.

lenne a gyógyszeriparban. Az elterjedt egyváltozós kiértékeléssel és a CLS modellezéssel sokszor nem érhetünk el megfelelő pontosságot. Valós koncentrációkat tartalmazó kémiai térképeket éppen ezért csak új megközelítéssel alkothatunk. E célból korábban kevésbé vagy egyáltalán nem alkalmazott változó-kiválasztási és nem linearitás kezelésére szolgáló eljárásokat vizsgáltunk meg.

A transzmissziós Raman-spektrometria a tabletták gyors ellenőrzésének egy új lehetőségét kínálja, amely azonban csak akkor tehető kellően pontos, ha a mennyiségi vizsgálatokhoz újszerű módszereket dolgozunk ki.

A gyógyszeriparban fontos folyamatok vizsgálata akkor válhat igazán hatékony, ha a spektrumokat nemcsak értelmezzük, hanem arra reagálva be is avatkozunk. E PhD munkát megelőzően erre még semmilyen szakirodalomban dokumentált kísérlet nem történt a kémiai reakciók irányítására vonatkozóan.

3. Kísérleti és értékelési módszerek

A dolgozat központjában álló Raman-spektrometriát minden témakör során alkalmaztuk. A kémiai térképezéssel járó kísérleteket a különböző porkeverékeken vagy tablettákon Horiba Jobin Yvon gyártotta LabRam típusú Raman-spektromterrel végeztük. A spektrométerhez csatlakozó szondával oldottuk meg a reakció nyomon követését és szabályozását. A kapszulákba töltött polimorf-keverékek transzmissziós Raman-méréseit ugyanezen cég AccuRa típusú készülékével vittük véghez. A spektrumokat minden kiértékelés előtt valamilyen adatelőkészítési módszerrel előkezeltük. Ez legtöbbször a spektrumokon végzett alapvonal-korrektíóból vagy a spektrumok mérésénél előforduló fókuszálási bizonytalanságot korrigáló normálásból állt (Labspec 5.41 szoftverrel). Ezen túlmenően több módszert is alkalmaztunk, amelyet adott esetben a különböző módszerek összehasonlításával optimalizáltunk (PLS Toolbox 6.5-8.0-ban).

Egyes tablettákat iparjogvédelmi szempontok miatt nem közölhető módon állítottuk elő, melyben VARCLUS változó-osztályozási és MCR-ALS módszerrel próbáltuk meghatározni az eloszlástérképeket. További készítmények különböző gyártástechnológiájának vizsgálatához különböző technológiákkal állítottunk elő tablettákat: direkt préseléssel (Fette EX-1), az örvényáramú (Pro-C-ept 4M8) és fluidizációs (Glatt GCPG-1) granulálás különböző változataival, illetve olvadékos extrúzióval (HAAKE Minilab) és elektrosztatikus szálképzéssel. Az ezekről készült Raman-térképeket saját magunk alkotta makropixel-elemzéssel (Matlabban létrehozott algoritmus)

kvantifikáltuk, hogy a hatóanyag eloszlásait jól összehasonlíthatjuk.

Egy tablettakészítményben megtalálható amorf és kristályos hatóanyagok (iparjogvédelmi okokból nem részleteztük) Raman-térképeit VARCLUS módszerrel kezeltük, majd CLS modellezéssel értékeltük. Itrakonazolból különböző segédanyagokkal képzett amorf szilárd diszperziókat a kutatócsoportunkban létrehozott nagy termelékenységű elektrosztatikus szálképzéssel (*high speed electrospinning*, HSES) és porlasztva szárítással (*spray drying*, SD) képeztük. A felvett Raman-térképeket MCR-ALS módszerrel értékeltük ki a minták összehasonlíthatóságához.

Az itakonazol szilárd diszperziót őröltük, majd segédanyagokkal tablettáztuk. A létrejött tablettákban a komponensek számának becslésére VARCLUS változósztályozási eljárást alkalmaztunk, melyet a SRD-vel validáltunk, és MCR-ALS görbefelbontáson alapuló módszer pontosításához használtunk. A VARCLUS eljárást a már ismert SAM-OP módszerrel is összevetettük. Mindezt sokkomponensű porok vizsgálataira is alkalmaztuk.

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. Hasonló spektrumú összetevőket tartalmazó mintákat is létrehoztunk carvedilol kétféle hatóanyag-polimorfjából illetve imipramin, keményítő és cellulóz keverékéből mindkét esetben tizenkilenc különböző összetétellel. Számos egy- és sok-változós regressziós módszert teszteltünk a kalibráló sorozaton vett keresztellenőrzési és a független, ún. validáló sorozat mintáin számított előrebecslési hibáik összehasonlításával.

Polimorf-összetétel valós időben történő meghatározására különböző típusú kapszulákat töltöttünk meg az A és B formáknak 23 eltérő összetételével. Ebben az esetben az egyváltozós és CLS-regressziót vetettünk össze PLS, PCR, PLS-GA és SVR módszerekkel csökkenő spektrumfelvételi idők mellett.

Egy kémiai modellreakció nyomon követésére és szabályozására a kutatócsoportunkban létrehozott üvegfalú tartályreaktort alkalmaztuk, amelyet hűtő-, fűtő- és keverőegységgel, hőmérséklet- és pH-mérővel speciális adagolóval szereltünk fel. A rendszert egy PLC egység tartotta felügyelet alatt. Egy Raman-szondával történő mérést próbáltuk a valós idejű szabályozásra továbbfejleszteni.

A spektrumok felvételét és alapvető értékelését (vizuális összehasonlítás, alapvonal-korrekció, normálás) a LabSpec 5.41 (Horiba) programmal végeztük, csakúgy, mint

a referenciaspektrumokkal végzett CLS modellezést és a koncentrációterképek megjelenítését. A kemometriai számítások többségét és a bonyolultabb adatelőkészítési módszereket Matlab (7.9.0-8.5.0) programmal (Mathworks), illetve az ennek bővítményeként telepített PLS_Toolbox (Eigenvector Research) program éppen legfrissebb verziójával (6.5-8.0) végeztük. A makropixel-elemzésre Matlab-ban írt szkriptet használtunk, ahogy a SAM-OP eljárást is Matlab felületen valósítottuk meg. A VARCLUS eljárást a Tanagra 1.4. szoftver beépülő moduljaként Excel bővítményben alkalmaztuk. Az SRD módszert az online felületről is letölthető Excel VBA makró segítségével használtuk. A becsült spektrumok és koncentrációk megjelenítéséhez az eredményeket Microsoft Excelben alakítottuk át a LabSpec program által feldolgozható szövegfájl formába. Az egyváltozós statisztikai számításokat szintén Matlab, Excel programokkal végeztük.

4. Eredmények

4.1. Összetevők eloszlásának elemzése gyógyszerkészítményekben

Az összetevők eloszlását szilárd készítményekben Raman-térképezéssel jellemeztük. Erre a Raman mikroszkóp több száz, akár ezer spektrum pontonkénti felvételével kiválóan alkalmas. Arra próbáltunk kidolgozni egy új módszert, hogy az eloszlástérképeket hogyan célszerű előállítani olyan esetben, amikor a tabletták spektrális összetevői nem teljesen ismertek (nincs megfelelő referencia) és még a tabletták gyártástechnológiájára is szeretnénk fényt deríteni (pl. egy generikus fejlesztés esetén). Változócsoportosítási eljárással meghatároztuk a görbefelbontási algoritmussal beazonosítható komponensek számát. Ezt követően sikerült az összetevők spektrumait becsülni, a CLS modellezés intenzitáskorrekciójával jól közelíthettük az összetételt, a komponensek elhelyezkedésének korrelálásával pedig a tablettázás előtt végrehajtott technológiai lépéseket is valószínűsíthettük.

Raman-térképek homogenitásának makropixel-elemzéssel történő jellemzésére alig található néhány példa a szakirodalomban. Ezt a módszert úgy fejlesztettük tovább, hogy azt különböző gyártástechnológiák számszerű összehasonlítására és egyfajta homogenitási sorrend felállítására is alkalmassá tegyük. A javított módszer a klasszikus gyártástechnológiai eljárásokat jól elkülönítette a finom eloszlású szilárd diszperziót létrehozó technikáktól, és még az ilyen típusú diszperziók között is érdemi különbséget mutatott.

4.2. Amorf-kristályos hányad meghatározása gyógyszerkészítményekben

Az amorf módosulatok stabilitásának vizsgálata illetve az amorf-kristályos hányad meghatározása az egyes mintákban kiemelt fontosságú a gyógyszeriparban. Az adott készítménynek a lejárat ideig meg kell őrizni a kezdeti formáját.

Ennek Raman-spektrometriai szilárd fázisú vizsgálatára dolgoztunk ki eljárásokat. Vizsgáltuk egy készítményben a létrejött amorf-kristályos hatóanyaghányad állandóságát. Először számításon alapuló módszerrel megállapítottuk, hogy mely szelektív tartományon érdemes elvégezni ezt a kiértékelést, majd ezen a térképen CLS modellezést használtunk figyelembe véve, hogy a hatóanyag-tartalom pontról pontra változott.

A másik eddig még kevésbé vizsgált probléma az volt, hogy különböző segédanyagokkal létrehozott szilárd diszperziók Raman-spektrumait miként lehet kiértékelni, ha az amorf-kristályos spektrum között látható különbséget a segédanyagok jelei eltérően befolyásolják. Erre egy MCR-ALS módszert alkalmazó eljárást fejlesztettünk ki, amellyel az amorf hatóanyag stabilitására tudunk következtetni.

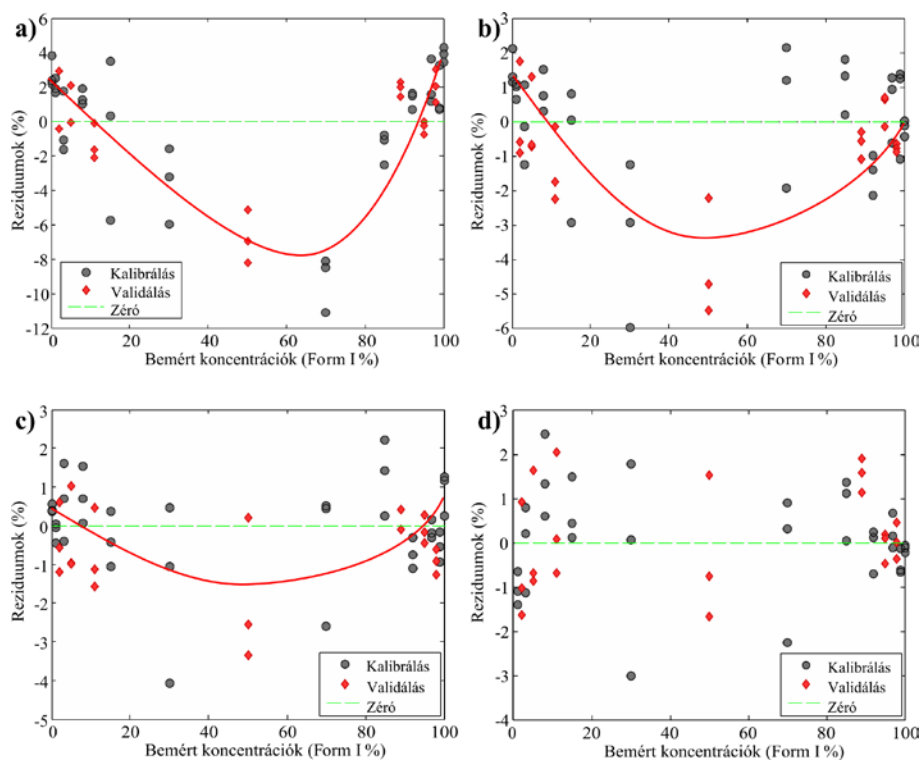
4.3. Összetevők számának becslése gyógyszeripari mintákban

A Raman-térképekből meghatározható tiszta komponens spektrumok megállapítására számos görbeillesztés nélküli profilkinyerési módszert használnak. Legtöbbször ezeknek a módszereknek szükséges a kiindulási komponens számot megadni. Erre több becslési művelet lehetséges.

Az általunk fejlesztett változóosztályozási módszeren alapuló eljárással egzaktul lehet megadni, hogy mennyi komponensre számíthatunk egy Raman-kémiai térkép vizsgálatakor. Ismeretlen esetben a módszer nagyon jól mutatta a főbb komponensek számát. Az alkotott csoportok egyértelműen tükrözték az adott komponensek jellemző csúcsait, amelyet SRD eljárással tudunk megerősíteni. Arra is rámutattunk, hogyha egy spektrumkönyvtár is elérhető, akkor a kinyerhető minor komponensek száma is növelhető. Ezt egy átlagos tablettamintánál jóval több komponensű rendszeren is sikeresen bemutattuk.

4.4. Mennyiségi meghatározás Raman-spektrumokon alapuló kvantitatív modellekkel

A Raman-spektrumok nemcsak minőségi, hanem mennyiségi információt is szolgáltatnak. Azonban ennek a pontos meghatározásához sokszor nem elégséges a legegyszerűbb regressziós modelleket használni. Több nehézség is elfordulhat egy-egy Raman-térkép mennyiségi kiértékelésekor. Egyrészt ha a hatóanyag és a segédanyag Raman-aktivitásában jelentős különbség mutatkozik, akkor – tapasztalataink szerint - a spektrumok normálása és az egyszerűbb egyváltozós vagy CLS kiértékelések erősen torzított eredményt adnak, másrészt az egymáshoz nagyon hasonló spektrumok esetén szintén kifinomultabb regressziós módszerek használata vált szükségessé. Valós koncentrációkat tartalmazó térképeket intervallumok szisztematikus kiválasztásával vagy genetikus algoritmuson alapuló változó-kiválasztással sikerült alkotnunk. A PLS módszer által a zajosabb spektrumok számításában okozott torzítást is ki tudtuk küszöbölni. Polimorf-szennyezések kimutatásához, valamint különböző, de kémiaailag kevés eltérést mutató segédanyagok hasonló spektrumainak megkülönböztetéséhez különösen fontos volt a pontos mennyiségi meghatározás minőségének javítása. Ezekben az esetekben a regressziós modellek nemlinearitásának kezelésére alkalmazott módszerek (LWR, pPLS, SVR) vezettek a legjobb eredményekhez (1.ábra). Tehát ezen módszerek segítségével kidolgozott analitikai eljárás használatát javasoltuk.

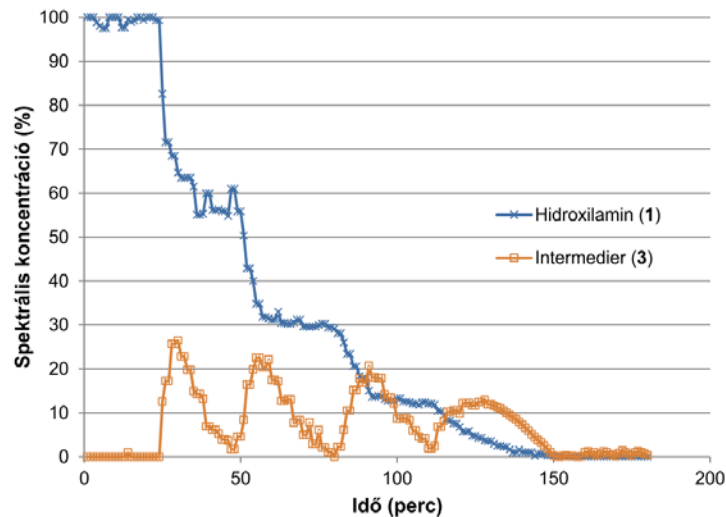


1. ábra: a) CLS, b) PLS, c) iPLS és d) pPLS regressziós modellek reziduumaival carvedilol polimorfokon

Végül megvizsgáltuk a transzmissziós Raman-spektrometria alkalmazásának lehetőségét a PAT módszerek ipari gyakorlatában. A közel valós idejű mérések érdekében a - rövidebb mérési idők okozta jel-zaj arány csökkenést kompenzáló - fejlettebb regressziós modellek bizonyultak a hatékonyabbnak.

4.5. Kémiai reakciók Raman-jel alapú szabályozásának fejlesztése

Kémiai reakciókat valós időben Raman módszerrel e munkát megelőzően még nem szabályozták. Ebben szerettünk volna áttörést elérni, ezért egy modellreakción mutattuk be, hogy miként lehet kézben tartani egy veszélyesebbnek ítélt reakciót is az adagolás (mint kritikus paraméter) kézbentartásával megfelelő kemometriai módszer segítségével. A ki nem preparálható intermedier spektrális követésére MCR-ALS módszerrel tudtunk olyan referencia-spektrumot előállítani, amellyel pontosabb szabályozás valósíthatunk meg. Az enyhén lúgos pH-n a spektrális koncentrációk valós nyomon követésével PI szabályozást alkottunk a reagens beadagolására (2. ábra)



2. ábra: A hidroxilamin és az intermedier valós időben számolt spektrális koncentrációi az enyhén lúgos közegben végzett oximeképzési reakcióban

5. Tézisek

1. Gyógyszerkészítmények összetevőinek elrendeződését számszerűsítő módosított mérőszám (korrDHI) alkalmazására tettem javaslatot - CLS vagy MCR-ALS módszerrel megalkotott - Raman-térképeinek makropixel-elemzésével. Különböző gyártástechnológiák ezáltal egymással jól összehasonlíthatókká, megkülönböztethetőkké, s így az egyes eljárások a kémiai térképek alapján egzakt módon beazonosíthatóvá váltak. [I]
2. Új kiértékelési módszereket dolgoztam ki különböző hatóanyagok amorf formájának stabilitásvizsgálatára és az amorf-kristályos hányad megállapítására Raman-térképezéses eljárással nanoszálakban és tablettában. A különböző hatóanyagok kristályosodásakor fellépő spektrális változások és a segédanyagok jelenléte eltérő, a készítményre szabott kiértékelési módszereket igényelt. Az alkalmazott megközelítések más hasonló viselkedésű hatóanyagok vizsgálatára protokollként használhatók. [II, III, X]
3. Elsőként alkalmaztam változócsoportosító eljárást Raman-térképeken a vizsgált mintában előforduló összetevők számának becslésére és szelektív sávok kiválasztására. Az eljárás hatékonyságát egyszerűbb kevés-komponensű tablettáktól az összetett sok-komponensű porokig elemeztem. Bizonyítottam, hogy a módszer validálására a rangszámkülönbségek abszolútérték-összegének módszere (SRD) alkalmas. [IV, V]
4. Raman-spektrometrián alapuló többváltozós regressziós modelleket változó-kiválasztási módszerekkel javítottam, melyek alkalmazásával először állítottam elő valós koncentráció-eloszlásokat porlasztva szárított rendszerek Raman-térképein. Kimutattam, hogy a spektrumok zajosságából eredő becslési hibák is korigálhatók változó-kiválasztással. [VI]

5. Raman-spektrometriában korábban nem használt - nemlinearitás kezelésére szolgáló - módszereket alkalmaztam nagyon hasonló spektrumokat adó rendszerek mennyiségi modellezésére. Gyógyszeripari polimorfok és tabletták mennyiségi elemzésében sikerült ezáltal pontosabb meghatározásokat elérni. [VII, IX]
6. Transzmissziós Raman-spektrometriával megvalósított mennyiségi elemzést elsőként sikerült genetikusan alapuló változó-kiválasztással olyan rövid mérési idők esetében is pontosítani, hogy az eredmények folyamatos gyártásközi ellenőrzésekhez is alkalmazhatók legyenek.
7. Elsőként valósítottam meg Raman-jel alapján történő visszacsatolást szerves szintetikus reakcióban. Egy oximálási modellreakcióban a keletkező, önmagában nem izolálható intermediert spektrálisan MCR-ALS módszerrel sikerült elkülönítenem a többi összetevőtől, majd az így előállított spektrális jelre kvantitatív modellen keresztül építettem ki egy biztonságos szabályozást. [VIII]

6. Alkalmazási lehetőségek

A doktori munkámban alkalmazott eljárások és problémakörök szerteágazóak, de mindvégig a gyógyszerek pontosabb vizsgálata és a technológiai lépések jobb megérthetősége vezérelte a kísérleteket. Olyan spektrumkiértékelési módszereket mutattunk be, amely a generikus fejlesztők számára új érdekes többlet-tartalmat jelenthet referens készítmények vizsgálatokor (eloszlatottságra vagy gyártástechnológiák vizsgálatára vonatkozóan). Ismeretlen illetve részben ismeretlen készítmények felderítése is könnyebbé válik. A mennyiségi meghatározásban elért eredményeink a Raman-spektrometria terén a kémiai térképekben és főleg a folyamatos gyógyszergyártásban használható. Raman alapú eljárások tovább javíthatók az általunk létrehozott eszközökkel. Nem utolsó sorban a kémiai reakciók Raman-alapú szabályozásával elsőként mutattuk meg, hogy spektrális adatokkal nem csak nyomon követhetünk egy folyamatot, hanem abba be is avatkozhatunk, hogy a számunkra kedvező irányba vezessük a folyamatainkat.

7. A doktori munkához kapcsolódó publikációk

A tézisekben hivatkozott közlemények:

- [I] **A. Farkas**, B. Nagy, G. Marosi, Quantitative evaluation of drug distribution in tablets of various structures via Raman mapping. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, online megjelent DOI: 10.3311/PPch.10143. (2017) IF: 0,557
- [II] B. Démuth, **A. Farkas**, H. Pataki, A. Balogh, B. Szabó, E. Borbás, P.L. Sóti, T. Vigh, É. Kiserdei, B. Farkas, J. Mensch, G. Verreck, I. Van Assche, G. Marosi, Z.K. Nagy, Detailed stability investigation of amorphous solid dispersions prepared by single-needle and high speed electrospinning, *International Journal of Pharmaceutics*, 498, 234-244 (2016) IF: 3,649 I: 11 (7*)
- [III] B. Démuth, **A. Farkas**, A. Balogh, K. Bartosiewicz, B. Kállai-Szabó, J. Bertels, T. Vigh, J. Mensch, G. Verreck, I. Van Assche, G. Marosi, Z.K. Nagy, Lubricant-induced crystallization of itraconazole from tablets made of electrospun amorphous solid dispersion, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 105, 2982-2988 (2016) IF: 2,713 I: 6 (4*)
- [IV] **A. Farkas**, B. Nagy, B. Démuth, A. Balogh, H. Pataki, Z.K. Nagy, G. Marosi, Variable clustering and spectral angle mapper-orthogonal projection method for Raman mapping of compound detection in tablets, *Journal of Chemometrics*, 31, e2861. 11 p. (2017) IF: 1,884
- [V] B. Démuth, **A. Farkas**, B. Szabó, A. Balogh, B. Nagy, E. Vágó, T. Vigh, A.P. Tinke, Z. Kazsu, Á. Demeter, J. Bertels, J. Mensch, A. Van Dijck, G. Verreck, I. Van Assche, G. Marosi, Z.K. Nagy, Development and tableting of directly compressible powder from electrospun nanofibrous amorphous solid dispersion, *Advanced Powder Technology*, 28, 1554-1563 (2017) IF: 2,659
- [VI] **A. Farkas**, B. Vajna, P.L. Sóti, Z.K. Nagy, H. Pataki, F. Van der Gucht, G. Marosi, Comparison of multivariate linear regression methods in micro-Raman spectrometric quantitative characterization, *Journal of Raman Spectroscopy*, 46, 566-576 (2015) IF: 2,395 I: 6 (5*)
- [VII] B. Nagy, **A. Farkas**, A. Balogh, H. Pataki, B. Vajna, Z.K. Nagy, G. Marosi, Quantification and handling of nonlinearity in Raman micro-spectrometry of pharmaceuticals, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 128, 236-246 (2016) IF: 3,169 I: 1 (1*)
- [VIII] I. Csontos, H. Pataki, **A. Farkas**, H. Bata, B. Vajna, Zs. Nagy, G. Keglevich, G. Marosi: Feedback control of oximation reaction by inline Raman spectroscopy, *Organic Process Research and Development*, 19, 189-195 (2015) IF: 2,922 I: 11 (8*)
- [IX] P.L. Sóti, Z.K. Nagy, G. Serneels, B. Vajna, **A. Farkas**, F. Van der Gucht, P. Fekete, T. Vigh, I. Wagner, A. Balogh, H. Pataki, G. Mező, G. Marosi Preparation and comparison of spray dried and electrospun bioresorbable drug delivery systems, *European Polymer Journal*, 68, 671-679 (2015) IF: 3,485 I: 9 (6*)
- [X] P. L. Sóti, K. Bocz, H. Pataki, Z. Eke, **A. Farkas**, G. Verreck, É. Kiss, P. Fekete, T. Vigh, I. Wagner, Z. K. Nagy, G. Marosi: Comparison of spray drying, electroblowing and electrospinning for preparation of Eudragit E and itraconazole solid dispersions, *International Journal of Pharmaceutics*, 494, 23-30 (2015) IF: 3,994 I: 10 (8*)

Könyvfejezet:

- [XI] Nagy Brigitta, Vajna Balázs, **Farkas Attila**, Nagy Zsombor, Marosi György Gyógyszerkészítmények jellemzése Raman-térképezés és többváltozós kalibrációs módszerek alkalmazásával, Bilingual lecturebook on spectroscopy - Dr. Billes Ferenc professzor úr 80. születésnapjára, Esztergom, 2014, 69-85

Közlemény előkészületben:

- [XII] **A. Farkas**, I. Farkas, B. Nagy, B. Vajna, A. Marosi, Á Demeter, G. Marosi, Transmission Raman spectroscopy for quantitative determination of famotidine polymorphs

A disszertációhoz kapcsolódó további közlemények:

- [XIII] 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, 1977-1986 (2011) IF: 3,087 I: 46 (34*)
- [XIV] B. Vajna, I. Farkas, **A. Farkas**, H. Pataki, Z. Nagy, J. Madarász, G. Marosi, Characterization of drug-cyclodextrin formulations using Raman mapping and multivariate curve resolution, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 56, 38-44 (2011) IF: 2,967 I: 25 (18*)

- [XV] B. Vajna, **A. Farkas**, H. Pataki, Z. Zsigmond, T. Igricz, G. Marosi, Testing the performance of pure spectrum resolution from Raman hyperspectral images of differently manufactured pharmaceutical tablets, *Analytica Chimica Acta*, 712, 45-55 (2012) IF: 4,387 I: 31 (24*)
- [XVI] Z. Nagy, A. Balogh, B. Vajna, **A. Farkas**, G. Patyi, G. Marosi, Comparison of electrospun and extruded, Soluplus(R) based solid dosage forms of improved dissolution, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 101, 322-332 (2012) IF: 3,130 I: 124 (98*)
- [XVII] T. Firkala, **A. Farkas**, B. Vajna, I. Farkas, G. Marosi: Investigation of drug distribution in tablets using surface enhanced Raman chemical imaging, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 76, 145-151 (2013) IF: 2,829 I: 21 (19*)
- [XVIII] A. Balogh, G. Drávavölgyi, K. Faragó, **A. Farkas**, T. Vigh, P.L. Sóti, I. Wagner, J. Madarász, H. Pataki, G. Marosi, Z.K. Nagy, Plasticized drug-loaded melt electrospun polymer mats: characterization, thermal degradation and release kinetics, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103, 1278-1287 (2014) IF: 3,007 I: 26 (16*)
- [XIX] T. Firkala, **A. Farkas**, B. Vajna, Z.K. Nagy, G. Pokol, G. Marosi, I.M. Szilágyi, Quantification of low drug concentration in model formulations with multivariate analysis using surface enhanced Raman chemical imaging, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 107, 318-324 (2015) IF: 3,169 I: 2 (2*)
- [XX] A. Balogh, B. Farkas, K. Faragó, **A. Farkas**, I. Wagner, I.V. Assche, G. Verreck, Z.K. Nagy, G. Marosi: Melt-Blown and Electrospun Drug-Loaded Polymer Fiber Mats for Dissolution Enhancement: A Comparative Study, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 104, 1767-1776 (2015) IF: 2,590 I: 12 (8*)
- [XXI] E. Hirsch, H. Pataki, **A. Farkas**, H. Bata, P. Vass, C. Fehér, Z. Barta, L. Párta, I. Csontos, A. Ballagi, Z.K. Nagy, G. Marosi, Raman-based feedback control of the enzymatic hydrolysis of lactose, *Organic Process Research and Development*, 20, 1721-1727 (2016) IF: 2,922 I: 3 (1*)
- [XXII] B. Nagy, **A. Farkas**, M. Gyürkés, S. Komaromy-Hiller, B. Démuth, B. Szabó, D. Nusser, G. Marosi, Z.K. Nagy, In-line Raman spectroscopic monitoring and feedback control of a continuous pharmaceutical powder blending and tableting process, *International Journal of Pharmaceutics*, 530, 21-29 (2017) IF: 3,649
- [XXIII] D. Weiser, F. Nagy, G. Banoczi, M. Olah, **A. Farkas**, A. Szilágyi, K. Laszlo, A. Gellert, G. Marosi, S. Kemeny, L. Poppe, Immobilization engineering - how to design advanced sol-gel systems for biocatalysis?, *Green Chemistry*, 19, 3927-3937 (2017) IF: 9,125

Előadások:

- [XXIV] I. Farkas, B. Vajna, **A. Farkas**, Z. Nagy, G. Marosi: Quantification of caffeine poly(lactic coglicolic acid) with Raman mapping using different chemometric regression methods, Conferentia Chemometrica 2011, Sümeg, 2011. szeptember 18-21.
- [XXV] I. Farkas, B. Vajna, **A. Farkas**, Z.K. Nagy, H. Pataki, G. Marosi: Transmission Raman technique: an innovative instrument in chemometric regression, XIII Chemometrics in Analytical Chemistry, Budapest, 2012. június 25-29.
- [XXVI] B. Nagy, **A. Farkas**, B. Vajna, Gy. Marosi, Linear and nonlinear regression methods in Raman mapping of homogeneous and heterogeneous two-component systems, Conferentia Chemometrica - CC2013, Sopron, 2013. szeptember 8-11.
- [XXVII] **Farkas A.**, Nagy B., Többváltozós regressziós módszerek carvedilol polimorfok mennyiségi meghatározására Raman-spektrum alapján, XI. Clauder Ottó Emlékverseny, Budapest, 2013. október 17-18.
- [XXVIII] **Farkas A.**, Bata H., Pataki H., Csontos I., Visszacsatolt szabályozások alkalmazása kémiai reakciókban és kristályosításokban Raman spektrumok alapján, Fialtal Kutatók Fóruma diákkonferencia, 2014. november 28.
- [XXIX] **Farkas A.**, Nagy B., Pataki H., Marosi Gy.: Lineáris és nem lineáris regressziós módszerek carvedilol polimorfok Raman-spektrometriai mennyiségi meghatározására, MKE Kristályosítási és Gyógyszerformulálási Szakosztály 8. Kerekasztal Konferenciája, Balatonszemes, 2015. május 15-16.
- [XXX] **A. Farkas**, H. Pataki, H. Bata, B. Nagy, I. Csontos, G. Marosi: Applying feedback control in chemical reaction and enzymatic biotransformation using in-line Raman spectroscopy, EuPAT 2015 7th pan-European Science Conference on Quality by Design and PAT Sciences, Graz, Ausztria, 2015. május 18-19.
- [XXXI] **A. Farkas**, B. Nagy, B. Démuth, P.L. Sóti, Z.K. Nagy, G. Marosi: Evaluation of Raman mapping using MCR-ALS equality constraint in stability tests of itraconazole solid dispersions, Conferentia Chemometrica 2015, Budapest, 2015. szeptember 13-16.
- [XXXII] **A. Farkas**, B. Nagy, G. Marosi: Application of component number analysis methods on Raman maps, 5th European Young Engineers Conference, Varsó, 2016. április 20-22.

- [XXXIII] 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.
- [XXXIV] B. Vajna, **A. Farkas**, I. Farkas, H. Pataki: Raman Mapping and Chemometrics for the Characterization of Unknown Pharmaceuticals, Gyógyszerkémiai és Gyógyszertechnológiai Szimpózium'10, Velence, 2010. október 04-05.
- [XXXV] **A. Farkas**, B. Vajna, Gy. Marosi: Comparison of chemometric methods in Raman spectrometry in very similar ingredients containing mixtures, International Conference „Students for students”, Cluj-Napoca (Kolozsvár), Románia, 2011. április 8-10.
- [XXXVI] B. Vajna, **A. Farkas**, A. Balogh, Zs. Nagy, I. Farkas, Gy. Marosi: Combined use of Raman mapping and chemometric methods for the analysis of pharmaceutical products with narrow concentration distribution and highly correlated Raman spectra, Conferentia Chemometrica 2011, Sümeg, 2011. szeptember 18-21.
- [XXXVII] **A. Farkas**, B. Vajna, T. Firkala, I. Farkas, Gy. Marosi: Investigation of trace amounts of drug by surface enhanced Raman chemical imaging supported by MCR-ALS method, XIII Chemometrics in Analytical Chemistry, Budapest, 2012. június 25-29.
- [XXXVIII] **Farkas A.**, Firkala T. , Vajna B., Marosi Gy., Felületerősített Raman kémiai térképezés MCR-ALS módszerrel történő alkalmazása nyomnyi mennyiségű hatóanyag vizsgálatára, KeMoMo-QSAR 2013 Szimpózium, Szeged, 2013. április 29-30.
- [XXXIX] **Farkas A.**, Firkala T. , Vajna B., Marosi Gy., Investigation of trace amounts of drug by surface enhanced Raman chemical imaging supported by MCR-ALS method, TURCMOS 2013 – I. International Turkish Congress on Molecular Spectroscopy, Isztambul , 2013. szeptember 15-20.
- [XL] **A. Farkas**, B. Vajna, Z. K. Nagy, B. Nagy, H. Pataki, Gy. Marosi: Raman Chemical Imaging and Chemometrics as Tools for Investigation of Counterfeit Products, 9th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Lisszabon, Portugália, 2014. március 31-április 3.
- [XLI] K. Bocz, **A. Farkas**, D. Vadas, T. Bárány, G. Marosi: Non-destructive characterisation of structure of reinforcing fibres of all-prolypropylene composites using polarized Raman spectroscopy, Augsburg, Németország, 2014. július 21-27.