



ORGAANISTEN LÄÄKEAINEIDEN SÄILYVYYS

Lappeenrannan–Lahden teknillinen yliopisto LUT

Kemiantekniikan kandidaattityö

2022

Elisa Lehikoinen

Tarkastaja: Yliopisto-opettaja Katja Kuukka

TIIVISTELMÄ

Lappeenrannan–Lahden teknillinen yliopisto LUT

LUT Teknis-luonnontieteellinen

Kemiantekniikka

Elisa Lehikoinen

Orgaanisten lääkeaineiden säilyvyys

Kemiantekniikan kandidaattityö

24 sivua, 9 kuvaa, 3 taulukkoa

Tarkastaja: Yliopisto-opettaja Katja Kuukka

Avainsanat: Orgaaniset lääkeaineet, lääkeaineen säilyvyys

Lääkeaineiden säilyvyyden tunteminen on tärkeää, kun lääkettä käytetään. Vääränlaisella säilytyksellä voi olla ikäviä vaikutuksia lääkkeen toimivuuteen, turvallisuuteen ja luotettavuuteen liittyen. Pakkauksessa on kerrottu, kuinka lääkettä tulisi säilyttää ja milloin on sen viimeinen käyttöpäivä. Näiden noudattaminen vahvistaa tuotteen turvallisen käytön. Ulkoiset tekijät, kuten valo, vesi tai vaikka lämpö voivat aiheuttaa lääkeaineen kiihtyvän hajoamisen, joka lyhentää käyttöikää.

Hajoamisreaktioita tutkitaan monipuolisesti, jotta lääkeaineen käyttäytyminen ulkoisien tekijöiden vaikutuksesta tunnetaan kauttaaltaan. Lääkeaineelle tehdään stabiilisuustestaukset, jotka jaetaan nopeutettuun ja reaaliaikaiseen tutkimukseen. Nopeutettu kestää vähintään kuusi kuukautta. Siinä tutkittavaa ainetta altistetaan koville lämpötiloille, jolloin reaktio tapahtuu nopeammin ja tulokset saadaan nopeasti. Reaaliaikainen tutkimus kestää vähintään kaksitoista kuukautta.

Lääkeaineen lisäksi tutkitaan sopiva säilytysastia. Erilaisten materiaalien käyttö astiassa vaikuttaa, kuinka paljon reaktioon johtavia tai reaktiota kiihdyttäviä tekijöitä pääsee säilytysastiaan. Esimerkiksi valo läpäisee erilaiset materiaalit eri tavoin. Reaktioiden hidastamiseksi ja vähentämiseksi valolle herkkää tuotetta ei kannata säilyttää astiassa, joka päästää valoa paljon sisäänsä. Jos vesi pystyy hajottamaan lääkeaineen, myös säilytysastian kosteuden läpäisykyky testataan.

SYMBOLILUETTELO

A	frekvenssitekijä	$[\text{s}^{-1}]$
D	lääkeaineen määrä ajanhetkellä t	
D_0	lääkeaineen määrä ajanhetkellä $t = 0$ s	
E_a	reaktion aktivoitumisenergia	$[\text{kJ/mol}]$
m/z	massavaraussuhde	
R	kaasuvakio	$[\text{kJ}/(\text{mol l})]$
R^2	yhtälön selitysaste	
k_1	ensimmäisen kertaluvun nopeusvakio	$[\text{s}^{-1}]$
T	lämpötila	$[\text{K}]$
t	aika	$[\text{s}]$
$t_{50\%}$	aika, jolloin lääkeaineesta on kulunut puolet	$[\text{s}]$
$t_{90\%}$	aika, jolloin lääkeaineesta on jäljellä 90 prosenttia	$[\text{s}]$

Sisällysluettelo

Tiivistelmä

Symboliluettelo

1	Johdanto.....	6
2	Lääkeaineen säilyvyys.....	7
2.1	Lääkepakkauksien merkinnät säilyvyyden näkökulmasta	9
2.2	Säilyvyystutkimus	11
2.2.1	Arrheniuksen yhtälö.....	12
2.2.2	Puoliintumis- ja säilyvyysaika	14
3	Orgaanisten lääkeaineiden reaktiot.....	16
3.1	Hydrolyysi.....	16
3.2	Fotolyysi.....	19
3.3	Hapettuminen	21
4	Johtopäätökset	23
	Lähteet	24

Kuvaluettelo

- Kuva 1: Lääkepakkauksissa tulee näkyä edessä lääkeaineen nimi, vahvuus ja muoto (Laakso, 2012, 1). Keltaiseksi rajatulla alueella kerrotaan lääkkeen säilytysolosuhteet.
- Kuva 2: Arrheniuksen yhtälö lääkeaineen stabiilisuuden testauksessa (Naveršnik, Bohanec, 2008, 451)
- Kuva 3: Ensimmäisen kertaluvun reaktiolle lääkeaineen määrä prosentteina ilmaistuna ajan suhteen. Kuvassa D viittaa lääkeaineen määrään ajanhetkellä t ja D_0 viittaa sen määrään hetkellä $t = 0$ s. (Connors Amidon, Stella, 1986)
- Kuva 4: Prokaiinin hydrolyysireaktiossa syntyy para-aminobentsoehappoa sekä alkoholia
- Kuva 5: Suhteellinen kosteus imeytyneen veden funktiona (Naveršnik, Bohanec, 2008, 449)
- Kuva 6: Fluoksetiinin fotolyysireaktion tulokset LC-MS²-spektrometrillä. Kuvassa ionien suhteelliset osuudet esitetään massavaraussuhteen funktiona. (Petrovic et al. 2007, 489.)
- Kuva 7: Eri valon aallonpituuksien läpäisy erityyppisten ja paksuisten lasien lävitse. Valon läpäiseväisyys tulevan valon aallonpituuden funktiona. (Connors et al. 1986.)
- Kuva 8: Morfiinin hapettumisreaktion ensimmäinen vaihe (Connors et al. 1986, 95.)
- Kuva 9: Hapetusluvut neljälle eri molekyyliarakenteelle (Waterman Adami Alsante Hong et al. 2002, 2)

Taulukkoluetelo

- Taulukko 1: Lääkkeiden turvallisuuteen liittyviä ongelmia ja syitä (Bajaj Singla, Sakhuja, 2012, 130)
- Taulukko 2: Stabiilisuustestauksen koeolosuhteet reaaliaikaisissa ja lyhennetyissä kekeissa. Lyhenne RH tarkoittaa suhteellista kosteutta. (Guideline, 2003, 3.)
- Taulukko 3: Funktionaalisia ryhmiä, jotka voivat johtaa hydrolyysiin. Ryhmät on esitetty parhaimmasta stabiilisuudesta heikoimpaan. (Waterman Adami Alsante Antipas et al. 2002, 118.)

1 Johdanto

Lääketeollisuuden kehitys on tärkeä osa ihmisten ja luonnon hyvinvointia. Hyvällä lääketutkimuksella pidetään huolta, että valmisteet ovat turvallisia käyttää ja tarpeeksi tehokkaita. Lääkkeiden turvalliseen käyttöön liittyen on tiedettävä, kuinka ympäristö vaikuttaa aineen rakenteeseen. Lääkeaineella ja -molekyylillä tarkoitetaan sitä vaikuttavaa ainetta lääkkeessä, jonka tarkoituksena on parantaa ihminen tai eläin. Vääränlaisella säilytyksellä ympäristö voi muovata lääkeaineesta jopa myrkyllisen. Siksi tulee osata säilyttää lääke oikein. (Bajaj et al. 2012, 129-131.) Vanhentuneet lääkkeet kuormittavat ympäristöä. Tämän takia on tärkeää, että mahdollisimman paljon tuotetuista lääkkeistä päätyy käyttöön eikä palaudu jätteenä takaisin apteekkiin. Lääkejätettä voi huonommassa tapauksessa joutua myös luontoon, joka rasittaa kasveja ja eläimiä.

Uusia lääkkeitä suunniteltaessa ja etsittäessä tutkimusten yhdessä osassa etsitään tietoa, kuinka kauan lääke säilyy tietyissä olosuhteissa. Lääkeaine saattaa hajota esimerkiksi lämmön vaikutuksesta, jolloin sen molekyylirakenne muuttuu. Toisena esimerkkinä on reaktio veden kanssa, hydrolyysireaktio, jolloin molekyyli hajoaa kahdeksi pienemmäksi molekyyliksi. Pienikin muutos lääkemolekyylin rakenteessa johtaa se tehottomuuteen. Tutkimusten perusteella voidaan lääkkeelle muun muassa määrittellä oikeanlaiset säilyvyysolosuhteet ja ennustaa, milloin se ei enää ole käyttökelpoinen annetuissa säilytysolosuhteissa. (Bajaj et al. 2012, 129-131; Palmgrén, 2016, 2.)

On tärkeää tuntea lääkeainemolekyylin rakenne ja käyttäytyminen. Kuluttajan voi olla hankala ymmärtää, miksi oikeanlainen säilytys on tärkeää, jos ei ole minkäänlaista tietämystä kemiallisista reaktioista tai mahdollisista haittavaikutuksista. Tällöin purkissa esitetyt ohjeet saattavat jäädä vähemmälle huomiolle, joka ei ole käyttäjälle turvallista. Tässä työssä tuodaan esille nämä ongelmat.

Tämä työ on kirjallisuuskatsaus, jossa tutkitaan ympäristön vaikutusta lääkeaineen säilyvyyteen. Halutaan myös tietää, miten säilyvyyttä voidaan tutkia ja mihin pakkauksen säilytys-suositukset perustuvat. Työssä esitetään esimerkkejä pakkausmerkinnöistä, sekä otetaan selvää lääkekehityksessä tehtävästä säilyvyystutkimuksesta. Lopuksi tutkitaan lääkeaineiden mahdollisia reaktioita ympäristön kanssa. Tämä kaikki kootaan yhteenvedona työn lopussa.

2 Lääkeaineen säilyvyys

Lääketutkimus ja -kehitys ovat erittäin tärkeitä ihmisten ja eläinten hyvinvoinnin kannalta. Tutkimus on kuitenkin erittäin hidasta ja kallista sekä tarvitsee paljon onnea, jotta pystytään löytämään tarpeeksi hyvä ja tehokas lääkeainemolekyylille ja saamaan se vielä markkinoille. Tehokkuuden lisäksi lääkkeen on hyvä säilyä tarpeeksi pitkään sillä liian nopea pilaantuminen ei ole hyväksi käyttäjälle tai ympäristölle. Palmgrénin (2016, 2) mukaan lääkkeen elinikään voidaan vaikuttaa esimerkiksi oikeanlaisella säilytyksellä. Näin pyritään vähentämään lääkeaineen reaktioita ympäristön kanssa. Tästä esimerkkinä valoherkkä lääkeaine, joka tulee säilyttää valolta suojatussa tilassa, jolloin reaktioita ei tapahdu niin helposti.

Ympäristössä on paljon tekijöitä, jotka reagoivat lääkkeessä olevan vaikuttavan aineen kanssa. Näitä voivat olla esimerkiksi valo, vesi tai lämpö. Reaktiot ympäristön kanssa vaikuttavat lääkeainemolekyylisiin monin eri tavoin, kuten esimerkiksi sen ominaisuuksiin ja säilyvyyteen. Lääkkeen säilyvyys voidaan jakaa fysikaaliskemialliseen säilyvyyteen sekä mikrobiologiseen säilyvyyteen. Mikrobiologisella säilyvyydellä tarkoitetaan tuotteen puhtautta, steriilisyyttä ja kykyä vastustaa mikrobien kasvua. Fysikaaliskemiallisella säilyvyydellä, johon tämä opinnäytetyön aihe perustuu, tarkoitetaan vaikuttavan aineen pysymistä tiettyjen rajojen sisällä tai lääkeainemolekyylin pysymistä muuttumattomana määrätyn ajan verran. Lääkkeen vanhentuessa sen vaikuttavan osuuden pitoisuus pienenee. Tämä tapahtuu, kun lääkeaine hajoaa muiksi aineiksi reagoidessaan ympäristön kanssa. (Palmgrén, 2016, 2.) Reaktiossa syntynyttä tuotetta kutsutaan hajoamistuotteeksi. Mitä enemmän näitä reaktioita tapahtuu, sitä enemmän lääkeaine hajoaa ja samalla vähenee.

Lääkeaineen rakenteen muuttuessa saattaa se tulla ihmisen terveydelle erittäin haitalliseksi ja jopa myrkylliseksi. Lääkeainemolekyylin stabiilisuutta testataan paljon, ennen kuin tuote tuodaan markkinoille. Testit ovat erittäin tärkeä osa lääkkeen suunnitteluprosessia. (Tsakona Anagnostopoulou, Gidakos, 2007, 1; Wu, 2018, 941.) Taulukossa 1 tuodaan esille mahdollisia ongelmia, kun lääke reagoi ympäristön kanssa. Taulukossa annetaan myös esimerkkejä ja missä ongelma voi ilmetä.

Taulukko 1: Lääkkeiden turvallisuuteen liittyviä ongelmia ja syitä (Bajaj et al. 2012, 130)

Mahdollinen seuraus	Selitys/Syy	Esimerkki	Säilyvyyden testaus
Vähentynyt aktiivisen aineen määrä.	Aktiivisen aineen hajoaminen. Tämän takia lääkeaineen määrä vähenee, josta seuraa kelpaamaton laatu.	Nitroglyseriinitabletit	Mitataan aika, jonka kuluessa lääkeaineen pitoisuus laskee alle 90 prosentin.
Myrkyllisten tuotteiden muodostuminen.	Lääkkeen hajoaminen.	Epianhydrotetrasykliinin muodostuminen tetrasyklinistä, proteiinilääkkeet.	Hajoamistuotteiden määrä säilyvyysajan aikana.
Etiketin laadun heikkeneminen.	Etiketin musteen kulumisen tai valuminen, jonka takia luotettavuus heikkenee.	Muovipurkin pehmentimen valuminen etikettiin.	Tarran silmämääräinen tarkastus.
Mikä tahansa toiminnallisen tekijän muutos.	Mikä tahansa ajasta riippuvaisen tekijän muutos vaikuttaa haitallisesti turvallisuuteen, tehoon tai helppokäyttöisyyteen.	Lääkelaastarin tarttuvuuden huononeminen ja vanheneminen.	Muutosten seuranta.

Lääkkeiden laadussa ja niiden luotettavuudessa voi tulla paljon ongelmia. Etiketin huononeminen voi vaikuttaa lääkkeen turvallisen käytön luotettavuuteen. Esimerkiksi päivämäärän epäselvyys voi johtaa lääkkeen käyttämättömyyteen, jonka takia hyvälaatuiset lääkkeet voivat joutua lääkejätteeksi. Taulukosta 1 voidaan myös nähdä, että lääkeaineen hajoaminen voi johtaa lääkkeen laadun huononemiseen, joista seuraa lääkkeen luotettavuuden heikkeneminen sekä mahdollinen pilaantuminen. Hajoamista ja säilyvyyttä tutkitaan seuraavissa kappaleissa.

2.1 Lääkepakkauksien merkinnät säilyvyyden näkökulmasta

Elimistön täytyy saada tarpeeksi lääkeainetta, jotta lääke pääsee vaikuttamaan hyvin ja tehokkaasti. Lääkettä suunniteltaessa täytyykin ottaa huomioon, kuinka paljon ainetta tarvitaan riittävään vaikutukseen. Lääkkeen vaikuttavan aineen määrä saa erota ilmoitetusta määrästä enintään viisi prosenttia (Marculescu et al. 2019, 1). Tämä vaikuttaa pakkauksessa ilmoitetun säilyvyyden määrittämiseen. Kuluttajille lääkepakkaukseen on merkitty oikeanlaiset säilytysolosuhteet sekä lääkkeen viimeinen käyttöpäivä, jotka perustuvat lääkkeelle tehtyihin säilyvyystutkimuksiin (Laakso, 2012, 2).

Pakkauksessa tulee lukea lääkeaineen nimi, vahvuus ja lääkemuoto etukannessa ja usein myös kahdella muulla sivulla siten, että lääkkeen tunnistaminen on helppoa. Pakkauksista löytyy myös pistekirjoituksilla lääkkeen nimi ja vahvuus näkörajoitteisia käyttäjiä varten. (Laakso, 2012, 1.) Kuvan 1 lääkepakkauksessa näkyy selkeästi, että sen vaikuttava aine on glARG-insuliini, jonka vahvuus on 300 yksikköä millilitraa kohden ja se on nestemuodossa esitäytetyssä kynässä. Pakkauksen etukannessa näkyy myös pistekirjoitus kohoumina. Toisella puolella pakkausta keltaiseksi rajatulla alueella kerrotaan injektiooliuksen säilyvyysolosuhteet avatulle ja avaamattomalle kynälle. Siinä kerrotaan lääkeaineen säilyvyydeksi kuusi viikkoa käyttöönoton jälkeen, kun lääkettä säilytetään alle kolmessakymmenessä celsiusasteessa, mutta ei kuitenkaan jääkaapissa. Pakkauksessa myös annetaan ohjeet suojaamaan niin käyttämätön kuin myös käyttöön otettu kynä valolta. Tällainen paikka voisi olla esimerkiksi kaapissa, jonka sisälle ei pääse valoa.

Toujeo® 300 yksikköä/ml enheter/ml

SoloStar®

1 annosväli = 1 yksikkö
1 dossteg = 1 enhet

injektioneste, liuos, esitäytetty kynä
injektionsvätska, lösning i en förfylld injektionspenna

450 yksikköä / kynä
450 enheter / penna

glARGininsuliini / insulin glARGin

Käytä vain tässä kynässä vaikean yliannostuksen välttämiseksi.
Används endast med denna penna. Det kan i annat fall leda till överdosering.

Ihon alle / Subkutan användning

5 kynää / 5 pennor

Käytä aina uutta neulaa jokaista pistosta varten.
Vain yhden potilaan käyttöön.

1 ml sisältää 300 yksikköä (10,91 mg) glargininsuliinia. 1 kynä sisältää 1,5 ml liuosta, joka vastaa 450 yksikköä.

Sinkkikloridi, metakresoli, glyseroli, kloorivetyhappo/natriumhydroksidi (pH:n säätämiseen), injektionesteisiin käytettävä vesi.

Ei lasten ulottuville eikä näkyville.
Lue pakkausseloste ennen käyttöä.

Käytä vain kirkkaita ja värittömiä liuoksia.

Käyttämättömät kynät
Säilytä jääkaapissa. Ei saa jäättyä. Älä säilytä lähellä jääkaapin pakastuslokeroa tai kylmäelementtiä. Pidä esitäytetty kynä ulkopakkauksessa. Herkkä valolle.

Käyttöönötetut kynät
Käyttöönoton jälkeen valmistetta voidaan säilyttää alle 30 °C enintään 6 viikon ajan. Älä säilytä jääkaapissa. Laita kynänsuojus takaisin paikalleen jokaisen pistoksen jälkeen valolta suojaamiseksi.

Använd alltid en ny nål för varje injektion.
Endast avsedd för en patient.

1 ml innehåller 300 enheter (10,91 mg) insulin glargin. 1 penna innehåller 1,5 ml lösning motsvarande 450 enheter.

Zinkklorid, metakresol, glycerol, saltsyra/natriumhydroxid (för pH-justering), vatten för injektionsvätskor.

Förvaras utom syn- och räckhåll för barn.
Läs bipacksedeln före användning.

Använd endast klar och färglös lösning.

Före första användning
Förvaras i kylskåp. Får ej frysas eller förvaras i direktkontakt med frysfack eller kylklamp. Förvara den förfyllda injektionspennan i ytterkartongen. Ljuskänsligt.

Efter första användning
Pennan kan förvaras maximalt 6 veckor under 30°C. Förvaras i skydd mot kyla. Sätt tillbaka skyddslocket på pennan efter varje injektion för att skydda mot ljus.

Suomi/Finland / Sverige
Vnr 47 91 86

Kuva 1: Lääkepakkauksissa tulee näkyä edessä lääkeaineen nimi, vahvuus ja muoto (Laakso, 2012, 1). Keltaiseksi rajatulla alueella kerrotaan lääkkeen säilytysolosuhteet.

Joskus lääkkeet saattavat altistua kuljetuksen aikana haitallisesti ympäristölle. Esimerkiksi normaalisti viileässä lämpötilassa säilytettävä lääke altistuu huoneenlämmölle. Tällöin täytyy ammattilaisen arvioida lääkkeiden käyttökelpoisuus ja varastointi. (Laakso, 2012, 2; Palmgrén, 2016, 2.)

2.2 Säilyvyystutkimus

Kuten edellä on jo todettu, lääkeaineen säilyvyyden tutkiminen on tärkeä osa lääkkeen suunnitteluprosessia. Sen tarkoituksena on tehdä lääkkeestä turvallinen ja tarpeeksi tehokas. Säilyvyystutkimus on myös oleellinen osa lääkeaineen eliniän määrittämisessä ja tuotteen parantamisessa. Tuotteen stabiilisuus vaikuttaa myös lähtöaineiden pitoisuuteen, pH:hon, raaka-aineisiin sekä sen kehityksen ja käyttöönoton väliseen ajanjaksoon. (Bajaj et al. 2012, 129-131.) Testeissä käydään läpi niin fysikaalinen, kemiallinen, kuin myös mikrobiologinen säilyvyys. Niiden tulee myös olla tarpeeksi laajat kattamaan säilytyksen, kuljetukset ja itse käytön. (Guideline, 2003, 2-3.)

Säilyvyystutkimuksissa testataan lääkeaineen rajoja erilaisissa olosuhteissa tietyn pituisilla ajanjaksoilla. Stabiilisuustestausten avulla pystytään arvioimaan vaikuttavat ympäristötekijät lääkeaineen tai tuotteen laadun kannalta. Näiden pohjalta kootaan tarvittavat säilyvyysolosuhteet ja merkinnät. Viimeiseksi käyttöpäiväksi merkitään päivä, jonka jälkeen lääke ei ole enää käyttökuntoinen, jos sitä säilytetään pakkauksessa ilmoitetulla tavalla. Jos säilytysohjeita ei noudata, tuote saattaa vanhentua ilmoitettua aikaa nopeammin, kuten taulukosta 1 voidaan todeta. (Bajaj et al. 2012, 130-137.)

Säilyvyystutkimuksissa suoritetaan nopeutettuja- ja reaaliaikaisia tutkimuksia. Reaaliaikainen tutkimus on nimensä mukaisesti reaaliajassa suoritettava stabiilisuustutkimus. Toisin sanoen suoritetaan tutkimus niissä olosuhteissa, joissa lääke säilytettäisiin. Tutkimuksen aikana otetaan tutkittavasta aineesta näytteitä analysoitavaksi. (Bajaj et al. 2012, 131.) Reaaliaikaisen tutkimuksen tulisi kestää vähintään kaksitoista kuukautta ja se jaetaan ainakin kolmeen osaan. Testeissä käytetään koetehdasta, joka on tuotantotehdas minimimitakaavassa. Koetehtaassa käytettyjen valmistusmenetelmien tulee kuvastaa tuotantotehtaassa käytettävää prosessia. (Guideline, 2003, 2.)

Kahdentoista kuukauden pituisen reaalitytökimuksen lisäksi tulee suorittaa ainakin kuusi kuukautta nopeutettua tutkimusta (Guideline, 2003, 3). Siinä kokeet suoritetaan korkeammissa lämpötiloissa, vähintään viidessätoista celsiusasteessa, jolloin reaktiot tapahtuvat nopeammin. Reaaliaikaisen ja nopeutetun säilyvyystutkimuksen koeolosuhteet esitetään vielä taulukossa 2.

Taulukko 2: Stabiilisuustestauksen koeolosuhteet reaaliaikaisissa ja lyhennetyissä kokeissa. Lyhenne RH tarkoittaa suhteellista kosteutta. (Guideline, 2003, 3.)

	Olosuhteet	Lyhyin käytettävä aika
Reaaliaikaiset kokeet	25°C ± 2°C/ 60 % RH ± 5 %	12 kuukautta
Nopeutetut kokeet	40°C ± 2°C/75 % RH ± 5 %	6 kuukautta

Tutkimuksen lyhyt kesto mahdollistaa tiedonsaannin jo varhaisessa vaiheessa ja auttaa määrittämään molekyylin luontaisen stabiilisuuden sekä mahdolliset hajoamistuotteet. Tämä lyhentää huomattavasti kehitysaikataulua. Muut testattavat asiat ovat esimerkiksi kosteus, valo, pH-arvo ja pakkaus. (Bajaj et al. 2012, 131; Guideline, 2003, 2-3.)

2.2.1 Arrheniuksen yhtälö

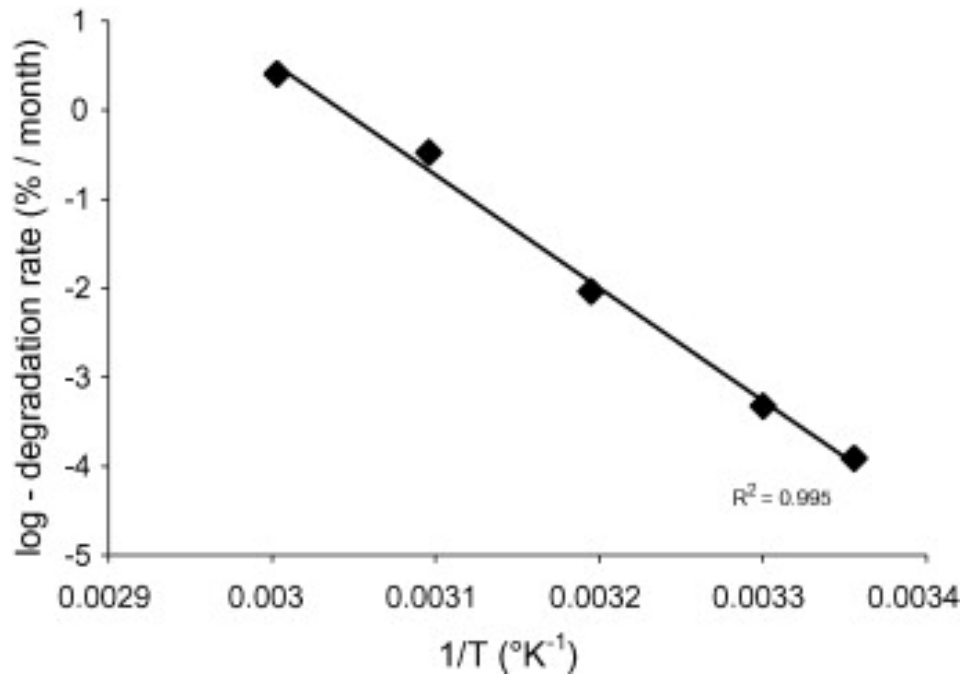
Nopeutetun stabiilisuustestauksen lämpötilatestaus perustuu Arrheniuksen yhtälöön. Arrheniuksen kinetiikka on reaktionopeuden luonnollisen logaritmin k lineaarinen riippuvuus lämpötilan käänteisarvosta. Arrheniuksen yhtälö on muotoa

$$\ln(k) = \ln(A) + \frac{\Delta E_a}{R \cdot T}, \quad (1)$$

jossa A on frekvenssitekijä [s^{-1}], E_a on reaktion aktivoitumisenergia [kJ/mol], R kaasuvakio [kJ/(mol l)] ja T on lämpötila [K]. (Bajaj et al. 2012, 131.)

Arrheniuksen yhtälön ja analyysitulosten perusteella saadun aktivoitumisenergian avulla pystytään selvittämään lääkeaineen hajoamisnopeus eri lämpötiloissa ja siten löytämään sopivin säilytyslämpötila (Bajaj et al. 2012, 131). Aktivoitumisenergia vastaa sitä energian määrää, joka tarvitaan reaktion tapahtumiseen yhtä moolia kohden. Koska hajoamisreaktioita halutaan hidastaa, tulee reaktioon johtavan energian olla mahdollisimman suuri. Suuri aktivoitumisenergia tarkoittaa, että reaktio tarvitsee enemmän energiaa, esimerkiksi lämpöä,

tapahtuakseen. Reaktio ei siis tapahdu niin helposti. Jos aktivoitumisenergian arvo on pieni, ohjeistetaan lääke säilyttämään jääkaapissa. Esimerkki Arrheniuksen yhtälöstä on kuva 2, jossa lääkeaineen hajoaminen esitetään lämpötilan käänteisarvon funktiona.



Kuva 2: Arrheniuksen yhtälö lääkeaineen stabiilisuuden testauksessa (Naveršnik, Bohanec, 2008, 451)

Yhtälön selitysaste on melko lähellä yhtä ja pisteet asettuvat suoralle erittäin hyvin. Siispä kuvan 2 suoran yhtälön avulla voidaan ratkaista lääkeaineen hajoamisnopeus normaalilämpötilassa. (Naveršnik, Bohanec, 2008, 451.)

2.2.2 Puoliintumis- ja säilyvyysaika

Usein lääkekehityksessä halutaan keskittyä kinetiikaltaan yksinkertaisiin reaktioihin. Näitä ovat nollannen ja ensimmäisen kertaluvun reaktiot. Yksinkertaisesti sanottuna nollannen kertaluvun reaktio ei ole riippuvainen reagoivien yhdisteiden konsentraatiosta eli pitoisuudesta. Ensimmäisen kertaluvun reaktion on yksinkertainen reaktio, jossa aine muuttuu tuotteiksi yhdisteen reaktionopeuden ollessa suoraan verrannollinen senhetkiseen pitoisuuteen. (Connors et al. 1986, 11.)

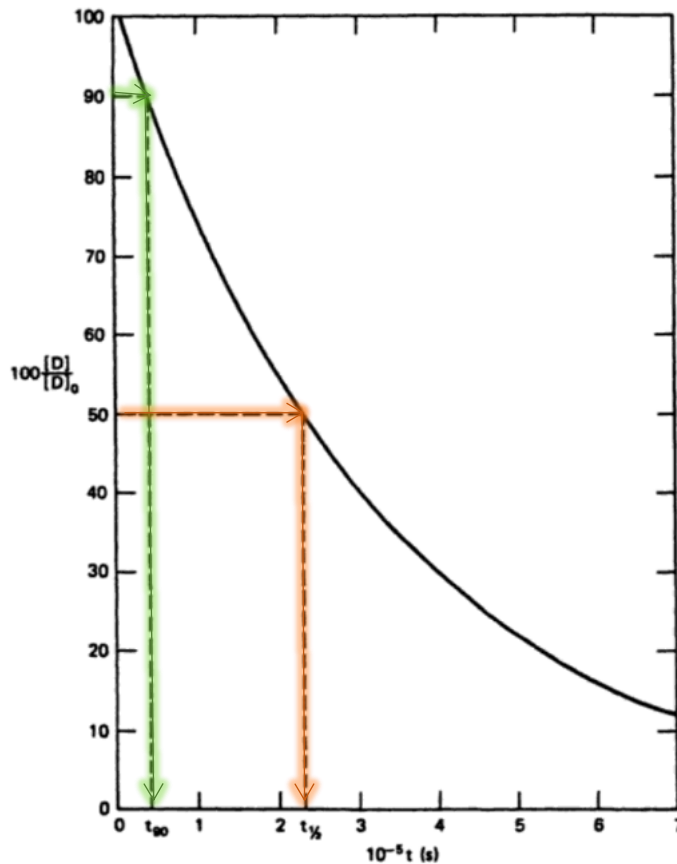
Tutkimuksissa lasketaan lääkeaineen puoliintumis- sekä säilyvyysaika eli kuinka nopeasti lääkeaineesta on hajonnut 10 prosenttia. Ensimmäisen kertaluvun kinetiikalle nämä voidaan laskea yhtälöillä (2) ja (3). Pitoisuuden muutos voidaan myös esittää kuvan 3 mukaisesti. (Connors et al. 1986, 12-13)

$$t_{50\%} = \frac{0.693}{k_1}, \quad (2)$$

jossa $t_{50\%}$ on aika, jolloin lääkeaineesta on kulunut puolet [s] ja k_1 on ensimmäisen kertaluvun nopeusvakio [s^{-1}]. Säilyvyysajan yhtälö on

$$t_{90\%} = \frac{0.105}{k_1}, \quad (3)$$

jossa $t_{90\%}$ on aika, jolloin lääkeaineesta on jäljellä 90 prosenttia [s]. (Connors et al. 1986, 12.)



Kuva 3: Ensimmäisen kertaluvun reaktiolle lääkeaineen määrä prosentteina ilmaistuna ajan suhteen. Kuvassa D viittaa lääkeaineen määrään ajanhetkellä t ja D_0 viittaa sen määrään hetkellä $t = 0$ s. (Connors Amidon, Stella, 1986)

Käyrä, joka on kuvan 3 mukainen, on yksinkertainen tapa esittää visuaalisesti lääkeaineen hajoamisnopeus ajan funktiona. Jyrkempi käyrä kuvaa nopeampaa hajoamista ja loivempi pitkäaikaisempaa säilymistä. Puoliintumis- ja säilyvyysaika voidaan löytää kuvaajasta kuvassa 3 esitettyjen nuolien mukaisesti. Yleisin käytetty säilyvyysaika on $t_{90\%}$, mutta muitakin arvoja voi olla (Connors et al. 1986, 12). Kokeissa kuvaajia vertailemalla ja laskujen tuloksista saadaan helposti käsitys lääkkeen hajoamisnopeudesta. Korkeat puoliintumisajan ja säilyvyysajan arvot kertovat lääkeaineen pidemmästä iästä. Connorsin (1986, 12) mukaan pH-tutkimus on yksi esimerkki, jossa käytetään kuvan 3 mukaista menetelmää suotuisimman säilyvyysolosuhteen löytämiseksi.

3 Orgaanisten lääkeaineiden reaktiot

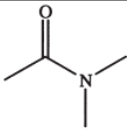
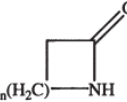
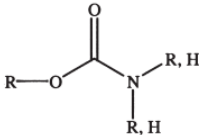
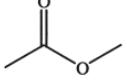
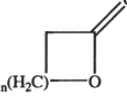
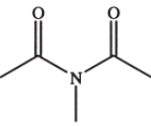
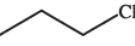
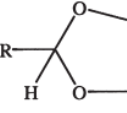
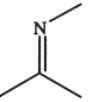
Lääkkeiden säilyvyyden ymmärtämiseksi tarvitaan runsaasti tietämystä aineen kemiallisesta rakenteesta ja kuinka se reagoi ympäristön kanssa (Wu, 2018, 941). Kun lääke vanhenee, vaikuttavan aineen määrä pienenee. Erilaiset lääkeaineet reagoivat eri tavoin ympäristön kanssa. Reaktioissa lääkeaineet hajoavat ja muuttavat kemiallista rakennettaan. Monella lääkeaineella on useampi tapa reagoida ympäristön kanssa. Tässä kappaleessa käydään läpi joitakin orgaanisten lääkeaineiden reaktioita ympäristön kanssa sekä mahdollisia ratkaisuja säilyvyyden pidentämiseksi.

3.1 Hydrolyysi

Joissakin lääkepakkauksissa voi olla säilytysohjeena, että lääkettä ei tulisi säilyttää kosteissa tiloissa. Tästä voidaan päätellä, että kyseinen lääkeanemolekyyli reagoi helposti veden kanssa. Jos tällainen suositus löytyy pakkauksesta, kannattaa välttää esimerkiksi kylpyhuonetta säilytyspaikkana.

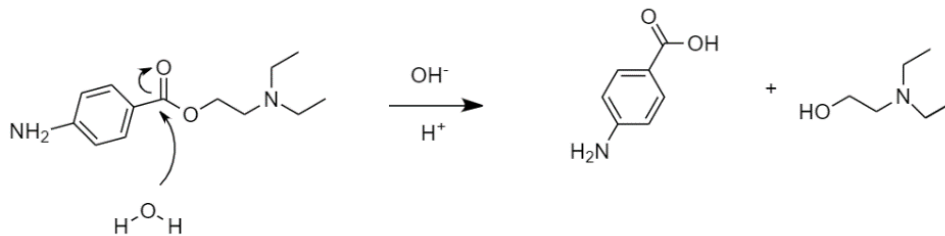
Reaktiota, jossa lääkeaine hajoaa veden vaikutuksesta, kutsutaan hydrolyysiksi (Palmgrén, 2016, 2.). Siinä vesi toimii nukleofiilinä ja hyökkää elektrofiiliseen hiileen, jolloin sidoksia aukeaa ja lääkeaine hajoaa. Molekyyli-rakenteesta ja funktionaalisista ryhmistä riippuen jotkut aineet ovat herkempiä hydrolysoitumaan kuin toiset (Waterman et al. 2002, 116). Elektrofiilit toimivat elektronin vastaanottajina muodostaen uuden sidoksen ja ovat yleensä positiivisesti varautuneita. Nukleofiilit ovat elektronin luovuttajia ja omaavat negatiivisen varauksen. Esimerkkejä hydrolyysiin johtavista ryhmistä esitetään seuraavalla sivulla olevassa taulukossa (taulukko 3).

Taulukko 3: Funktionaalisia ryhmiä, jotka voivat johtaa hydrolyysiin. Ryhmät on esitetty parhaimmasta stabiilisuudesta heikoimpaan. (Waterman et al. 2002, 118.)

Funktionaalinen ryhmä	Rakenne	Esimerkki
Amidi		Asetaminofeeni, kloramfenikoli, oksatsepaami, klooridiatsepoksidi
Laktaami		Pensisilliini G (β -laktaamiantibiootit)
Karbamiiniesterei		Loratadiini, pipatsetaatti
Esteri		Atropiini
Laktoni		Varfariini
Imidi		Barbituraatit
Alkyylikloridi		Klorambusiili
Asetaali		Erytromysiini
Imiini		Diatsepaami, oksatsepaami, klooridiatsepoksidi

Kuten taulukosta 3 voidaan nähdä, hydrolyysireaktioon johtavia ryhmiä on paljon. Onkin siis tärkeää tutkia hyvin lääkeaineen reaktiivisuus. Esteriryhmän voitaisiin sanoa olevan yksi tunnetuimmista hydrolyysiin johtavista funktionaalisista ryhmistä. Vaikka taulukossa 3 on esitetty vain karkeasti ryhmät stabiilisuusjärjestyksessä, voidaan siitä nähdä, ettei esteriryhmä ole kaikista helpoiten hydrolysoituvaa. Helpoiten hydrolyysillä hajoava onkin imiini ja taulukon perusteella huonoiten hajoava amidi. Palmgrénin (2016) mukaan esteriryhmän omaavat lääkeaineet hajoavat kuitenkin helposti veden vaikutuksesta muodostaen hapon ja alkoholin. Yksi esimerkki esteriryhmän omaavasta lääkeaineesta on prokaiini, joka on

puudutusaine. Prokaiinin reaktio veden kanssa esitetään alla olevassa kuvassa (kuva 4). Reaktiossa esteriryhmän hiili toimii elektrofiilinä, jonka kanssa vesimolekyyli reagoi.

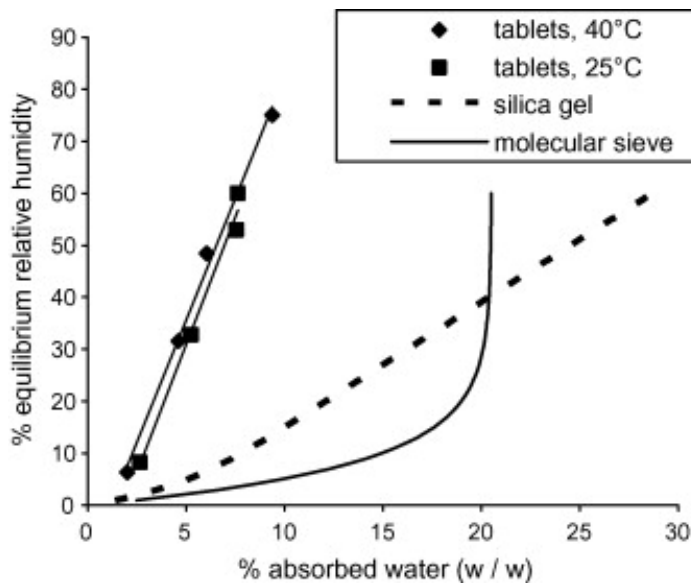


Kuva 3: Prokaiinin hydrolyysireaktiossa syntyy para-aminobentsoehappoa sekä alkoholia

Hydrolyysireaktion reaktiotuotteita tutkittaessa aine altistetaan happamille tai emäksisille olosuhteille. Tämän jälkeen hajoamistuotteet voidaan tunnistaa erilaisilla analyysimenetelmillä. Tulokset antavat suuntaa sille, kuinka herkkä lääkeaine on hydrolyysille. Happo ja emäskatalysoidut hydrolyysireaktiot tapahtuvan nopeammin kuin reaktiot pelkän veden kanssa. (Waterman et al. 2002, 110-111.) Emäshydrolyysissä nukleofiilinä toimii hydroksidi-ioni. Tuotteena syntyy alkoholia ja karboksyylihapon suolaa. Kyseinen reaktio tunnetaan yleisesti saippuoitumisreaktiona.

Lämpötilan vaikutusta hydrolyysin tapahtumiseen tutkitaan Arrheniuksen yhtälöllä. Usein korkeammassa lämpötilassa reaktio tapahtuu herkemmin. (Waterman et al. 2002, 115-138.) Tämä tarkoittaa sitä, että hajoamisreaktio on endoterminen. Endoterminen reaktio tarvitsee energiaa ja lämpöä toimiakseen. Lämmön kasvaessa reaktionopeus kasvaa ja lääkeainemolekyyli hajoaa nopeammin.

Hydrolyysiä pystytään tutkimaan kokeilla, jossa testataan veden imeytymistä lääketabletteihin. Kuvassa 9 on esitetty testitulokset kokeille, jotka on suoritettu kahdessa eri lämpötilassa. Tutkimukset voidaan suorittaa laittamalla tabletteja purkkiin, jonka suhteellinen kosteus tiedetään. Purkkeja punnitaan tietyin väliajoin ja saatu data pystytään esittämään kuvan 5 mukaisesti. (Naveršnik, Bohanec, 2008, 449.)



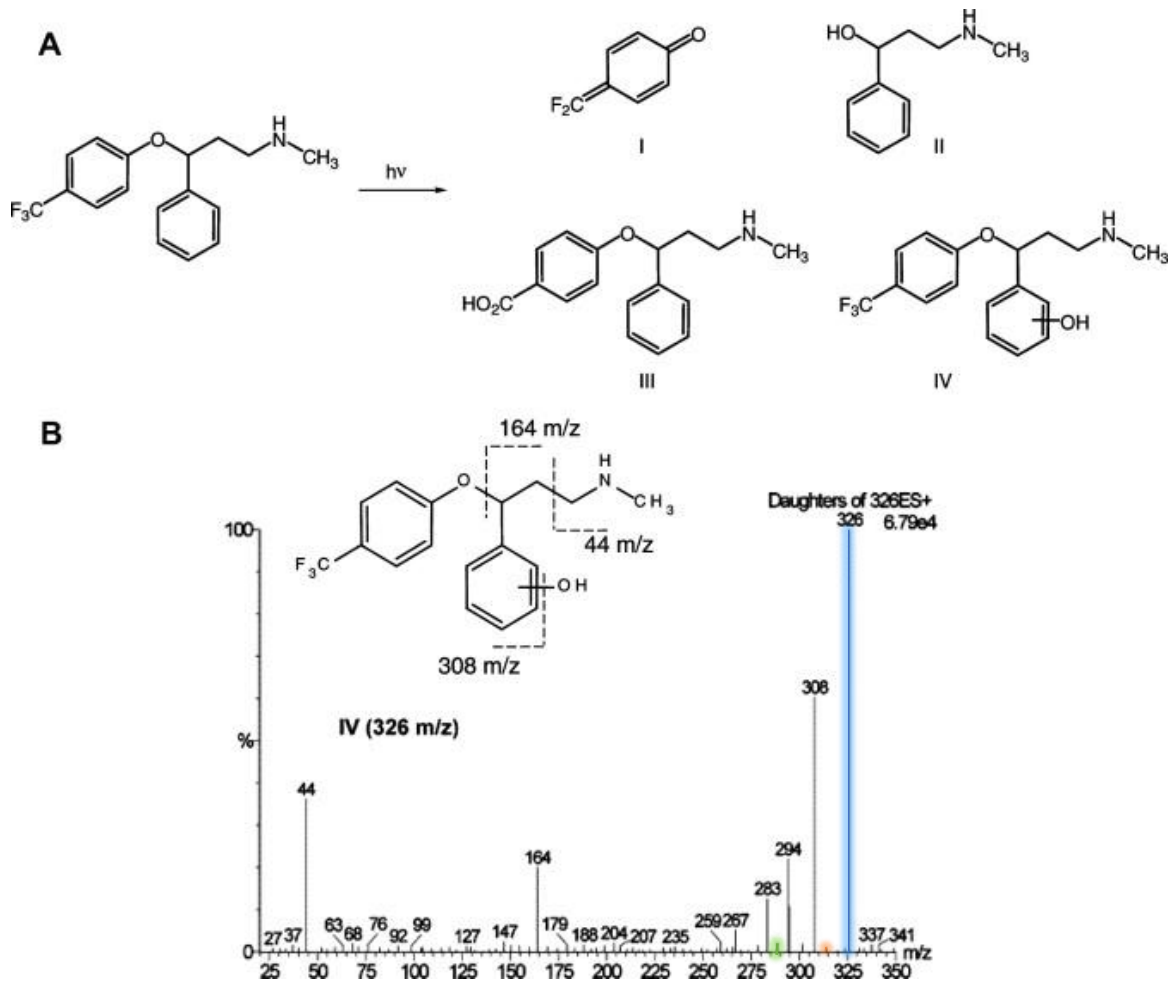
Kuva 5: Suhteellinen kosteus imeytyneen veden funktiona (Naveršnik, Bohanec, 2008, 449)

Painon nousu merkitsee kosteuden määrän nousua purkin sisällä. Molemmista kokeista saadut datat tuottavat lineaariset suorat. Suorista voidaan todeta, että korkeammassa lämpötilassa suoritettussa kokeessa veden imeytyminen on hiukan vähäisempää. (Naveršnik, Bohanec, 2008, 499.)

3.2 Fotolyysi

Altistuessaan valolle lääkeainemolekyylit voi hajota ja muuttaa rakennettaan. Reaktiota, joka tapahtuu aineen absorboidessa valoa, kutsutaan fotolyysiksi. Lääkepakkauksissa suositellaan säilyttämään fotolyysiherkkiä tuote valolta suojattuna.

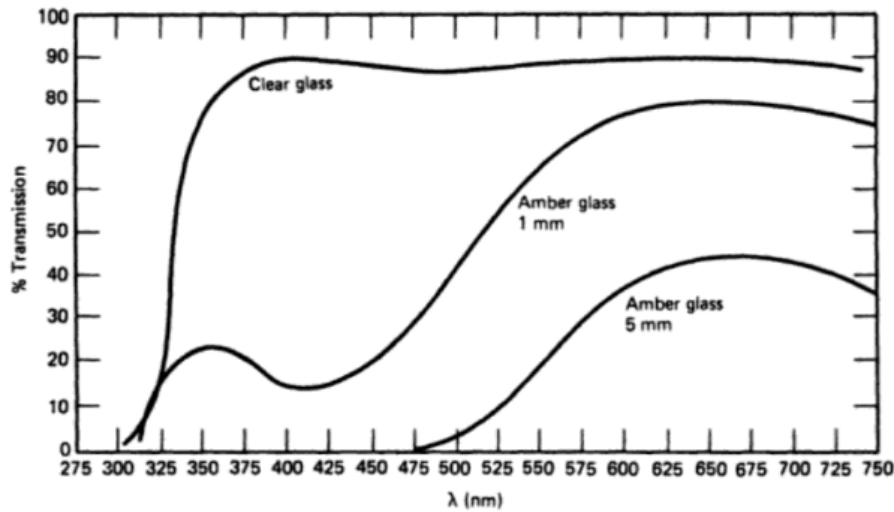
Fotolyysit ovat usein monimutkaisia reaktioita, joista syntyy monia eri reaktiotuotteita useita reittejä pitkin. Esimerkki reaktiosta esitetään kuvassa 6, jossa selvitetään fluoksetiinin mahdollisia hajoamistuotteita LC-MS²-spektrometrillä. Fluoksetiini tunnetaan kaupallisesti nimeltä Prozac ja sitä käytetään bulimian, masennuksen, ahdistuneisuuden sekä pakko-oireiden häiriöiden hoitoon. Spektrometrin analyysitulokset on saatu positiivisella ionisumutusmenetelmällä. (Petrovic et al. 2007, 486-489.)



Kuva 6: Fluoksetiinin fotolyysireaktion tulokset LC-MS²-spektrometrillä. Kuvassa ionien suhteelliset osuudet esitetään massavaraussuhteen funktiona. (Petrovic et al. 2007, 489.)

Fotolyysireaktio tapahtuu herkästi fluoksetiinille. Kuvassa 6 esitetyt tuotteet I, II ja III muodostuvat suoraan ilman välivaiheita. Kuvan datasta voidaan tunnistaa reaktion tuotteita massavaraussuhteiden, m/z -arvojen, avulla. Esimerkiksi fluoksetiini massavaraussuhde 310 näkyy kuvassa oranssilla ja tuotteen III m/z on 286 ja on merkitty kuvaan vihreällä. Tuote IV on syntynyt välivaiheiden kautta ja sen m/z -arvo on suurempi, kuin alkuperäisen yhdisteen. Arvo on 326 ja on merkattu sinisellä kuvaan 6. (Petrovic et al. 2007, 488-489.)

Fotolyysi voidaan ehkäistä helposti pakkaamalla tuote valoa läpäisemättömään säilytysastiaan. Valoherkän lääkeaineen hajoaminen voidaan myös estää suodattamalla valoa niiltä aallonpituuksilta, jotka katalysoivat reaktiota. Käytännössä tämä tapahtuu säilytysastian oikean materiaalin valinnalla. (Connors et al. 1986, 108-111.) Esimerkki tästä löytyy kuvasta 7, jossa esitetään lasityypin ja paksuuden vaikutusta valon läpäisevyyteen.

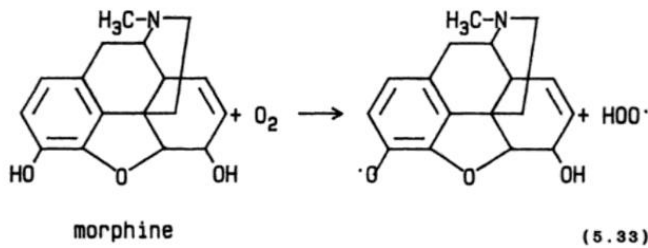


Kuva 7: Eri valon aallonpituuksien läpäisy erityyppisten ja paksuisten lasien lävitse. Valon läpäiseväisyys tulevan valon aallonpituuden funktiona. (Connors et al. 1986.)

Lasien materiaali ja paksuus vaikuttavat kuvan 7 perusteella merkittävästi valon läpäisevyyteen. Tämä voidaan todeta käyrien erilaisuudesta. Valo läpäisee helposti kirkaslasin, mutta ruskealla lasilla läpäisykyky on heikompaa. (Connors et al. 1986, 112.) Tämän perusteella ruskea lasi on parempi pakkausmateriaali fotolyysiherkälle lääkeaineelle.

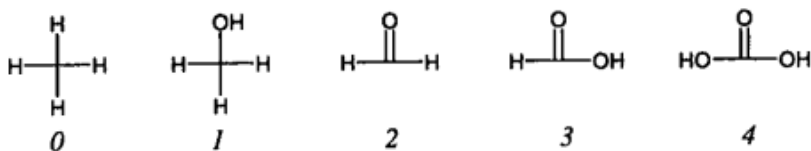
3.3 Hapettuminen

Yksi yleinen lääkeaineiden hajoamisreaktio on hapettuminen. Tällöin hiili menettää vetynsä muodostaen sidoksen toiseen atomiin. Reaktio voi myös tapahtua happipitoisuuden kasvuna molekyyllissä. Hapettuminen voidaan myös määritellä reaktiona, joka lisää elektronegatiivisten atomien lukumäärää molekyyllissä. Näitä ovat esimerkiksi heteroatomit. Yleisiä heteroatomeja ovat happi sekä erilaiset halogeenit. (Waterman et al. 2002, 1-2.) Reaktio on usein hidas ilman katalyyttiä, kuten esimerkiksi valoa. Yksi hapettava lääke on morfiini, jonka hapettumisreaktio esitetään kuvassa 8. Hapetta sisältävät lääkeaineet reagoivat nopeasti liuoksen ollessa neutraali tai emäksinen. (Connors et al. 1986, 98; West, 1947, 1.)



Kuva 8: Morfiinin hapettumisreaktion ensimmäinen vaihe (Connors et al. 1986, 95)

Jos molekyylin uskotaan olevan hapettumiselle mahdollinen, voidaan sille selvittää hapettumisaste. Watermanin (2002) mukaan tämä tapahtuu kolmessa osassa, jotka voidaan listata seuraavasti. Ensin tulee kuvitella, että kaikkiin tyydyttymättömiin eli kaksois- ja kolmoissidoksiin lisätään vesimolekyyli. Mahdollinen rengasrakenne avataan vesimolekyyllillä. Seuraavaksi lasketaan heteroatomien lukumäärä, joka kuvaa molekyylin hapetuslukua. Lopuksi mahdollinen hapettuminen voidaan selvittää vertaamalla lähtöaineiden ja tuotteiden hapetuslukuja. Esimerkki tästä esitetään alla olevassa kuvassa, jossa kursivoidut numerot molekyyliarakenteiden alla kuvaavat niiden hapetuslukuja. (Waterman et al. 2002, 2.)



Kuva 9: Hapetusluvut viidelle eri molekyyliarakenteelle (Waterman et al. 2002, 2)

Hapetusluku on jokaiselle molekyyllille yksilöllinen. Kuvasta 9 voidaan nähdä, että pienetkin erot molekyyliässä antavat molekyyille eri hapetusluvun. Kuvassa heteroatomina toimii ainoastaan happimolekyyli, jota ei ole ollenkaan vasemman puolimmäisimmässä molekyyliässä. Hapetusluku on siten nolla, koska hiilestä ei ole yhtäkään sidosta happeen. Tästä oikealle siirryttäessä hapetusluku kasvaa yhdellä, sillä molekyylistä löytyy happi. Kyseinen happi on sitoutunut yksöissidoksella hiileen, ja hapetusluvun kaksi omaava happimolekyyli on sitoutunut kaksoissidoksella. Samalla tavalla tulevat seuraaville molekyyille hapetusluvut kolme ja neljä.

4 Johtopäätökset

Lääkeaineiden kehittämisessä tulee tuntea laajasti aineen käyttäytyminen erilaisissa olosuhteissa. Orgaanisen kemian tietämys on tärkeä, jotta voidaan ymmärtää molekyylissä tapahtuvat reaktiot ja niiden syyt. Lääkeaineiden kehityksessä ja tutkimuksissa käytetäänkin useita erilaisia menetelmiä, joissa testataan aineen stabiilisuutta erilaisissa olosuhteissa. Näitä olosuhteita ovat esimerkiksi lämpötila, kosteus ja valo. Arrheniuksen yhtälö on yksi tunnettu tapa tutkia, kuinka aine käyttäytyy eri lämpötiloissa. Sen avulla voidaan selvittää aineen reaktioherkkyys huoneenlämmössä. Tämä tapahtuu altistamalla ainetta korkeille lämpötiloille, jolloin reaktio tapahtuu nopeammin ja tutkimustulokset saadaan aikaisessa vaiheessa. Tämä vaihe on osa nopeutettua stabiilisuustestausta ja sen lisäksi suoritetaan vielä vähintään vuoden pituinen reaaliaikainen testaus. Saatujen tuloksien pohjalta kirjoitetaan lääkeaineelle optimaalisimmat säilytysolosuhteet pakkaukseen.

Vääränlaiset säilytysolosuhteet saattavat vaikuttaa lääkeaineen hajoamisnopeuteen kiihdyttävästi. Tästä voi seurata lääkeaineen muuttuminen tehottomaksi tai myrkylliseksi, mitä kuluttaja ei välttämättä osaa ymmärtää. On siis tärkeää tuntea lääke erinomaisesti ennen myyntiin tuomista. Tuotteen säilyvyyteen voidaan vaikuttaa hyvällä ja oikeanlaisella pakkauksella ja stabiilisuustestauksiin perustuvalla oikeanlaisella säilytyksellä. Ymmärrys siitä, että pakkauksen viimeinen käyttöpäivä ja säilytys-suositukset eivät ole vain hatusta vedettyjä lukuja, ovat käyttäjän terveydelle ja luonnolle merkittävä asia.

Stabiilisuustestauksissa testataan lääkeainetta monipuolisesti. Työssä esitetään vain muutama mahdollinen tapa ja apuväline testien suorittamiseksi. Mahdollisia reaktioitakin on paljon enemmän kuin työssä esitetään. Näitä pystyisi tutkimaan runsaasti ennen täyden ymmärryksen saantia lääkeaineiden stabiilisuudesta. Lääkeaineiden lisäksi pystyisi tutkimaan tuotteessa olevia muita aineita ja niiden käyttäytymistä ympäristön kanssa. Lääkekehitys ei siis ole vain yksinkertainen prosessi, jonka kuka tahansa pystyisi tekemään. Kehitys ja tutkimus ovat kuitenkin tärkeitä asioita yhteiskunnan hyväksi. Se mahdollistaa uusien ja tehokkaiden lääkkeiden tuottamisen ja saannin.

Lähteet

- Bajaj S, Singla D, Sakhuja N (2012) Stability testing of pharmaceutical products. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 2(3), 129-138.
- Connors KA, Amidon GL, Stella VJ, (1986) *Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists*: John Wiley & Sons.
- Guideline I (2003) Stability testing of new drug substances and products. *QIA (R2), Current Step* 4(1-24).
- Laakso T (2012) Pakkausmerkintöjen kertomaa. *sic!*, 1-2.
- Marculescu AD, Gavat C, Nechita A, Topor G, Vasilescu LV, Debita M, Axente ER, Trinca LC, Anghel L (2019) Investigation of linearity, detection limit (LD) and quantitation limit (LQ) of active substance from pharmaceutical tablets. *Revista De Chimie* 70(1), 259-262.
- Naveršnik K, Bohanec S (2008) Predicting drug hydrolysis based on moisture uptake in various packaging designs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences; Eur J Pharm Sci* 35(5), 447-456.
- Palmgrén J (2016) Ympäristön vaikutus lääkkeiden säilyvyyteen. *sic!*, 1-2.
- Petrovic M, Petrovic M, Barceló D (2007) LC-MS for identifying photodegradation products of pharmaceuticals in the environment. *TrAC, Trends in Analytical Chemistry (Regular Ed.)* 26(6), 486-493.
- Tsakona M, Anagnostopoulou E, Gidarakos E (2007) Hospital waste management and toxicity evaluation: a case study. *Waste Management* 27(7), 912-920.
- Waterman KC, Adami RC, Alsante KM, Hong J, Landis MS, Lombardo F, Roberts CJ (2002) Stabilization of Pharmaceuticals to Oxidative Degradation. *Pharmaceutical Development and Technology; Pharm Dev Technol* 7(1), 1-32.
- Waterman KC, Adami RC, Alsante KM, Antipas AS, Arenson DR, Carrier R, Hong J, Landis MS, Lombardo F, Shah JC, et al. (2002) Hydrolysis in Pharmaceutical Formulations. *Pharmaceutical Development and Technology; Pharm Dev Technol* 7(2), 113-146.
- West GB (1947) Oxidation of adrenaline in alkaline solution. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy* 2(2), 121.
- Wu Z (2018) Drug stability testing and formulation strategies. *Pharmaceutical Development and Technology; Pharm Dev Technol* 23(10), 941.