



Σχολή Θετικών Επιστημών και Τεχνολογίας

Χημική και Βιομοριακή Ανάλυση

Διπλωματική Εργασία

«Μελέτη της σταθερότητας και ανάπτυξη αναλυτικών μεθόδων για
τους αναστολείς αντλίας πρωτονίων.»

Μελετίου Αικατερίνη Δήμητρα

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Μαλβίνα Όρκουλα

Πάτρα, Ιούνιος 2026

Η παρούσα εργασία αποτελεί πνευματική ιδιοκτησία του φοιτητή Μελετίου Αικατερίνη Δήμητρα που την εκπόνησε. Στο πλαίσιο της πολιτικής ανοικτής πρόσβασης ο συγγραφέας/δημιουργός εκχωρεί στο ΕΑΠ, μη αποκλειστική άδεια χρήσης του δικαιώματος αναπαραγωγής, προσαρμογής, δημόσιου δανεισμού, παρουσίασης στο κοινό και ψηφιακής διάχυσής τους διεθνώς, σε ηλεκτρονική μορφή και σε οποιοδήποτε μέσο, για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, άνευ ανταλλάγματος και για όλο το χρόνο διάρκειας των δικαιωμάτων πνευματικής ιδιοκτησίας. Η ανοικτή πρόσβαση στο πλήρες κείμενο για μελέτη και ανάγνωση δεν σημαίνει καθ' οιονδήποτε τρόπο παραχώρηση δικαιωμάτων διανοητικής ιδιοκτησίας του συγγραφέα/δημιουργού ούτε επιτρέπει την αναπαραγωγή, αναδημοσίευση, αντιγραφή, αποθήκευση, πώληση, εμπορική χρήση, μετάδοση, διανομή, έκδοση, εκτέλεση, «μεταφόρτωση» (downloading), «ανάρτηση» (uploading), μετάφραση, τροποποίηση με οποιονδήποτε τρόπο, τμηματικά ή περιληπτικά της εργασίας, χωρίς τη ρητή προηγούμενη έγγραφη συναίνεση του συγγραφέα/δημιουργού. Ο συγγραφέας/δημιουργός διατηρεί το σύνολο των ηθικών και περιουσιακών του δικαιωμάτων.

«Μελέτη της σταθερότητας και ανάπτυξη αναλυτικών μεθόδων για
τους αναστολείς αντλίας πρωτονίων.»

Μελετίου Αικατερίνη Δήμητρα

Επιτροπή Επίβλεψης Πτυχιακής / Διπλωματικής Εργασίας

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Μαλβίνα Όρκουλα

Επίκουρος Καθηγήτρια Ενόργανης Φαρμα-
κευτικής Ανάλυσης

Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο
Πατρών

Συν-Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Λαμπροπούλου Δήμητρα

Καθηγήτρια Χημείας

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Πάτρα, Ιούνιος 2026

«Με βαθιά εκτίμηση, θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου, Όρκουλα Μαλβίνα, για την καθοδήγηση, τη στήριξη και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε σε όλη τη διάρκεια της εργασίας αυτής.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα τους συμφοιτητές και φίλους μου για τις αμέτρητες ώρες συζήτησης, βοήθειας και ενθάρρυνσης.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου για την αδιάκοπη αγάπη και υπομονή τους, που στάθηκαν ο βασικότερος πυλώνας σε κάθε βήμα της πορείας μου.»

Περίληψη

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματεύεται τη μελέτη της σταθερότητας και την ανάπτυξη αναλυτικών μεθόδων για τους αναστολείς αντλίας πρωτονίων (Proton Pump Inhibitors, PPIs), μια κατηγορία φαρμακευτικών ενώσεων με καθοριστική συμβολή στη σύγχρονη θεραπευτική της γαστρεντερολογίας. Τα PPIs δρουν στο τελικό στάδιο της έκκρισης γαστρικού οξέος, αναστέλλοντας μη αναστρέψιμα την H^+/K^+-ATP άση των τοιχωματικών κυττάρων, γεγονός που οδηγεί σε ισχυρή και παρατεταμένη καταστολή της γαστρικής οξύτητας.

Η εκτεταμένη χρήση των PPIs για τη θεραπεία παθήσεων όπως η γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση, τα πεπτικά έλκη και το σύνδρομο Zollinger–Ellison έχει αναδείξει τη σημασία της διασφάλισης της ποιότητας και της σταθερότητας των φαρμακευτικών τους μορφών. Ωστόσο, οι ενώσεις αυτές παρουσιάζουν έντονη χημική αστάθεια, κυρίως σε όξινο περιβάλλον, καθώς και ευαισθησία σε εξωγενείς παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η υγρασία και η ακτινοβολία. Οι ιδιότητες αυτές οδηγούν σε αποικοδόμηση της δραστικής ουσίας και στον σχηματισμό προϊόντων διάσπασης, τα οποία ενδέχεται να επηρεάσουν την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα των φαρμάκων.

Στο πλαίσιο αυτό, η διερεύνηση της σταθερότητας των PPIs αποτελεί κρίσιμο αντικείμενο μελέτης, τόσο από φαρμακοτεχνική όσο και από αναλυτική σκοπιά. Η κατανόηση των μηχανισμών αποικοδόμησης, καθώς και των παραγόντων που τους επηρεάζουν, είναι απαραίτητη για τον σωστό σχεδιασμό δοσολογικών μορφών και για τον καθορισμό της διάρκειας ζωής των προϊόντων.

Παράλληλα, η ανάπτυξη και επικύρωση αναλυτικών μεθόδων υψηλής αξιοπιστίας αποτελεί βασικό εργαλείο για τον ποιοτικό έλεγχο των PPIs. Τεχνικές όπως η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), η φασματοσκοπία UV–Vis και οι υβριδικές τεχνικές LC-MS/MS χρησιμοποιούνται ευρέως για τον ποσοτικό προσδιορισμό των δραστικών ουσιών και την ανίχνευση προσμίξεων και προϊόντων αποικοδόμησης.

Επιπλέον, ιδιαίτερη σημασία έχει η μελέτη της διαλυτότητας και της διάλυσης των PPIs, καθώς οι ιδιότητες αυτές συνδέονται άμεσα με τη βιοδιαθεσιμότητα και την κλινική τους αποτελεσματικότητα. Η ανάγκη προστασίας των PPIs από το όξινο περιβάλλον του στομάχου έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη εντεροδιαλυτών μορφών, των οποίων η συμπεριφορά διάλυσης αποτελεί κρίσιμο παράγοντα επιτυχούς θεραπείας.

Συνολικά, η εργασία αυτή στοχεύει στη συστηματική προσέγγιση των PPIs από τη σκοπιά της σταθερότητας, της αναλυτικής διερεύνησης και της φαρμακοτεχνικής συμπεριφοράς, συμβάλλοντας στη βελτιστοποίηση της ποιότητας και της ασφάλειας των φαρμακευτικών προϊόντων.

Λέξεις – Κλειδιά

Αναστολείς αντλίας πρωτονίων (PPIs), σταθερότητα φαρμάκων, αποικοδόμηση, ποιοτικός έλεγχος, επικύρωση μεθόδων, φαρμακοκινητική, υγρή χρωματογραφία

Abstract

The present thesis focuses on the study of stability and the development of analytical methods for Proton Pump Inhibitors (PPIs), a class of pharmaceutical compounds with a pivotal role in modern gastroenterological therapy. PPIs act at the final stage of gastric acid secretion by irreversibly inhibiting the $H^+/K^+-ATPase$ of parietal cells, leading to a potent and sustained suppression of gastric acidity.

The widespread use of PPIs in the treatment of conditions such as gastroesophageal reflux disease, peptic ulcers, and Zollinger–Ellison syndrome has highlighted the importance of ensuring the quality and stability of their pharmaceutical formulations. However, these compounds exhibit significant chemical instability, particularly in acidic environments, as well as sensitivity to external factors such as temperature, humidity, and radiation. These properties result in degradation of the active substance and the formation of degradation products, which may affect both the safety and efficacy of the medicinal products.

In this context, the investigation of PPI stability represents a critical area of study from both a pharmaceutical and analytical perspective. Understanding the degradation mechanisms and the factors influencing them is essential for the proper design of dosage forms and the determination of product shelf life.

Furthermore, the development and validation of reliable analytical methods constitute a fundamental tool for the quality control of PPIs. Techniques such as High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), UV–Visible spectroscopy, and hybrid methods such as LC-MS/MS are widely employed for the quantitative determination of active substances as well as for the detection of impurities and degradation products.

In addition, the study of solubility and dissolution behavior is of particular importance, as these properties are directly related to bioavailability and clinical performance. The need to protect PPIs from the acidic gastric environment has led to the development of enteric-coated formulations, whose dissolution characteristics play a critical role in therapeutic effectiveness.

Overall, this work aims to provide a systematic approach to PPIs from the perspectives of stability, analytical evaluation, and pharmaceutical behavior, contributing to the optimization of the quality and safety of pharmaceutical products.

Keywords

Proton Pump Inhibitors (PPIs), drug stability, degradation, quality control, method validation, pharmacokinetics, high-performance liquid chromatography (HPLC)

Περιεχόμενα

Περίληψη	ii
Abstract.....	iii
Περιεχόμενα.....	iv
Κατάλογος Εικόνων / Σχημάτων.....	v
Κατάλογος Πινάκων	vii
Συντομογραφίες & Ακρωνύμια	viii
1. Εισαγωγή	1
1.1 Αναστολείς αντλίας πρωτονίων(PPIs)	1
1.1.1 Εισαγωγή στις αντλίες πρωτονίων(PPIs).....	1
1.1.2 Χημική δομή και μηχανισμός δράσης	2
1.1.3 Φαρμακολογικές ιδιότητες και εφαρμογές	5
1.1.4 Σταθερότητα των PPIs	6
1.2 Ανάπτυξη και επικύρωση αναλυτικών μεθόδων	8
1.2.1 Εισαγωγή στις αναλυτικές τεχνικές.....	8
1.2.2 Βασικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για PPIs	11
1.2.2.1 Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC).....	11
1.2.2.2 UV-Vis Φασματοσκοπία.....	13
1.2.2.3 Υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (LC-MS).....	14
1.2.2.4 Dissolution Testing.....	15
1.2.3 Επικύρωση Αναλυτικών Μεθόδων (Method Validation).....	17
1.2.3.1 Βασικές Παράμετροι Επικύρωσης	17
2. Ανασκόπηση βιβλιογραφίας	20
2.1 Μελέτες σταθερότητας των PPIs	20
2.1.1 Χημική σταθερότητα σε διάφορα pH.	20
2.1.2 Σταθερότητα σε σχέση με θερμοκρασία και φως.....	27
2.1.3 Σταθερότητα στις φαρμακοτεχνικές μορφές (δισκία, κάψουλες, εντερικά επικαλυμμένα).....	35
2.2 Αναλυτικές Τεχνικές και Μελέτες Ποιοτικού Ελέγχου αντλιών πρωτονίων(PPIs)...	41
2.2.1 Μέθοδοι Ποσοτικού Προσδιορισμού (Assay Methods).....	41
2.2.2 Προσδιορισμός Προσμίξεων (Impurity Profiling & Degradation Products).....	48
2.2.3 Μελέτες Διαλυτότητας και Διάλυσης (Dissolution Studies).....	53
3. Συζήτηση-Συμπεράσματα.....	59
Βιβλιογραφία	62

Κατάλογος Εικόνων / Σχημάτων

Εικόνα 1: Οι αναστολείς αντλίας πρωτονίων (PPIs)[5].....	2
Εικόνα 2: Μηχανισμός ενεργοποίησης των αναστολέων αντλίας πρωτονίων (PPIs)[4].....	3
Εικόνα 3: Διαθέσιμες τεχνικές για ανάπτυξη μεθόδου[39].....	9
Εικόνα 4: Συστατικά ενός συστήματος HPLC[41].....	12
Εικόνα 5: Κύρια μέρη ενός UV-VIS φασματοφωτόμετρου[42].....	13
Εικόνα 6: Ροή εργασίας LC-MS[45].....	15
Εικόνα 7: Συσκευή Dissolution[48].....	16
Εικόνα 8: Κύριοι Παράμετροι για την Επικύρωση Αναλυτικής Μεθόδου[50].....	19
Εικόνα 9:Ενδεικτικά χρωματογραφήματα. Η κορυφή 1 αντιστοιχεί στην ομεπραζόλη, η κορυφή 2 στη methyltestosterone (εσωτερικό πρότυπο), ενώ οι κορυφές 3, 4, 5 και 6 αντιστοιχούν στα προϊόντα αποικοδόμησης της ομεπραζόλης. Το χρωματογράφημα Α προέρχεται από πρότυπο διάλυμα, το Β από κάψουλα, το C από διάλυμα που αποικοδομήθηκε με θειικό οξύ και το D από διάλυμα που αποικοδομήθηκε με υδροξείδιο του νατρίου[53]...21	21
Εικόνα 10: Ρεύμα (nA) – χρόνος (s): καμπύλες απομείωσης της ομεπραζόλης, της λανσοπραζόλης και της παντοπραζόλης ($3,00 \times 10^{-5}$) σε διαλύματα, το καθένα ρυθμισμένο (buffered) σε τιμές pH: 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0 και 8,0[54].....	23
Εικόνα 11:Χρωματογραφήματα HPLC για αυθεντικό δείγμα ομεπραζόλης (OME), τα τρία προϊόντα αποικοδόμησης της και το εσωτερικό πρότυπο (flutamide, IS), διατηρημένα στους 393 K σε ξηρό αέρα για 24 ώρες, όπου h είναι το ύψος και t ο χρόνος κατακράτησης μιας κορυφής[58].....	29
Εικόνα 12:Συγκριτικά φάσματα DRIFT των OMS, DOMS και OM[59].....	31
Εικόνα 13: Χρωματογράφημα φωτολυτικής αποικοδόμησης της παντοπραζόλης υπό υπεριώδη ακτινοβολία (UV) στις 4 ώρες[60].....	32
Εικόνα 14: Τυπικά χρωματογραφήματα δείγματος όξινης αποικοδόμησης[61].....	34
Εικόνα 15: Τυπικά χρωματογραφήματα δείγματος θερμικής αποικοδόμησης[61].....	34
Εικόνα 16: Προφίλ αποδέσμευσης του lansoprazole από κάψουλες σε είτε 0.1 N HCl είτε ρυθμιστικό διάλυμα οξικού άλατος (pH 4,5), ακολουθούμενο από φάση ρυθμιστικού διαλύματος (pH 6,8)[62].....	36
Εικόνα 17: Μείωση της επιφάνειας κορυφής (%) της ομεπραζόλης σε διάφορα διαλύματα φθαιλικού οξέος και διαλύματα οργανικών πολυμερών (6% κ.β.) εντός 180 λεπτών. Μέσες τιμές $\pm$ τυπική απόκλιση (SD), $n = 3-8$ [63].....	37
Εικόνα 18: Μέση συγκέντρωση ομεπραζόλης με την πάροδο του χρόνου για υπόθετα ομεπραζόλης 3 mg (a) και 10 mg (b) υπό διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης[64].....	38
Εικόνα 19: Προφίλ διαλυτοποίησης για κάψουλες pantoprazole παρασκευασμένες (compounded) σε μέσο διαλυτοποίησης pH 6,8 και μετά την προσθήκη 100 mL χυμού μήλου και χαμομηλιού, αντίστοιχα, για (a) F4 (κάψουλα με LAC), (b) F5 (κάψουλα με MCC) και (c) F6 (κάψουλα με EXCII)[56].....	39
Εικόνα 20: Το αντιπροσωπευτικό χρωματογράφημα. Η ταυτόχρονη ποσοτικοποίηση της ραμπεπραζόλης, της παντοπραζόλης και της ιτοπρίδης, με χρόνους κατακράτησης (retention times) 5.33, 7.93 και 11.19 λεπτών αντίστοιχα[65].....	42

Εικόνα 21: Τελικό χρωματογράφημα του νατριούχου άλατος της παντοπραζόλης (100 $\mu\text{g/mL}$)[66].....	43
Εικόνα 22: Χρωματογράφημα δείγματος μετά από θερμική αποικοδόμηση[66].....	43
Εικόνα 23: Φάσμα απορρόφησης της lansoprazole σε ακετονιτρίλιο (10 $\mu\text{g/mL}$ lansoprazole)[68].....	45
Εικόνα 24: α Μαζικά χρωματογραφήματα της ομεπραζόλης και της λανσοπραζόλης, β Φάσμα μάζας της ομεπραζόλης και της λανσοπραζόλης, γ Φάσμα μάζας της ομεπραζόλης[69].....	46
Εικόνα 25: Πιθανή οδός αποικοδόμησης της OMP, συμπεριλαμβανομένου του μοριακού τύπου και του μοριακού βάρους[70].....	50
Εικόνα 26: Δομές της (S)-OME και των πιθανών οργανικών προσμίξεων της[71].....	51
Εικόνα 27:Ενδεικτικό διάγραμμα ροής που περιγράφει τις διαφορές συνθήκες καταπόνησης που χρησιμοποιούνται για την αποικοδόμηση της δραστικής ουσίας και του φαρμακευτικού προϊόντος[22].....	52
Εικόνα 28:Εμφάνιση των εντερικά επικαλυμμένων σφαιριδίων (pellets) που περιέχουν ομεπραζόλη στην αρχή της μελέτης και μετά από 60 και 90 ημέρες[74].....	54
Εικόνα 29:Προφίλ αποδέσμευσης φαρμάκου για δύο σκευάσματα pantoprazole σε μέσο FaSSIF, χρησιμοποιώντας τη συσκευή USP apparatus 2, με ταχύτητα περιστροφής 50 rpm[75].....	55
Εικόνα 30: Προφίλ αποδέσμευσης φαρμάκου δύο σκευασμάτων παντοπραζόλης με χρήση μέσου FaSSIF σε συσκευή USP apparatus 3, με ρυθμό εμβάπτισης 10 dpm [75].....	55
Εικόνα 31: Σχηματική απεικόνιση της σχέσης μεταξύ αποδέσμευσης, διάλυσης, απορρόφησης και συστηματικής κυκλοφορίας φαρμάκων από του στόματος φαρμακοτεχνικές μορφές [78]56	
Εικόνα 32:Προφίλ διάλυσης της ομεπραζόλης από δισκίο παρατεταμένης αποδέσμευσης μετά από αποθήκευση σε θάλαμο σταθερότητας στους 40°C/75% σχετική υγρασία (RH)[76].....	57
Εικόνα 33: Σύγκριση της αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας (API) στη φάση του ρυθμιστικού διαλύματος (phosphate buffer pH 6.8, 900 mL) από ελεύθερα minitables (MT) και από minitables εντός ζελατινικής κάψουλας (πάχος επικάλυψης 50 ή 80 μm). Οι συνθήκες της δοκιμής ήταν: συσκευή καλαθιού (basket apparatus), 100 rpm και θερμοκρασία 37 ± 0.5 °C. Πριν από τη φάση του ρυθμιστικού διαλύματος, τα δείγματα υποβλήθηκαν σε όξινη φάση διάλυσης (0.1 M HCl, 900 mL για 2 ώρες). Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές (n=6)[77].....	58

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1: Φαρμακοκινητικές ιδιότητες των αναστολέων αντλίας πρωτονίων (PPIs)[1].....	6
Πίνακας 2: Προϊόντα αποικοδόμησης που σχηματίστηκαν κατά την εξαναγκασμένη όξινη αποικοδόμηση[55].....	24
Πίνακας 3: Προϊόντα αποικοδόμησης που σχηματίστηκαν κατά την εξαναγκασμένη βασική αποικοδόμηση[55].....	25
Πίνακας 4: Συγκριτική αξιολόγηση των κυριότερων αναλυτικών τεχνικών που χρησιμοποιούνται για τον ποσοτικό προσδιορισμό των αναστολέων αντλίας πρωτονίων, ως προς τα πλεονεκτήματα, τους περιορισμούς και τις βασικές εφαρμογές τους[65][66][67][68][69].....	47

Συντομογραφίες & Ακρωνύμια

- PPIs – Proton Pump Inhibitors (Αναστολείς Αντλίας Πρωτονίων)
- H^+/K^+ -ATPάση – Αντλία πρωτονίων/καλίου
- H₂ – Υποδοχείς ισταμίνης τύπου 2
- GERD – Gastroesophageal Reflux Disease (Γαστροοισοφαγική Παλινδρόμηση)
- pK_a – Οξύτητα σταθερά (acid dissociation constant)
- TM5 / TM6 – Transmembrane helix 5 / 6 (διαμεμβρανικές περιοχές 5 και 6)
- SAR – Structure–Activity Relationship (Σχέση Δομής–Δραστικότητας)
- Zn²⁺ – Ιόν ψευδαργύρου (zinc ion)
- T_{max}- Time to Maximum Plasma Concentration – Χρόνος επίτευξης μέγιστης συγκέντρωσης στο πλάσμα
- t_{1/2} - Half life-Χρόνος ημιζωής
- CYP-Cytochrome P450 – Κυτοχρωμικό σύστημα P450 (ένζυμα μεταβολισμού φαρμάκων)
- CYP2C19/CYP3A4-Ισοένζυμα του κυτοχρώματος P450 που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των PPIs
- DPPH assay-2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay – Δοκιμασία ελεύθερων ριζών
- PMs(Poor Metabolizers)-Χαμηλοί/φτωχοί μεταβολιστές (γενετικός φαινότυπος CYP2C19)
- EMs(Extensive Metabolizers)- Εκτενείς/κανονικοί μεταβολιστές (γενετικός φαινότυπος CYP2C19)
- UVA / UVC – Τύποι υπεριώδους ακτινοβολίας (Ultraviolet A / Ultraviolet C)
- HPLC – High-Performance Liquid Chromatography (Υψηλής Απόδοσης Υγρή Χρωματογραφία)
- TLC – Thin Layer Chromatography (Λεπτόστιβη Χρωματογραφία)
- HPTLC – High Performance Thin Layer Chromatography (Χρωματογραφία Λεπού Στρώματος Υψηλής Απόδοσης)
- GC – Gas Chromatography (Αέρια Χρωματογραφία)
- UV-Vis – Ultraviolet–Visible Spectroscopy (Υπεριώδης–Ορατή Φασματοσκοπία)
- IR – Infrared Spectroscopy (Υπέρυθρη Φασματοσκοπία)
- NMR – Nuclear Magnetic Resonance (Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός)
- SPE – Solid Phase Extraction (Εκχύλιση Στερεάς Φάσης)
- SPME – Solid Phase Microextraction (Μικροεκχύλιση Στερεάς Φάσης)
- GC-MS – Gas Chromatography–Mass Spectrometry (Αέρια Χρωματογραφία–Φασματομετρία Μάζας)
- LC-MS – Liquid Chromatography–Mass Spectrometry (Υγρή Χρωματογραφία–Φασματομετρία Μάζας)
- HRMS – High Resolution Mass Spectrometry (Φασματομετρία Μάζας Υψηλής Ανάλυσης)
- API-Active Pharmaceutical Ingredient (Δραστική Φαρμακευτική Ουσία)
- LC – Liquid Chromatography (Υγρή Χρωματογραφία)

- UHPLC – Ultra High Performance Liquid Chromatography (Υπερυψηλής Απόδοσης Υγρή Χρωματογραφία)
- LC-MS/MS – Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry (Διαδοχική Φασματομετρία Μάζας σε συνδυασμό με Υγρή Χρωματογραφία)
- MS/MS – Tandem Mass Spectrometry (Διαδοχική Φασματομετρία Μάζας)
- ESI – Electrospray Ionization (Ιονισμός με Ηλεκτροψεκασμό)
- APCI – Atmospheric Pressure Chemical Ionization (Χημικός Ιονισμός σε Ατμοσφαιρική Πίεση)
- APPI – Atmospheric Pressure Photoionization (Φωτοϊονισμός σε Ατμοσφαιρική Πίεση)
- MRM – Multiple Reaction Monitoring (Παρακολούθηση Πολλαπλών Αντιδράσεων)
- SRM – Selected Reaction Monitoring (Παρακολούθηση Επιλεγμένων Αντιδράσεων)
- SIM – Selected Ion Monitoring (Παρακολούθηση Επιλεγμένου Ιόντος)
- QqQ – Triple Quadrupole Mass Analyzer (Τριπλός Τετραπολικός Αναλυτής Μάζας)
- TOF – Time of Flight (Αναλυτής Χρόνου Πτήσης)
- Q-TOF – Quadrupole Time of Flight (Τετραπολικός Αναλυτής σε συνδυασμό με TOF)
- LOD – Limit of Detection (Όριο Ανίχνευσης)
- LOQ – Limit of Quantification (Όριο Ποσοτικοποίησης)
- S/N – Signal-to-Noise Ratio (Λόγος Σήματος προς Θόρυβο)
- m/z – Mass-to-Charge Ratio (Λόγος Μάζας προς Φορτίο)
- QC – Quality Control (Ποιοτικός Έλεγχος)
- USP-United States Pharmacopeia
- ICH-International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use
- FDA-Food and Drug Administration
- RSD (%) -Relative Standard Deviation
- pH – potential of hydrogen (Δείκτης οξύτητας/αλκαλικότητας διαλύματος)
- DPP – Differential Pulse Polarography (Διαφορική Παλμική Πολαρογραφία)
- SMDE – Static Mercury Drop Electrode (Στατικό Ηλεκτρόδιο Σταγόνας Υδραργύρου)
- EP10 – European Pharmacopoeia 10th Edition (Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία, 10η έκδοση)
- rpm – revolutions per minute (Στροφές ανά λεπτό)
- NaHCO₃ – Sodium Bicarbonate (Διττανθρακικό Νάτριο)
- NaOH – Sodium Hydroxide (Υδροξείδιο του Νατρίου)
- HCl – Hydrochloric Acid (Υδροχλωρικό Οξύ)
- TFA – Trifluoroacetic Acid (Τριφθοροοξικό Οξύ)
- NH₄OAc – Ammonium Acetate (Οξικό Αμμώνιο)
- NH₄HCO₃ – Ammonium Bicarbonate (Διττανθρακικό Αμμώνιο)
- IS – Internal Standard (Εσωτερικό Πρότυπο)
- RP-HPLC – Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography (Υγρή Χρωματογραφία Αντίστροφης Φάσης Υψηλής Απόδοσης)
- CSH C18 – Charged Surface Hybrid C18 (Υβριδική φορτισμένη στατική φάση C18)
- COSY – Correlation Spectroscopy (Φασματοσκοπία Συσχέτισης)

- HMBC – Heteronuclear Multiple Bond Correlation (Ετεροπυρηνική Συσχέτιση Πολλών Δεσμών)
- HSQC – Heteronuclear Single Quantum Coherence (Ετεροπυρηνική Συσχέτιση Μονής Κβαντικής Συνοχής)
- NOE – Nuclear Overhauser Effect (Πυρηνικό Φαινόμενο Overhauser)
- DMSO-d₆ – Deuterated Dimethyl Sulfoxide (Δευτεριωμένο Διμεθυλοσουλφοξείδιο)
- Ag/AgCl – Silver/Silver Chloride reference electrode (Ηλεκτρόδιο αναφοράς Αργύρου/Χλωριούχου Αργύρου)
- A₀ – Initial concentration (Αρχική συγκέντρωση)
- k – Degradation rate constant (Σταθερά ταχύτητας αποικοδόμησης)
- f₁ / f₂ – Difference factor / Similarity factor (Παράγοντας διαφοράς / Παράγοντας ομοιότητας προφίλ διαλυτοποίησης)
- ANOVA – Analysis of Variance (Ανάλυση Διακύμανσης)
- SPSS – Statistical Package for the Social Sciences (Στατιστικό Πακέτο SPSS)
- RH – Relative Humidity (Σχετική Υγρασία)
- DAD – Diode Array Detector (Ανιχνευτής Διάταξης Διοδίων)
- TG – Thermogravimetry (Θερμοβαρυνμετρία)
- DTG – Derivative Thermogravimetry (Παράγωγη Θερμοβαρυνμετρία)
- DSC – Differential Scanning Calorimetry (Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης)
- DRIFT – Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform (Φασματοσκοπία Υπέρυθρης Διάχυτης Ανάκλασης)
- SEM – Scanning Electron Microscopy (Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης)
- XRPD – X-Ray Powder Diffraction (Περίθλαση Ακτίνων Χ σε Κονιοποιημένα Δείγματα)
- OMS – Omeprazole Sodium (Νάτριο ομεπραζόλης)
- DOMS – Dehydrated Omeprazole Sodium (Αφυδατωμένη μορφή νατρίου ομεπραζόλης)
- OM – Omeprazole (Ελεύθερη βάση ομεπραζόλης)
- CAP – Cellulose Acetate Phthalate
- HP-55 – Hydroxypropyl Methylcellulose Phthalate
- HPMCAS – Hydroxypropyl Methylcellulose Acetate Succinate
- LAC – Lactose
- MCC – Microcrystalline Cellulose
- N – Normality
- FaSSIF – Fasted State Simulated Intestinal Fluid
- FeSSIF – Fed State Simulated Intestinal Fluid
- IVIVC – In Vitro–In Vivo Correlation

1. Εισαγωγή

1.1 Αναστολείς αντλίας πρωτονίων

1.1.1 Εισαγωγή στις Αντλίες Πρωτονίων (PPIs)

Οι αναστολείς αντλίας πρωτονίων (Proton Pump Inhibitors – PPIs) αποτελούν μία από τις σημαντικότερες φαρμακολογικές ανακαλύψεις στη σύγχρονη γαστρεντερολογία. Πρόκειται για φάρμακα που δρουν στο τελικό στάδιο της γαστρικής έκκρισης οξέος, αναστέλλοντας την πρωτονική αντλία H^+/K^+-ATP άση στα τοιχωματικά κύτταρα του στομάχου και οδηγώντας σε ισχυρή και παρατεταμένη μείωση της έκκρισης υδροχλωρικού οξέος. Η εισαγωγή τους επέφερε σημαντική αλλαγή στην αντιμετώπιση μιας σειράς κοινών αλλά και πολύ σοβαρών παθήσεων του ανώτερου γαστρεντερικού[1].

Η ιστορική εξέλιξη των PPIs ξεκίνησε ήδη από τη δεκαετία του 1960, όταν έγινε σαφές ότι οι H_2 -ανταγωνιστές, αν και αποτελεσματικοί σε κάποιο βαθμό, παρουσίαζαν περιορισμούς όπως ταχυφυλαξία, μειωμένη νυχτερινή δράση και αδυναμία ελέγχου σοβαρών μορφών υπερέκκρισης οξέος. Η ανάπτυξη της ομεπραζόλης από ερευνητές της AstraZeneca αποτέλεσε ορόσημο, οδηγώντας το 1989 στην πρώτη έγκριση PPI για κλινική χρήση. Έκτοτε ακολούθησε μια ταχεία εξέλιξη της κατηγορίας, με την κυκλοφορία νεότερων PPIs που στόχευαν στη βελτίωση της φαρμακοκινητικής και της διάρκειας δράσης[2].

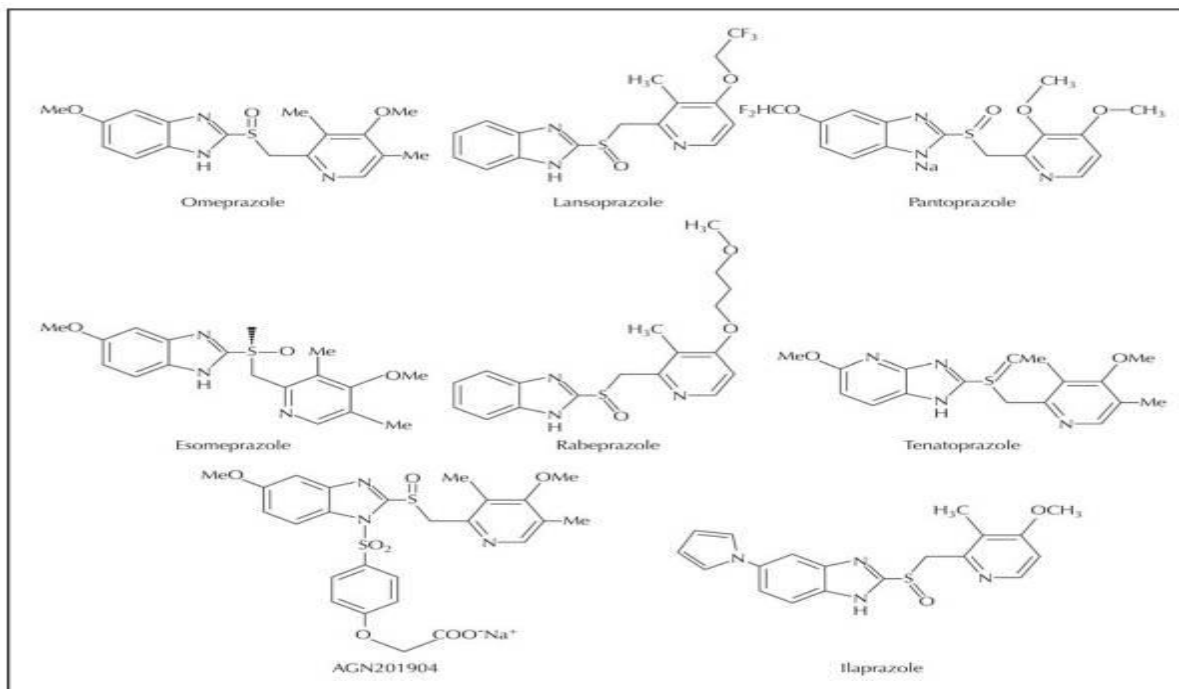
Η κατανόηση του μηχανισμού δράσης των PPIs αποτέλεσε τη βάση για την ανάπτυξη πιο εξελιγμένων μορίων. Οι PPIs αναπτύχθηκαν για να αντιμετωπίσουν έναν κεντρικό παθοφυσιολογικό μηχανισμό: τη χρόνια και συχνά υποτροπιάζουσα υπερέκκριση γαστρικού οξέος, η οποία αποτελεί βασικό παράγοντα παθήσεων όπως η γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση (GERD), τα πεπτικά έλκη, η οισοφαγίτιδα και το σύνδρομο Zollinger–Ellison. Τα παλαιότερα φάρμακα είχαν περιορισμένη αποτελεσματικότητα, καθώς δρούσαν σε ανώτερα σημεία της οδού παραγωγής οξέος. Η αναστολή της τελικής αντλίας επέτρεψε βαθύτερη και σταθερότερη καταστολή της γαστρικής οξύτητας μειώνοντας τις υποτροπές και επιταχύνοντας την επούλωση του βλεννογόνου[3].

Από τη στιγμή που εισήχθησαν στην ιατρική πρακτική, οι PPIs υιοθετήθηκαν γρήγορα ως θεραπεία πρώτης γραμμής για μια ευρεία γκάμα παθολογικών καταστάσεων. Τα πεπτικά έλκη, που παλαιότερα απαιτούσαν μακροχρόνια θεραπεία, σήμερα αντιμετωπίζονται αποτελεσματικά με PPIs. Επιπλέον, η χρήση τους στη θεραπεία εκρίζωσης του *Helicobacter pylori* — σε συνδυασμό με δύο ή περισσότερα αντιβιοτικά — αποτέλεσε άλλη μια σημαντική εφαρμογή που οδήγησε σε μείωση των υποτροπών των ελκών σε παγκόσμιο επίπεδο. Η μεγάλη αποτελεσματικότητα και η γενικά υψηλή ασφάλεια των PPIs εξηγούν την ραγδαία και εκτεταμένη διάδοσή τους διεθνώς[1].

Η χημική βάση των PPIs περιλαμβάνει παράγωγα βενζιμιδαζόλης, στα οποία διαφοροποιήσεις στη δομή των δακτυλίων πυριδίνης και βενζιμιδαζόλης καθορίζουν τις μικρές φαρμακολογικές διαφορές. Οι κυριότερες δραστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται σήμερα είναι οι:

- **Omeprazole** (πρωτογενής μορφή)
- **Esomeprazole** (το S-ισομερές της ομεπραζόλης)
- **Pantoprazole**
- **Lansoprazole**
- **Dexlansoprazole**
- **Rabeprazole**

Αν και όλα τα μόρια έχουν παρόμοια δομή και μηχανισμό δράσης, οι διαφορές στον μεταβολισμό από το CYP2C19 προκαλούν αποκλίσεις σε διάρκεια και ένταση δράσης[1].



Εικόνα 1: Οι αναστολείς αντλίας πρωτονίων (PPIs)[5].

Η ευρεία διάδοση των PPIs είχε ως αποτέλεσμα και σημαντικές συζητήσεις σχετικά με τον ορθολογικό τρόπο χρήσης τους. Παρότι θεωρούνται ασφαλή, η χρόνια και συχνά αδικαιολόγητη χρήση τους σε πρωτοβάθμια φροντίδα έχει συνδεθεί με πιθανά προβλήματα, όπως ανεπάρκεια μαγνησίου, αυξημένο κίνδυνο λοιμώξεων και πιθανές αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα. Η ιατρική κοινότητα έχει πλέον υιοθετήσει πιο προσεκτικές στρατηγικές συνταγογράφησης, δίνοντας έμφαση στη μικρότερη αναγκαία δόση για το μικρότερο απαραίτητο διάστημα[2].

Ωστόσο, σε σύγκριση με τα παλαιότερα φάρμακα, η συμβολή των PPIs στην ποιότητα ζωής και στη μείωση των επιπλοκών των ασθενειών του ανώτερου γαστρεντερικού παραμένει καθοριστική. Η δυνατότητά τους να επιτυγχάνουν 24ωρη καταστολή οξέος, η σχετικά προβλέψιμη φαρμακοδυναμική δράση και η καλή ανοχή τους από τους ασθενείς, τα καθιστούν αναγκαία στη σύγχρονη γαστρεντερολογική θεραπευτική. Παράλληλα, η έρευνα συνεχίζεται, με στόχο την ανάπτυξη ακόμη πιο σταθερών και αποτελεσματικών μορίων που θα ανταποκρίνονται στις νέες κλινικές ανάγκες[3].

1.1.2 Χημική δομή και μηχανισμός δράσης

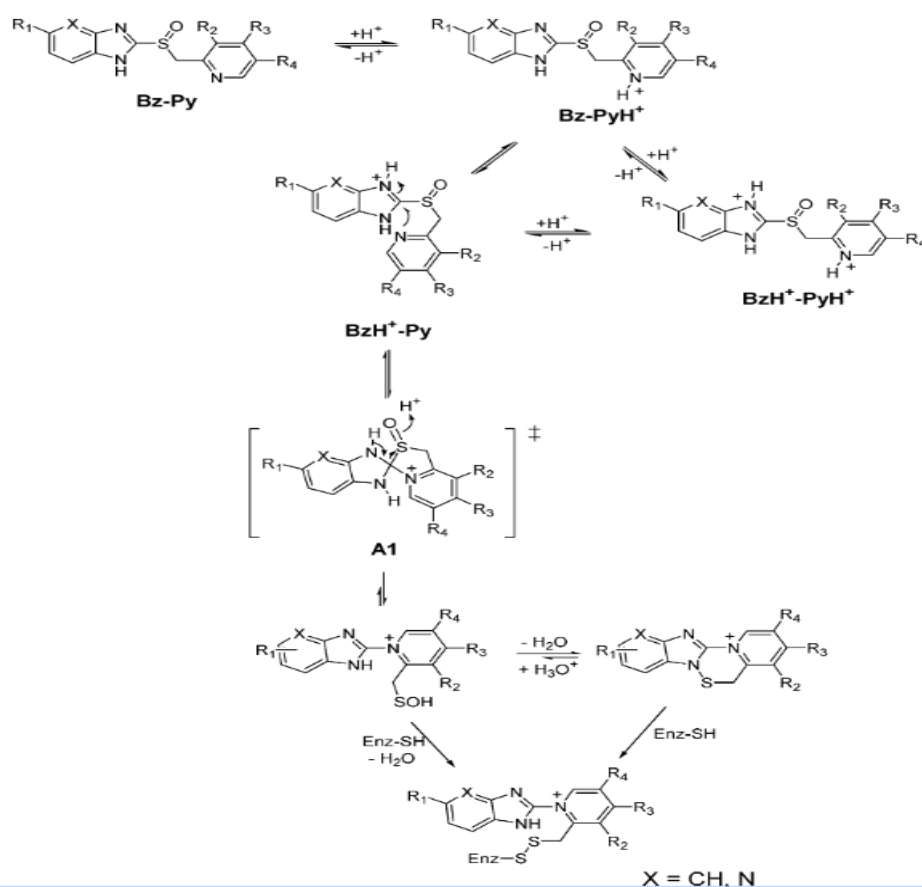
Κεντρικό χαρακτηριστικό των PPIs είναι η παρουσία δύο άζωτων με διαφορετικά pKa: το ένα στον πυριδινικό δακτύλιο (~4) και το άλλο στο βενζιμιδαζολικό τμήμα (~1) [5]. Το πυριδινικό άζωτο πρωτονώνεται εύκολα στο όξινο περιβάλλον του εκκριτικού καναλικούλιου των τοιχωματικών κυττάρων, γεγονός που επιτρέπει την τοπική συσσώρευση του φαρμάκου. Αντίθετα, το βενζιμιδαζολικό άζωτο πρωτονώνεται μόνο σε πολύ χαμηλό pH, οδηγώντας σε χημική αναδιάταξη και στον σχηματισμό του ενεργού, ιδιαίτερα αντιδραστικού είδους. Η ευαισθησία των PPIs σε όξινο pH σχετίζεται άμεσα με αυτόν τον μηχανισμό ενεργοποίησης, γεγονός που

καθιστά τη σταθερότητα κρίσιμο παράγοντα για τη διατήρηση της δραστηρότητας και της φαρμακευτικής τους αποτελεσματικότητας[4][5].

Η χημική δομή των PPIs επιτρέπει την τροποποίηση υποκαταστατών γύρω από τον πυριδινικό και τον βενζιμιδαζολικό δακτύλιο. Οι διαφοροποιήσεις αυτές επηρεάζουν το pKa, τη σταθερότητα σε όξινο pH και τον ρυθμό πρωτονίωσης, με συνέπεια τη διαμόρφωση της ταχύτητας σχηματισμού του ενεργού είδους (sulfenamide ή sulfenic acid) το οποίο αποτελεί το δραστικό αναστολέα της αντλίας [8]. Για παράδειγμα, μελέτες δείχνουν ότι η παρουσία ηλεκτρονενδοσπαστικών ομάδων στην πυριδίνη μειώνει το pKa, επιτρέποντας ταχύτερη συσσώρευση στο όξινο κανάλι, ενώ υποκαταστάτες στο βενζιμιδαζολικό δακτύλιο επηρεάζουν τη σταθερότητα του ενδιάμεσου [8][9].

Τα PPIs είναι προφάρμακα, δηλαδή κυκλοφορούν αδρανή στο αίμα και ενεργοποιούνται μόνο στο όξινο περιβάλλον του εκκριτικού καναλικούλιου των τοιχωματικών κυττάρων [6]. Η διαδικασία ενεργοποίησης περιλαμβάνει τα ακόλουθα βήματα:

1. Πρωτονίωση στο πυριδινικό άζωτο: Αυξάνει την κατανομή του φαρμάκου στο όξινο κανάλι.
2. Πρωτονίωση στο βενζιμιδαζολικό άζωτο: Προκαλεί αναδιάταξη της μοριακής δομής.
3. Σχηματισμός sulfenamide ή sulfenic acid: Τα ενδιάμεσα αυτά είναι θειόφιλα και ικανά να σχηματίσουν δισουλφιδικούς δεσμούς με κυστεΐνες της $H^+/K^+-ATPάσης$ [6][8].
4. Δέσμευση με κυστεΐνες: Ο σχηματισμός δισουλφιδικού δεσμού απαιτεί ένα ενεργειακό φράγμα, το οποίο καθορίζει την αποτελεσματικότητα και τη διάρκεια δράσης [8].



Εικόνα 2: Μηχανισμός ενεργοποίησης των αναστολέων αντλίας πρωτονίων (PPIs)[4].

Το ενεργό είδος συνδέεται κυρίως μέσω δισουλφιδικού δεσμού με την Cys813, που βρίσκεται σε μια βρόχο περιοχή ανάμεσα στις διαμεμβρανικές περιοχές TM5 και TM6 της αντλίας. Υπάρχουν διαφορές μεταξύ των PPIs όσον αφορά τις «δευτερεύουσες» κυστεΐνες που στοχεύουν: η ομεπραζόλη συνδέεται με Cys813 και Cys892, η λανσοπραζόλη με Cys813 και Cys321, ενώ η παντοπραζόλη μπορεί να στοχεύσει την Cys822 εκτός από την Cys813. Η διαφορά εξαρτάται από τον ρυθμό ενεργοποίησης: γρήγορη ενεργοποίηση συνδέεται με επιφανειακές κυστεΐνες, ενώ αργή μπορεί να οδηγήσει σε δέσμευση σε πιο απομακρυσμένες κυστεΐνες, επηρεάζοντας τη σταθερότητα του δεσμού και τη διάρκεια της αναστολής. Επιπλέον, η πρόσβαση της ενδοκυτταρικής γλουταθειόνης μπορεί να αναστρέψει ορισμένους δισουλφιδικούς δεσμούς, διαφοροποιώντας τη διάρκεια δράσης των PPIs [4][5][6][7].

Οι σχέσεις δομής-δραστικότητας (SAR) δείχνουν ότι τα υποκατάστατα γύρω από τους πυριδινικούς και βενζιμιδαζολικούς δακτυλίους επηρεάζουν το pKa, τον ρυθμό πρωτονίωσης και τη σταθερότητα του ενδιάμεσου, καθορίζοντας πόσο γρήγορα σχηματίζεται η sulfenamide ή το sulfenic acid. Από φαρμακολογικά δεδομένα, η διάρκεια αναστολής ποικίλλει μεταξύ των PPIs και συνδέεται με το ποια κυστεΐνη στοχεύεται και πόσο σταθερός είναι ο δεσμός. Η παντοπραζόλη, για παράδειγμα, εμφανίζει πολύ αργή αποκατάσταση της αντλίας (πάνω από 46 ώρες), λόγω δέσμευσης στην Cys822, η οποία δεν είναι εύκολα αναστρέψιμη μέσω αναγωγής. Επιπλέον, μελέτες ατομικής κλίμακας δείχνουν ότι το ενεργειακό φράγμα σχηματισμού του δισουλφιδικού δεσμού εξαρτάται από την ακριβή δομή του PPI, επηρεάζοντας την αποτελεσματικότητα και τη σταθερότητα [8][9].

Πρόσφατα ευρήματα δείχνουν ότι ορισμένα PPIs, όπως η ραβεπραζόλη, μπορούν να ενεργοποιηθούν όχι μόνο από όξινο pH, αλλά και μέσω εναλλακτικών μηχανισμών, όπως πρωτεΐνες με κέντρα ψευδαργύρου (Zn^{2+}). Σε αυτές τις περιπτώσεις, το Zn^{2+} δρα ως Lewis οξύ και προάγει την ενεργοποίηση και σύζευξη με θειολικές ομάδες. Αυτό υποδηλώνει ότι οι PPIs ενδέχεται να αλληλεπιδρούν και με άλλες πρωτεΐνες εκτός της H^+/K^+ -ATPάσης, εξηγώντας πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες. Για παράδειγμα, η ομεπραζόλη μπορεί να σχηματίσει σταθερά σύμπλοκα με άλλες πρωτεΐνες, όπως έχει δειχθεί σε σχετικές μελέτες [10][11][12].

Οι παραπάνω μηχανισμοί έχουν σημαντικές φαρμακολογικές και κλινικές επιπτώσεις. Η ανάγκη για όξινο περιβάλλον σημαίνει ότι οι φαρμακοτεχνικές μορφές των PPIs απαιτούν προστασία από πρόωρη ενεργοποίηση (π.χ. εντερική επικάλυψη). Οι διαφορές στον ρυθμό ενεργοποίησης και στη σταθερότητα της δέσμευσης επηρεάζουν τη διάρκεια δράσης: τα PPIs που ενεργοποιούνται αργά και στοχεύουν «βαθύτερες» κυστεΐνες παρέχουν παρατεταμένη καταστολή οξέος. Η διαθεσιμότητα της γλουταθειόνης σε συγκεκριμένες κυστεΐνες καθορίζει τον ρυθμό αποκατάστασης της αντλίας, ενώ οι νέοι μηχανισμοί ενεργοποίησης μέσω Zn-centers ανοίγουν προοπτικές για τον σχεδιασμό νέων PPIs και για την κατανόηση εκτός στόχου επιδράσεων [5][6][8][10][12].

1.1.3 Φαρμακολογικές ιδιότητες και εφαρμογές.

Τα PPIs εμφανίζουν σημαντικές διαφορές στη βιοδιαθεσιμότητα, στον χρόνο επίτευξης της μέγιστης συγκέντρωσης στο πλάσμα (T_{max}), στη διάρκεια ημιζωής και στην κάθαρση. Για παράδειγμα, η βιοδιαθεσιμότητα της παντοπραζόλης φτάνει περίπου το 77%, ενώ της λανσοπραζόλης κυμαίνεται στο 80–85%. Αντίστοιχα, η βιοδιαθεσιμότητα της εσομεπραζόλης κυμαίνεται μεταξύ 64–90%, αναδεικνύοντας ότι το κάθε PPI έχει μοναδικό φαρμακοκινητικό προφίλ. Επίσης, ο χρόνος T_{max} διαφέρει μεταξύ των διαφορετικών μορίων, με την παντοπραζόλη να φτάνει στο μέγιστο πλάσμα σε 2–3 ώρες, η λανσοπραζόλη σε περίπου 1.7 ώρες και η ραμπεπραζόλη σε 2–5 ώρες. Παρά το γεγονός ότι όλα τα PPIs έχουν μικρή ημιζωή (1–2 ώρες), η διάρκεια δράσης τους είναι πολύ μεγαλύτερη λόγω της μη αναστρέψιμης αναστολής της αντλίας πρωτονίων[1][13].

Αν και τα PPIs έχουν παρόμοια τελική κλινική αποτελεσματικότητα, η ταχύτητα με την οποία αρχίζουν να καταστέλλουν την παραγωγή οξέος διαφέρει μεταξύ τους. Η ραμπεπραζόλη παρουσιάζει μία από τις πιο γρήγορες ενάρξεις δράσης και υψηλότερη αύξηση στο ενδογαστρικό pH μετά την πρώτη δόση, σε σχέση με την ομεπραζόλη. Παρ' όλα αυτά, όταν εξετάζεται η επούλωση των γαστρικών και δωδεκαδακτυλικών ελκών ή της οισοφαγίτιδας, τα PPIs—όπως ομεπραζόλη, παντοπραζόλη, λανσοπραζόλη και ραμπεπραζόλη εμφανίζουν ισοδύναμη αποτελεσματικότητα όταν χορηγούνται στις εγκεκριμένες δοσολογίες[6][14].

Ένα από τα πιο σημαντικά σημεία διαφοροποίησης μεταξύ των PPIs είναι ο τρόπος μεταβολισμού τους. Τα περισσότερα PPIs μεταβολίζονται από τα ισοένζυμα CYP2C19 και CYP3A4 του κυτοχρώματος P450. Η ομεπραζόλη επιδεικνύει υψηλή συγγένεια με το CYP2C19, γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο αλληλεπιδράσεων με άλλα φάρμακα, ειδικά σε ασθενείς που λαμβάνουν φαρμακευτικούς παράγοντες με στενό θεραπευτικό εύρος. Αντιθέτως, η παντοπραζόλη και η ραμπεπραζόλη εμφανίζουν χαμηλότερο κίνδυνο αλληλεπιδράσεων, καθιστώντας τα ασφαλέστερες επιλογές σε ασθενείς με πολυφαρμακία, ηλικιωμένους ή άτομα με ηπατική επιβάρυνση. Αυτές οι διαφορές έχουν σημαντικές κλινικές επιπτώσεις και αποτελούν καθοριστικό παράγοντα στην εξατομίκευση της θεραπείας[5][15].

Η αποτελεσματικότητα των PPIs μπορεί να διαφέρει σημαντικά από άτομο σε άτομο εξαιτίας του γενετικού πολυμορφισμού στο CYP2C19. Οι “poor metabolizers” παρουσιάζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις φαρμάκου στο πλάσμα και ισχυρότερη καταστολή του οξέος σε σύγκριση με τους “extensive metabolizers”. Αυτό δημιουργεί διακυμάνσεις στην ανταπόκριση στα φάρμακα, ειδικά σε PPIs όπως ομεπραζόλη και λανσοπραζόλη. Η ραμπεπραζόλη, ωστόσο, φαίνεται να επηρεάζεται λιγότερο από τις μεταβολικές διαφορές του CYP2C19, γεγονός που το καθιστά πιο προβλέψιμο και αξιόπιστο όσον αφορά την καταστολή οξύτητας σε διαφορετικούς πληθυσμούς ασθενών[5][16].

Παρά το γεγονός ότι όλες οι ουσίες της κατηγορίας PPIs επιτυγχάνουν αποτελεσματική αναστολή της γαστρικής οξύτητας, υπάρχουν μικρές αλλά μετρήσιμες διαφορές ως προς την ισχύ και τη διάρκεια καταστολής. Μελέτες δείχνουν ότι η ραμπεπραζόλη και η εσομεπραζόλη μπορεί να προσφέρουν ελαφρώς πιο ισχυρή και σταθερή καταστολή του γαστρικού οξέος, όπως αποτυπώνεται στην παράμετρο pH-4-time (ο χρόνος κατά τον οποίο το pH του στομάχου παραμένει πάνω από 4). Παρά αυτές τις διαφορές, η θεραπευτική τους αποτελεσματικότητα όσον αφορά την επούλωση ελκών ή την ανακούφιση συμπτωμάτων GERD δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντική απόκλιση[14][17].

Ορισμένα PPIs φαίνεται να εκδηλώνουν και πρόσθετες ιδιότητες πέραν της αναστολής της αντλίας πρωτονίων. Μελέτες με δοκιμασίες ελεύθερων ριζών (όπως DPPH assay) έδειξαν ότι η ομεπραζόλη και η εσομεπραζόλη εμφανίζουν ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με την παντοπραζόλη, την ραμπεπραζόλη και την λανσοπραζόλη. Αυτό το μηχανιστικό χαρακτηριστικό, αν και ενδιαφέρον, δεν έχει ακόμη αποδειχθεί ότι οδηγεί σε κλινικά

πλεονεκτήματα και ως εκ τούτου δεν αποτελεί κύριο κριτήριο επιλογής ενός PPI στην καθημερινή πρακτική. Οι διαφορές αυτές, αν και φαρμακοκινητικά σημαντικές, δεν μεταφράζονται πάντα σε κλινικά σημαντικές αποκλίσεις, γεγονός που υποδηλώνει ότι η επιλογή PPI βασίζεται συχνά σε πρακτικούς και ασθενο-κεντρικούς παράγοντες [18].

	Omeprazole	Esomeprazole	Lansoprazole	Dexlansoprazole	Pantoprazole	Rabeprazole
Bioavailability, %	30–40	64–90	80–85	-	77	52
Time to peak plasma level (tmax, hr)	0.5–3.5	1.5	1.7	1–2, 4–5	2–3	2–5
Protein binding, %	95	97	97	96	98	96.3
Half-life, hr	0.5–1	1–1.5	1.6	1–2	1–1.9	1–2
Primary excretion	Hepatic	Hepatic	Hepatic	Hepatic	Hepatic	Hepatic
Liver metabolism	CYP2C19	CYP2C19	CYP2C19	CYP2C19 CYP3A4	CYP2C19 CYP3A4	CYP2C19

Πίνακας 1: Φαρμακοκινητικές ιδιότητες των αναστολέων αντλίας πρωτονίων (PPIs)[1].

1.1.4 Σταθερότητα των PPIs

Η σταθερότητα των φαρμακευτικών προϊόντων αποτελεί θεμελιώδη παράμετρο στην ανάπτυξη, παραγωγή και κυκλοφορία ενός φαρμάκου, καθώς συνδέεται άμεσα με τη διατήρηση της ποιότητας, της ασφάλειας και της θεραπευτικής του αποτελεσματικότητας καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του. Ως σταθερότητα ορίζεται η ικανότητα μιας δραστικής ουσίας ή ενός τελικού φαρμακευτικού προϊόντος να διατηρεί τις φυσικοχημικές, μικροβιολογικές και βιοφαρμακευτικές του ιδιότητες εντός προκαθορισμένων ορίων, όταν αποθηκεύεται υπό συγκεκριμένες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτισμού. Η απώλεια σταθερότητας μπορεί να οδηγήσει σε αποδόμηση της δραστικής ουσίας, μεταβολή της δοσολογίας, σχηματισμό προϊόντων αποδόμησης και τελικά μείωση της κλινικής αποτελεσματικότητας ή και κινδύνους για την ασφάλεια των ασθενών [19][20][21][22].

Η χημική αποδόμηση των φαρμάκων αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους μηχανισμούς αστάθειας και περιλαμβάνει αντιδράσεις όπως υδρόλυση, οξείδωση, φωτοαποδόμηση και ισομερίωση. Οι διεργασίες αυτές επηρεάζονται από παράγοντες όπως το pH, η θερμοκρασία, η παρουσία οξυγόνου, η υγρασία και το φως, καθώς και από τη χημική δομή της δραστικής ουσίας. Η σταθερότητα αποτελεί βασικό εργαλείο για τον καθορισμό της διάρκειας ζωής (shelf life), η οποία προσδιορίζεται μέσω μελετών σταθερότητας υπό μακροχρόνιες και επιταχυνόμενες συνθήκες. Παράλληλα, αποτελεί κρίσιμο παράγοντα στον ποιοτικό έλεγχο, καθώς η αστάθεια μπορεί να οδηγήσει σε αποκλίσεις από τις προδιαγραφές και ανάγκη επανασχεδιασμού της φαρμακοτεχνικής μορφής, ενώ σε κανονιστικό επίπεδο αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την έγκριση φαρμακευτικών προϊόντων σύμφωνα με οδηγίες διεθνών οργανισμών όπως το ICH [23][24][25].

Η σταθερότητα επηρεάζει άμεσα και τον φαρμακοτεχνικό σχεδιασμό, καθώς η ανάγκη προστασίας της δραστικής ουσίας οδηγεί στην ανάπτυξη κατάλληλων μορφών, όπως επικαλυμμένα δισκία, εντεροδιαλυτές κάψουλες και συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης. Η επιλογή εκδόχων και υλικών συσκευασίας είναι εξίσου κρίσιμη, καθώς συμβάλλει στη διατήρηση της σταθερότητας έναντι περιβαλλοντικών παραγόντων. Συνεπώς, η κατανόηση και ο έλεγχος της

σταθερότητας αποτελούν αναπόσπαστο μέρος της φαρμακευτικής ανάπτυξης και της διασφάλισης ποιότητας [26][27].

Στην περίπτωση των Proton Pump Inhibitors (PPIs), η σταθερότητα αποκτά ακόμη μεγαλύτερη σημασία, καθώς πρόκειται για ενώσεις ιδιαίτερα ευαίσθητες σε περιβαλλοντικούς παράγοντες. Τα PPIs είναι ευαίσθητα σε όξινες συνθήκες, θερμοκρασία, υγρασία και φωτισμό, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε πρόωρη αποδόμηση, μείωση της βιοδιαθεσιμότητας και απώλεια της θεραπευτικής τους δράσης. Η αποικοδόμηση αυτή επηρεάζει όχι μόνο τη δραστηριότητα αλλά και τον ποιοτικό έλεγχο, καθώς ο σχηματισμός προϊόντων αποδόμησης μπορεί να δυσχεράνει την αναλυτική ποσοτικοποίηση και την τήρηση των προδιαγραφών [28].

Ιδιαίτερα κρίσιμη είναι η ευαισθησία των PPIs σε όξινο pH. Στο στομάχι, όπου το pH κυμαίνεται μεταξύ 1 και 3, τα μόρια υφίστανται ταχεία αποδόμηση μέσω υδρόλυσης και σχηματισμού ανενεργών ή δυνητικά τοξικών προϊόντων. Η αποδόμηση αυτή σχετίζεται με τη χημική τους δομή και ειδικότερα με την παρουσία σουλφοξειδικών και θειοαιθερικών ομάδων, οι οποίες πρωτονώνονται σε όξινες συνθήκες και οδηγούν σε σχηματισμό ασταθών ενδιάμεσων. Η ταχύτητα της αποδόμησης αυξάνεται όσο μειώνεται το pH, καθιστώντας αναγκαία τη λήψη μέτρων προστασίας της δραστηρικής ουσίας [21][28].

Για την αντιμετώπιση του προβλήματος αυτού έχουν αναπτυχθεί εντεροδιαλυτές επικαλύψεις, οι οποίες αποτελούν τη βασική φαρμακοτεχνική στρατηγική προστασίας των PPIs. Οι επικαλύψεις αυτές εμποδίζουν την απελευθέρωση της δραστηρικής ουσίας στο στομάχι και επιτρέπουν τη διάλυσή της στο λεπτό έντερο, όπου το pH είναι υψηλότερο και ευνοεί τη σταθερότητα και απορρόφηση. Παράλληλα, η χρήση κατάλληλων εκδόχων ή ουδετεροποιητικών παραγόντων μπορεί να περιορίσει την αποδόμηση κατά τη γαστρική διέλευση, βελτιώνοντας τη συνολική σταθερότητα του φαρμάκου [29].

Η φωτοευαισθησία των PPIs αποτελεί έναν ακόμη σημαντικό παράγοντα αστάθειας. Η έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία μπορεί να προκαλέσει φωτοχημικές αντιδράσεις, όπως σχάση δεσμών, ισομερισμούς και σχηματισμό ελευθέρων ριζών, οδηγώντας σε μείωση της δραστηριότητας και σχηματισμό προϊόντων αποδόμησης. Τα φαινόμενα αυτά σχετίζονται με την απορρόφηση φωτονίων από τα χρωμοφόρα τμήματα των μορίων και τη δημιουργία διεγερμένων καταστάσεων, οι οποίες είναι ιδιαίτερα αντιδραστικές. Η έκταση της φωτοαποδόμησης εξαρτάται από την ένταση και το μήκος κύματος της ακτινοβολίας, καθώς και από τη φυσική κατάσταση του φαρμάκου [30].

Η σταθερότητα επηρεάζεται επίσης από τη φαρμακοτεχνική μορφή και τα έκδοχα. Οι στερεές μορφές εμφανίζουν γενικά μεγαλύτερη σταθερότητα σε σχέση με τα διαλύματα, λόγω περιορισμένης κινητικότητας των μορίων. Η ενσωμάτωση των PPIs σε επικαλύψεις ή μικροσφαιρίδια μπορεί να προσφέρει επιπλέον προστασία έναντι περιβαλλοντικών παραγόντων. Αντίθετα, σε διαλύματα ή παρουσία πολικών διαλυτών, η αποδόμηση επιταχύνεται λόγω αυξημένης χημικής δραστηριότητας [30].

Η θερμοκρασία και η υγρασία αποτελούν επίσης καθοριστικούς παράγοντες για τη σταθερότητα των PPIs. Η αύξηση της θερμοκρασίας επιταχύνει την αποικοδόμηση, η οποία ακολουθεί κινητική πρώτης τάξης, ενώ η παρουσία υγρασίας ενισχύει περαιτέρω τον ρυθμό διάσπασης. Μελέτες έχουν δείξει ότι η αύξηση της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας οδηγεί σε σημαντική μείωση της διάρκειας ζωής του φαρμάκου, ενώ η αλληλεπίδραση με πολυμερή εκδόχων μπορεί να μεταβάλλει τη σταθερότητα σε σχέση με το καθαρό API [35][36].

Συνολικά, η σταθερότητα των PPIs αποτελεί ένα πολυπαραγοντικό φαινόμενο που εξαρτάται από τη χημική δομή, τις περιβαλλοντικές συνθήκες και τη φαρμακοτεχνική μορφή. Η κατανόηση των μηχανισμών αποδόμησης και των παραγόντων που τους επηρεάζουν είναι απαραίτητη για τον ορθό σχεδιασμό φαρμακευτικών προϊόντων, τη διασφάλιση της ποιότητας και την επίτευξη σταθερής και αξιόπιστης θεραπευτικής απόκρισης στους ασθενείς [28][35][36].

1.2 Ανάπτυξη και επικύρωση αναλυτικών μεθόδων

1.1.5 Εισαγωγή στις αναλυτικές μεθόδους

Οι αναλυτικές τεχνικές στη φαρμακευτική ανάλυση αποτελούν ένα σύνολο χημικών και οργανολογικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται για:

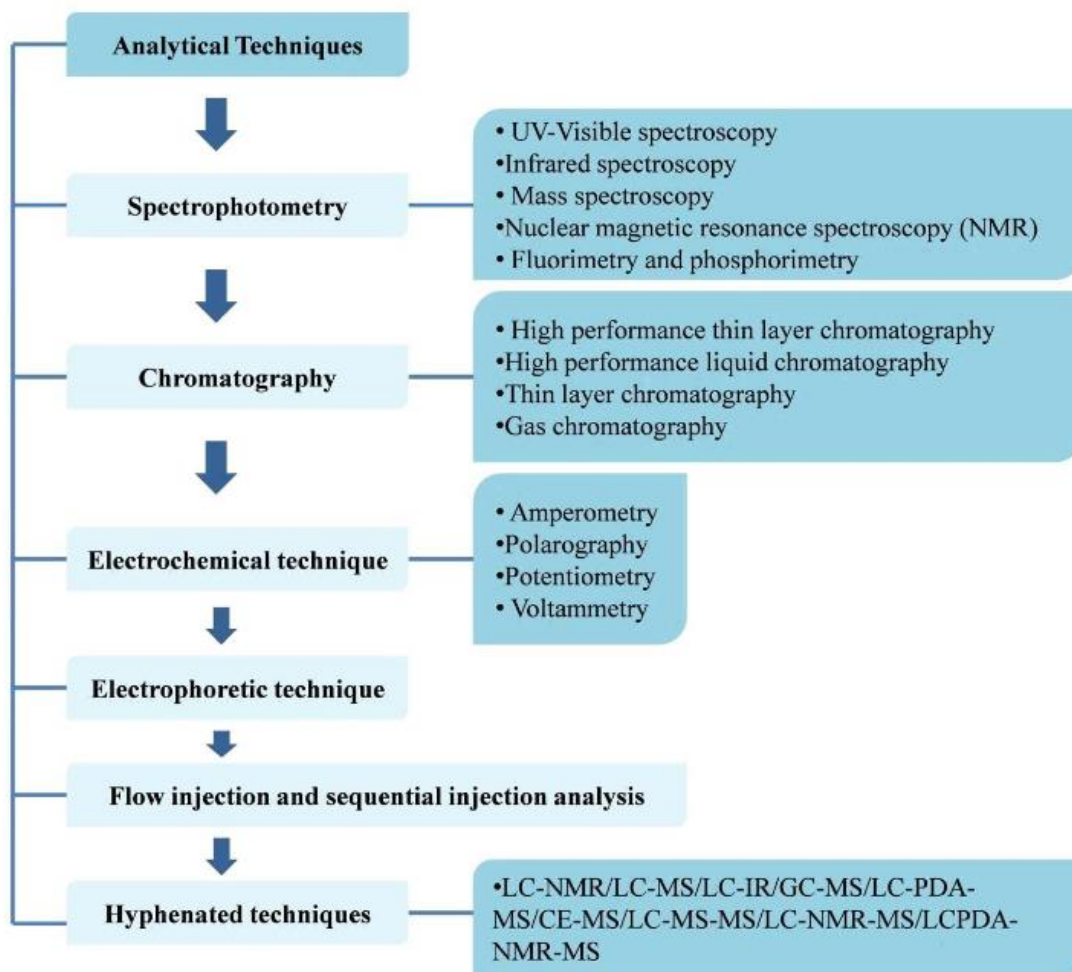
- ταυτοποίηση φαρμακευτικών ουσιών
- ποσοτικοποίηση της δραστικής ουσίας
- ανίχνευση και μέτρηση προσμίξεων
- έλεγχο προϊόντων αποσύνθεσης
- διασφάλιση ποιότητας και ασφάλειας φαρμάκων[37].

Στην περίπτωση των αναστολέων αντλίας πρωτονίων (PPIs), η ανάπτυξη αναλυτικών μεθόδων παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, λόγω της χημικής της αστάθειας και της τάσης σχηματισμού πολλαπλών προϊόντων αποικοδόμησης. Οι μέθοδοι αυτές πρέπει να είναι σταθεροενδεικτικές (stability-indicating), ώστε να διαχωρίζουν αποτελεσματικά τη δραστική ουσία από τις προσμίξεις και τα προϊόντα διάσπασης.

Οι τεχνικές αυτές χωρίζονται σε διάφορες κατηγορίες, οι οποίες χρησιμοποιούνται ανάλογα με τον τύπο του φαρμάκου και τον σκοπό της ανάλυσης.

- Τιτρίμετρικές τεχνικές (Titrimetric methods): Οι παραδοσιακές τιτρίμετρικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται για την ποσοτική ανάλυση φαρμακευτικών ουσιών μέσω ογκομέτρησης. Παρά την απλότητα τους, παραμένουν χρήσιμες σε περιπτώσεις όπου απαιτείται γρήγορος και οικονομικός ποσοτικός έλεγχος.
- Χρωματογραφικές τεχνικές (Chromatographic techniques): Οι τεχνικές αυτές, όπως η TLC, HPTLC, HPLC και GC, αποτελούν από τις πιο σημαντικές στη φαρμακευτική ανάλυση. Η HPLC, για παράδειγμα, επιτρέπει την ακριβή ποσοτικοποίηση και διαχωρισμό της δραστικής ουσίας από τις προσμίξεις, ενώ η GC χρησιμοποιείται για πτητικές και ημιπτητικές ενώσεις.
- Φασματοσκοπικές τεχνικές (Spectroscopic techniques): Οι μέθοδοι αυτές, όπως η UV-Vis, IR, NMR και φθορισμός, βασίζονται στις φυσικοχημικές ιδιότητες των μορίων για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση. Παρέχουν σημαντική πληροφορία για τη μοριακή δομή και τη συμπεριφορά των ουσιών σε διάφορες συνθήκες.
- Ηλεκτροχημικές και ηλεκτροφορητικές μέθοδοι: Αυτές οι τεχνικές χρησιμοποιούνται για ευαίσθητη ανίχνευση φαρμάκων σε χαμηλές συγκεντρώσεις, ενώ οι ηλεκτροφορητικές μέθοδοι όπως η capillary electrophoresis παρέχουν αποτελεσματικό διαχωρισμό βάσει φορτίου και μεγέθους των μορίων[37].

Από τις παραπάνω τεχνικές, οι χρωματογραφικές μέθοδοι και ιδιαίτερα η HPLC αποτελούν τη βασική επιλογή για την ανάλυση των PPIs, λόγω της ικανότητάς τους να διαχωρίζουν τη δραστική ουσία από τα προϊόντα αποικοδόμησης και τις προσμίξεις.



Εικόνα 3: Διαθέσιμες τεχνικές για ανάπτυξη μεθόδου[39].

Η διαδικασία της ανάλυσης ξεκινά με τη δειγματοληψία, η οποία αποτελεί το πρώτο και θεμελιώδες στάδιο κάθε αναλυτικής μεθόδου. Η σωστή επιλογή και συλλογή του δείγματος είναι κρίσιμη, καθώς καθορίζει την αξιοπιστία και την αντιπροσωπευτικότητα των αποτελεσμάτων. Στη φαρμακευτική ανάλυση, τα δείγματα μπορεί να προέρχονται από πρώτες ύλες (API), τελικά φαρμακευτικά προϊόντα ή δείγματα που έχουν υποβληθεί σε συνθήκες καταπόνησης και απαιτούν κατάλληλη προετοιμασία πριν από την ανάλυση[38].

Στην περίπτωση των αναστολέων αντλίας πρωτονίων (PPIs), η διαδικασία της δειγματοληψίας παρουσιάζει ιδιαίτερη σημασία, καθώς πρόκειται για ενώσεις με υψηλή χημική αστάθεια και ευαισθησία σε παράγοντες όπως το pH, το φως και η θερμοκρασία. Για τον λόγο αυτό, απαιτείται προσεκτικός χειρισμός των δειγμάτων ήδη από το στάδιο της συλλογής, ώστε να αποφεύγεται η πρόωγη αποικοδόμηση της δραστικής ουσίας.

Μετά τη συλλογή, ακολουθεί η προεπεξεργασία του δείγματος, η οποία περιλαμβάνει διεργασίες όπως η εκχύλιση, ο καθαρισμός και η προσαρμογή του δείγματος πριν από την ανάλυση. Το στάδιο αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό, καθώς οι αναλύτες βρίσκονται συχνά σε πολύπλοκα συστήματα με παρουσία εκδόχων ή άλλων παρεμβαλλόμενων ουσιών[38].

Στην ανάλυση των PPIs, η προεπεξεργασία πρέπει να πραγματοποιείται υπό ελεγχόμενες συνθήκες, καθώς οι ενώσεις αυτές μπορεί να αποικοδομηθούν κατά τη διάρκεια της διαδικασίας αν δεν διασφαλιστεί κατάλληλο pH και προστασία από το φως. Η επιλογή των διαλυτών

και των συνθηκών εκχύλισης είναι κρίσιμη, ώστε να διατηρείται η σταθερότητα της δραστικής ουσίας και να αποφεύγεται η δημιουργία επιπλέον προϊόντων αποικοδόμησης.

Για την απομόνωση των αναλυτών χρησιμοποιούνται διάφορες τεχνικές εκχύλισης, όπως η εκχύλιση Soxhlet, η εκχύλιση με υπερήχους, η εκχύλιση με μικροκύματα, καθώς και τεχνικές εκχύλισης στερεάς φάσης (SPE) και μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (SPME), οι οποίες επιτρέπουν την αποδοτικότερη προετοιμασία των δειγμάτων και τη μείωση των παρεμβολών[38].

Στις μελέτες σταθερότητας των PPIs, η προεπεξεργασία περιλαμβάνει συχνά τη διάλυση των δειγμάτων σε κατάλληλα ρυθμιστικά διαλύματα και την άμεση ανάλυσή τους με σταθεροενδεικτικές τεχνικές, όπως η HPLC. Η σωστή προετοιμασία διασφαλίζει ότι τα προϊόντα αποικοδόμησης παραμένουν ανιχνεύσιμα και δεν μεταβάλλονται περαιτέρω κατά τη διάρκεια της ανάλυσης. Συνεπώς, η δειγματοληψία και η προεπεξεργασία αποτελούν κρίσιμα στάδια για την ακρίβεια και την αξιοπιστία των αναλυτικών μεθόδων που εφαρμόζονται στα PPIs.

Το επόμενο στάδιο αφορά την ανάλυση με όργανα υψηλής ακρίβειας, όπως η χρωματογραφία συνδυασμένη με φασματομετρία μάζας (GC-MS και LC-MS). Αυτές οι τεχνικές επιτρέπουν την ανίχνευση ουσιών σε ίχνη, προσφέρουν υψηλή ειδικότητα και ευαισθησία και είναι ιδανικές για τον προσδιορισμό τόσο των αρχικών φαρμακευτικών ουσιών όσο και των προϊόντων μετασχηματισμού τους. Η χρήση High-Resolution Mass Spectrometry (HRMS) προσφέρει πρόσθετο πλεονέκτημα, επιτρέποντας την αναγνώριση άγνωστων παραγώγων με μεγάλη ακρίβεια[38]. Οι τεχνικές LC-MS/MS χρησιμοποιούνται ευρέως για την ταυτοποίηση προϊόντων αποικοδόμησης των PPIs, ιδιαίτερα σε μελέτες σταθερότητας και impurity profiling.

Στη συνέχεια, το πρωτόκολλο περιλαμβάνει στρατηγικές για την ανίχνευση και ταυτοποίηση προϊόντων μετασχηματισμού, χρησιμοποιώντας μη στοχευμένη ανάλυση (non-target screening) και αρχές αλλαγής μάζας για τον εντοπισμό μεταβολιτών ή προϊόντων αποσύνθεσης που δεν υπάρχουν ως standards. Στη φαρμακευτική ανάλυση, οι προσεγγίσεις αυτές χρησιμοποιούνται κυρίως για την ταυτοποίηση άγνωστων προϊόντων αποικοδόμησης κατά τη διάρκεια μελετών σταθερότητας[38].

Τέλος, πραγματοποιείται ποιοτικός έλεγχος και αξιολόγηση αποδόσεων (Recovery and QA/QC), σύμφωνα με ICH guidelines, ώστε να επιβεβαιωθεί ότι η μέθοδος ανακτά με συνέπεια τις ουσίες από το δείγμα ακόμη και σε σύνθετα matrix. Η αξιολόγηση αυτή διασφαλίζει ότι τα αποτελέσματα είναι αξιόπιστα και επαναλήψιμα, ενώ παράλληλα επιτρέπει τη βελτιστοποίηση των διαδικασιών σε όλα τα στάδια[38].

Οι σύγχρονες τάσεις στην ανάπτυξη αναλυτικών μεθόδων επικεντρώνονται στη βελτιστοποίηση της απόδοσης και της ευαισθησίας των τεχνικών, με στόχο τη μείωση αναλυτικών σφαλμάτων και την αύξηση της επαναληψιμότητας των αποτελεσμάτων. Η χρήση υβριδικών ή hyphenated τεχνικών, όπως LC-MS ή GC-MS, επιτρέπει την ταυτόχρονη ανάλυση πολλών παραμέτρων, συνδυάζοντας τη διαχωριστική ικανότητα της χρωματογραφίας με την ευαισθησία και την ειδικότητα της φασματομετρίας μάζας. Επιπλέον, η αξιοποίηση ηλεκτροχημικών, ηλεκτροφορητικών και φασματοσκοπικών μεθόδων προσφέρει μια συμπληρωματική πληροφορία για τη μοριακή δομή, τις φυσικοχημικές ιδιότητες και τα προϊόντα αποσύνθεσης, καθιστώντας την αναλυτική διαδικασία ολοκληρωμένη και αξιόπιστη[39].

Η ανάπτυξη πειστικών αναλυτικών μεθόδων δεν αποτελεί μόνο τεχνικό θέμα, αλλά συμβάλλει άμεσα στη συμμόρφωση με διεθνή πρότυπα και κανονιστικές απαιτήσεις, όπως τα guidelines της ICH και της USP. Η εφαρμογή επικυρωμένων μεθόδων είναι απαραίτητη για την έγκριση νέων φαρμακευτικών προϊόντων, τον έλεγχο παραγωγικών παρτίδων και τη διασφάλιση της ασφάλειας των ασθενών. Επιπλέον, οι μέθοδοι αυτές επιτρέπουν την ανάλυση σταθερότητας των φαρμάκων και την πρόβλεψη της συμπεριφοράς τους υπό διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας, φωτισμού ή υγρασίας, εξασφαλίζοντας ότι η δραστική ουσία διατηρεί την αποτελεσματικότητά της καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του προϊόντος[39].

Συνολικά, η ανάπτυξη πειστικών αναλυτικών μεθόδων αποτελεί βασικό στοιχείο της φαρμακευτικής ανάλυσης, καθώς εξασφαλίζει την αξιοπιστία, την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα των φαρμάκων. Η συνεχής βελτίωση των τεχνικών, η εφαρμογή σύγχρονων εργαλείων και η συμμόρφωση με τις κανονιστικές απαιτήσεις διασφαλίζουν ότι οι φαρμακευτικές ουσίες παραμένουν καθαρές, σταθερές και κατάλληλες για χρήση, αποτελώντας θεμέλιο λίθο στην ανάπτυξη και παραγωγή ασφαλών φαρμακευτικών προϊόντων και ιδιαίτερα για ευαίσθητες κατηγορίες φαρμάκων όπως οι αναστολείς αντλίας πρωτονίων[39].

1.1.6 Βασικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για PPIs

1.2.2.1 Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC)

Η Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (High-Performance Liquid Chromatography, HPLC) αποτελεί μία από τις πλέον διαδεδομένες και αξιόπιστες αναλυτικές τεχνικές στη φαρμακευτική ανάλυση. Χρησιμοποιείται εκτενώς για τον διαχωρισμό, την ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό δραστικών φαρμακευτικών ουσιών, καθώς και για τον έλεγχο προσμίξεων και προϊόντων αποδόμησης. Η ευρεία εφαρμογή της οφείλεται στη μεγάλη ακρίβεια, την υψηλή ευαισθησία και την ικανότητά της να αναλύει πολύπλοκα μίγματα με υψηλή αναπαραγωγικότητα[40].

Η βασική αρχή λειτουργίας της HPLC βασίζεται στη διαφορετική κατανομή των συστατικών ενός δείγματος μεταξύ της κινητής και της στατικής φάσης. Η κινητή φάση, αποτελούμενη από κατάλληλους διαλύτες, μεταφέρει το δείγμα μέσω της χρωματογραφικής στήλης, ενώ η στατική φάση είναι προσδεδεμένη στο εσωτερικό της στήλης. Κάθε ένωση αλληλεπιδρά σε διαφορετικό βαθμό με τη στατική φάση, γεγονός που οδηγεί σε διαφορετικούς χρόνους κατακράτησης και τελικά στον αποτελεσματικό διαχωρισμό των συστατικών[40].

Ένα τυπικό σύστημα Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (HPLC) αποτελείται από επιμέρους λειτουργικές μονάδες, οι οποίες συνεργάζονται για την επίτευξη αξιόπιστου και επαναλήψιμου διαχωρισμού. Η σωστή επιλογή και ρύθμιση των επιμέρους τμημάτων του συστήματος είναι καθοριστικής σημασίας για την απόδοση της ανάλυσης, ιδιαίτερα στη φαρμακευτική ανάλυση, όπου απαιτείται υψηλή ακρίβεια και ευαισθησία[40].

Η δεξαμενή κινητής φάσης περιέχει τους διαλύτες που χρησιμοποιούνται για τη μεταφορά του δείγματος μέσω του συστήματος. Οι διαλύτες πρέπει να είναι υψηλής καθαρότητας (HPLC grade), ενώ συχνά εφαρμόζεται απαέρωση ώστε να απομακρυνθούν διαλυμένα αέρια που θα μπορούσαν να προκαλέσουν διακυμάνσεις στη ροή ή παρεμβολές στην ανίχνευση. Η επιλογή της κινητής φάσης εξαρτάται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες της αναλυόμενης ουσίας και επηρεάζει άμεσα τον διαχωρισμό[40][41].

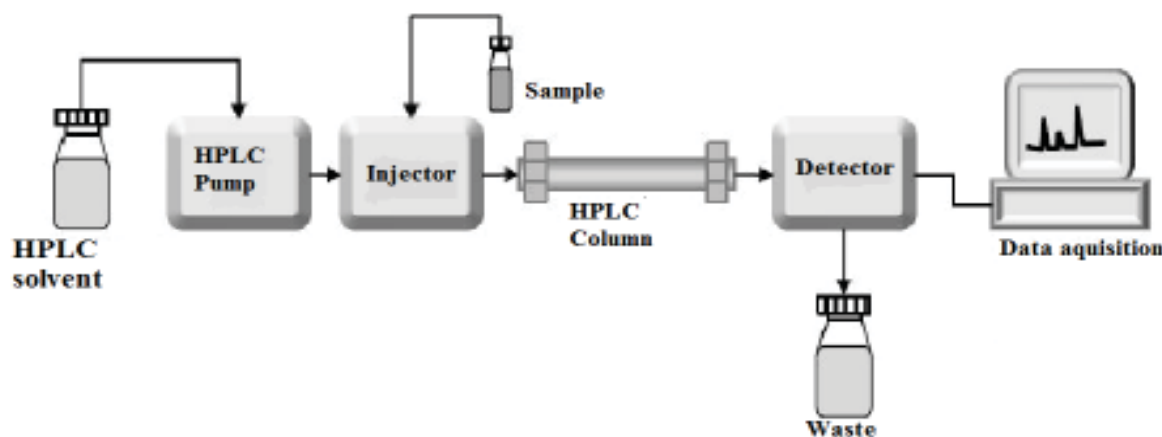
Η αντλία υψηλής πίεσης αποτελεί βασικό στοιχείο του συστήματος HPLC, καθώς εξασφαλίζει σταθερή και ελεγχόμενη ροή της κινητής φάσης μέσω της στήλης. Η λειτουργία σε υψηλές πιέσεις επιτρέπει τη χρήση στηλών με μικρό μέγεθος σωματιδίων, αυξάνοντας τη διαχωριστική ικανότητα και τη συνολική απόδοση της μεθόδου. Η σταθερότητα της ροής θεωρείται κρίσιμη παράμετρος για την αναπαραγωγικότητα των αποτελεσμάτων[40][41].

Το σύστημα έγχυσης δείγματος επιτρέπει την εισαγωγή συγκεκριμένου και επαναλήψιμου όγκου δείγματος στο χρωματογραφικό σύστημα. Η ακρίβεια στην έγχυση είναι ιδιαίτερα σημαντική για τον ποσοτικό προσδιορισμό φαρμακευτικών ουσιών, καθώς μικρές αποκλίσεις μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων[40].

Η χρωματογραφική στήλη αποτελεί την «καρδιά» του συστήματος HPLC, καθώς στο εσωτερικό της πραγματοποιείται ο διαχωρισμός των συστατικών του δείγματος. Η επιλογή της

στατικής φάσης, του μήκους και της διαμέτρου της στήλης εξαρτάται από το είδος της ανάλυσης και τη φύση της αναλυόμενης ουσίας. Στη φαρμακευτική ανάλυση χρησιμοποιούνται κυρίως στήλες αντίστροφης φάσης, λόγω της ικανότητάς τους να προσφέρουν καλό διαχωρισμό για ευρύ φάσμα ενώσεων[40][41].

Ο ανιχνευτής είναι υπεύθυνος για την ανίχνευση των συστατικών που εξέρχονται από τη στήλη και τη μετατροπή του χρωματογραφικού σήματος σε ηλεκτρικό. Οι ανιχνευτές υπεριώδους-ορατού φάσματος (UV-Vis) χρησιμοποιούνται ευρέως στη φαρμακευτική ανάλυση, καθώς προσφέρουν ικανοποιητική ευαισθησία και είναι κατάλληλοι για πολλές φαρμακευτικές ενώσεις. Το σήμα που παράγεται καταγράφεται και επεξεργάζεται μέσω συστήματος συλλογής δεδομένων, αποδίδοντας το τελικό χρωματογράφημα[40][41].



Εικόνα 4: Συστατικά ενός συστήματος HPLC[41].

Υπάρχουν διάφοροι τύποι HPLC, όπως η κανονικής φάσης, η αντίστροφης φάσης, η ιοντοανταλλακτική και η χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους. Από αυτούς, η αντίστροφης φάσης HPLC αποτελεί την πλέον διαδεδομένη επιλογή στη φαρμακευτική ανάλυση, λόγω της δυνατότητας ανάλυσης ευρέος φάσματος ενώσεων, της καλής αναπαραγωγικότητας και της συμβατότητάς της με υδατικά και οργανικά συστήματα διαλυτών[40].

Η επιλογή των συνθηκών ανάλυσης, όπως η σύσταση της κινητής φάσης, το pH, ο ρυθμός ροής και ο τύπος της στήλης, αποτελεί κρίσιμο στάδιο κατά την ανάπτυξη μιας μεθόδου HPLC. Οι παράμετροι αυτές επηρεάζουν άμεσα τον διαχωρισμό, την ευαισθησία και τη συνολική απόδοση της μεθόδου και πρέπει να επιλέγονται με βάση τις φυσικοχημικές ιδιότητες της υπό ανάλυση ουσίας. Για τα PPIs, η ρύθμιση του pH είναι ιδιαίτερα κρίσιμη, καθώς σε όξινες συνθήκες μπορεί να προκληθεί αποικοδόμηση κατά τη διάρκεια της ανάλυσης [41].

Η HPLC αποτελεί αναπόσπαστο εργαλείο στη φαρμακευτική βιομηχανία, καθώς χρησιμοποιείται στον ποσοτικό προσδιορισμό δραστικών ουσιών, στον έλεγχο καθαρότητας, στις μελέτες σταθερότητας και στον ποιοτικό έλεγχο πρώτων υλών και τελικών προϊόντων. Ο συνδυασμός υψηλής διαχωριστικής ικανότητας και αξιοπιστίας καθιστά την τεχνική ιδανική για εφαρμογές που απαιτούν ακρίβεια και συμμόρφωση με αυστηρά πρότυπα ποιότητας[40][41].

Η HPLC χρησιμοποιείται εκτενώς σε μελέτες σταθερότητας των PPIs, καθώς επιτρέπει την παρακολούθηση της αποικοδόμησης υπό διαφορετικές συνθήκες (pH, θερμοκρασία, φως) και τον διαχωρισμό των προϊόντων διάσπασης. Στην περίπτωση των αναστολέων αντλίας πρωτονίων (PPIs), η χρήση της HPLC είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθώς οι ενώσεις αυτές παρουσιάζουν υψηλή χημική αστάθεια και τάση σχηματισμού πολλαπλών προϊόντων αποικοδόμησης. Για τον λόγο αυτό, οι μέθοδοι που εφαρμόζονται είναι συνήθως

σταθεροενδεικτικές (stability-indicating), επιτρέποντας τον σαφή διαχωρισμό της κύριας ουσίας από τα προϊόντα διάσπασης.

1.2.2.2 UV-Vis Φασματοσκοπία

Η UV-Visible (UV-Vis) φασματοσκοπία είναι μια από τις πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες τεχνικές στη φαρμακευτική ανάλυση, λόγω της απλότητας, της ταχύτητας και της μη καταστρεπτικής φύσης της. Η μέθοδος επιτρέπει τον ποσοτικό και ποιοτικό προσδιορισμό δραστικών φαρμακευτικών ουσιών, καθώς βασίζεται στην ικανότητα των μορίων να απορροφούν ακτινοβολία στην υπεριώδη (200–400 nm) και ορατή (400–800 nm) περιοχή του φάσματος. Η ένταση του φωτός που απορροφάται συνδέεται γραμμικά με τη συγκέντρωση του αναλύτη, καθιστώντας τη μέθοδο ιδανική για τον έλεγχο πρωτογενών φαρμακευτικών ουσιών, πρώτων υλών και ενδιάμεσων προϊόντων[41].

Η θεωρητική βάση της UV-Vis φασματοσκοπίας στηρίζεται στη φυσική αλληλεπίδραση φωτός και ύλης. Όταν η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία διέρχεται μέσα από ένα διάλυμα, τα μόρια του δείγματος απορροφούν ενέργεια, προκαλώντας μετάβαση ηλεκτρονίων από χαμηλότερα σε υψηλότερα ενεργειακά επίπεδα. Ο νόμος Beer-Lambert περιγράφει τη σχέση μεταξύ της απορρόφησης (A) και της συγκέντρωσης (c) του αναλύτη, καθώς και του μήκους διαδρομής (ℓ) του φωτός μέσω του δείγματος, σύμφωνα με τον τύπο: $A = \varepsilon \cdot c \cdot \ell$, όπου ε είναι ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης. Η σωστή επιλογή μήκους κύματος ($\lambda_{\max}$) μεγιστοποιεί την ευαισθησία και την ακρίβεια των μετρήσεων, επιτρέποντας την αξιόπιστη ποσοτική ανάλυση[42].

Στην οργανολογία, ένα σύγχρονο φασματοφωτόμετρο UV-Vis περιλαμβάνει αρκετά βασικά τμήματα που συνεργάζονται για την ακριβή μέτρηση της απορρόφησης:

- Πηγή φωτός: συνήθως χρησιμοποιούνται λυχνίες *deuterium* για την υπεριώδη περιοχή και *tungsten* ή *xenon* για την ορατή περιοχή, ώστε να καλύπτονται πλήρως τα απαιτούμενα μήκη κύματος.
- Μονοχρωμάτωρας (monochromator): διαχωρίζει την ακτινοβολία σε συγκεκριμένα μήκη κύματος, εξασφαλίζοντας ότι μόνο η επιλεγμένη περιοχή φωτός φτάνει στο δείγμα.
- Κυψελίδα (cuvette): κατασκευασμένη συνήθως από χαλαζία (quartz) για την περιοχή UV, ή από γυαλί/plastic για την περιοχή VIS, ώστε να μην υπάρχει απορρόφηση από το υλικό της κυψελίδας.
- Ανιχνευτής: μετατρέπει την ένταση του φωτός που περνά από το δείγμα σε ηλεκτρικό σήμα, το οποίο επεξεργάζεται από το λογισμικό.
- Σύστημα επεξεργασίας δεδομένων: παρουσιάζει το φάσμα απορρόφησης, υπολογίζει τις συγκεντρώσεις και εξάγει στατιστικά στοιχεία για τα δείγματα.

Η σωστή επιλογή, συντήρηση και ρύθμιση των παραπάνω τμημάτων είναι κρίσιμη για την αξιοπιστία και επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων[41].



Εικόνα 5: Κύρια μέρη ενός UV-VIS φασματοφωτόμετρου[42].

Η UV-Vis φασματοσκοπία βρίσκει ευρύτατες εφαρμογές στη φαρμακευτική ανάλυση:

- Ποσοτικός προσδιορισμός δραστικών ουσιών (API): μέτρηση συγκέντρωσης σε διάλυμα με βάση την απορρόφηση στο λmax.
- Έλεγχος καθαρότητας: ανίχνευση προσμίξεων ή ανεπιθύμητων προϊόντων αποδόμησης.
- Μελέτη σταθερότητας: παρακολούθηση χημικών αλλαγών ή υποβάθμισης της ουσίας υπό διαφορετικές συνθήκες (θερμοκρασία, φως, pH).
- Ανάλυση πρώτων υλών και ενδιάμεσων προϊόντων: υποστηρίζει τον ποιοτικό έλεγχο κατά την παραγωγή.

Στην περίπτωση των αναστολέων αντλίας πρωτονίων (PPIs), η UV-Vis φασματοσκοπία αξιοποιείται κυρίως για τον γρήγορο και οικονομικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας σε απλά δείγματα, όπως διαλύματα ή φαρμακοτεχνικές μορφές. Τα PPIs παρουσιάζουν χαρακτηριστικές απορροφήσεις στην περιοχή του υπεριώδους λόγω της παρουσίας αρωματικών δακτυλίων στη δομή τους, γεγονός που επιτρέπει την εύκολη ανίχνευσή τους.

Η μέθοδος είναι ιδιαίτερα χρήσιμη σε εργαστήρια που απαιτούν ταχεία και μη καταστρεπτική ανάλυση, παρέχοντας αποτελέσματα με υψηλή ακρίβεια και επαναληψιμότητα[42].

Τέλος, η UV-Vis φασματοσκοπία, λόγω της απλότητας, της ταχύτητας και της οικονομικότητας, συμπληρώνει εξαιρετικά άλλες αναλυτικές τεχνικές όπως η HPLC. Συνδυαστικά, οι δύο μέθοδοι παρέχουν ένα πλήρες πλαίσιο για την ανάλυση, ποσοτικοποίηση και ποιοτικό έλεγχο φαρμακευτικών δειγμάτων σε όλα τα στάδια της παραγωγής[41].

1.2.2.3 Υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (LC-MS)

Η υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (LC-MS) αποτελεί μία από τις πλέον ισχυρές και εξελιγμένες αναλυτικές τεχνικές στη σύγχρονη φαρμακευτική ανάλυση. Ο συνδυασμός της υψηλής διαχωριστικής ικανότητας της υγρής χρωματογραφίας με την εξαιρετική ευαισθησία και εκλεκτικότητα της φασματομετρίας μάζας επιτρέπει τον ταυτόχρονο ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό δραστικών ουσιών, μεταβολιτών και προσμίξεων ακόμη και σε πολύπλοκα βιολογικά ή φαρμακευτικά δείγματα. Η τεχνική έχει εξελιχθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια, προσφέροντας υψηλή ακρίβεια, ταχύτητα και αξιοπιστία[43].

Η βασική αρχή της LC-MS περιλαμβάνει αρχικά τον διαχωρισμό των συστατικών ενός δείγματος μέσω υγρής χρωματογραφίας και στη συνέχεια την ιοντοποίησή τους πριν την είσοδο στον αναλυτή μάζας. Οι πιο διαδεδομένες τεχνικές ιοντοποίησης στη φαρμακευτική ανάλυση είναι η Electrospray Ionization (ESI) και η Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI), οι οποίες επιτρέπουν την ανάλυση θερμικά ευαίσθητων και πολικών μορίων χωρίς εκτεταμένη αποδόμηση. Η επιλογή της κατάλληλης πηγής ιοντοποίησης επηρεάζει καθοριστικά την ευαισθησία και την απόδοση της μεθόδου[43].

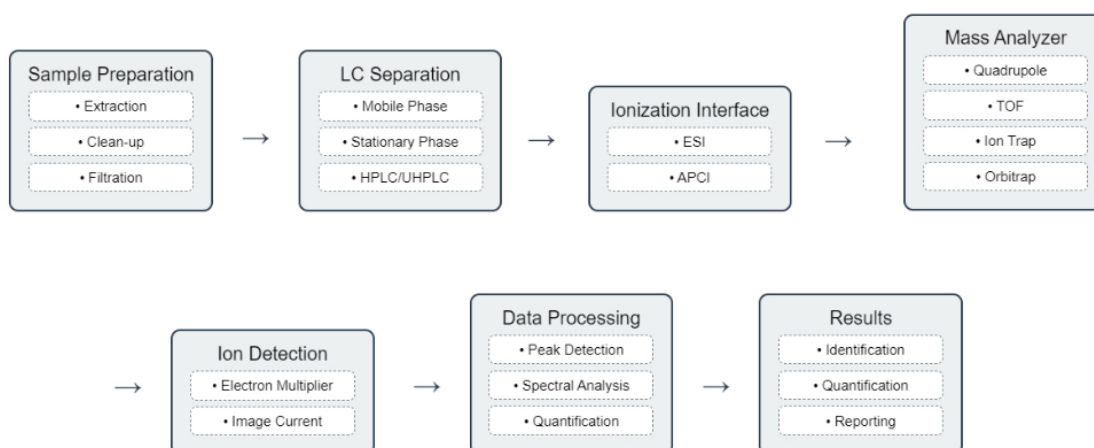
Στον αναλυτή μάζας, τα ιόντα διαχωρίζονται βάσει του λόγου μάζας προς φορτίο (m/z). Οι συχνότερα χρησιμοποιούμενοι αναλυτές περιλαμβάνουν τους τετραπολικούς (quadrupole), τους αναλυτές χρόνου πτήσης (TOF) και τα υβριδικά συστήματα όπως Q-TOF. Ιδιαίτερα στη μορφή LC-MS/MS (tandem MS), χρησιμοποιείται διαδοχική ανάλυση ιόντων, επιτρέποντας αυξημένη εκλεκτικότητα και βελτιωμένη ανίχνευση σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις. Η τεχνική αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική για τον προσδιορισμό ιχνών φαρμακευτικών ουσιών και μεταβολιτών σε βιολογικά υγρά[44].

Η εφαρμογή της LC-MS/MS στον φαρμακοτοξικολογικό τομέα έχει αυξηθεί σημαντικά, καθώς επιτρέπει την ανίχνευση φαρμάκων, ναρκωτικών ουσιών και μεταβολιτών σε δείγματα

όπως αίμα, ούρα και πλάσμα, με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Επιπλέον, η τεχνική συμβάλλει στη μελέτη φαρμακοκινητικής, στον θεραπευτικό έλεγχο φαρμάκων (therapeutic drug monitoring) και στην αξιολόγηση τοξικολογικών περιστατικών[44].

Στον τομέα της ανάπτυξης φαρμάκων και στην ανάλυση των PPIs, η LC-MS χρησιμοποιείται για τον χαρακτηρισμό δραστικών ουσιών, την ταυτοποίηση προϊόντων αποδόμησης και τη μελέτη προσμίξεων. Οι σύγχρονες εξελίξεις περιλαμβάνουν τη χρήση συστημάτων υψηλής ανάλυσης (high-resolution mass spectrometry, HRMS), που επιτρέπουν τον ακριβή προσδιορισμό μοριακού τύπου και δομικών χαρακτηριστικών. Η αυξημένη ανάλυση και η δυνατότητα απόκτησης δομικών πληροφοριών καθιστούν τη LC-MS απαραίτητο εργαλείο στη φαρμακευτική έρευνα και στον ποιοτικό έλεγχο[43].

Συνολικά, η LC-MS και ιδιαίτερα η LC-MS/MS αντιπροσωπεύουν μια τεχνολογία υψηλής απόδοσης που συνδυάζει διαχωριστική ικανότητα, εκλεκτικότητα και ευαισθησία. Παρά το υψηλότερο κόστος εξοπλισμού και συντήρησης σε σύγκριση με τεχνικές όπως η HPLC με UV ανίχνευση, η δυνατότητα ανάλυσης πολύπλοκων μιγμάτων και η εξαιρετικά χαμηλή ανιχνεύσιμη συγκέντρωση καθιστούν τη μέθοδο αναντικατάστατη στη σύγχρονη φαρμακευτική και τοξικολογική ανάλυση[44].



Εικόνα 6: Ροή εργασίας LC-MS[45].

1.2.2.4 Dissolution Testing

Η δοκιμή dissolution αποτελεί μια θεμελιώδη τεχνική στον ποιοτικό έλεγχο φαρμακευτικών προϊόντων, χρησιμοποιούμενη για την αξιολόγηση του ρυθμού και της έκτασης απελευθέρωσης της δραστικής ουσίας από στερεά ή ημίρρευστα σκευάσματα. Στόχος της είναι η πρόβλεψη της συμπεριφοράς του φαρμάκου in-vivo, επιτρέποντας την εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας και τη διασφάλιση της σταθερότητας και ποιότητας του προϊόντος. Επιπλέον, η μέθοδος dissolution αποτελεί εργαλείο για την καθοδήγηση της ανάπτυξης νέων μορφών δοσολογίας, προσφέροντας δεδομένα σχετικά με τον μηχανισμό απελευθέρωσης των δραστικών συστατικών[46].

Το dissolution test διεξάγεται με τη χρήση τυποποιημένων σκευών και διαλυμάτων (dissolution media), ανάλογα με τον τύπο της δοσολογίας και τη φυσικοχημική φύση του φαρμάκου. Συνήθως περιλαμβάνει την τοποθέτηση του σκευάσματος σε ένα μέσο με

ελεγχόμενο pH και θερμοκρασία, συνοδευόμενο από συνεχή ανάδευση σε καθορισμένο ρυθμό. Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι εξοπλισμοί είναι τα USP Apparatus I και II (καλάθι και κυπέλλο/κινητό πλέγμα), ενώ η επιλογή του κατάλληλου μέσου, ρυθμού ανάδευσης και χρόνου δειγματοληψίας επηρεάζει σημαντικά τα αποτελέσματα[46][47].

Πολλοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν το προφίλ dissolution, όπως η φυσικοχημική φύση του φαρμάκου, η μορφή δοσολογίας, το pH του μέσου, η θερμοκρασία, ο ρυθμός ανάδευσης και η σύσταση του διαλύματος. Η προσεκτική επιλογή αυτών των παραμέτρων είναι κρίσιμη για την ικανότητα της μεθόδου να προβλέπει τη συμπεριφορά του φαρμάκου in-vivo[47].

Στην περίπτωση των PPIs, η δοκιμή διαλυτοποίησης είναι ιδιαίτερα σημαντική λόγω της ευαισθησίας των ενώσεων αυτών σε όξινο pH. Οι περισσότερες φαρμακοτεχνικές μορφές είναι εντεροδιαλυτές, με στόχο την προστασία της δραστικής ουσίας στο στομάχι και την απελευθέρωσή της στο λεπτό έντερο. Για τον λόγο αυτό, η δοκιμή διαλυτοποίησης πραγματοποιείται συνήθως σε δύο στάδια:

- αρχικά σε όξινο μέσο (π.χ. 0.1 N HCl), όπου δεν πρέπει να παρατηρείται απελευθέρωση
- στη συνέχεια σε ουδέτερο ή ελαφρώς βασικό ρυθμιστικό διάλυμα (pH ~6.8), όπου επιτυγχάνεται η απελευθέρωση της δραστικής ουσίας

Το dissolution testing αποτελεί έναν κρίσιμο πυλώνα στον ποιοτικό έλεγχο φαρμάκων, τόσο για συμβατικές όσο και για νέες μορφές δοσολογίας. Συνδυάζει την αξιολόγηση απελευθέρωσης δραστικής ουσίας, την πρόβλεψη βιοδιαθεσιμότητας και την εξασφάλιση συμμόρφωσης με κανονιστικά πρότυπα, καθιστώντας το απαραίτητο εργαλείο για τη φαρμακευτική ανάπτυξη και παραγωγή [46][47].



Εικόνα 7: Συσκευή Dissolution[48].

1.2.3 Επικύρωση Αναλυτικών Μεθόδων (Method Validation)

Η επικύρωση αναλυτικών μεθόδων αποτελεί τη συστηματική και τεκμηριωμένη διαδικασία μέσω της οποίας αποδεικνύεται ότι μια αναλυτική μέθοδος είναι κατάλληλη για τον επιδιωκόμενο σκοπό της (fit for purpose). Η διαδικασία αυτή διασφαλίζει ότι η μέθοδος παράγει αξιόπιστα, ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα υπό καθορισμένες συνθήκες ανάλυσης. Στο φαρμακευτικό περιβάλλον, η επικύρωση αποτελεί κρίσιμο μέρος του Συστήματος Διασφάλισης Ποιότητας, καθώς τα αποτελέσματα των αναλύσεων χρησιμοποιούνται για την έγκριση πρώτων υλών, ενδιάμεσων και τελικών προϊόντων, καθώς και για μελέτες σταθερότητας[49][50][51].

Η ανάγκη επικύρωσης απορρέει από τις κανονιστικές απαιτήσεις διεθνών οργανισμών, όπως οι ICH, USP και FDA, οι οποίοι καθορίζουν σαφείς οδηγίες σχετικά με τα χαρακτηριστικά απόδοσης που πρέπει να τεκμηριώνονται. Η κατευθυντήρια οδηγία ICH Q2(R1) περιγράφει τις βασικές παραμέτρους που πρέπει να αξιολογούνται ανάλογα με τον τύπο της αναλυτικής μεθόδου (προσδιορισμού, προσμίξεων, ποσοτικού ή ποιοτικού ελέγχου). Η επικύρωση διασφαλίζει τη συμμόρφωση με τις κανονιστικές απαιτήσεις και υποστηρίζει την αξιοπιστία των δεδομένων που υποβάλλονται σε ρυθμιστικές αρχές[49][50][52].

Στην ανάλυση των αναστολέων αντλίας πρωτονίων (PPIs), η επικύρωση των μεθόδων αποκτά ιδιαίτερη σημασία, λόγω της χημικής αστάθειας των ενώσεων αυτών και της παρουσίας πολλαπλών προϊόντων αποικοδόμησης. Οι αναλυτικές μέθοδοι πρέπει να είναι σταθεροενδεικτικές (stability-indicating), ώστε να διαχωρίζουν με ακρίβεια τη δραστική ουσία από τις προσμίξεις και τα προϊόντα διάσπασης.

1.2.3.1 Βασικές Παράμετροι Επικύρωσης

Accuracy (Ορθότητα)

Η accuracy εκφράζει τον βαθμό συμφωνίας μεταξύ της πειραματικά προσδιοριζόμενης τιμής και της πραγματικής ή αποδεκτής τιμής αναφοράς. Συνήθως αξιολογείται μέσω μελετών ανάκτησης (recovery studies), όπου γνωστές ποσότητες αναλύτη προστίθενται στη μήτρα του δείγματος και επαναπροσδιορίζονται. Η ορθότητα είναι ιδιαίτερα σημαντική σε ποσοτικές μεθόδους, καθώς επιβεβαιώνει ότι η μέθοδος δεν εμφανίζει συστηματικό σφάλμα[50][51][52]. Για τις αναλύσεις PPIs, αποδεκτές τιμές ανάκτησης κυμαίνονται συνήθως μεταξύ 98–102%, γεγονός που υποδηλώνει ότι η μέθοδος παρέχει αξιόπιστα αποτελέσματα χωρίς σημαντική συστηματική απόκλιση.

Precision (Αναπαραγωγιμότητα / Επαναληψιμότητα)

Η precision αναφέρεται στον βαθμό συμφωνίας μεταξύ ανεξάρτητων μετρήσεων του ίδιου δείγματος υπό καθορισμένες συνθήκες. Διακρίνεται σε:

- **Repeatability**, όταν η ανάλυση πραγματοποιείται από τον ίδιο αναλυτή, με τον ίδιο εξοπλισμό, σε σύντομο χρονικό διάστημα.
- **Intermediate precision**, όταν λαμβάνονται υπόψη μεταβολές όπως διαφορετικές ημέρες, αναλυτές ή εξοπλισμός.
- **Reproducibility**, όταν η μέθοδος αξιολογείται μεταξύ διαφορετικών εργαστηρίων.

Η precision εκφράζεται συνήθως ως σχετική τυπική απόκλιση (RSD %) και αποτελεί κρίσιμο δείκτη αξιοπιστίας της μεθόδου[50][51][52].

Για τις μεθόδους ανάλυσης PPIs, τιμές RSD μικρότερες του 2% θεωρούνται αποδεκτές και υποδεικνύουν υψηλή επαναληψιμότητα.

Linearity και Range (Γραμμικότητα και Περιοχή)

Η γραμμικότητα αξιολογεί την ικανότητα της μεθόδου να παρέχει αποτελέσματα που είναι άμεσα ανάλογα της συγκέντρωσης του αναλύτη μέσα σε συγκεκριμένο εύρος. Η αξιολόγηση γίνεται μέσω κατασκευής καμπύλης βαθμονόμησης και υπολογισμού του συντελεστή συσχέτισης. Για τις αναλυτικές μεθόδους των PPIs, η γραμμικότητα θεωρείται αποδεκτή όταν ο συντελεστής συσχέτισης (r^2) είναι μεγαλύτερος από 0.999, γεγονός που υποδηλώνει υψηλή αναλογικότητα μεταξύ συγκέντρωσης και απόκρισης. Το range ορίζεται ως το διάστημα συγκεντρώσεων για το οποίο η μέθοδος έχει αποδεδειγμένα αποδεκτή accuracy, precision και γραμμικότητα. Για τις φαρμακευτικές αναλύσεις των PPIs, το εύρος καλύπτει συνήθως το 80–120% της ονομαστικής συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας, εξασφαλίζοντας την αξιοπιστία της μεθόδου σε διαφορετικά επίπεδα συγκέντρωσης. [50][51][52].

Limit of Detection (LOD) και Limit of Quantification (LOQ)

Το LOD αποτελεί τη χαμηλότερη συγκέντρωση αναλύτη που μπορεί να ανιχνευθεί, αλλά όχι απαραίτητα να ποσοτικοποιηθεί με αποδεκτή ακρίβεια. Το LOQ είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση που μπορεί να ποσοτικοποιηθεί με αποδεκτή precision και accuracy. Τα όρια αυτά μπορούν να υπολογιστούν με στατιστικές μεθόδους βασισμένες στη διακύμανση της απόκρισης και την κλίση της καμπύλης βαθμονόμησης[50][51][52].

Στην περίπτωση των PPIs, τα χαμηλά LOD και LOQ είναι ιδιαίτερα σημαντικά, καθώς επιτρέπουν την ανίχνευση ιχνοποσοτήτων προϊόντων αποικοδόμησης, τα οποία μπορεί να έχουν σημαντικές επιπτώσεις στην ασφάλεια του φαρμάκου.

Specificity / Selectivity (Ειδικότητα)

Η ειδικότητα αναφέρεται στην ικανότητα της μεθόδου να μετρά τον αναλύτη παρουσία άλλων συστατικών, όπως προσμίξεις, προϊόντα αποδόμησης ή έκδοχα. Μια ειδική μέθοδος δεν επηρεάζεται από παρεμβολές και είναι κρίσιμη για σταθερομετρικές και προσδιοριστικές αναλύσεις[50][51][52].

Στην περίπτωση των PPIs, η εκλεκτικότητα είναι ιδιαίτερα κρίσιμη, καθώς τα μόρια αυτά αποικοδομούνται εύκολα, δημιουργώντας σύνθετα χρωματογραφικά προφίλ. Η επιβεβαίωση της εκλεκτικότητας πραγματοποιείται συνήθως μέσω μελετών εξαναγκασμένης αποικοδόμησης (forced degradation studies), όπου αποδεικνύεται ότι η κύρια κορυφή της δραστικής ουσίας διαχωρίζεται πλήρως από τις υπόλοιπες κορυφές.

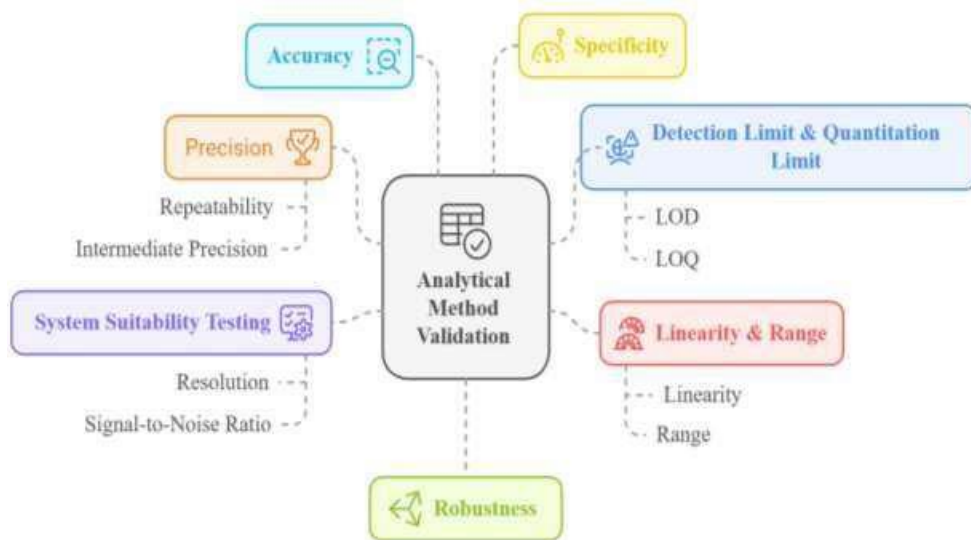
Robustness (Ανθεκτικότητα)

Η robustness εκφράζει την ικανότητα της μεθόδου να παραμένει ανεπηρέαστη από μικρές, σκόπιμες μεταβολές των παραμέτρων (π.χ. pH, θερμοκρασία, ρυθμός ροής, σύσταση κινητής φάσης). Η αξιολόγηση της robustness παρέχει ένδειξη της αξιοπιστίας της μεθόδου σε συνθήκες ρουτίνας και συμβάλλει στην κατανόηση των κρίσιμων παραμέτρων της ανάλυσης[49][50][51].

Για τις αναλύσεις PPIs, η ευρωστία είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθώς οι ενώσεις αυτές είναι ευαίσθητες σε μεταβολές του pH και των συνθηκών ανάλυσης. Η αξιολόγηση της ευρωστίας διασφαλίζει ότι η μέθοδος μπορεί να εφαρμοστεί αξιόπιστα σε διαφορετικά εργαστηριακά περιβάλλοντα.

Η επικύρωση αναλυτικών μεθόδων αποτελεί θεμελιώδη διαδικασία στη φαρμακευτική ανάλυση, διασφαλίζοντας ότι οι αναλυτικές μέθοδοι είναι κατάλληλες, αξιόπιστες και συμμορφωμένες με διεθνείς κανονιστικές απαιτήσεις. Μέσω της συστηματικής αξιολόγησης παραμέτρων όπως accuracy, precision, linearity, LOD, LOQ, specificity και robustness, τεκμηριώνεται η ποιότητα των παραγόμενων δεδομένων και ενισχύεται η αξιοπιστία των

φαρμακευτικών προϊόντων Στην περίπτωση των PPIs, η ανάγκη για σταθεροενδεικτικές και υψηλής ακρίβειας μεθόδους καθιστά την επικύρωση ακόμη πιο σημαντική[49][50][51][52].



Εικόνα 8: Κύριοι Παράμετροι για την Επικύρωση Αναλυτικής Μεθόδου[50].

2. Ανασκόπηση βιβλιογραφίας

2.1 Μελέτες σταθερότητας των PPI

2.1.1 Χημική σταθερότητα σε διάφορα pH.

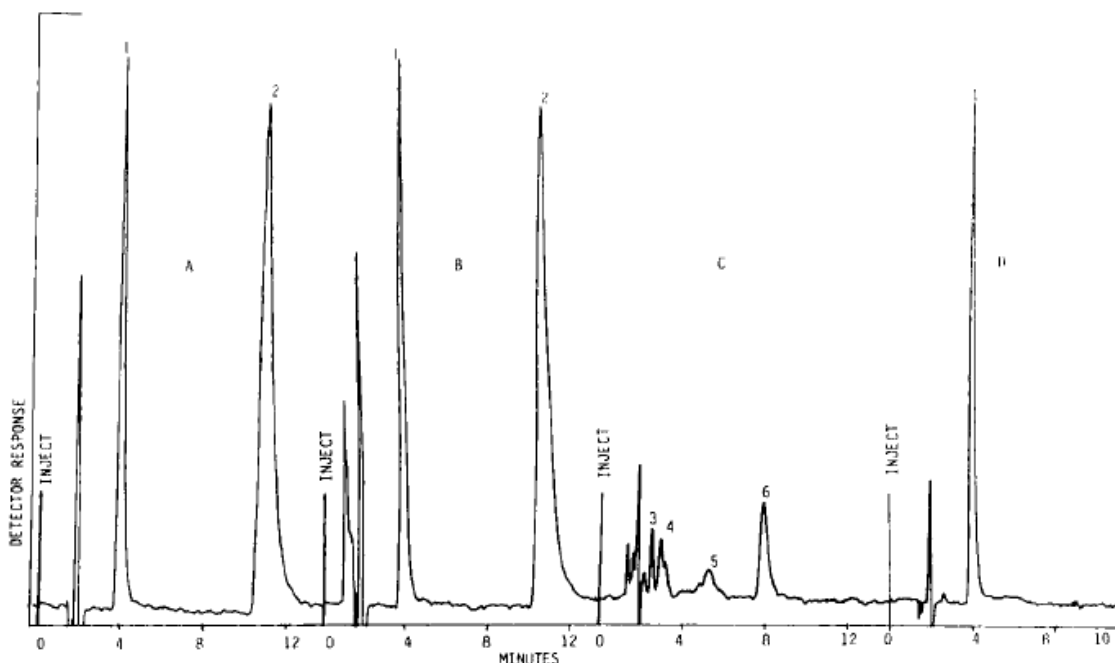
Όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, η χημική σταθερότητα των αναστολέων αντλίας πρωτονίων (Proton Pump Inhibitors, PPIs) αποτελεί κεντρικό ζήτημα στη φαρμακοτεχνία και στον ποιοτικό έλεγχο, επειδή τα μόρια αυτά εμφανίζουν έντονα pH-εξαρτώμενη συμπεριφορά. Συγκεκριμένα σε όξινο περιβάλλον ενεργοποιούνται (ως προφάρμακα) μέσω πρωτονίωσης και αναδιατάξεων, αλλά ταυτόχρονα υφίστανται ταχεία αποικοδόμηση. Η ισορροπία μεταξύ «όξινης ενεργοποίησης» και «όξινης διάσπασης» εξηγεί γιατί οι περισσότερες εμπορικές μορφές είναι εντεροδιαλυτές και γιατί, όταν απαιτούνται εξατομικευμένες (compounded) μορφές, χρειάζεται προσεκτικός έλεγχος pH και μικροπεριβάλλοντος. Η ενότητα αυτή συνθέτει τέσσερις μελέτες που προσεγγίζουν το ίδιο πρόβλημα από συμπληρωματικές οπτικές: (α) κινητική και σταθεροενδεικτική ποσοτικοποίηση της αποικοδόμησης σε ευρύ pH (, HPLC), (β) συγκριτική *in vitro* διερεύνηση όξινα καταλυόμενων μετατροπών και προϊόντων αποικοδόμησης τριών PPIs με ηλεκτροχημική παρακολούθηση σε πραγματικό χρόνο (ομεπραζόλη – λανσοπραζόλη – παντοπραζόλη, DPP/SMDE), (γ) υδρολυτική αποικοδόμηση της λανσοπραζόλης με εξαναγκασμένες συνθήκες (acid/base stress), απομόνωση νέου προϊόντος βάσης και πλήρη δομικό χαρακτηρισμό (LC-MS/HRMS/NMR), και (δ) εφαρμοσμένη φαρμακοτεχνική αξιοποίηση της pH-εξαρτώμενης σταθερότητας της παντοπραζόλης σε εξατομικευμένες υγρές και στερεές μορφές, με παράλληλη αξιολόγηση διαλυτοποίησης, επίδρασης μέσου χορήγησης, χημικής σταθερότητας και αναλυτικών μεθόδων (HPLC/UV-Vis) [53][54][55][56].

Αφετηριακά, η μελέτη των Mathew, Das Gupta και Bailey (1995) έχει ως βασικό σκοπό να θεμελιώσει μια σταθεροενδεικτική αναλυτική μεθοδολογία HPLC για την ομεπραζόλη και να ποσοτικοποιήσει με συστηματικό τρόπο την επίδραση του pH στη σταθερότητά της. Η επιλογή της ομεπραζόλης ως μοντέλου είναι εύλογη, καθώς αποτελεί κλασικό PPI με έντονη οξεοκαταλυόμενη αποικοδόμηση, ενώ η ανάγκη να χρησιμοποιηθεί μέθοδος που να διαχωρίζει το μητρικό μόριο από τα προϊόντα αποικοδόμησης είναι κρίσιμη για να μην υπερεκτιμάται η περιεκτικότητα όταν συνυπάρχουν παραπροϊόντα. Στο πειραματικό μέρος, οι συγγραφείς χρησιμοποίησαν σύστημα HPLC Waters ALC 202 με injector Rheodyne 7125 και ανιχνευτή πολλαπλών μηκών κύματος, ενώ ως στατική φάση χρησιμοποιήθηκε στήλη μBondapak C18 (30 cm × 3.9 mm, 10 μm). Η κινητή φάση περιείχε 40% (v/v) ακετονιτρίλιο σε 0.02 M οξικό αμμώνιο (ρυθμισμένο σε pH 7.1), με ρυθμό ροής 1.7 mL/min και ανίχνευση στα 235 nm, ενώ ο όγκος έγχυσης ήταν 20 μL. Ως εσωτερικό πρότυπο χρησιμοποιήθηκε methyltestosterone, ώστε η ποσοτικοποίηση να βασίζεται σε λόγους κορυφών (peak height ratio) και να διορθώνει πιθανές μεταβολές έγχυσης/ανίχνευσης. Επιπλέον, δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στη σταθερότητα των προτύπων/δειγμάτων: οι συγγραφείς ρυθμίζουν το pH των πρότυπων και των assay solutions περίπου στο 10 με NaOH, ώστε να ελαχιστοποιείται η αποικοδόμηση ακόμη και κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας και της χρωματογραφικής ανάλυσης. Η προσέγγιση αυτή είναι μεθοδολογικά σημαντική, διότι υποδηλώνει ότι η ίδια η αναλυτική διαδικασία μπορεί να προκαλέσει τεχνητή υποεκτίμηση της δραστηκούς, αν το pH παραμείνει χαμηλό[53].

Για να τεκμηριωθεί ο «σταθεροενδεικτικός» χαρακτήρας της HPLC, πραγματοποιήθηκαν πειράματα αποικοδόμησης της ομεπραζόλης με ισχυρό οξύ και ισχυρή βάση, υπό θέρμανση. Οι συγγραφείς περιγράφουν ότι μετά από όξινη υδρόλυση η «ισχύς»/ποσότητα ομεπραζόλης που

απομένει είναι πρακτικά μηδενική και εμφανίζονται πολλαπλές νέες κορυφές στο χρωματογράφημα, ενώ μετά από βασική υδρόλυση δεν παρατηρούνται σημαντικά προϊόντα αποικοδόμησης, κάτι που υποδεικνύει πολύ μεγαλύτερη σταθερότητα σε βασικές συνθήκες. Η παρατήρηση αυτή δεν είναι απλώς ποιοτική· ενσωματώνεται στο σχεδιασμό της ίδιας της μεθόδου (pH κινητής φάσης 7.1 και αλκαλοποίηση δειγμάτων)[53].

Στη συνέχεια, οι συγγραφείς προχωρούν στο κύριο αντικείμενο: τη μελέτη σταθερότητας της ομεπραζόλης σε υδατικά ρυθμιστικά διαλύματα φωσφορικού ρυθμιστικού (0.1 M) σε pH 2.2 έως 11.0, με προσαρμοσμένη ιοντική ισχύ (0.35, με KCl). Παρασκευάστηκε αρχικό stock σε αιθανόλη (1.0 mg/mL) και στη συνέχεια αραιώθηκε σε 0.1 mg/mL στα αντίστοιχα ρυθμιστικά. Τα διαλύματα αποθηκεύτηκαν σε κεχριμπαρένια φιαλίδια σε θερμοκρασία δωματίου και αξιολογήθηκαν σε διαφορετικά χρονικά σημεία, φτάνοντας μέχρι και 93 ημέρες σε υψηλότερα pH. Τα αποτελέσματα δείχνουν μια σαφή τομή: μεταξύ pH 2.2 και 4.7 η ομεπραζόλη αποικοδομείται πλήρως εντός λίγων ωρών, με καθίζηση και πλήρη διάσπαση σε λιγότερο από 4 ώρες, ενώ σε pH 5.9–7.0 τα διαλύματα παραμένουν ασταθή ακόμα και μέσα σε μία ημέρα και αναφέρεται ότι η καθίζηση συμβαίνει περίπου όταν έχει αποικοδομηθεί ~25% του φαρμάκου. Αντίθετα, στην περιοχή pH 7.8–11.0 η αποικοδόμηση ακολουθεί κινητική πρώτης τάξης και η σταθερότητα αυξάνει με την αύξηση του pH, με μέγιστη σταθερότητα στο pH 11. Στο άρθρο παρουσιάζονται και οι αντίστοιχες «first-order plots» και pH–rate profile, τα οποία τεκμηριώνουν την οξεοκαταλυόμενη φύση της αποικοδόμησης: όσο αυξάνεται το pH (άρα μειώνεται η $[H^+]$), μειώνεται η παρατηρούμενη σταθερά αποικοδόμησης. Σημαντικό είναι επίσης ότι η μέθοδος εφαρμόζεται και σε κάψουλες καθυστερημένης αποδέσμευσης, με αποτέλεσμα περιεκτικότητας ~100.6% και χωρίς παρεμβολές από έκδοχα, ενισχύοντας την πρακτική χρησιμότητα της μεθόδου για ποιοτικό έλεγχο[53].

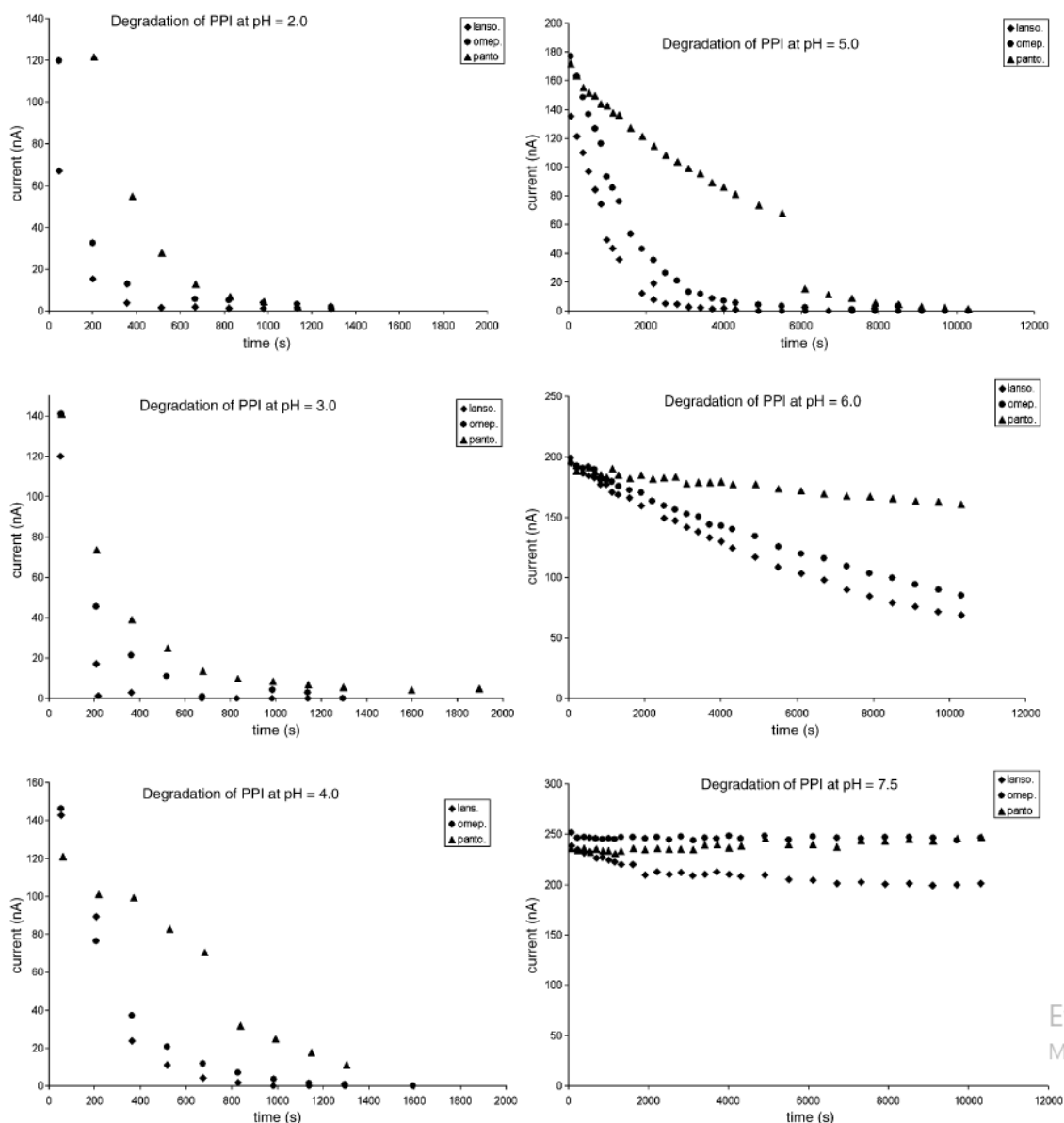


Εικόνα 9: Ενδεικτικά χρωματογραφήματα. Η κορυφή 1 αντιστοιχεί στην ομεπραζόλη, η κορυφή 2 στη methyltestosterone (εσωτερικό πρότυπο), ενώ οι κορυφές 3, 4, 5 και 6 αντιστοιχούν στα προϊόντα αποικοδόμησης της ομεπραζόλης. Το χρωματογράφημα A προέρχεται από πρότυπο διάλυμα, το B από κάψουλα, το C από διάλυμα που αποικοδομήθηκε με θειικό οξύ και το D από διάλυμα που αποικοδομήθηκε με υδροξείδιο του νατρίου[53].

Η μελέτη του Tutunji και συνεργατών (2006) μετακινεί την εστίαση από τη «σταθερότητα ενός PPI» στη συγκριτική κατανόηση ενός πιο σύνθετου συστήματος: των όξινα καταλυόμενων μετατροπών των PPIs ομεπραζόλη, λανσοπραζόλη και παντοπραζόλη, όχι μόνο ως απλή απώλεια του μητρικού μορίου, αλλά και ως χρονική εξέλιξη των ηλεκτροδραστικών προϊόντων αποικοδόμησης/μετατροπής. Ο σκοπός της εργασίας, όπως τίθεται ρητά, είναι η *in vitro* σύγκριση των ρυθμών αποικοδόμησης και η ταυτόχρονη παρακολούθηση της εμφάνισης/εξέλιξης ηλεκτροενεργών προϊόντων *in situ*, σε διαφορετικά pH, χρησιμοποιώντας διαφορική παλμική πολαρογραφία (Differential Pulse Polarography, DPP) σε στατικό ηλεκτρόδιο σταγόνας υδραργύρου (Static Mercury Drop Electrode, SMDE). Σε αντίθεση με προσεγγίσεις HPLC/UV που συχνά απαιτούν δειγματοληψία, διαχωρισμό και ξεχωριστές αναλύσεις, η DPP επιτρέπει επαναλαμβανόμενες σαρώσεις στο ίδιο δείγμα και κατασκευή ρευμάτων ως συνάρτηση του χρόνου, τόσο για το μητρικό μόριο όσο και για τα προϊόντα που παράγονται[54].

Στο πειραματικό μέρος, οι συγγραφείς χρησιμοποίησαν φωσφορικά ρυθμιστικά διαλύματα 0.05 M σε εύρος pH 2.0–8.0 και θερμοκρασία 37 °C, ώστε να προσομοιάσουν φυσιολογικό θερμοκρασιακό περιβάλλον. Για κάθε μέτρηση, λαμβανόταν 10.0 mL ρυθμιστικού στο πολαρογραφικό δοχείο, γινόταν αποαερίωση με άζωτο για 8 λεπτά, και στη συνέχεια προστίθενταν 100 μ L από διάλυμα PPI 3.0×10^{-3} M (ώστε η τελική συγκέντρωση να βρίσκεται στην περιοχή εργασίας). Οι σαρώσεις DPP έγιναν σε περιοχή δυναμικού 0.00 έως -2.00 V έναντι Ag/AgCl, με συγκεκριμένες παραμέτρους ηλεκτροδίου/παλμού: επιφάνεια σταγόνας 0.90 mm², χρόνος σταγόνας 0.6 s, ταχύτητα σάρωσης 13.33 mV/s και πλάτος παλμού 50 mV. Οι συνθήκες αυτές επαναλαμβάνονταν διαδοχικά έως ότου ολοκληρωθεί η αποικοδόμηση και εξαφανιστεί το αναλυτικό σήμα του PPI[54].

Στο επίπεδο αποτελεσμάτων, το πιο ισχυρό συμπέρασμα της εργασίας είναι η συγκριτική σειρά ρυθμών αποικοδόμησης των τριών PPIs: λανσοπραζόλη > ομεπραζόλη > παντοπραζόλη. Η σειρά αυτή δεν αναφέρεται ως απλή «παρατήρηση», αλλά συνδέεται με μηχανιστική ερμηνεία: ο ρυθμός αποικοδόμησης μειώνεται καθώς μειώνεται η βασικότητα του βενζιμιδαζολικού αζώτου, η οποία καθορίζει την ευκολία πρωτονίωσης στο πρώτο βήμα της όξινης ενεργοποίησης/διάσπασης. Σε πρακτικό επίπεδο, αυτό σημαίνει ότι η λανσοπραζόλη υφίσταται ταχύτερα όξινα καταλυόμενη μετατροπή/αποικοδόμηση, ενώ η παντοπραζόλη εμφανίζει αυξημένη ανθεκτικότητα, ιδιαίτερα σε ηπιότερα όξινα pH. Ένα από τα πιο χρήσιμα ευρήματα είναι αυτό που αφορά το pH 6: στο pH αυτό η παντοπραζόλη βρέθηκε το πιο σταθερό, ενώ λανσοπραζόλη και ομεπραζόλη υφίστανται σημαντική αποικοδόμηση. Η ίδια εργασία, επιπλέον, αναφέρεται στη σταθερότητα των κυκλικών σουλφεναμιδίων (ενεργών ενδιάμεσων): το κυκλικό σουλφεναμίδιο της παντοπραζόλης εμφανίζει την υψηλότερη σταθερότητα μεταξύ των τριών, ενώ το ομεπραζόλη βρίσκεται ενδιάμεσα. Η σύνδεση αυτών των ευρημάτων με το pH είναι ουσιώδης: αναδεικνύει ότι ακόμη και σε «όχι πολύ όξινες» συνθήκες (όπως pH 6), υπάρχουν σημαντικές διαφορές στα PPIs, κάτι που έχει άμεσες συνέπειες στον σχεδιασμό μορφών και στη συμπεριφορά σε μεταβαλλόμενα γαστρικά Ph[54].



Εικόνα 10: Ρεύμα (nA) – χρόνος (s): καμπύλες απομείωσης της ομεπραζόλης, της λανσοπραζόλης και της παντοπραζόλης ($3,00 \times 10^{-5}$) σε διαλύματα, το καθένα ρυθμισμένο (buffered) σε τιμές pH: 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0 και 8,0[54].

Η τρίτη μελέτη, του Battu και Pottabathini (2015) στο American Journal of Analytical Chemistry, εστιάζει ειδικά στη λανσοπραζόλη και έχει σκοπό να καλύψει ένα κενό που εντοπίζουν οι συγγραφείς στη βιβλιογραφία: ενώ υπάρχουν αναφορές για αναλυτικούς προσδιορισμούς και γνωστές ακαθαρσίες/προϊόντα αποικοδόμησης, δεν υπήρχε, κατά την ανασκόπησή τους, ολοκληρωμένη ταυτοποίηση–απομόνωση–δομικός χαρακτηρισμός ενός κύριου άγνωστου προϊόντος που σχηματίζεται υπό βασική υδρολυτική αποικοδόμηση. Το άρθρο λειτουργεί ως τυπική μελέτη stress degradation σύμφωνα με ICH, με αναλυτική ανάπτυξη μεθόδου HPLC/LC-MS, και στη συνέχεια ως δομική μελέτη HRMS και πολυδιάστατου NMR[55].

Στο πειραματικό μέρος, οι συγγραφείς περιγράφουν πρώτα τα υλικά και το αναλυτικό σύστημα. Η λανσοπραζόλη προμηθεύτηκε από βιομηχανική πηγή, ενώ τα διαλύτες και ρυθμιστικά (ακετονιτρίλιο, μεθανόλη, άλατα/οξέα όπως ammonium acetate, ammonium bicarbonate, formic acid, TFA) ήταν HPLC grade. Το κεντρικό εργαλείο ήταν ένα mass-mediated preparative HPLC σύστημα Waters (pump 2545, UV detector 2996, mass detector

Ενερ
Μετάβι

3100, sample manager 2767) με MassLynx, το οποίο διαθέτει αναλυτική και preparative έξοδο, επιτρέποντας όχι μόνο ποιοτική/ποσοτική καταγραφή αλλά και συλλογή κλασμάτων με βάση «mass threshold». Σημαντικές παράμετροι ιονισμού ήταν capillary voltage 3 kV, source temperature 150 °C και desolvation temperature 350 °C, ενώ ως makeup solvent προς τον mass detector χρησιμοποιήθηκε 0.1% formic acid σε water:methanol (90:10) μέσω splitter. Για την αναλυτική HPLC μέθοδο, κατέληξαν σε στήλη X-Select CSH C18 (150 × 4.6 mm, 5 μm) και κινητή φάση 10 mM ammonium bicarbonate (A) και acetonitrile (B), με συγκεκριμένο gradient (από 10% B σε 90% B, μέχρι 100% B και επιστροφή), και UV detection στα 285 nm[55].

Οι συνθήκες stress hydrolysis περιγράφονται με σαφήνεια. Για την όξινη αποικοδόμηση, 200 mg λανσοπραζόλης υποβλήθηκαν σε reflux με 0.1 N HCl στους 60 °C για 8 ώρες, και η κανονικότητα αυξήθηκε σταδιακά μέχρι 2 N ώστε να επιτευχθεί «επαρκής» αποικοδόμηση. Αντίστοιχα, για τη βασική αποικοδόμηση, 200 mg reflux με 0.1 N NaOH στους 60 °C για 8 ώρες, με βαθμιαία αύξηση έως 2 N. Τα παραγόμενα δείγματα διαλύονταν/αραιώνονταν κατάλληλα (μεθανόλη και mobile phase) και εγχέονταν (10 μL) για καταγραφή χρωματογραφημάτων και εκτίμηση σταθερότητας/προφίλ αποικοδόμησης. Μετά την ανάπτυξη της διαχωριστικής μεθόδου, οι συγγραφείς αναφέρουν ότι στην όξινη αποικοδόμηση παρατηρούνται μόνο γνωστές κορυφές (γνωστές ακαθαρσίες/προϊόντα), ενώ στη βασική αποικοδόμηση εμφανίζεται μία καλά διαχωρισμένη νέα κύρια κορυφή με m/z ~468.11 (M+H), η οποία δεν ήταν καταγεγραμμένη στη βιβλιογραφία που είχαν εξετάσει[55].

Το πιο «μεθοδολογικά δυνατό» σημείο της εργασίας είναι το πώς περνούν από την αναλυτική παρατήρηση στην απομόνωση. Αναφέρουν ότι κλιμάκωσαν τη μέθοδο από αναλυτική σε preparative, χρησιμοποιώντας ίδια κινητή φάση αλλά στήλη 150 × 19 mm (5 μm) και ρυθμό ροής 19 mL/min. Στο mass-based preparative σύστημα, χρησιμοποιούν splitter 1000:1, ώστε ένα μικρό κλάσμα ροής να κατευθύνεται προς τον mass detector (με επιπλέον αραιώση/ροή make-up pump), ενώ το υπόλοιπο συλλέγεται ως κλάσμα όταν ικανοποιείται το mass threshold. Ρυθμίζουν delay time του fraction collector με χρωστική (dye), ουδετεροποιούν το crude sample με HCl, αραιώνουν με mobile phase και κάνουν τρεις διαδοχικές εγχύσεις, συλλέγοντας κλάσματα του ιόντος 468.11 (M+H). Τα κλάσματα pooled και λυοφιλιώνονται ώστε να ληφθεί στερεό προϊόν για δομικό χαρακτηρισμό[55].

Ακολουθεί ο χαρακτηρισμός με HRMS και NMR. Το HRMS πραγματοποιείται σε Waters Q-TOF με ESI σε positive mode, με leucine enkephalin ως internal standard για βαθμονόμηση μάζας/ακρίβειας. Οι συγγραφείς δίνουν monoisotopic mass ~468.0966 (M+H) και προτείνουν στοιχειακή σύσταση/μοριακό τύπο, και στη συνέχεια συνδυάζουν αυτά τα δεδομένα με εκτενή NMR ανάλυση: ¹H και ¹³C NMR σε DMSO-d₆ στα 400 MHz, και 2D πειράματα COSY, HMBC, HSQC, NOE. Ερμηνευτικά, επισημαίνουν ότι στο προϊόν αποικοδόμησης λείπει το σήμα/σύνολο σημάτων μιας μεθυλενικής ομάδας (CH₂) που υπάρχει στη λανσοπραζόλη, στοιχείο που στηρίζει τη δομική μεταβολή/αναδιάταξη. Με βάση τις συσχετίσεις HMBC/HSQC και τις χωρικές πληροφορίες από NOE, καταλήγουν σε συγκεκριμένη δομή για το προϊόν βάσης, το οποίο έχει υψηλότερο μοριακό βάρος από τη λανσοπραζόλη και περιγράφεται ως ένα συμπυκνωμένο/αναδιατεταγμένο ετεροκυκλικό σύστημα. Το άρθρο κλείνει τονίζοντας ότι η μέθοδος που ανέπτυξαν είναι «fast, simple and sensitive» για διαχωρισμό/εντοπισμό προϊόντων αποικοδόμησης και ότι η απομόνωση του νέου προϊόντος βάσης συμπληρώνει ένα βιβλιογραφικό κενό[55].

S. No	Peak label	Retention time	Area%	Observed mass	About the peak
1	Peak-1	8.0	10.59	322.02 (M + H)	Des sulphur impurity
2	Peak-2	9.28	55.0	370.05 (M + H)	Lansoprazole
3	Peak-3	10.47	24.48	354.03 (M + H)	Sulphide impurity

Πίνακας 2: Προϊόντα αποικοδόμησης που σχηματίστηκαν κατά την εξαναγκασμένη όξινη αποικοδόμηση[55].

S. No	Peak label	Retention time	Area%	Observed mass	About the peak
1	Peak-1	6.93	7.37	271.98 (M + H)	Reported impurity
2	Peak-2	9.25	37.35	370.05 (M + H)	Lansoprazole
3	Peak-3	10.38	8.8	354.03 (M + H)	Sulphide impurity
4	Peak-4	11.27	9.9	Mixture of masses 407.13 (M + H), 502.10 (M + H)	Unresolved unknown impurities
5	Peak-5	12.63	16.86	468.11 (M + H)	Well resolved unknown impurity

Πίνακας 3: Προϊόντα αποικοδόμησης που σχηματίστηκαν κατά την εξαναγκασμένη βασική αποικοδόμηση[55].

Η τέταρτη μελέτη (Todorović et al., 2023) στο Pharmaceuticals μεταφέρει το ζήτημα της pH-σταθερότητας της παντοπραζόλης σε ένα πλαίσιο άμεσα χρήσιμο για νοσοκομειακή φαρμακευτική και εξατομικευμένες δοσολογίες: συγκρίνει υγρές και στερεές compounded μορφές «dose adjustable», αξιολογώντας όχι μόνο χημική σταθερότητα αλλά και καταλληλότητα χρήσης, ομοιομορφία, διαλυτοποίηση και επίδραση μέσων χορήγησης. Ο σκοπός εδώ δεν είναι απλώς να αποδειχθεί ότι «σε χαμηλό pH αποικοδομείται» — αυτό είναι ήδη γνωστό — αλλά να ποσοτικοποιηθεί σε συνθήκες που προσομοιώνουν πραγματική χρήση (π.χ. δοσολογικά μέσα όπως χυμός μήλου, τσάι χαμομηλιού) και να διαμορφωθούν πρακτικές συστάσεις για compounding[56].

Στη μεθοδολογία τους, οι συγγραφείς περιγράφουν με σαφήνεια την αξιολόγηση των καψουλών ως προς EP10 κριτήρια (uniformity of mass και content), καθώς και μελέτες διαλυτοποίησης με εξοπλισμό Erweka DT800, με καλάθια (basket apparatus) στα 100 rpm και 37 ± 0.5 °C. Η διαλυτοποίηση έγινε σε phosphate buffer pH 6.8, σε όγκο 500 ν παιδιατρική χρήση), ενώ ιδιαίτερα ενδιαφέρον είναι ότι δοκιμάζουν την επίδραση «dosing medium» προσθέτοντας 100 mL χυμού μήλου (όξινο μέσο και συνιστώμενο για ορισμένες εξουσιοδοτημένες μορφές) ή 100 mL τσάι χαμομηλιού (πιο βασικό), δηλαδή το 20% του όγκου του μέσου διαλυτοποίησης, ώστε να εκτιμηθεί αν η επιλογή μέσου χορήγησης μπορεί να μεταβάλει ουσιαστικά το προφίλ αποδέσμευσης/σταθερότητας. Η δειγματοληψία στη διαλυτοποίηση έγινε σε 5, 15, 25, 35, 45 και 60 λεπτά[56].

Η χημική σταθερότητα της παντοπραζόλης εξετάστηκε σε διάφορα μέσα: dissolution media (pH 6.8 και pH 1.2), dosing liquids (apple juice και chamomile tea), αλλά και σε sodium bicarbonate solution και citrate buffer, τα οποία εμφανίζονται ως συστατικά σε ορισμένες σιροπώδεις compounded μορφές. Ο σχεδιασμός διαχωρίζει την «σταθερότητα σε σχετικά ουδέτερο μέσο» από την «αναγκαστική αποικοδόμηση σε έντονα όξινο περιβάλλον» (forced degradation rate), για την οποία οι συγγραφείς αναμένουν και προσαρμόζουν κινητική πρώτης τάξης (εκθετική πτώση συγκέντρωσης). Η δειγματοληψία έγινε στα 5, 15, 30, 60 και 120 λεπτά. Σημαντική λεπτομέρεια της μεθόδου είναι ότι, για να “παγώσουν” την περαιτέρω αποικοδόμηση μετά τη δειγματοληψία, μεταφέρουν aliquot 0.5 mL και το αναμιγνύουν αμέσως με μεθανόλη, ώστε να μετρήσουν με ακρίβεια τη συγκέντρωση της παντοπραζόλης στο επιλεγμένο χρονικό σημείο χωρίς πρόσθετη πτώση λόγω συνεχιζόμενης υδρόλυσης στο υδατικό μέσο. Τα δείγματα διηθήθηκαν με φίλτρο 0.45 μm πριν την HPLC[56].

Η αναλυτική ποσοτικοποίηση γίνεται με δύο συμπληρωματικές τεχνικές: UV/Vis στα 288 nm για περιεκτικότητα καψουλών και δείγματα διαλυτοποίησης, με γραμμική βαθμονόμηση 2.5–40 μg/mL, καθώς και HPLC για συγκεντρώσεις παντοπραζόλης σε syrup formulations και για το stability testing. Η HPLC ήταν RP-isocratic σε Agilent 1100, με le και phosphate buffer 10 mM (pH 7 ρυθμισμένο με 0.1 M NaOH) σε αναλογία 36:68 (v/v), στήλη C18 Zorbax Eclipse Plus (5 μm, 4.6×150 mm), ρυθμό ροής 0.8 mL/min, έγχυση 10 μL, ανίχνευση στα 288 nm, LOQ 0.16 μg/mL και LOD 0.07 μg/mL, και retention time περίπου 2.5 min χωρίς παρεμβολές από άλλα συστατικά. Οι συγγραφείς επίσης περιγράφουν στατιστική επεξεργασία (SPSS, Q

test για outliers, ANOVA, και μοντελο-ανεξάρτητη σύγκριση προφίλ διαλυτοποίησης με $f1/f2$), κάτι που ενισχύει τη μεθοδολογική πληρότητα[56].

Στα αποτελέσματα, η μελέτη αναδεικνύει πρακτικά την pH-εξάρτηση μέσω οπτικών μεταβολών (χρωματισμοί σε ορισμένες syrup συνθέσεις) και μέσω ποσοτικών δεδομένων σταθερότητας/αποικοδόμησης. Περιγράφονται χρωματικές μεταβολές σε διαλύματα/σιρόπια χωρίς προσθήκη sodium bicarbonate, καθώς και μεταβολές μετά από 7 ημέρες σε ορισμένα σε αποθήκευση σε θερμοκρασία δωματίου. Αυτά τα φαινόμενα ερμηνεύονται ως έμμεσοι δείκτες χημικής μεταβολής/αποικοδόμησης, που τελικά επιβεβαιώνεται με HPLC. Παράλληλα, η εργασία στηρίζει τη μαθηματική περιγραφή της forced degradation σε όξινο μέσο ως διαδικασία πρώτης τάξης ($A = A_0 \cdot e^{-kt}$) και την εφαρμόζει για να συγκρίνει ρυθμούς αποικοδόμησης σε pH 1.2 έναντι πιο ήπιων μέσων. Το μήνυμα που εξάγεται — και που ταιριάζει άμεσα με την προηγούμενη κινητική θεμελίωση της ομεπραζόλης — είναι ότι σε έντονα όξινα περιβάλλοντα η παντοπραζόλη εμφανίζει πολύ χαμηλή χημική σταθερότητα σε χρονική κλίμακα λεπτών έως ωρών, ενώ σε ουδέτερα/ρυθμισμένα μέσα (π.χ. pH 6.8) η σταθερότητα είναι σαφώς καλύτερη τουλάχιστον στο 2ωρο που εξετάζεται, κάτι που στη συνέχεια συνδέεται με πρακτικές επιλογές στη compounding και στον τρόπο χορήγησης (π.χ. αποφυγή όξινων dosing liquids)[56].

Η συνολική εικόνα που προκύπτει από τα τέσσερα εξεταζόμενα άρθρα είναι ότι οι αναστολείς αντλίας πρωτονίων αποτελούν χαρακτηριστικά μόρια με έντονα pH-εξαρτώμενη χημική σταθερότητα, η οποία σχετίζεται άμεσα με τον μηχανισμό ενεργοποίησης και αποικοδόμησής τους. Η μελέτη των Mathew, Das Gupta και Bailey για την ομεπραζόλη θεμελιώνει το βασικό κινητικό πλαίσιο, δείχνοντας ότι η αποικοδόμηση είναι έντονα οξεοκαταλυόμενη, ότι κάτω από pH 7.8 το μόριο είναι ιδιαίτερα ασταθές, και ότι η μέγιστη σταθερότητα επιτυγχάνεται σε ισχυρά αλκαλικό περιβάλλον. Η εργασία αυτή εισάγει ουσιαστικά το pH-rate profile της ομεπραζόλης και αποδεικνύει, μέσω σταθεροενδεικτικής HPLC μεθόδου, ότι η συγκέντρωση των ιόντων H^+ αποτελεί καθοριστικό παράγοντα της παρατηρούμενης ταχύτητας αποικοδόμησης[53].

Η συγκριτική μελέτη των Tutunji και συνεργατών επεκτείνει το ζήτημα από ένα μόνο PPI σε τρία διαφορετικά μόρια και αποδεικνύει ότι, αν και όλα ακολουθούν κοινό πρότυπο όξινα καταλυόμενης αποικοδόμησης, δεν εμφανίζουν την ίδια ανθεκτικότητα στις ίδιες συνθήκες pH. Η σειρά αποικοδόμησης λανσοπραζόλη > ομεπραζόλη > παντοπραζόλη αναδεικνύει τη σημασία των δομικών διαφορών και ειδικότερα της βασικότητας του βενζιμιδαζολικού αζώτου. Παράλληλα, η χρήση διαφορικής παλμικής πολαρογραφίας κατέστησε δυνατή την ταυτόχρονη παρακολούθηση του μητρικού μορίου και των προϊόντων αποικοδόμησης σε πραγματικό χρόνο, προσφέροντας πιο σύνθετη εικόνα της κινητικής συμπεριφοράς των PPIs[54].

Η εργασία των Battu και Pottabathini για τη λανσοπραζόλη προσθέτει στη συνολική εικόνα το επίπεδο της δομικής ταυτοποίησης των προϊόντων αποικοδόμησης. Μέσα από stress conditions όξινης και βασικής υδρόλυσης και με χρήση LC-MS, HRMS και NMR, οι συγγραφείς δεν περιορίζονται στο να δείξουν ότι το μόριο αποικοδομείται, αλλά απομονώνουν και χαρακτηρίζουν συγκεκριμένο προϊόν βασικής αποικοδόμησης. Με τον τρόπο αυτό, η αποικοδόμηση της λανσοπραζόλης αποκτά σαφές χημικό περιεχόμενο, καθώς συνδέεται με συγκεκριμένες δομικές μεταβολές και όχι απλώς με αριθμητική απώλεια της δραστικής ουσίας[55].

Τέλος, η μελέτη των Todorović και συνεργατών μεταφέρει τη γνώση αυτή σε ένα πιο εφαρμοσμένο πλαίσιο, εξετάζοντας compounded υγρές και στερεές μορφές παντοπραζόλης. Το άρθρο επιβεβαιώνει ότι η παντοπραζόλη παραμένει έντονα ευαίσθητη σε όξινα περιβάλλοντα, ενώ η σταθερότητά της βελτιώνεται σημαντικά σε αλκαλικά μέσα και σε συνθήκες ψύξης. Παράλληλα, αναδεικνύεται η σημασία του μέσου χορήγησης και του

μικροπεριβάλλοντος pH, καθώς αυτά μπορούν να επηρεάσουν όχι μόνο τη χημική σταθερότητα αλλά και το προφίλ διαλυτοποίησης των compounded μορφών[56].

Συνεπώς, τα τέσσερα αυτά άρθρα συγκροτούν μια συνεκτική επιστημονική αλυσίδα: από τη θεμελιώδη κινητική περιγραφή της αποικοδόμησης της ομεπραζόλης, στη συγκριτική αξιολόγηση διαφορετικών PPIs, στην ταυτοποίηση συγκεκριμένων προϊόντων διάσπασης της λανσοπραζόλης, και τέλος στην εφαρμογή αυτής της γνώσης στον φαρμακοτεχνικό σχεδιασμό εξατομικευμένων μορφών παντοπραζόλης. Η ενιαία ανάγνωση των δεδομένων οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η χημική σταθερότητα των PPIs δεν αποτελεί απλώς μια γενική ιδιότητα της κατηγορίας, αλλά μια πολυπαραγοντική διεργασία που εξαρτάται από το pH, τη δομή του μορίου, τη φύση των προϊόντων αποικοδόμησης και το μικροπεριβάλλον της δοσολογικής μορφής[53][54][55][56].

2.1.2 Σταθερότητα σε σχέση με θερμοκρασία και φως.

Η σταθερότητα των αναστολέων αντλίας πρωτονίων δεν επηρεάζεται μόνο από το pH, αλλά και από εξωγενείς παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η σχετική υγρασία και η έκθεση στο φως. Η σημασία αυτών των παραγόντων είναι ιδιαίτερα μεγάλη, επειδή τα μόρια της κατηγορίας αυτής περιέχουν χημικά ευαίσθητες δομές, όπως το σύστημα βενζιμιδαζολίου και τη σουλφοξειδική γέφυρα, οι οποίες μπορούν να υποστούν μεταβολές τόσο σε διαλύματα όσο και στη στερεά κατάσταση. Η θερμοκρασία και η υγρασία δρουν συχνά συνεργιστικά, επιταχύνοντας κινητικές διεργασίες αποικοδόμησης, ενώ η έκθεση στο φως μπορεί να ενεργοποιήσει φωτοχημικές αντιδράσεις, οδηγώντας σε σχηματισμό προϊόντων διάσπασης.

Για τον λόγο αυτό, η μελέτη της θερμικής και φωτοχημικής σταθερότητας των PPIs δεν περιορίζεται μόνο στον προσδιορισμό της διάρκειας ζωής τους, αλλά συμβάλλει και στην κατανόηση των μηχανισμών αποικοδόμησης, στη διαμόρφωση κατάλληλων συνθηκών αποθήκευσης και στη σωστή επιλογή συσκευασίας και φαρμακοτεχνικής μορφής. Οι μελέτες σταθερότητας πραγματοποιούνται συχνά σύμφωνα με επιταχυνόμενες συνθήκες (accelerated stability conditions) όπως ορίζονται από τις οδηγίες ICH, προκειμένου να εκτιμηθεί η συμπεριφορά των φαρμάκων σε συνθήκες καταπόνησης. Η παρούσα ενότητα βασίζεται σε πέντε μελέτες: μία συγκριτική εργασία για ενδοφλέβια διαλύματα ομεπραζόλης και παντοπραζόλη υπό διαφορετικές συνθήκες φωτισμού και θερμοκρασίας, μία κινητική μελέτη αποικοδόμησης της ομεπραζόλης στη στερεά κατάσταση υπό διαφορετική θερμοκρασία και σχετική υγρασία, μία φυσικοχημική μελέτη της στερεάς κατάστασης της omeprazole sodium με θερμικές και φασματοσκοπικές τεχνικές, και μία stress study της παντοπραζόλης για φωτολυτική και οξειδωτική αποικοδόμηση με HPLC–DAD, καθώς και μία μελέτη ανάπτυξης σταθεροενδεικτικής RP-HPLC μεθόδου για τη rabeprazole sodium, με εφαρμογή σε θερμική και φωτολυτική αποικοδόμηση υπό συνθήκες καταπόνησης [57][58][59][60][61].

Η πρώτη μελέτη, των Leitner και Zöllner, δημοσιεύθηκε το 2002 και αφορά την οπτική τεκμηρίωση της σταθερότητας ενδοφλέβιων διαλυμάτων ομεπραζόλης και παντοπραζόλης. Ο βασικός στόχος των συγγραφέων ήταν να συγκρίνουν τη σταθερότητα των διαθέσιμων ενδοφλέβιων σκευασμάτων των δύο φαρμάκων, όχι μόνο ως προς τη γενική ανθεκτικότητα, αλλά ειδικότερα ως προς το πώς αυτή αποτυπώνεται σε μακροσκοπικές οπτικές μεταβολές, δηλαδή κυρίως σε μεταβολές χρώματος. Το θεωρητικό υπόβαθρο της εργασίας βασίζεται στην παρατήρηση ότι οι PPIs είναι προφάρμακα, τα οποία ενεργοποιούνται φυσιολογικά μόνο στο ισχυρά όξινο περιβάλλον των εκκρινικών σωληναρίων των τοιχωματικών κυττάρων, ενώ η πρόωγη ενεργοποίηση ή αποικοδόμησή τους σε μη ελεγχόμενες συνθήκες οδηγεί σε χημική αστάθεια. Οι συγγραφείς επισημαίνουν ήδη από την εισαγωγή ότι η άμεση χημική

αποικοδόμηση των διαλυμάτων προκαλεί αποχρωματισμό, και αξιοποιούν αυτήν ακριβώς την ιδιότητα ως απλό αλλά λειτουργικό δείκτη σταθερότητας[57].

Στο πειραματικό μέρος, τα διαλύματα παρασκευάστηκαν από εμπορικά διαθέσιμα σκευάσματα (Losec® για την ομεπραζόλη και Pantoloc® για την παντοπραζόλη) σύμφωνα με τις οδηγίες των κατασκευαστών, περιλαμβάνοντας αρχική ανασύσταση και, όπου απαιτείται, περαιτέρω αραιώση για ενδοφλέβια έγχυση. Στη συνέχεια, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε διαφανή γυάλινα φιαλίδια και εκτέθηκαν σε διαφορετικές συνθήκες φωτισμού, όπως φυσικό φως ημέρας, τεχνητό φωτισμό και προστασία από το φως, ενώ η θερμοκρασία διατηρήθηκε σε επίπεδα δωματίου (περίπου 20–25°C). Η σταθερότητα των διαλυμάτων παρακολουθήθηκε σε χρονικά διαστήματα από 1 έως 24 ώρες, ενώ για την αποδοχή ή μη της σταθερότητας χρησιμοποιήσαν ως σημείο αναφοράς τα πρότυπα διαλύματα αποχρωματισμού που προβλέπονται από την Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία. Η αξιολόγηση της αποικοδόμησης έγινε λοιπόν με κριτήριο την οπτική μεταβολή: όταν το χρώμα του διαλύματος έφθανε ή υπερέβαινε εκείνο του αντίστοιχου προτύπου, το διάλυμα θεωρούνταν ακατάλληλο για περαιτέρω χρήση. Οι οπτικές αλλοιώσεις συγκρίθηκαν και τεκμηριώθηκαν φωτογραφικά με τυποποιημένο φωτισμό, γεγονός που προσδίδει στο πρωτόκολλο μεγαλύτερη αντικειμενικότητα[57].

Τα αποτελέσματα της εργασίας είχαν ιδιαίτερο πρακτικό ενδιαφέρον. Οι συγγραφείς κατέληξαν ότι τόσο η ένταση όσο και η φασματική σύσταση του φωτός, αλλά και η θερμοκρασία, είχαν μόνο δευτερεύουσα επίδραση στην αποχρωματιστική πορεία των διαλυμάτων, σε σύγκριση με τη γενικότερη εγγενή χημική αστάθεια των προφαρμάκων. Ωστόσο, η σύγκριση ανάμεσα στα δύο μόρια ήταν σαφής: η ενέσιμη μορφή της ομεπραζόλης παρουσίασε ήδη μέσα σε 1 ώρα ουσιαστικό οπτικό αποχρωματισμό, ενώ μετά από 6 ώρες οι μεταβολές ήταν εντονότερες από τα επιτρεπτά όρια του πρότυπου διαλύματος αναφοράς BG5. Αντίθετα, η παντοπραζόλη εμφάνισε αισθητή μεταβολή σε μεταγενέστερο χρονικό σημείο και μόλις μετά από 24 ώρες έφθασε στο επίπεδο αποχρωματισμού του προτύπου B6. Με βάση αυτό το κριτήριο, οι συγγραφείς συμπέραναν ότι η ενέσιμη παντοπραζόλη είναι περίπου τρεις φορές πιο σταθερή από την ομεπραζόλη, ενώ η αραιωμένη μορφή έγχυσης της ομεπραζόλης δεν έδειξε εμφανή οπτική μεταβολή εντός του προβλεπόμενου χρονικού διαστήματος, κάτι που αποδόθηκε κυρίως στη μεγαλύτερη αραιώση και στο υψηλότερο pH. Η μελέτη αυτή είναι πολύ χρήσιμη, γιατί αποδεικνύει ότι η θερμοκρασία και το φως παίζουν ρόλο, πως η οπτική μεταβολή μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως γρήγορος δείκτης αποικοδόμησης αλλά και ότι η σταθερότητα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό και από τη μορφή χορήγησης και τη σύσταση/αραιώση του διαλύματος[57].

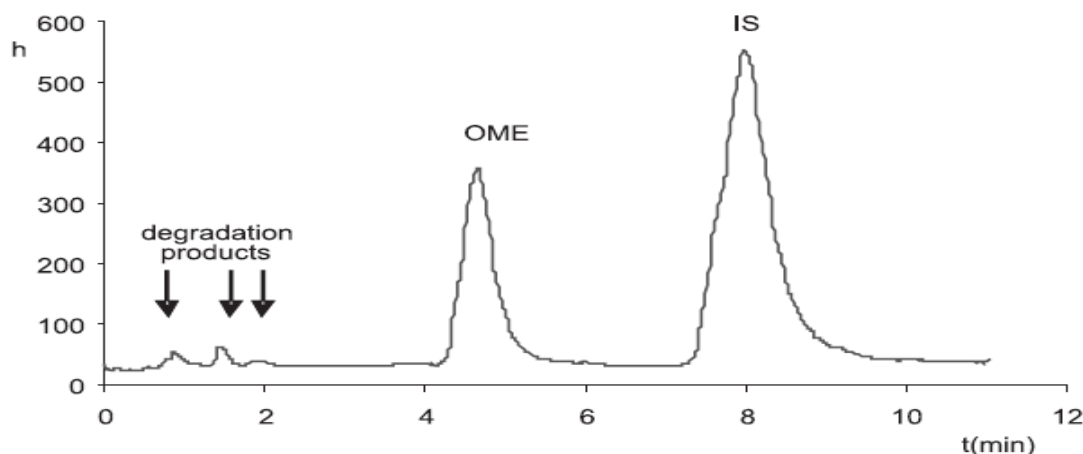
Η δεύτερη μελέτη, της Popielarz-Brzezińska, δημοσιεύθηκε το 2011 και εξετάζει την κινητική αποικοδόμησης της ομεπραζόλης στη στερεά κατάσταση. Σε αντίθεση με την προηγούμενη εργασία, όπου το αντικείμενο ήταν ενδοφλέβια διαλύματα, εδώ ο στόχος είναι η κατανόηση του πώς η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία επηρεάζουν τη σταθερότητα του API σε στερεή μορφή. Το ερευνητικό ερώτημα είναι ιδιαίτερα σημαντικό, επειδή πολλά PPIs αποθηκεύονται ή επεξεργάζονται σε στερεά κατάσταση κατά τη βιομηχανική παραγωγή, και η θερμική καταπόνηση ή η απορρόφηση υγρασίας μπορούν να πυροδοτήσουν αποικοδόμηση ακόμη και χωρίς παρουσία διαλύτη[58].

Η μεθοδολογία της εργασίας είναι ιδιαίτερα προσεγμένη. Ο ποσοτικός προσδιορισμός της ομεπραζόλης έγινε με HPLC-UV. Το αναλυτικό σύστημα περιλάμβανε εγχυτήρα Rheodyne 7120 με βρόχο 20 μ L, στήλη LiChrospher 100 RP-18 (5 μ m, 100 mm $\times$ 4 mm), ανίχνευση στα 302 nm, και κινητή φάση μεθανόλη : 100 mM ammonium acetate (60:40, v/v) με ρυθμό ροής 1.0 mL/min. Ως εσωτερικό πρότυπο χρησιμοποιήθηκε flutamide. Η μέθοδος επικυρώθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες ICH ως προς εκλεκτικότητα, γραμμικότητα, ακρίβεια, LOD και LOQ. Η γραμμικότητα κρίθηκε ικανοποιητική με $r = 0.9998$, η ανάκτηση ήταν 99.8–100.3%, η RSD

0.52–1.26%, ενώ το LOD και το LOQ προσδιορίστηκαν σε 0.012 mg/mL και 0.036 mg/mL, αντίστοιχα. Επιπλέον, στο χρωματογράφημα αναγνωρίστηκαν καθαρά η κορυφή της ομεπραζόλης με $t_R = 4.5$ min, του εσωτερικού προτύπου με $t_R = 9.2$ min και τρία προϊόντα αποικοδόμησης με χρόνους κατακράτησης περίπου 1.0, 1.5 και 2.5 min, γεγονός που αποδεικνύει ότι η μέθοδος ήταν σταθεροενδεικτική και για στερεά δείγματα υπό θερμικό/υγροσκοπικό stress[58].

Η πειραματική πορεία για τη μελέτη της κινητικής ήταν επίσης σαφώς καθορισμένη. Ζυγισμένα δείγματα στερεάς ομεπραζόλης, της τάξης του 1 mg, τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια χωρητικότητας 5 mL από πορτοκαλί γυαλί. Τα φιαλίδια εκτέθηκαν είτε σε ξηρές θερμικές συνθήκες, με θέρμανση σε 313–393 K, είτε σε ατμόσφαιρες με σχετική υγρασία 25–90% RH, η οποία δημιουργήθηκε με υπέρκορα διαλύματα ανόργανων αλάτων (NaI, NaBr, NaCl, NaNO_3 , ZnSO_4) σε ειδικούς θαλάμους. Σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα τα δείγματα απομακρύνονταν, ψύχονταν, διαλύονταν σε 10 mL κινητής φάσης και στη συνέχεια αναμιγνύονταν με διάλυμα του εσωτερικού προτύπου πριν από την HPLC ανάλυση. Η κινητική ανάλυση έγινε με ημιλογαριθμικά διαγράμματα και εφαρμογή της εξίσωσης Arrhenius[58].

Τα αποτελέσματα της εργασίας δείχνουν με μεγάλη καθαρότητα ότι η ομεπραζόλη στη στερεά κατάσταση είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη τόσο στη θερμοκρασία όσο και στη σχετική υγρασία. Οι ημιλογαριθμικές καμπύλες έδειξαν ότι η αποικοδόμηση περιγράφεται από κινητική πρώτης τάξης. Υπό ξηρές συνθήκες, η αύξηση της θερμοκρασίας από 333 K σε 393 K αύξησε εντυπωσιακά τη σταθερά ταχύτητας αποικοδόμησης, ενώ από την Arrhenius ανάλυση υπολογίστηκε ενέργεια ενεργοποίησης 85.2 ± 13.2 kJ/mol. Σε 76.4% RH, η ενέργεια ενεργοποίησης ήταν σαφώς χαμηλότερη, 36.64 ± 13.3 kJ/mol, πράγμα που δείχνει ότι η παρουσία υγρασίας διευκολύνει την αποικοδόμηση. Ακόμη πιο εντυπωσιακό είναι ότι στους 353 K η ημιπερίοδος ζωής υπό ξηρές συνθήκες ήταν περίπου 637 ημέρες, ενώ παρουσία 76.4% RH μειωνόταν περίπου στις 29 ώρες. Οι συγγραφείς παρατήρησαν επίσης χρωματική μεταβολή των στερεών δειγμάτων από λευκό σε ανοιχτό καφέ και ταχύτερη εμφάνιση προϊόντων αποικοδόμησης σε υγρό περιβάλλον. Το τελικό τους συμπέρασμα είναι σαφές: η ομεπραζόλη στερεάς κατάστασης πρέπει να αποθηκεύεται σε ερμητικά κλειστά δοχεία, προστατευμένη τόσο από αυξημένη θερμοκρασία όσο και από υγρασία καθώς και πως η δραματική μείωση της ημιπεριόδου ζωής δείχνει ότι η υγρασία είναι κρίσιμος παράγοντας ακόμη και στη στερεά κατάσταση [58].

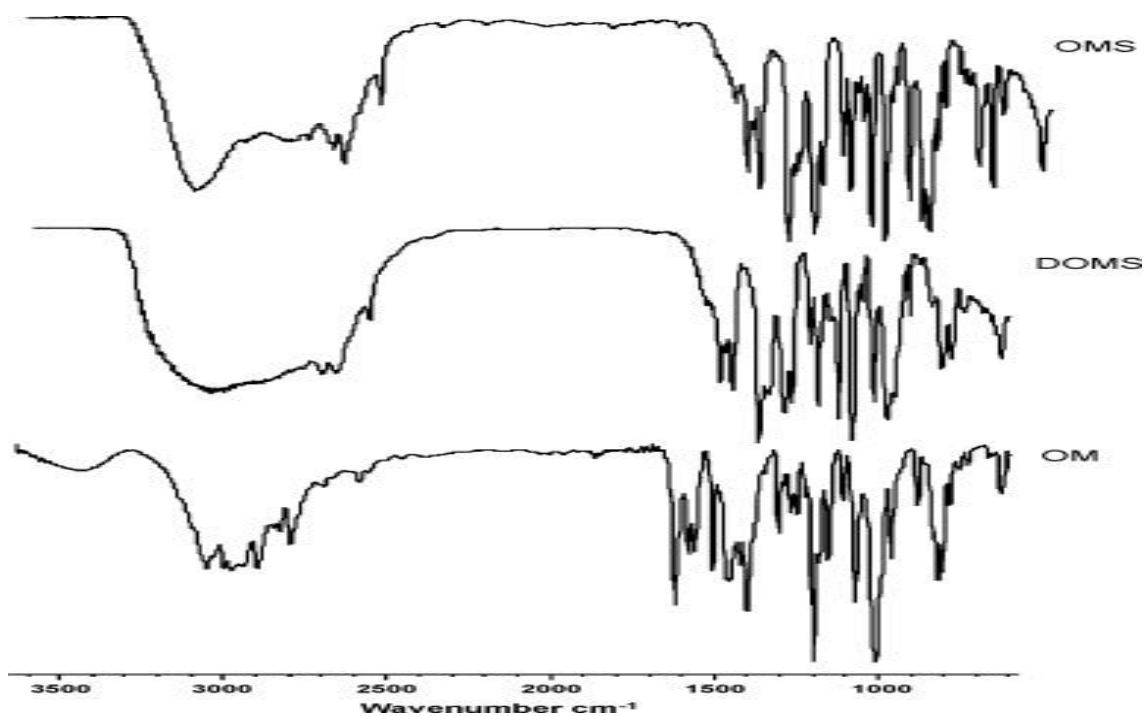


Εικόνα 11: Χρωματογραφήματα HPLC για αυθεντικό δείγμα ομεπραζόλης (OME), τα τρία προϊόντα αποικοδόμησης της και το εσωτερικό πρότυπο (flutamide, IS), διατηρημένα στους 393 K σε ξηρό αέρα για 24 ώρες, όπου h είναι το ύψος και t ο χρόνος κατακράτησης μιας κορυφής[58].

Η τρίτη μελέτη, των Murakami και συνεργατών, δημοσιεύθηκε το 2009 και εξετάζει τη στερεά κατάσταση της omeprazole sodium από πολύ ευρύτερη φυσικοχημική σκοπιά. Εδώ ο κύριος σκοπός δεν είναι μόνο η κινητική αποικοδόμησης αλλά η θερμική, φασματοσκοπική και κρυσταλλογραφική χαρακτηριστικοποίηση διαφορετικών μορφών του φαρμάκου, και ειδικότερα της ενυδατωμένης omeprazole sodium, της αφυδατωμένης μορφής της και της ελεύθερης βάσης της ομεπραζόλης. Η μελέτη αυτή είναι εξαιρετικά χρήσιμη, γιατί προσφέρει το υλικό υπόβαθρο για να εξηγήσει γιατί η θερμοκρασία δεν επηρεάζει απλώς έναν «ρυθμό αποικοδόμησης», αλλά μπορεί να μεταβάλλει τη δομή, τον βαθμό κρυσταλλικότητας, την παρουσία νερού στο πλέγμα και, τελικά, τη χημική και φυσική σταθερότητα του API[59].

Στο πειραματικό επίπεδο, οι συγγραφείς μελέτησαν τρεις μορφές: omeprazole sodium (OMS), dehydrated omeprazole sodium (DOMS) και omeprazole free base (OM). Για τον χαρακτηρισμό τους χρησιμοποίησαν ένα σύνολο συμπληρωματικών τεχνικών: θερμοβαρυμετρία και παράγωγο θερμοβαρυμετρίας (TG/DTG), διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC), υπέρυθη φασματοσκοπία διάχυτης ανάκλασης με μετασχηματισμό Fourier (DRIFT), ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM), περιθλασιμετρία ακτίνων X σε κονιοποιημένα δείγματα (XRPD) και επιπρόσθετα NMR για τη διευκρίνιση της διαμόρφωσης και της κρυσταλλικής δομής. Η αξία της εργασίας έγκειται ακριβώς στην πολυτεχνική προσέγγιση: δεν περιορίζεται σε ένα θερμικό διάγραμμα, αλλά συσχετίζει θερμική συμπεριφορά, δομή και μορφολογία[59].

Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν ότι η omeprazole sodium δεν είναι ένα απλό, ενιαίο στερεό, αλλά μια ουσία της οποίας η κατάσταση ενυδάτωσης και η κρυσταλλική μορφή επηρεάζουν καθοριστικά τις φυσικές και χημικές ιδιότητές της. Οι συγγραφείς τονίζουν ότι οι διαφορές στη στερεά μορφή και στον βαθμό κρυσταλλικότητας μπορούν να προκαλέσουν ουσιαστικές διαφορές σε σταθερότητα, χρώμα, μορφολογία, διαλυτοποίηση και βιοδιαθεσιμότητα. Η ουσία περιέχει συγκεκριμένο αριθμό μορίων νερού ως hydrate, και η αφυδάτωση δεν αποτελεί απλή απομάκρυνση υγρασίας αλλά μεταβάλλει ουσιαστικά τη δομή και συμπεριφορά της. Επομένως, η εργασία αυτή δείχνει ότι η θερμοκρασία μπορεί να δρα όχι μόνο επιταχύνοντας χημικές αντιδράσεις, αλλά και μετατοπίζοντας την ισορροπία μεταξύ διαφορετικών στερεών μορφών, κάτι που στη συνέχεια καθορίζει την ευαισθησία στην αποικοδόμηση[59].



Εικόνα 12: Συγκριτικά φάσματα DRIFT των OMS, DOMS και OM[59].

Η τέταρτη μελέτη, των Al Bratty και συνεργατών (2020), επικεντρώνεται στη διερεύνηση της φωτολυτικής και οξειδωτικής αποικοδόμησης της παντοπραζόλης, σε συνδυασμό με την ανάπτυξη και επικύρωση μιας σταθεροενδεικτικής αναλυτικής μεθόδου RP-HPLC–DAD. Η σημασία της μελέτης αυτής είναι ιδιαίτερα μεγάλη, καθώς η έκθεση των PPIs στο φως και σε οξειδωτικές συνθήκες κατά την αποθήκευση ή τη χορήγηση μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό προϊόντων αποικοδόμησης με πιθανή επίδραση στην αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια του φαρμάκου[60].

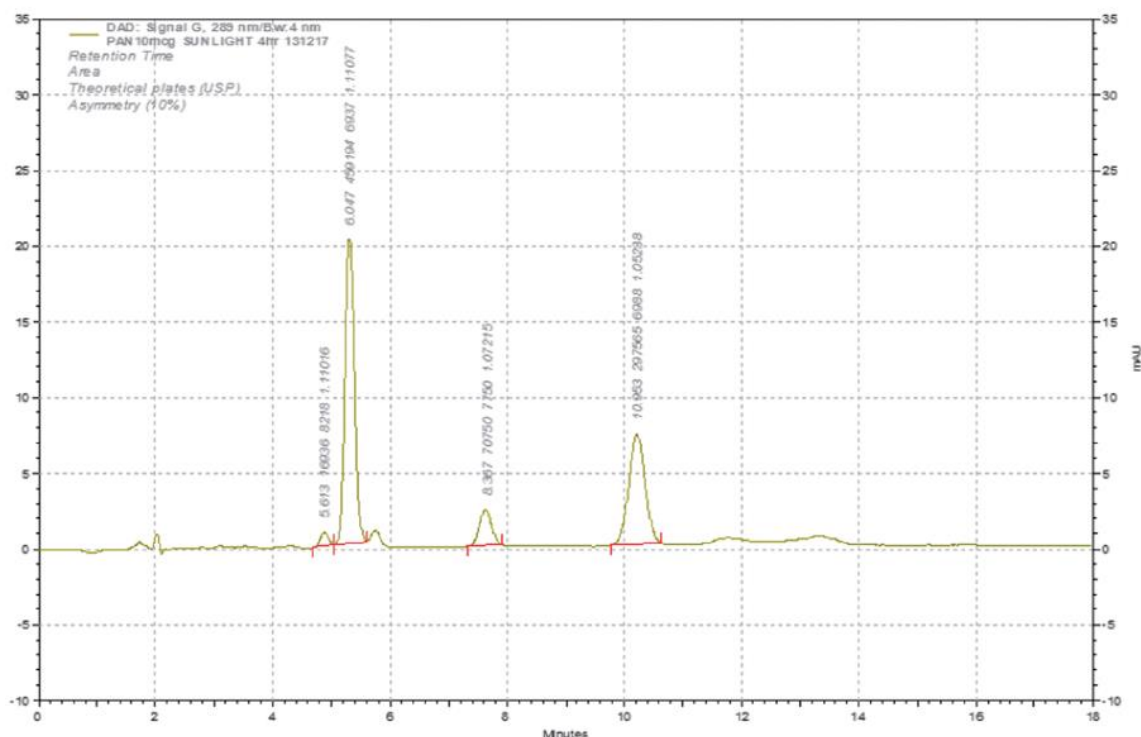
Στο πειραματικό μέρος, αναπτύχθηκε μέθοδος RP-HPLC με χρήση στήλης C18 και κινητής φάσης μεθανόλης/νερού (60:40, v/v), ρυθμισμένης σε pH 3.0, με ρυθμό ροής 1 mL/min. Η ανίχνευση πραγματοποιήθηκε με ανιχνευτή DAD, επιτρέποντας τόσο τον ποσοτικό προσδιορισμό της δραστικής ουσίας όσο και την παρακολούθηση των προϊόντων αποικοδόμησης. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε τόσο σε καθαρή παντοπραζόλη όσο και σε ενέσιμη μορφή pantoprazole sodium, προκειμένου να αξιολογηθεί η επίδραση της φαρμακοτεχνικής μορφής στη σταθερότητα[60].

Οι συνθήκες εξαναγκασμένης αποικοδόμησης περιλάμβαναν έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία και ηλιακό φως για καθορισμένα χρονικά διαστήματα, καθώς και οξειδωτική καταπόνηση με χρήση υπεροξειδίου του υδρογόνου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η παντοπραζόλη είναι ευαίσθητη τόσο στη φωτολυτική όσο και στην οξειδωτική αποικοδόμηση, με σχηματισμό συνολικά 18 προϊόντων αποικοδόμησης. Από αυτά, 9 ήταν κοινά και στις δύο οδούς, γεγονός που υποδηλώνει την ύπαρξη κοινών ενδιάμεσων μηχανισμών αποικοδόμησης[60].

Ειδικότερα, υπό υπεριώδη ακτινοβολία ανιχνεύθηκαν 8 προϊόντα αποικοδόμησης, ενώ υπό έκθεση σε ηλιακό φως εντοπίστηκαν 7 προϊόντα, γεγονός που καταδεικνύει ότι η φασματική σύσταση του φωτός επηρεάζει το προφίλ αποικοδόμησης. Στην ενέσιμη μορφή της παντοπραζόλης ταυτοποιήθηκαν τρεις κύριες προσμίξεις, οι οποίες αντιστοιχούν σε προϊόντα οξείδωσης, συγκεκριμένα sulfone, N-oxide και N-oxide sulfone. Τα προϊόντα αυτά προκύπτουν από οξείδωση της σουλφοξειδικής ομάδας και των αζωτούχων κέντρων του μορίου, γεγονός που υποδεικνύει ότι οι θέσεις αυτές αποτελούν κύρια σημεία ευπάθειας της παντοπραζόλης [60].

Η ανάπτυξη μεγάλου αριθμού προϊόντων αποικοδόμησης καταδεικνύει ότι η φωτοαποδόμηση της παντοπραζόλης δεν αποτελεί απλή διεργασία ενός σταδίου, αλλά περιλαμβάνει πολλαπλές παράλληλες και διαδοχικές αντιδράσεις. Το εύρημα αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία για τον ποιοτικό έλεγχο, καθώς απαιτεί τη χρήση σταθεροενδεικτικών αναλυτικών μεθόδων ικανών να διαχωρίζουν και να ανιχνεύουν το σύνολο των παραγόμενων προϊόντων[60].

Η αναλυτική μέθοδος που αναπτύχθηκε παρουσίασε υψηλή γραμμικότητα ($r \approx 0.9995$) και ικανοποιητική ευαισθησία (LOD περίπου $0.25 \mu\text{g/mL}$), επιβεβαιώνοντας την καταλληλότητά της για μελέτες σταθερότητας. Συνολικά, η εργασία αυτή αποδεικνύει ότι το φως και οι οξειδωτικές συνθήκες αποτελούν κρίσιμους παράγοντες αποικοδόμησης για την παντοπραζόλη και ότι η αξιολόγηση της σταθερότητας πρέπει να περιλαμβάνει όχι μόνο τον προσδιορισμό της δραστικής ουσίας αλλά και τον χαρακτηρισμό των προϊόντων αποικοδόμησης[60].



Εικόνα 13: Χρωματογράφημα φωτολυτικής αποικοδόμησης της παντοπραζόλης υπό υπεριώδη ακτινοβολία (UV) στις 4 ώρες[60].

Τέλος η εργασία των Kumar και συνεργατών (2013) επικεντρώνεται στην ανάπτυξη και επικύρωση μιας σταθεροενδεικτικής μεθόδου RP-HPLC για τον προσδιορισμό του rabeprazole sodium και των σχετικών προσμίξεων και προϊόντων αποικοδόμησης της σε φαρμακευτικά σκευάσματα, με παράλληλη διερεύνηση της συμπεριφοράς της υπό συνθήκες εξαναγκασμένης αποικοδόμησης. Ο βασικός στόχος της μελέτης ήταν αφενός η δημιουργία μιας αναλυτικής μεθόδου υψηλής εκλεκτικότητας που να διαχωρίζει πλήρως τη δραστική ουσία από τα προϊόντα αποικοδόμησης και τις διεργασιακές προσμίξεις, και αφετέρου η κατανόηση της εγγενούς σταθερότητας της ραμπεπραζόλης μέσω συστηματικών stress studies σύμφωνα με τις οδηγίες της ICH[61].

Στο πειραματικό μέρος, η χρωματογραφική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με σύστημα RP-HPLC χρησιμοποιώντας στήλη Waters Symmetry Shield RP18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγμα ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών (0.025 M

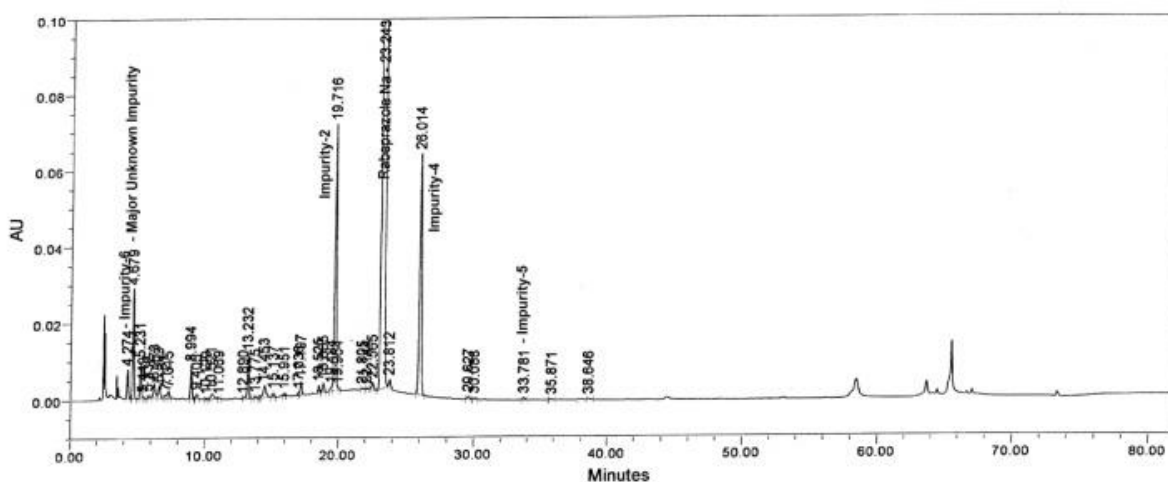
KH₂PO₄ με 0.1% triethylamine, ρυθμισμένο σε pH 6.4) και ακετονιτριλίου, σε gradient λειτουργία, με ρυθμό ροής 1.0 mL/min και ανίχνευση στα 280 nm. Η ανάπτυξη της μεθόδου επικεντρώθηκε στη βελτιστοποίηση του διαχωρισμού μεταξύ της ραμπεπραζόλης και επτά γνωστών προσμίξεων (Imp-1 έως Imp-7), καθώς και των προϊόντων αποικοδόμησης που σχηματίζονται υπό συνθήκες καταπόνησης. Μετά από βελτιστοποίηση του pH και της σύστασης της κινητής φάσης, επιτεύχθηκε πλήρης διαχωρισμός όλων των συστατικών με ικανοποιητική συμμετρία κορυφών και ανάλυση εντός αποδεκτών ορίων, επιβεβαιώνοντας τον σταθεροενδεικτικό χαρακτήρα της μεθόδου[61].

Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στη διεξαγωγή μελετών εξαναγκασμένης αποικοδόμησης (forced degradation studies), οι οποίες σχεδιάστηκαν ώστε να καλύπτουν ένα ευρύ φάσμα πιθανών μηχανισμών αποικοδόμησης. Τα δείγματα υποβλήθηκαν σε όξινη υδρόλυση (0.1 M HCl, 60°C, 45 min), βασική υδρόλυση (0.5 M NaOH, 60°C, 2 h), υδατική αποικοδόμηση (νερό, 60°C, 3 h), οξειδωτική καταπόνηση (1% H₂O₂, 30 min), θερμική έκθεση (105°C, 18 h), καθώς και φωτολυτική ακτινοβολία υπό συνθήκες που προσομοιώνουν ηλιακό και υπεριώδες φως. Μετά την εφαρμογή των συνθηκών αυτών, τα δείγματα εξουδετερώνονταν όπου απαιτείτο, αραιώνονταν κατάλληλα και αναλύονταν με HPLC, ενώ χρησιμοποιήθηκε και ανιχνευτής PDA για την επιβεβαίωση της καθαρότητας των κορυφών[61].

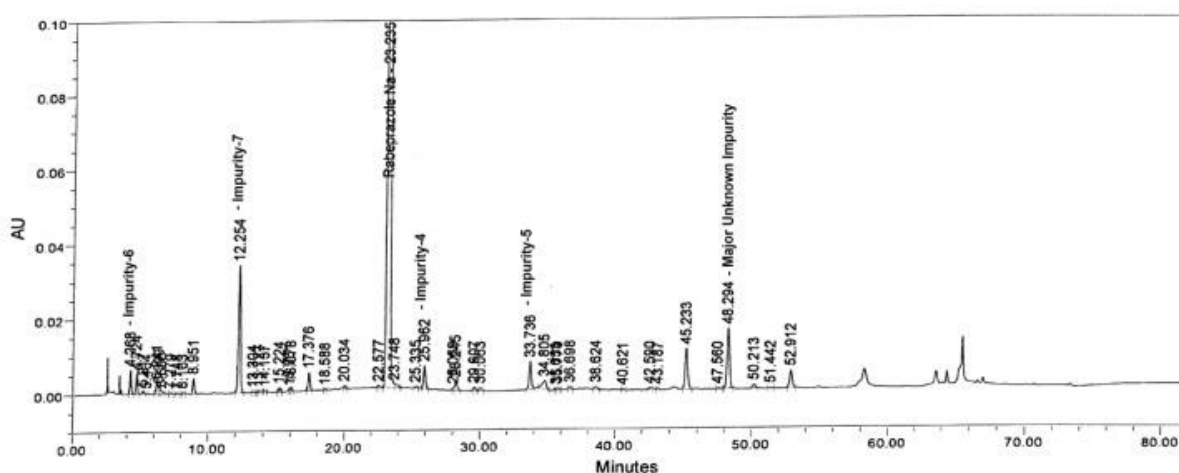
Τα αποτελέσματα των μελετών κατέδειξαν ότι η ραμπεπραζόλη εμφανίζει έντονη ευαισθησία σε χημικές διεργασίες υδρόλυσης και οξείδωσης. Ειδικότερα, η βασική αποικοδόμηση οδήγησε στον μεγαλύτερο βαθμό διάσπασης (συνολικά προϊόντα αποικοδόμησης περίπου 12%), ακολουθούμενη από την οξειδωτική (περίπου 8.5%) και την όξινη αποικοδόμηση (περίπου 6.5%). Σημαντική αποικοδόμηση παρατηρήθηκε επίσης υπό θερμικές συνθήκες, γεγονός που επιβεβαιώνει ότι η αυξημένη θερμοκρασία μπορεί να επιταχύνει ουσιαστικά τη διάσπαση του μορίου. Αντίθετα, υπό συνθήκες φωτολυτικής καταπόνησης, η ραμπεπραζόλη παρουσίασε υψηλή σταθερότητα, χωρίς σημαντικό σχηματισμό προϊόντων αποικοδόμησης, ενώ και υπό συνθήκες αυξημένης υγρασίας δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες μεταβολές[61].

Ένα ιδιαίτερα σημαντικό εύρημα της μελέτης είναι ότι το ισοζύγιο μάζας (mass balance), δηλαδή το άθροισμα της δραστικής ουσίας, των προσμίξεων και των προϊόντων αποικοδόμησης, κυμάνθηκε μεταξύ 97.3% και 101.3% για όλες τις συνθήκες καταπόνησης. Το γεγονός αυτό αποδεικνύει ότι η αναλυτική μέθοδος ήταν ικανή να ανιχνεύσει το σύνολο των προϊόντων αποικοδόμησης και να λειτουργήσει αξιόπιστα ως σταθεροενδεικτική μέθοδος, χωρίς απώλειες μη ανιχνεύσιμων συστατικών[61].

Η εργασία των Kumar και συνεργατών συμβάλλει ουσιαστικά στην κατανόηση της σταθερότητας των PPIs, δείχνοντας ότι το rabeprazole sodium εμφανίζει υψηλή ευαισθησία κυρίως σε βασική, οξειδωτική, όξινη και θερμική καταπόνηση, ενώ παρουσιάζει σημαντικά μεγαλύτερη σταθερότητα υπό φωτολυτικές συνθήκες και σε περιβάλλον αυξημένης υγρασίας. Το εύρημα αυτό υποδηλώνει ότι η επίδραση του φωτός δεν αποτελεί ομοιόμορφο χαρακτηριστικό για όλα τα PPIs, αλλά εξαρτάται από τη μοριακή δομή και τις επιμέρους ηλεκτρονικές ιδιότητες κάθε ένωσης. Παράλληλα, η εμφάνιση πολλαπλών προϊόντων αποικοδόμησης και το ικανοποιητικό ισοζύγιο μάζας επιβεβαιώνουν τη σημασία της χρήσης σταθεροενδεικτικών αναλυτικών μεθόδων για την αξιόπιστη αξιολόγηση της σταθερότητας. Συνολικά, η μελέτη αναδεικνύει ότι η αποικοδόμηση των PPIs είναι μια πολυπαραγοντική διεργασία, η οποία εξαρτάται από το είδος της καταπόνησης και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά κάθε μορίου [61].



Εικόνα 14: Τυπικά χρωματογραφήματα δείγματος όξινης αποικοδόμησης[61].



Εικόνα 15: Τυπικά χρωματογραφήματα δείγματος θερμικής αποικοδόμησης[61].

Η συνολική ανάλυση των μελετών που εξετάζουν τη σταθερότητα των αναστολέων αντλίας πρωτονίων (PPIs) υπό την επίδραση της θερμοκρασίας και του φωτός καταδεικνύει ότι η αποικοδόμηση των ενώσεων αυτών αποτελεί μια πολυπαραγοντική διεργασία, η οποία εξαρτάται από τη συνδυασμένη επίδραση της χημικής δομής, της φυσικής κατάστασης του φαρμάκου και των περιβαλλοντικών συνθηκών. Η σταθερότητα των PPIs δεν μπορεί να περιγραφεί ως μια απλή ποσοτική μείωση της δραστικής ουσίας, αλλά ως δυναμική μεταβολή του συνολικού χημικού και φυσικοχημικού τους προφίλ.

Τα δεδομένα των μελετών δείχνουν ότι η θερμοκρασία δρα ως βασικός κινητικός παράγοντας, επιταχύνοντας τις αντιδράσεις αποικοδόμησης, ενώ η παρουσία υγρασίας ενισχύει σημαντικά τη διεργασία, πιθανώς μέσω υδρολυτικών μηχανισμών ή αύξησης της μοριακής κινητικότητας. Η συνδυασμένη επίδραση θερμοκρασίας και υγρασίας καθιστά ιδιαίτερα ευάλωτα τα PPIs ακόμη και στη στερεά κατάσταση, αναιρώντας εν μέρει το πλεονέκτημα της μειωμένης κινητικότητας των μορίων σε σχέση με τα διαλύματα. Παράλληλα, η θερμοκρασία δεν επηρεάζει μόνο τον ρυθμό αποικοδόμησης, αλλά και τη στερεά μορφή του φαρμάκου, προκαλώντας μεταβολές στην ενυδάτωση και την κρυσταλλικότητα, οι οποίες με τη σειρά τους καθορίζουν τη χημική σταθερότητα.

Η επίδραση του φωτός αναδεικνύεται ως εξίσου κρίσιμη, αλλά πιο σύνθετη, καθώς η φωτοαποδόμηση δεν οδηγεί απλώς σε απώλεια της δραστικής ουσίας, αλλά σε σχηματισμό πολλών προϊόντων διάσπασης μέσω παράλληλων και διαδοχικών φωτοχημικών αντιδράσεων. Η

πολυπλοκότητα αυτή υπογραμμίζει ότι η αξιολόγηση της φωτοσταθερότητας πρέπει να περιλαμβάνει όχι μόνο ποσοτικό προσδιορισμό της δραστικής ουσίας, αλλά και ταυτοποίηση των παραγόμενων ακαθαρσιών, λόγω της πιθανής τοξικολογικής τους σημασίας.

Σημαντική είναι επίσης η διαφοροποίηση της σταθερότητας μεταξύ των επιμέρους PPIs. Σε αρκετές από τις εξεταζόμενες μελέτες, η παντοπραζόλη εμφανίζει αυξημένη ανθεκτικότητα σε σχέση με άλλα PPIs, όπως η ομεπραζόλη και η λανσοπραζόλη, γεγονός που αποδίδεται σε δομικά χαρακτηριστικά των μορίων και ειδικότερα στη βασικότητα του βενζιμιδαζολικού δακτυλίου και στη σταθερότητα της σουλφοξειδικής ομάδας. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώνει ότι μικρές τροποποιήσεις στη μοριακή δομή μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τη συμπεριφορά των PPIs υπό συνθήκες καταπόνησης.

Παράλληλα, η φυσική μορφή του φαρμάκου διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο. Τα διαλύματα εμφανίζουν μεγαλύτερη ευαισθησία σε θερμικές και φωτοχημικές επιδράσεις, λόγω της αυξημένης κινητικότητας των μορίων και της άμεσης έκθεσης στο περιβάλλον, ενώ στη στερεά κατάσταση η αποικοδόμηση επιβραδύνεται, χωρίς όμως να εξαλείφεται. Η παρουσία υγρασίας και οι μεταβολές στη στερεά δομή μπορούν να μεταβάλουν σημαντικά αυτή τη συμπεριφορά.

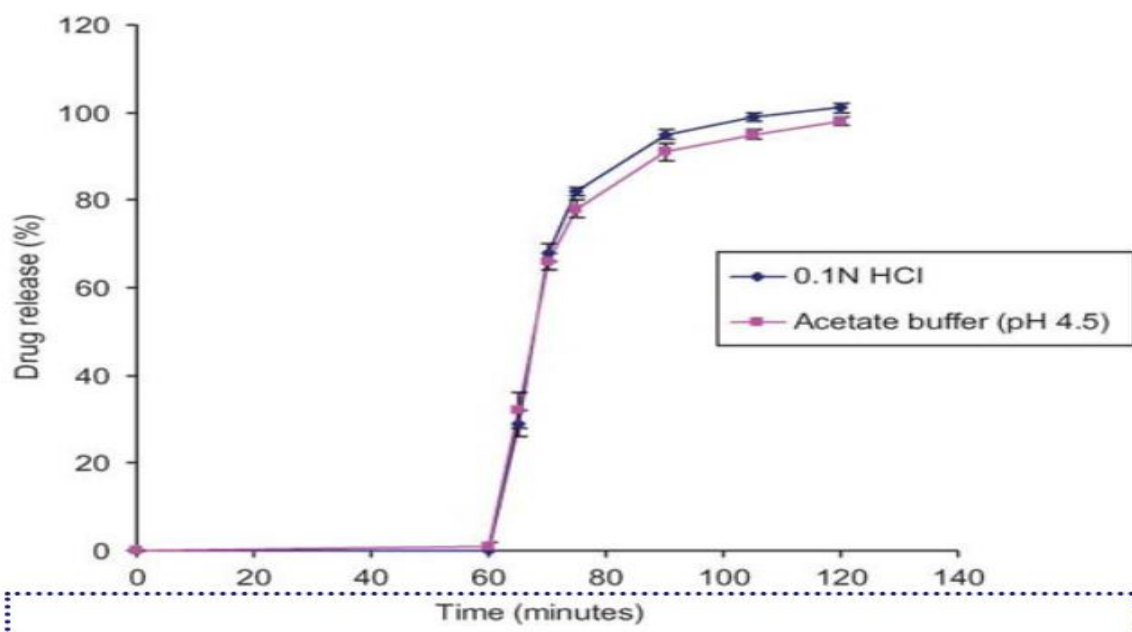
Τέλος, οι μελέτες εξαναγκασμένης αποικοδόμησης και η ανάπτυξη σταθεροενδεικτικών αναλυτικών μεθόδων αναδεικνύονται ως απαραίτητα εργαλεία για την κατανόηση των μηχανισμών διάσπασης και για τον αξιόπιστο ποιοτικό έλεγχο. Η δυνατότητα διαχωρισμού και ταυτοποίησης των προϊόντων αποικοδόμησης είναι κρίσιμη, καθώς η σταθερότητα των PPIs συνδέεται άμεσα όχι μόνο με την αποτελεσματικότητα αλλά και με την ασφάλεια των φαρμακευτικών προϊόντων.

Συνολικά, η ενιαία αξιολόγηση των δεδομένων δείχνει ότι η σταθερότητα των PPIs αποτελεί αποτέλεσμα σύνθετων αλληλεπιδράσεων μεταξύ δομής, περιβάλλοντος και φαρμακοτεχνικής μορφής. Η κατανόηση αυτών των παραγόντων είναι καθοριστική για τον ορθό σχεδιασμό δοσολογικών μορφών, την επιλογή κατάλληλων συνθηκών αποθήκευσης και τη διασφάλιση της ποιότητας και της ασφάλειας των φαρμάκων[57][58][59][60][61].

2.1.3 Σταθερότητα στις φαρμακοτεχνικές μορφές (δισκία, κάψουλες, εντερικά επικαλυμμένα).

Η σταθερότητα των αναστολέων αντλίας πρωτονίων (Proton Pump Inhibitors, PPIs) στις φαρμακοτεχνικές μορφές αποτελεί κρίσιμο παράγοντα για τη διατήρηση της φαρμακολογικής τους δράσης, καθώς τα μόρια αυτά είναι εξαιρετικά ευαίσθητα σε όξινο περιβάλλον και παρουσιάζουν ταχεία αποικοδόμηση όταν δεν προστατεύονται κατάλληλα. Σε αντίθεση με τη μελέτη της σταθερότητας σε απλά διαλύματα, όπου ο κύριος καθοριστικός παράγοντας είναι το pH, στις δοσολογικές μορφές η σταθερότητα επηρεάζεται από ένα σύνολο παραμέτρων, όπως η φυσική κατάσταση του φαρμάκου (στερεά ή διαλυμένη), η σύσταση των εκδόχων, η παρουσία εντερικής επικάλυψης, η χημική φύση των πολυμερών, καθώς και το μικροπεριβάλλον pH που δημιουργείται εντός της μορφής. Επιπλέον, παράγοντες όπως η υγρασία, η θερμοκρασία και η αλληλεπίδραση μεταξύ φαρμάκου και εκδόχων μπορούν να επηρεάσουν τη σταθερότητα ακόμη και σε στερεές μορφές. Η φαρμακοτεχνολογία, συνεπώς, δεν λειτουργεί απλώς ως μέσο χορήγησης, αλλά ως βασικός μηχανισμός προστασίας έναντι της αποικοδόμησης, μέσω του ελέγχου του μικροπεριβάλλοντος και της καθυστέρησης της έκθεσης του φαρμάκου σε επιβαρυντικές συνθήκες. Στην ενότητα αυτή εξετάζονται τέσσερις μελέτες που καλύπτουν διαφορετικές φαρμακοτεχνικές στρατηγικές: εντερικές επικαλύψεις, αλληλεπιδράσεις πολυμερών, εναλλακτικές δοσολογικές μορφές και εξατομικευμένα σκευάσματα[56][62][63][64].

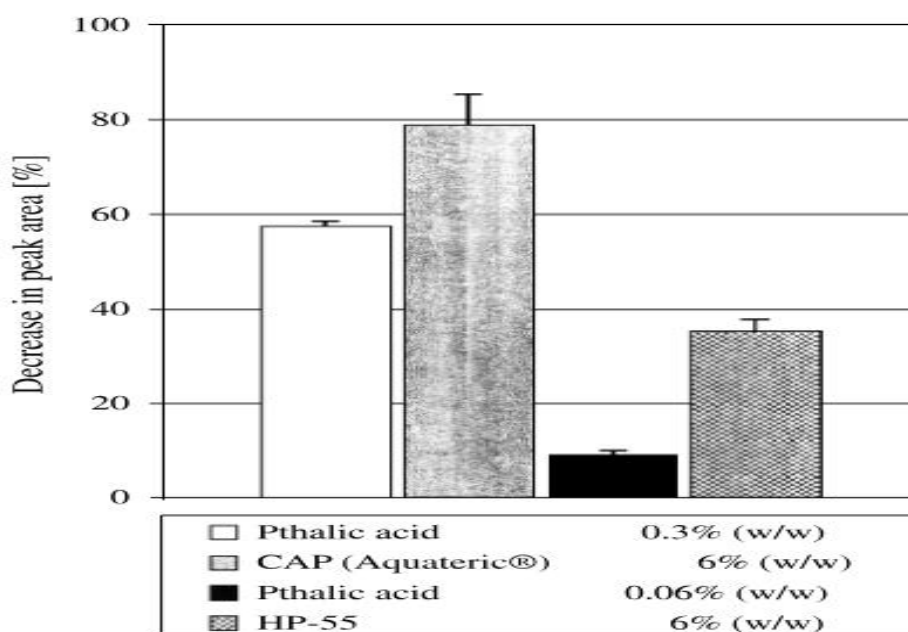
Η μελέτη των Missaghi και συνεργατών (2010) αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα της σημασίας της εντερικής επικάλυψης στη διατήρηση της σταθερότητας των PPIs. Ο βασικός στόχος της εργασίας ήταν η ανάπτυξη και αξιολόγηση delayed-release film coatings για στερεές από του στόματος μορφές rabeprazole sodium, λανσοπραζόλη και esomeprazole magnesium, με έμφαση τόσο στη χημική σταθερότητα όσο και στο προφίλ αποδέσμευσης. Στο πειραματικό μέρος, οι συγγραφείς χρησιμοποίησαν διαφορετικές τεχνολογίες παρασκευής, όπως οργανική υγρή κοκκοποίηση για την παραγωγή μονολιθικών δισκίων ραμπεπραζόλης και τεχνικές layering (powder και suspension layering) για τη δημιουργία multiparticulate συστημάτων σε sugar spheres για λανσοπραζόλη και εσομεπραζόλη. Στη συνέχεια εφαρμόστηκε seal coating για την απομόνωση του πυρήνα και εντερική επικάλυψη με ακρυλικά πολυμερή (Acryl-EZE), τα οποία παρουσιάζουν διαλυτότητα σε pH >5.5. Οι τελικές μορφές αξιολογήθηκαν μέσω δοκιμών διαλυτοποίησης σε τρία στάδια (0.1 N HCl pH 1.2, acetate buffer pH 4.5 και phosphate buffer pH 6.8), προσομοιώνοντας τη μετάβαση από το στομάχι στο έντερο. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκαν μελέτες επιταχυνόμενης σταθερότητας σε συνθήκες 40 °C και 75% RH για 3 μήνες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι επικαλυμμένες μορφές παρουσίασαν ελάχιστη απελευθέρωση στο όξινο περιβάλλον (<10%), γεγονός που υποδηλώνει αποτελεσματική προστασία από την αποικοδόμηση, ενώ στη συνέχεια παρουσίασαν ταχεία και πλήρη αποδέσμευση στο εντερικό pH. Η σταθερότητα διατηρήθηκε και υπό επιταχυνόμενες συνθήκες, γεγονός που αποδεικνύει ότι η σωστή επιλογή πολυμερούς και τεχνολογίας επικάλυψης είναι καθοριστική για τη διατήρηση της δραστηριότητας των PPIs[62].



Εικόνα 16: Προφίλ αποδέσμευσης του lansoprazole από κάψουλες σε είτε 0.1 N HCl είτε ρυθμιστικό διάλυμα οξικού άλατος (pH 4,5), ακολουθούμενο από φάση ρυθμιστικού διαλύματος (pH 6,8)[62].

Η μελέτη των Riedel και Leopold (2005) προσφέρει μια βαθύτερη κατανόηση του ρόλου των πολυμερών εντερικής επικάλυψης στη σταθερότητα της ομεπραζόλης, αναδεικνύοντας ότι τα ίδια τα πολυμερή μπορούν να λειτουργήσουν είτε προστατευτικά είτε επιβαρυντικά. Οι συγγραφείς ανέπτυξαν δύο μεθόδους RP-HPLC για τον ποσοτικό προσδιορισμό της ομεπραζόλης σε παρουσία διαφορετικών πολυμερών, όπως Eudragit L-100 και S-100, cellulose acetate phthalate (CAP), hydroxypropyl methylcellulose phthalate (HP-55) και hydroxypropyl

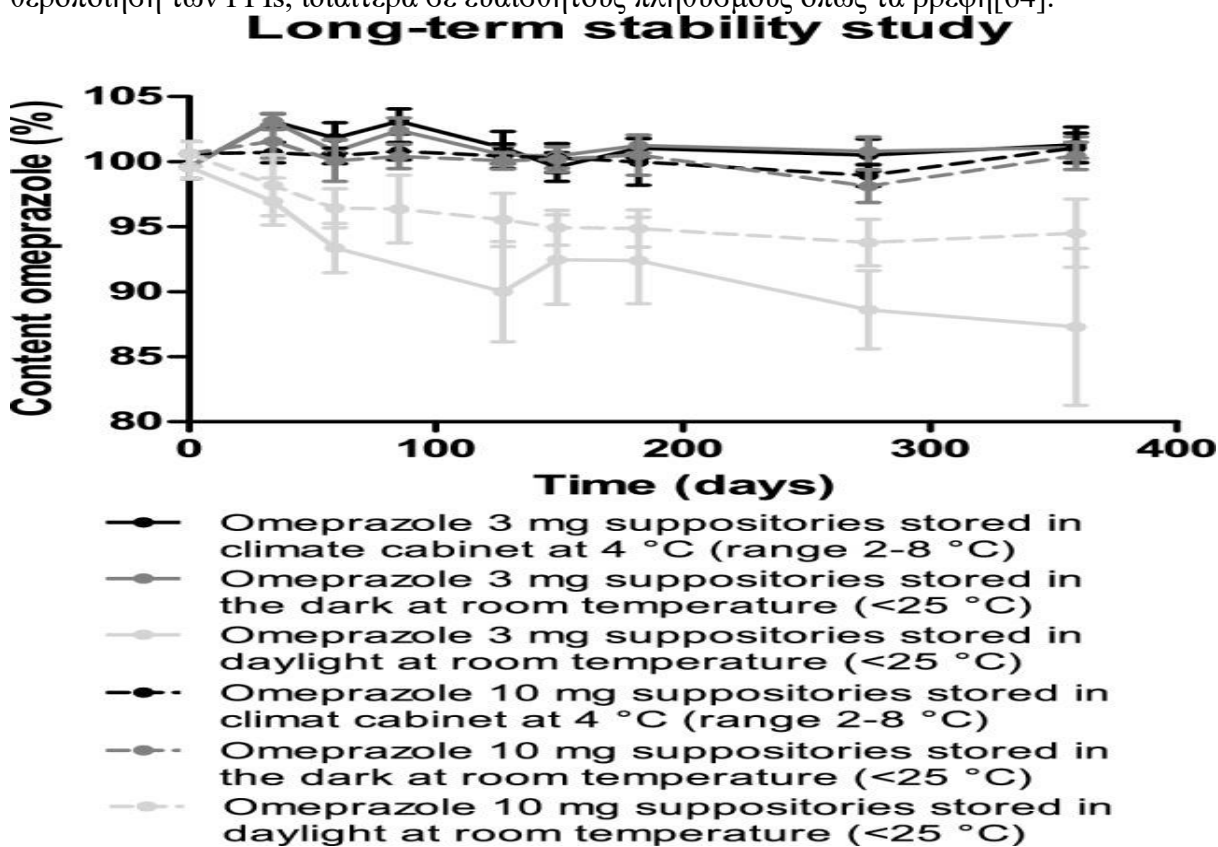
methylecellulose acetate succinate (HPMCAS). Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν τόσο σε οργανικά διαλύματα των πολυμερών όσο και σε υδατικές διασπορές, ώστε να διερευνηθεί η επίδραση του διαλύτη. Παράλληλα, προσδιορίστηκαν οι τιμές pH των διασπορών και εξετάστηκε η παρουσία ελεύθερων όξινων προσμίξεων, όπως το φθαλικό οξύ. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αποικοδόμηση της ομεπραζόλης ήταν σημαντικά ταχύτερη σε υδατικές διασπορές, γεγονός που αποδόθηκε στο χαμηλότερο pH και στη μεγαλύτερη διαθεσιμότητα πρωτονίων. Επιπλέον, η παρουσία όξινων ομάδων στα πολυμερή και η απελευθέρωση όξινων προσμίξεων επιτάχυνε την αποικοδόμηση, ενώ στα οργανικά διαλύματα η αποικοδόμηση ήταν περιορισμένη. Η μελέτη αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθώς δείχνει ότι η εντερική επικάλυψη δεν εξασφαλίζει αυτόματα σταθερότητα, αλλά απαιτεί προσεκτική επιλογή υλικών ώστε να αποφεύγεται η δημιουργία όξινου μικροπεριβάλλοντος που μπορεί να προκαλέσει αποικοδόμηση του φαρμάκου πριν ακόμη φτάσει στο έντερο[63].



Εικόνα 17: Μείωση της επιφάνειας κορυφής (%) της ομεπραζόλης σε διάφορα διαλύματα φθαλικού οξέος και διαλύματα οργανικών πολυμερών (6% κ.β.) εντός 180 λεπτών. Μέσες τιμές ± τυπική απόκλιση (SD), n = 3–8 [63].

Η εργασία των Bestebreurtje και συνεργατών (2020) εισάγει μια διαφορετική φαρμακοτεχνική προσέγγιση μέσω της ανάπτυξης υπόθετων ομεπραζόλης για παιδιατρική χρήση, προσφέροντας μια λύση που παρακάμπτει πλήρως το γαστρικό όξινο περιβάλλον. Ο στόχος της μελέτης ήταν η ανάπτυξη μιας σταθερής μορφής κατάλληλης για βρέφη, με καλή ομοιομορφία και δυνατότητα μαζικής παραγωγής. Στο πειραματικό μέρος χρησιμοποιήθηκε λιπαρή βάση witepsol H15, ενώ για την προστασία της ομεπραζόλης προστέθηκε arginine (L) base, ώστε να δημιουργηθεί αλκαλικό μικροπεριβάλλον εντός της μορφής. Μεταβλήθηκαν πειραματικά η θερμοκρασία έκχυσης, η ταχύτητα ανάδευσης και η συγκέντρωση της βάσης, προκειμένου να επιτευχθεί ομοιογενής διασπορά του φαρμάκου. Η ποσοτική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με HPLC-UV, ενώ η σταθερότητα αξιολογήθηκε σε δείγματα που αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου και προστασία από το φως για διάστημα έως ενός έτους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η περιεκτικότητα της ομεπραζόλης παρέμεινε εντός αποδεκτών ορίων (90–110%) καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης, χωρίς εμφανή αποικοδόμηση ή αλλαγές στο χρώμα. Η με-

λέτη αυτή καταδεικνύει ότι η τροποποίηση της δοσολογικής μορφής και η δημιουργία κατάλληλου μικροπεριβάλλοντος pH μπορεί να αποτελέσει αποτελεσματική στρατηγική για τη σταθεροποίηση των PPIs, ιδιαίτερα σε ευαίσθητους πληθυσμούς όπως τα βρέφη[64].

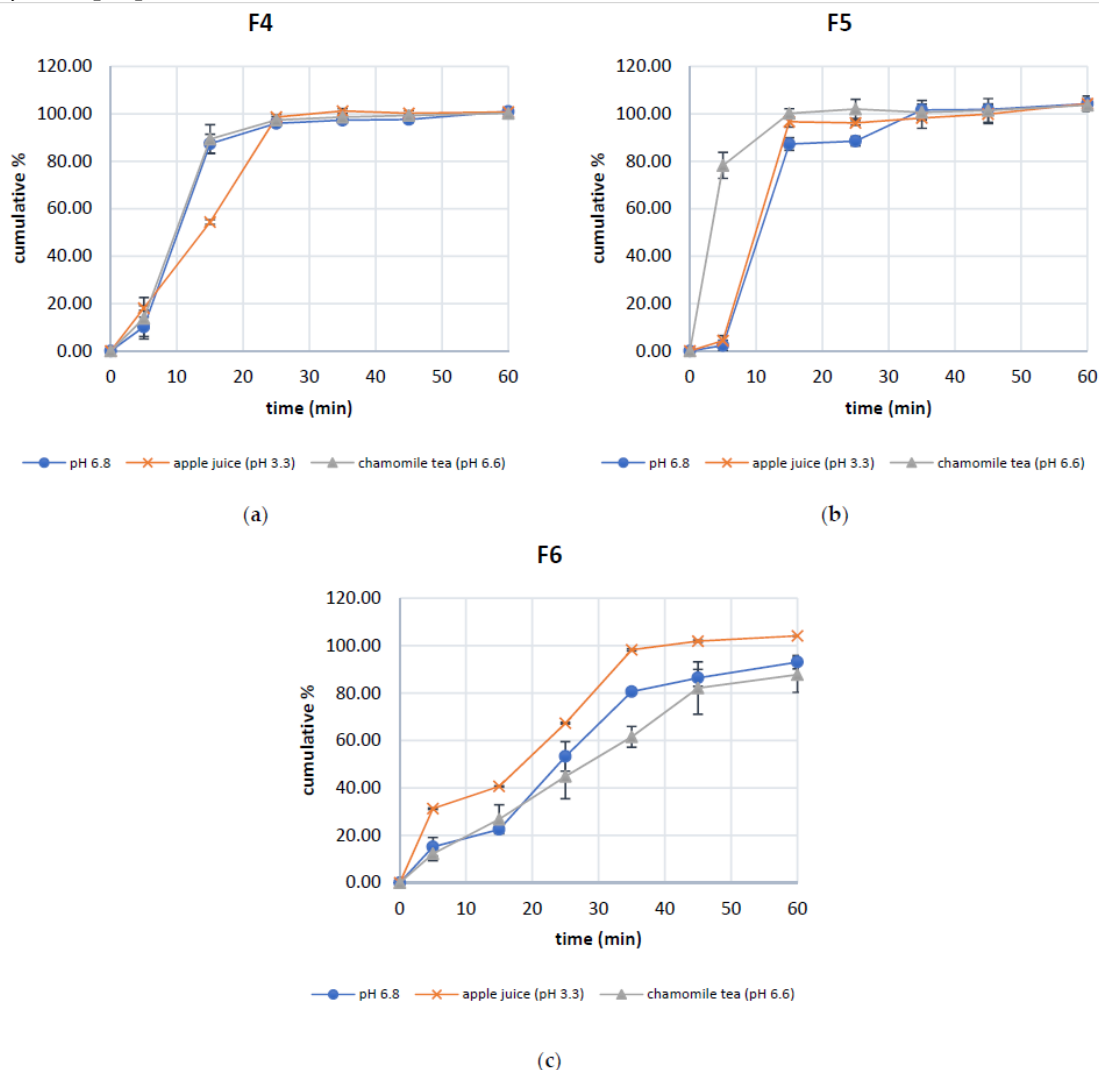


Εικόνα 18: Μέση συγκέντρωση ομεπραζόλης με την πάροδο του χρόνου για υπόθετα ομεπραζόλης 3 mg (a) και 10 mg (b) υπό διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης[64].

Η μελέτη των Todoronić και συνεργατών (2023) εξετάζει τη σταθερότητα εξατομικευμένων (compounded) υγρών και στερεών μορφών παντοπραζόλης, προσφέροντας μια σαφή πρακτική διάσταση στο ζήτημα της φαρμακοτεχνικής σταθερότητας. Στο πειραματικό μέρος παρασκευάστηκαν υγρές μορφές, όπως σιρόπια και εναιωρήματα, από θρυμματισμένα εμπορικά δισκία pantoprazole sodium, χρησιμοποιώντας διαφορετικά vehicles, όπως sugar-free βάση (USP), βάση με glucose και hydroxypropyl cellulose, καθώς και εμπορικό vehicle (SyrSpend Alka). Για τη βελτίωση της σταθερότητας, προστέθηκε sodium bicarbonate με στόχο τη διατήρηση του pH σε αλκατικές τιμές (περίπου pH 8). Παράλληλα, παρασκευάστηκαν κάψουλες με διαφορετικά έκδοχα πλήρωσης, όπως lactose monohydrate και microcrystalline cellulose, προκειμένου να αξιολογηθεί η επίδρασή τους στη σταθερότητα του φαρμάκου[56].

Η σταθερότητα αξιολογήθηκε με τη χρήση HPLC, ενώ εξετάστηκαν επιπλέον παράμετροι όπως η ομοιομορφία μάζας, το προφίλ διαλυτοποίησης και η μικροβιολογική καταλληλότητα. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν τόσο σε θερμοκρασία δωματίου όσο και σε συνθήκες ψύξης (2–8 °C) και αναλύθηκαν σε χρονικό διάστημα έως 28 ημερών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι στερεές μορφές παρουσίασαν υψηλότερη σταθερότητα σε σύγκριση με τις υγρές, ενώ οι υγρές μορφές διατηρήθηκαν σταθερές μόνο υπό συνθήκες αλκαλικού pH και ψύξης. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι το μέσο χορήγησης και το μικροπεριβάλλον pH επηρεάζουν σημαντικά τόσο τη χημική σταθερότητα όσο και το προφίλ διαλυτοποίησης, αναδεικνύοντας τον κρίσιμο ρόλο

του φαρμακοτεχνικού σχεδιασμού στη διατήρηση της ποιότητας και αποτελεσματικότητας του φαρμάκου[56].



Εικόνα 19: Προφίλ διαλυτοποίησης για κάψουλες rantoprazole παρασκευασμένες (compounded) σε μέσο διαλυτοποίησης pH 6,8 και μετά την προσθήκη 100 mL χυμού μήλου και χαμομηλιού, αντίστοιχα, για (a) F4 (κάψουλα με LAC), (b) F5 (κάψουλα με MCC) και (c) F6 (κάψουλα με EXCII)[56].

Συνολικά, οι μελέτες αυτές καταδεικνύουν ότι η σταθερότητα των PPIs στις φαρμακοτεχνικές μορφές αποτελεί πολυπαραγοντική διεργασία, η οποία εξαρτάται από την αλληλεπίδραση μεταξύ της χημικής δομής του φαρμάκου, της δοσολογικής μορφής και του μικροπεριβάλλοντος που δημιουργείται εντός της μορφής. Η εντερική επικάλυψη αναδεικνύεται ως βασικός μηχανισμός προστασίας, καθώς αποτρέπει την έκθεση στο όξινο γαστρικό περιβάλλον και επιτρέπει τη στοχευμένη αποδέσμευση στο έντερο. Ωστόσο, η αποτελεσματικότητά της δεν είναι απόλυτη, καθώς η επιλογή των πολυμερών και η παρουσία όξινων ομάδων ή προσμίξεων μπορούν να δημιουργήσουν δυσμενές μικροπεριβάλλον και να επιταχύνουν την αποικοδόμηση [56][62][63][64].

Παράλληλα, η τροποποίηση της δοσολογικής μορφής και η χρήση κατάλληλων εκδόχων, όπως αλκαλοποιητικοί παράγοντες, συμβάλλουν ουσιαστικά στη σταθεροποίηση των PPIs, ακόμη και σε εναλλακτικές μορφές χορήγησης. Το μικροπεριβάλλον pH εντός της μορφής αναδεικνύεται ως καθοριστικός παράγοντας, καθώς μπορεί να υπερισχύει των εξωτερικών συνθηκών και να καθορίζει τη χημική συμπεριφορά του φαρμάκου. Επιπλέον, η σύγκριση μεταξύ

στερεών και υγρών μορφών δείχνει ότι οι υγρές παρουσιάζουν αυξημένη ευαισθησία, απαιτώντας αυστηρότερο έλεγχο pH και συνθηκών αποθήκευσης [56][62][63][64].

Συνεπώς, η φαρμακοτεχνική ανάπτυξη των PPIs δεν περιορίζεται μόνο στη ρύθμιση της αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας, αλλά επεκτείνεται στη διασφάλιση της χημικής σταθερότητας και της συνολικής ποιότητας του φαρμάκου. Η ορθολογική επιλογή πολυμερών, εκδόχων και τεχνολογίας παρασκευής αποτελεί βασική προϋπόθεση για την αποφυγή πρόωρης αποικοδόμησης και τη διατήρηση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας [56][62][63][64].

Η συνολική ανάλυση των μελετών για τη σταθερότητα των αναστολέων αντλίας πρωτονίων (PPIs) καταδεικνύει ότι η αποικοδόμηση των ενώσεων αυτών αποτελεί μια σύνθετη και πολυπαραγοντική διεργασία, η οποία δεν μπορεί να αποδοθεί σε έναν μόνο παράγοντα, αλλά προκύπτει από την αλληλεπίδραση μεταξύ χημικής δομής, περιβαλλοντικών συνθηκών και φαρμακοτεχνικού σχεδιασμού. Αν και το pH αναδεικνύεται ως ο πρωταρχικός καθοριστικός παράγοντας, η επίδρασή του δεν δρα μεμονωμένα, αλλά συνδυάζεται με τη θερμοκρασία, την υγρασία, το φως και τη φυσική κατάσταση του φαρμάκου, διαμορφώνοντας το συνολικό προφίλ σταθερότητας.

Σε όξινο περιβάλλον, τα PPIs παρουσιάζουν ταχεία αποικοδόμηση, γεγονός που σχετίζεται άμεσα με τη χημική τους δομή και τον μηχανισμό ενεργοποίησής τους ως προφάρμακα. Η εξάρτηση αυτή από το pH εξηγεί γιατί η διατήρηση ενός ουδέτερου ή αλκαλικού μικροπεριβάλλοντος αποτελεί βασική στρατηγική σταθεροποίησης, τόσο σε διαλύματα όσο και σε στερεές μορφές. Ωστόσο, η σταθερότητα δεν καθορίζεται αποκλειστικά από το pH, καθώς η θερμοκρασία επιταχύνει κινητικά τις αντιδράσεις αποικοδόμησης, ενώ η παρουσία υγρασίας ενισχύει σημαντικά τη διεργασία, ιδιαίτερα στη στερεά κατάσταση, μέσω αύξησης της μοριακής κινητικότητας ή ενεργοποίησης υδρολυτικών μηχανισμών.

Παράλληλα, η επίδραση του φωτός αναδεικνύεται ως κρίσιμη αλλά πιο σύνθετη, καθώς η φωτοαποδόμηση οδηγεί στον σχηματισμό πολλαπλών προϊόντων διάσπασης μέσω παράλληλων φωτοχημικών διεργασιών. Το γεγονός αυτό υπογραμμίζει ότι η σταθερότητα δεν αφορά μόνο την απώλεια της δραστικής ουσίας, αλλά και τη δημιουργία προϊόντων αποικοδόμησης με πιθανή τοξικολογική σημασία. Επιπλέον, οι διαφορές που παρατηρούνται μεταξύ επιμέρους PPIs ως προς τη φωτοσταθερότητα υποδηλώνουν ότι μικρές μεταβολές στη μοριακή δομή μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τη συμπεριφορά τους υπό συνθήκες καταπόνησης.

Ιδιαίτερη σημασία αποκτά ο ρόλος της φαρμακοτεχνικής μορφής, η οποία λειτουργεί όχι μόνο ως μέσο χορήγησης αλλά και ως βασικός μηχανισμός προστασίας. Η εντερική επικάλυψη αποτελεί θεμελιώδη στρατηγική για την αποφυγή της όξινης αποικοδόμησης, ωστόσο η αποτελεσματικότητά της εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη σύσταση των πολυμερών και την αποφυγή δημιουργίας όξινου μικροπεριβάλλοντος. Παράλληλα, η χρήση κατάλληλων εκδόχων και αλκαλοποιητικών παραγόντων μπορεί να ενισχύσει σημαντικά τη σταθερότητα, ενώ η ανάπτυξη εναλλακτικών μορφών χορήγησης δείχνει ότι η τροποποίηση της δοσολογικής μορφής μπορεί να παρακάμψει κρίσιμους μηχανισμούς αποικοδόμησης.

Συγκριτικά, οι υγρές μορφές εμφανίζουν αυξημένη ευαισθησία σε σχέση με τις στερεές, λόγω της αυξημένης κινητικότητας των μορίων και της άμεσης αλληλεπίδρασης με το περιβάλλον, γεγονός που καθιστά απαραίτητο τον αυστηρό έλεγχο του pH και των συνθηκών αποθήκευσης. Ωστόσο, ακόμη και στη στερεά κατάσταση, παράγοντες όπως η υγρασία και οι μεταβολές στη δομή και τον βαθμό κρυσταλλικότητας μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τη σταθερότητα.

Συνολικά, η σταθερότητα των PPIs προκύπτει από τη δυναμική ισορροπία μεταξύ χημικής δομής, περιβαλλοντικών συνθηκών και φαρμακοτεχνικού σχεδιασμού. Η κατανόηση αυτών των παραμέτρων είναι κρίσιμη για τον ορθολογικό σχεδιασμό δοσολογικών μορφών, την επιλογή κατάλληλων συνθηκών αποθήκευσης και τη διασφάλιση της ποιότητας, της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας των φαρμακευτικών προϊόντων.

1.2 2.2 Αναλυτικές Τεχνικές και Μελέτες Ποιοτικού Ελέγχου αντλιών πρωτονίων(PPIs)

1.2.1 2.2.1 Μέθοδοι Ποσοτικού Προσδιορισμού (Assay Methods)

Η ανάπτυξη και επικύρωση αναλυτικών μεθόδων για τον ποσοτικό προσδιορισμό των αναστολέων αντλίας πρωτονίων αποτελεί βασικό πυλώνα του ποιοτικού ελέγχου τους, καθώς οι ενώσεις αυτές χαρακτηρίζονται από υψηλή χημική αστάθεια και είναι επιρρεπείς σε αποικοδόμηση υπό όξινες, θερμικές και φωτολυτικές συνθήκες. Η ανάγκη για αξιόπιστες και σταθεροενδεικτικές αναλυτικές τεχνικές είναι ιδιαίτερα σημαντική, όχι μόνο για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των δραστικών ουσιών σε φαρμακοτεχνικές μορφές, αλλά και για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των προϊόντων αποικοδόμησης που ενδέχεται να επηρεάσουν την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα των φαρμάκων. Στο πλαίσιο αυτό, έχουν αναπτυχθεί και εφαρμοστεί διαφορετικές αναλυτικές προσεγγίσεις, με κυριότερες την υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), τη φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) και την υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (LC-MS/MS), οι οποίες διαφοροποιούνται ως προς την εκλεκτικότητα, την ευαισθησία και το πεδίο εφαρμογής τους[65][66][67][68][69].

Μια αναλυτική προσέγγιση αφορά την ανάπτυξη και επικύρωση μιας μεθόδου υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης αντίστροφης φάσης (RP-HPLC) για τον ταυτόχρονο ποσοτικό προσδιορισμό πολλαπλών δραστικών ουσιών που ανήκουν στην κατηγορία των φαρμάκων του γαστρεντερικού συστήματος. Η συγκεκριμένη προσέγγιση διαφοροποιείται ουσιαστικά από τις μονο-αναλυτικές και σταθεροενδεικτικές μεθόδους, καθώς δεν εστιάζει στη μελέτη της αποικοδόμησης μιας μεμονωμένης δραστικής ουσίας, αλλά στη συγχρονισμένη ανάλυση περισσότερων αναλυτών σε ένα ενιαίο χρωματογραφικό σύστημα[65].

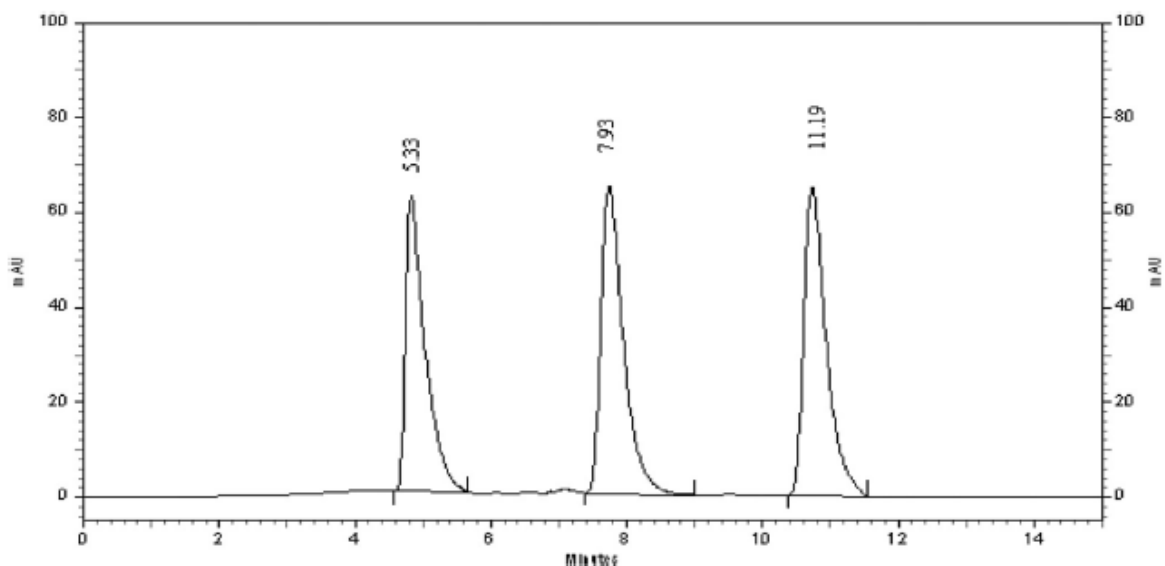
Η μέθοδος αυτή έχει ιδιαίτερη σημασία στον ποιοτικό έλεγχο συνδυασμένων φαρμακευτικών σκευασμάτων, καθώς επιτρέπει την ταυτόχρονη ποσοτικοποίηση διαφορετικών δραστικών ουσιών με διαφορετικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, μειώνοντας σημαντικά τον συνολικό χρόνο ανάλυσης και την κατανάλωση διαλυτών. Επιπλέον, η πολυ-αναλυτική προσέγγιση αποτελεί σημαντικό πλεονέκτημα στη βιομηχανική παραγωγή και στον ποιοτικό έλεγχο ρουτίνας, όπου απαιτείται ταχεία και αξιόπιστη αξιολόγηση τελικών προϊόντων[65].

Στο πειραματικό μέρος χρησιμοποιήθηκε σύστημα RP-HPLC εξοπλισμένο με στήλη αντίστροφης φάσης τύπου C18, η οποία αποτελεί μία από τις πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες λόγω της υψηλής ικανότητας διαχωρισμού ενώσεων μέτριας πολικότητας. Η επιλογή της στήλης επιτρέπει τη σταθερή κατακράτηση και τον αποτελεσματικό διαχωρισμό ενώσεων με παρόμοια δομή αλλά διαφορετική λιποφιλικότητα, όπως οι αναστολείς αντλίας πρωτονίων και οι προκινητικοί παράγοντες[65].

Η κινητή φάση αποτελούνταν από κατάλληλο μίγμα υδατικού ρυθμιστικού διαλύματος και οργανικού διαλύτη, με στόχο την επίτευξη βέλτιστου διαχωρισμού μεταξύ των κορυφών των διαφορετικών αναλυτών. Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στη βελτιστοποίηση των χρωματογραφικών συνθηκών, ώστε να εξασφαλιστεί πλήρης διαχωρισμός χωρίς επικαλύψεις, στοιχείο κρίσιμο για την αξιοπιστία της ταυτόχρονης ποσοτικοποίησης[65].

Η ανίχνευση πραγματοποιήθηκε με UV ανιχνευτή σε κατάλληλο μήκος κύματος, επιλεγμένο με βάση τα φάσματα απορρόφησης των επιμέρους ουσιών, ώστε να εξασφαλίζεται ικανοποιητική απόκριση για όλους τους αναλυτές. Η μέθοδος επικυρώθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες

ICH και αξιολογήθηκε ως προς τη γραμμικότητα, την ακρίβεια και την επαναληψιμότητα, παρουσιάζοντας ικανοποιητική απόδοση για όλους τους προσδιοριζόμενους αναλυτές[65]. Συνολικά, η μελέτη καταδεικνύει ότι οι πολυ-αναλυτικές RP-HPLC μέθοδοι αποτελούν ιδιαίτερα αποδοτικό εργαλείο για τον ποιοτικό έλεγχο συνδυασμένων φαρμακευτικών προϊόντων, προσφέροντας ταχύτητα, αξιοπιστία και οικονομία στη ρουτίνα εργαστηριακή ανάλυση[65].



Εικόνα 20: Το αντιπροσωπευτικό χρωματογράφημα. Η ταυτόχρονη ποσοτικοποίηση της ραμπεπραζόλης, της παντοπραζόλης και της ιτοπρίδης, με χρόνους κατακράτησης (retention times) 5.33, 7.93 και 11.19 λεπτών αντίστοιχα[65].

Σε αντίθεση με την παραπάνω προσέγγιση, η οποία δίνει έμφαση στην ταυτόχρονη ποσοτικοποίηση πολλαπλών δραστικών ουσιών και στη λειτουργική αποδοτικότητα της ανάλυσης, η δεύτερη μελέτη επικεντρώνεται στην ανάπτυξη και επικύρωση μιας σταθεροενδεικτικής αναλυτικής μεθόδου RP-HPLC για τον προσδιορισμό της παντοπραζόλης σε φαρμακοτεχνικές μορφές, με βασικό στόχο τον αξιόπιστο διαχωρισμό της δραστικής ουσίας από τα προϊόντα αποικοδόμησής της. Στην περίπτωση αυτή, η έμφαση μετατοπίζεται από την ταυτόχρονη ανάλυση πολλαπλών ενώσεων στη διερεύνηση της χημικής σταθερότητας μιας μεμονωμένης δραστικής ουσίας, υπό συνθήκες που ευνοούν την αποικοδόμηση[66].

Η ανάγκη για τέτοιες μεθόδους είναι ιδιαίτερα σημαντική για τα PPIs, καθώς πρόκειται για ενώσεις με έντονη pH-εξαρτώμενη σταθερότητα και αυξημένη ευαισθησία σε περιβαλλοντικές συνθήκες, γεγονός που οδηγεί σε σύνθετα προφίλ αποικοδόμησης. Στο πειραματικό μέρος χρησιμοποιήθηκε σύστημα RP-HPLC με στήλη C18, ενώ η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγμα οργανικού διαλύτη (όπως ακτονιτρίλιο) και υδατικού ρυθμιστικού διαλύματος, του οποίου το pH ρυθμιζόταν προσεκτικά ώστε να διασφαλιστεί η σταθερότητα της παντοπραζόλης κατά την ανάλυση και να αποφευχθεί η *in situ* αποικοδόμηση[66].

Η επιλογή του pH της κινητής φάσης είναι κρίσιμη, καθώς σε όξινες συνθήκες η παντοπραζόλη αποικοδομείται ταχέως, ενώ σε ουδέτερο ή ελαφρώς αλκαλικό περιβάλλον παρουσιάζει αυξημένη σταθερότητα, επιτρέποντας την αξιόπιστη ποσοτικοποίηση. Ο ρυθμός ροής διατηρήθηκε περίπου στο 1.0 mL/min, ενώ η ανίχνευση πραγματοποιήθηκε σε μήκος κύματος περίπου 288 nm, που αντιστοιχεί στο μέγιστο απορρόφησης της ουσίας[66].

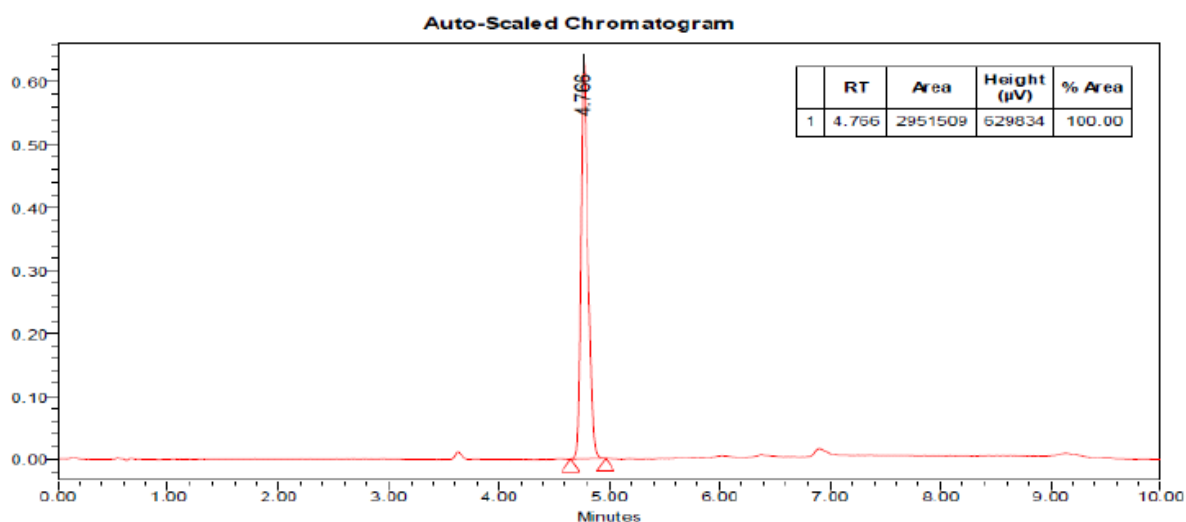
Για την αξιολόγηση του σταθεροενδεικτικού χαρακτήρα της μεθόδου εφαρμόστηκαν συνθήκες εξαναγκασμένης αποικοδόμησης (forced degradation), όπως όξινη και βασική υδρόλυση, θερμική καταπόνηση και έκθεση σε φως, με στόχο την επιτάχυνση της αποικοδόμησης

και τη δημιουργία προϊόντων διάσπασης. Η ανάλυση έδειξε ότι η παντοπραζόλη αποικοδομείται κυρίως σε όξινες συνθήκες, ενώ και άλλοι παράγοντες οδηγούν στον σχηματισμό δευτερογενών προϊόντων[66].

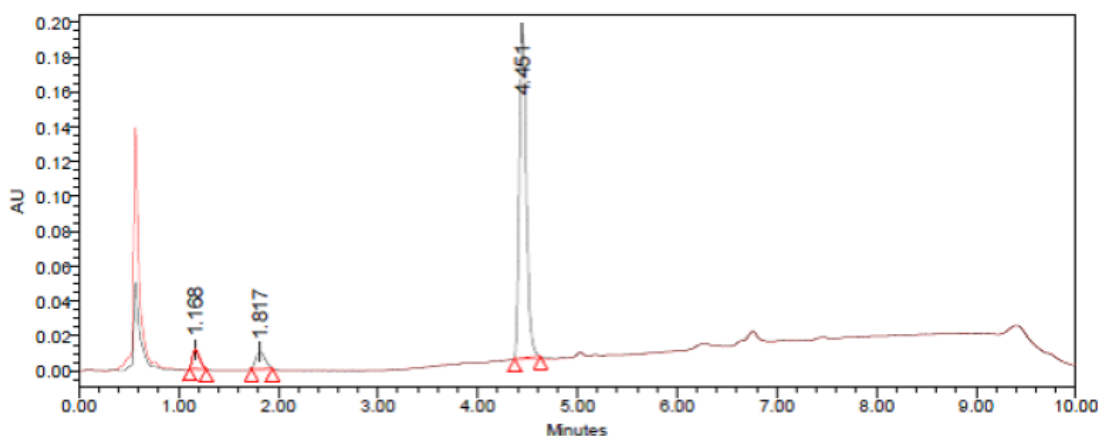
Στα χρωματογράφημα παρατηρήθηκε σαφής διαχωρισμός της κύριας κορυφής της παντοπραζόλης από τις κορυφές των προϊόντων αποικοδόμησης, χωρίς επικαλύψεις, γεγονός που επιβεβαιώνει την υψηλή εκλεκτικότητα και τον σταθεροενδεικτικό χαρακτήρα της μεθόδου. Η επικύρωση πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες ICH και περιλάμβανε την αξιολόγηση παραμέτρων όπως γραμμικότητα, ακρίβεια και επαναληψιμότητα[66].

Η γραμμικότητα ήταν εξαιρετική ($r > 0.999$), ενώ η ακρίβεια παρουσίασε τιμές ανάκτησης κοντά στο 100% και η επαναληψιμότητα χαμηλές τιμές RSD, υποδεικνύοντας υψηλή αξιοπιστία. Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης ήταν χαμηλά, επιτρέποντας την ανίχνευση ακόμης και ιχνοποσοτήτων προϊόντων αποικοδόμησης[66].

Συνολικά, η μελέτη αναδεικνύει ότι οι σταθεροενδεικτικές μέθοδοι RP-HPLC αποτελούν απαραίτητο εργαλείο για τη διερεύνηση της σταθερότητας και τη διασφάλιση της ποιότητας των φαρμακευτικών προϊόντων, συμπληρώνοντας τις πολυ-αναλυτικές προσεγγίσεις που χρησιμοποιούνται στον ποιοτικό έλεγχο ρουτίνας[66].



Εικόνα 21: Τελικό χρωματογράφημα του νατρίουχου άλατος της παντοπραζόλης (100 μg/mL)[66].



Εικόνα 22: Χρωματογράφημα δείγματος μετά από θερμική αποικοδόμηση[66].

Πέραν των τεχνικών υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει και η εφαρμογή της υψηλής απόδοσης χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (HPTLC) ως εναλλακτικής αναλυτικής προσέγγισης για τον ποσοτικό προσδιορισμό δραστικών ουσιών σε φαρμακευτικά σκευάσματα. Σε αντίθεση με τις τεχνικές RP-HPLC, οι οποίες βασίζονται σε συνεχές χρωματογραφικό σύστημα υψηλής πίεσης, η HPTLC αποτελεί μια πιο απλή και οικονομικά αποδοτική τεχνική, που επιτρέπει την ταυτόχρονη ανάλυση μεγάλου αριθμού δειγμάτων σε μία μόνο πλάκα, καθιστώντας την ιδιαίτερα κατάλληλη για εφαρμογές ποιοτικού ελέγχου ρουτίνας[67].

Η μέθοδος βασίζεται στον διαχωρισμό των αναλυτών σε πλάκες πυριτίας (silica gel), όπου τα συστατικά του δείγματος μετακινούνται με διαφορετικούς ρυθμούς υπό την επίδραση της κινητής φάσης, οδηγώντας σε διαχωρισμό με βάση τη σχετική τους πολικότητα και τις αλληλεπιδράσεις τους με τη στατική φάση. Στο πειραματικό μέρος, τα δείγματα εφαρμόστηκαν με ακρίβεια στην επιφάνεια της πλάκας και αναπτύχθηκαν σε κατάλληλο σύστημα κινητής φάσης, αποτελούμενο από μίγμα οργανικών διαλυτών, το οποίο βελτιστοποιήθηκε ώστε να επιτευχθεί ικανοποιητικός διαχωρισμός της παντοπραζόλης από πιθανές προσμίξεις ή άλλα συστατικά του σκευάσματος[67].

Μετά την ανάπτυξη, οι πλάκες ξηραίνονταν και η ποσοτικοποίηση πραγματοποιούνταν μέσω φασματοφωτομετρικής ανίχνευσης (densitometry) σε κατάλληλο μήκος κύματος, που αντιστοιχεί στο μέγιστο απορρόφησης της δραστικής ουσίας, εξασφαλίζοντας επαρκή ευαισθησία. Η μέθοδος επικυρώθηκε σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες ICH, παρουσιάζοντας ικανοποιητική γραμμικότητα σε συγκεκριμένο εύρος συγκεντρώσεων, καθώς και αποδεκτή ακρίβεια και επαναληψιμότητα, γεγονός που επιβεβαιώνει την αξιοπιστία της για ποσοτικό προσδιορισμό[67].

Αν και η τεχνική μπορεί να εφαρμοστεί και για την παρακολούθηση προϊόντων αποικοδόμησης, το κύριο πλεονέκτημά της έγκειται στην απλότητα, τη χαμηλή κατανάλωση διαλυτών και τη δυνατότητα ταυτόχρονης επεξεργασίας πολλών δειγμάτων, στοιχεία που την καθιστούν ιδιαίτερα χρήσιμη σε εργαστηριακά περιβάλλοντα με αυξημένες απαιτήσεις παραγωγικότητας. Ωστόσο, σε σύγκριση με τις τεχνικές RP-HPLC, παρουσιάζει χαμηλότερη εκλεκτικότητα και ευαισθησία, γεγονός που περιορίζει την εφαρμογή της σε πιο σύνθετα αναλυτικά προβλήματα ή σε περιπτώσεις όπου απαιτείται λεπτομερής μελέτη προϊόντων αποικοδόμησης[67].

Συνολικά, η HPTLC αποτελεί μια αξιόπιστη και πρακτική εναλλακτική των πιο πολύπλοκων χρωματογραφικών τεχνικών, συμπληρώνοντας τις μεθόδους RP-HPLC στον ποιοτικό έλεγχο φαρμακευτικών προϊόντων, ιδιαίτερα σε εφαρμογές όπου προτεραιότητα δίνεται στην ταχύτητα, την απλότητα και το χαμηλό κόστος ανάλυσης[67].

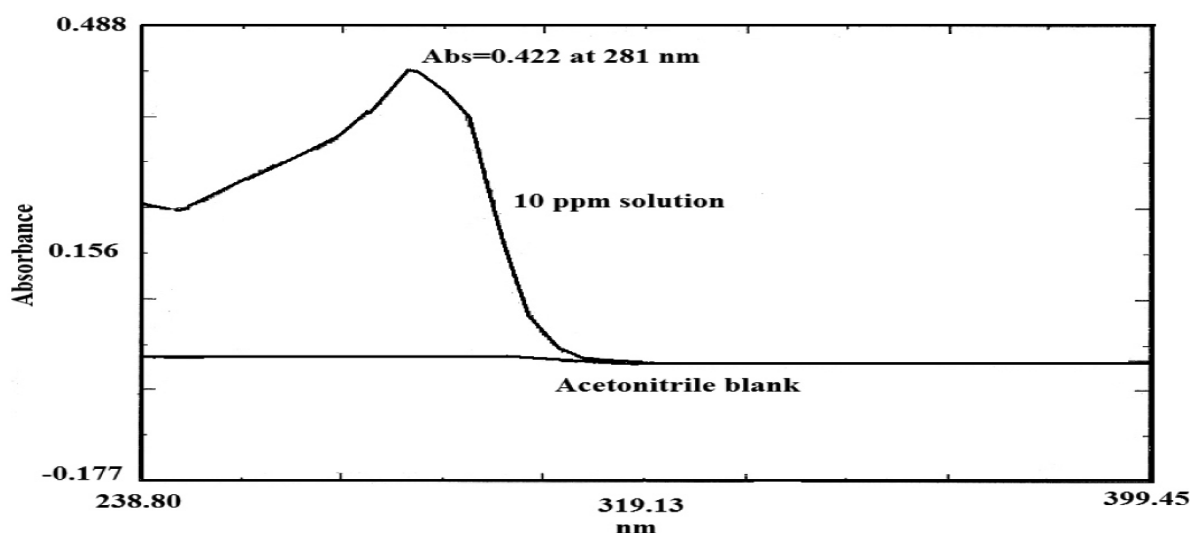
Η τέταρτη μελέτη αφορά την ανάπτυξη μιας απλής και οικονομικά αποδοτικής φασματοφωτομετρικής μεθόδου υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) για τον ποσοτικό προσδιορισμό της λανσοπραζόλης, καθώς και τη διερεύνηση του προφίλ αποικοδόμησης της υπό διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες. Η συγκεκριμένη προσέγγιση βασίζεται στην αρχή της μέτρησης της απορρόφησης της δραστικής ουσίας στην υπεριώδη περιοχή του φάσματος, αξιοποιώντας το μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης (λ_{max}) για την επίτευξη βέλτιστης ευαισθησίας[68].

Στο πειραματικό μέρος, παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα της λανσοπραζόλης σε κατάλληλο διαλύτη και καταγράφηκαν τα φάσματα απορρόφησης σε ευρύ φάσμα μηκών κύματος, προκειμένου να προσδιοριστεί το βέλτιστο σημείο ανίχνευσης. Η μέθοδος επικυρώθηκε ως προς βασικές παραμέτρους όπως η γραμμικότητα, η ακρίβεια και η ευαισθησία, παρουσιάζοντας ικανοποιητική συσχέτιση μεταξύ συγκεντρώσεων και απορρόφησης, γεγονός που επιβεβαιώνει την καταλληλότητα της για ποσοτικό προσδιορισμό[68].

Παράλληλα, πραγματοποιήθηκαν μελέτες εξαναγκασμένης αποικοδόμησης σε όξινες και βασικές συνθήκες, όπου παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στο φάσμα απορρόφησης της

ουσίας, υποδεικνύοντας τη χημική της αστάθεια υπό ακραίο pH. Οι αλλαγές αυτές αποδίδονται στον σχηματισμό προϊόντων αποικοδόμησης, τα οποία επηρεάζουν το συνολικό φασματικό προφίλ του δείγματος[68].

Παρότι η μέθοδος παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα όπως απλότητα, ταχύτητα και χαμηλό κόστος ανάλυσης, χαρακτηρίζεται από περιορισμένη εκλεκτικότητα, καθώς δεν επιτρέπει τον διαχωρισμό της δραστικής ουσίας από πιθανά προϊόντα αποικοδόμησης ή παρεμβαλλόμενες ενώσεις. Για τον λόγο αυτό, η εφαρμογή της περιορίζεται κυρίως σε απλά φαρμακευτικά σκευάσματα και προκαταρκτικές αναλυτικές μελέτες, και όχι σε πολύπλοκα συστήματα ή μελέτες υψηλής ακρίβειας[68].



Εικόνα 23: Φάσμα απορρόφησης της lansoprazole σε ακετονιτρίλιο (10 µg/mL lansoprazole)[68].

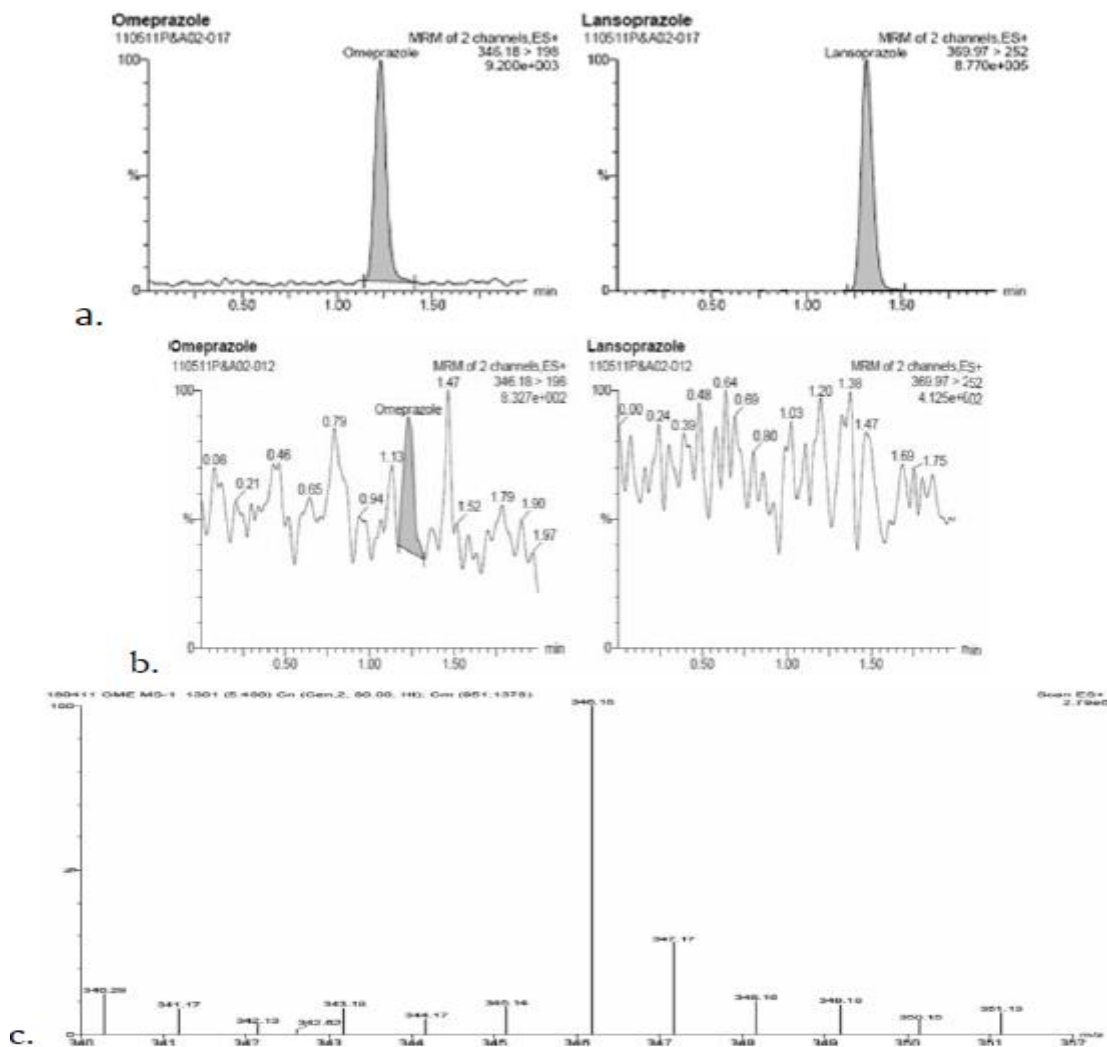
Η τελευταία μελέτη αφορά την ανάπτυξη και επικύρωση μιας ιδιαίτερα ευαίσθητης και εκλεκτικής μεθόδου υγρής χρωματογραφίας συζευγμένης με φασματομετρία μάζας (LC-MS/MS) για τον προσδιορισμό της ομεπραζόλης σε ανθρώπινο πλάσμα, με εφαρμογή σε φαρμακοκινητικές μελέτες. Η συγκεκριμένη τεχνική θεωρείται μία από τις πλέον προηγμένες αναλυτικές μεθόδους, λόγω της υψηλής ευαισθησίας και της ικανότητάς της να ανιχνεύει πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις αναλυτών σε πολύπλοκα βιολογικά δείγματα[69].

Στο πειραματικό στάδιο, πραγματοποιήθηκε κατάλληλη προεπεξεργασία των δειγμάτων πλάσματος με χρήση τεχνικών εκχύλισης, όπως liquid-liquid extraction ή solid phase extraction, με στόχο την απομάκρυνση πρωτεϊνών και άλλων ενδογενών συστατικών που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την ανάλυση. Στη συνέχεια, τα δείγματα υποβλήθηκαν σε διαχωρισμό μέσω συστήματος υγρής χρωματογραφίας, συνήθως με στήλη C18, πριν την εισαγωγή τους στο φασματόμετρο μάζας[69].

Η ανίχνευση πραγματοποιήθηκε σε λειτουργία multiple reaction monitoring (MRM), όπου παρακολουθούνται συγκεκριμένες μεταβάσεις ιόντων (m/z), οι οποίες αντιστοιχούν τόσο στη δραστική ουσία όσο και στο εσωτερικό πρότυπο. Η προσέγγιση αυτή προσφέρει υψηλό βαθμό εκλεκτικότητας, καθώς επιτρέπει τον σαφή διαχωρισμό της ομεπραζόλης από ενδογενείς παρεμβολές του βιολογικού υποστρώματος[69].

Η μέθοδος επικυρώθηκε εκτενώς σύμφωνα με διεθνή πρότυπα, αξιολογώντας παραμέτρους όπως γραμμικότητα, ακρίβεια, precision, recovery και matrix effects. Τα αποτελέσματα έδειξαν εξαιρετική αναπαραγωγιμότητα και πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης, καθιστώντας τη μέθοδο ιδιαίτερα κατάλληλη για φαρμακοκινητικές εφαρμογές[69].

Συνολικά, η LC-MS/MS τεχνική αποδεικνύεται απαραίτητη για τη μελέτη της φαρμακοκινητικής συμπεριφοράς των αναστολέων αντλίας πρωτονίων, καθώς παρέχει τη δυνατότητα αξιόπιστης ποσοτικοποίησης σε επίπεδα ιχνών και ακριβούς παρακολούθησης της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας στο χρόνο[69].



Εικόνα 24: α Μαζικά χρωματογραφήματα της ομεπραζόλης και της λανσοπραζόλης, β Φάσμα μάζας της ομεπραζόλης και της λανσοπραζόλης, γ Φάσμα μάζας της ομεπραζόλης[69].

Στον ακόλουθο πίνακα παρουσιάζεται συγκριτική αξιολόγηση των κυριότερων αναλυτικών τεχνικών που χρησιμοποιούνται για τον ποσοτικό προσδιορισμό των αναστολέων αντλίας πρωτονίων, ως προς τα πλεονεκτήματα, τους περιορισμούς και τις βασικές εφαρμογές τους.

Αναλυτική τεχνική	Πλεονεκτήματα	Περιορισμοί	Κύρια εφαρμογή
RP-HPLC (multi-analyte assay) [65]	Ταυτόχρονη ποσοτικοποίηση πολλών δραστικών ουσιών, υψηλή αποδοτικότητα, μειωμένος χρόνος ανάλυσης, οικονομία διαλυτών	Δεν παρέχει πληροφορίες για σταθερότητα ή προϊόντα αποικοδόμησης, απαιτεί βελτιστοποίηση διαχωρισμού για πολλαπλές ενώσεις	Ρουτίνα ποιοτικός έλεγχος συνδυασμένων φαρμακευτικών σκευασμάτων
RP-HPLC (stability-indicating method) [66]	Υψηλή εκλεκτικότητα, δυνατότητα διαχωρισμού προϊόντων αποικοδόμησης, συμμόρφωση με ICH, κατάλληλη για μελέτες σταθερότητας	Πιο χρονοβόρα ανάπτυξη μεθόδου, μεγαλύτερη πολυπλοκότητα βελτιστοποίησης, αφορά συνήθως μία δραστική ουσία	Μελέτες σταθερότητας, forced degradation, ποιοτικός έλεγχος φαρμακευτικής ποιότητας
HPTLC [67]	Απλή και οικονομική μέθοδος, δυνατότητα ταυτόχρονης ανάλυσης πολλών δειγμάτων, χαμηλή κατανάλωση διαλυτών, γρήγορη εφαρμογή	Χαμηλότερη ευαισθησία και εκλεκτικότητα σε σχέση με HPLC, περιορισμένη χρήση σε πολύπλοκα δείγματα	Ποιοτικός έλεγχος ρουτίνας, ανάλυση φαρμακευτικών σκευασμάτων σε περιβάλλοντα με περιορισμένους πόρους
UV-Vis φασματοσκοπία [68]	Απλή, γρήγορη, χαμηλού κόστους, εύκολη εφαρμογή, κατάλληλη για προκαταρκτικές αναλύσεις	Χαμηλή εκλεκτικότητα, δεν διαχωρίζει αποικοδόμηση ή προσμίξεις, περιορισμένη χρήση σε πολύπλοκα δείγματα	Προκαταρκτικός ποσοτικός προσδιορισμός, αλλά φαρμακευτικά σκεύασμα
LC-MS/MS [69]	Πολύ υψηλή ευαισθησία, εξαιρετική εκλεκτικότητα, δυνατότητα ανίχνευσης ιχνών, κατάλληλη για βιολογικά δείγματα	Υψηλό κόστος εξοπλισμού, απαιτεί εξειδικευμένη προετοιμασία δειγμάτων και τεχνική κατάρτιση	Φαρμακοκινητικές μελέτες, ανάλυση σε πλάσμα, βιοαναλυτικός έλεγχος

Πίνακας 4: Συγκριτική αξιολόγηση των κυριότερων αναλυτικών τεχνικών που χρησιμοποιούνται για τον ποσοτικό προσδιορισμό των αναστολέων αντλίας πρωτονίων, ως προς τα πλεονεκτήματα, τους περιορισμούς και τις βασικές εφαρμογές τους[65][66][67][68][69].

Συνολικά, οι μελέτες αυτές καταδεικνύουν ότι η επιλογή της αναλυτικής τεχνικής εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη φύση του δείγματος και τον σκοπό της ανάλυσης. Οι μέθοδοι HPLC αποτελούν τον βασικό πυλώνα του ποιοτικού ελέγχου, καθώς συνδυάζουν υψηλή εκλεκτικότητα και αξιοπιστία, ενώ οι φασματοφωτομετρικές μέθοδοι UV προσφέρουν απλότητα και ταχύτητα σε περιπτώσεις όπου δεν απαιτείται διαχωρισμός. Αντίθετα, οι τεχνικές LC-MS/MS υπερτερούν σε ευαισθησία και εφαρμόζονται κυρίως σε φαρμακοκινητικές και βιοαναλυτικές μελέτες. Η ολοκληρωμένη χρήση των τεχνικών αυτών επιτρέπει την ακριβή αξιολόγηση της ποιότητας, της σταθερότητας και της φαρμακοκινητικής συμπεριφοράς των PPIs, συμβάλλοντας στη διασφάλιση της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας των φαρμακευτικών προϊόντων[65][66][67][68][69].

1.2.2 2.2.2 Προσδιορισμός Προσμίξεων PPIs (Impurity Profiling & Degradation Products)

Η διερεύνηση των προσμίξεων και των προϊόντων αποικοδόμησης των αναστολέων αντλίας πρωτονίων (PPIs) αποτελεί κρίσιμο πεδίο της σύγχρονης φαρμακευτικής ανάλυσης, καθώς συνδέεται άμεσα με τη διασφάλιση της ποιότητας, της σταθερότητας και της ασφάλειας των φαρμακευτικών προϊόντων. Σε αντίθεση με τις συμβατικές μελέτες ποσοτικού προσδιορισμού, οι οποίες εστιάζουν κυρίως στη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας, το impurity profiling στοχεύει στον εντοπισμό, τον διαχωρισμό, την ταυτοποίηση και, όπου είναι δυνατόν, στη δομική αποσαφήνιση όλων των σχετιζόμενων ουσιών που προκύπτουν είτε από τη σύνθεση είτε από την αποικοδόμηση των φαρμάκων. Η σημασία των μελετών αυτών είναι ιδιαίτερα αυξημένη στην περίπτωση των PPIs, καθώς οι ενώσεις αυτές χαρακτηρίζονται από υψηλή χημική αστάθεια και έντονη ευαισθησία σε όξινες, οξειδωτικές, θερμικές και φωτολυτικές συνθήκες[70][71][72][22].

Η αποικοδόμηση των PPIs δεν οδηγεί απλώς σε απώλεια της δραστικότητας της αρχικής ουσίας, αλλά συνοδεύεται από τον σχηματισμό πολλαπλών προϊόντων διάσπασης με διαφορετικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και πιθανώς διαφορετική τοξικολογική συμπεριφορά. Οι προσμίξεις αυτές μπορεί να προκύπτουν από υδρόλυση, οξείδωση, αναδιάταξη του ετεροκυκλικού συστήματος ή μετατροπές του σουλφοξειδίου, οδηγώντας σε ένα πολύπλοκο χημικό προφίλ. Για τον λόγο αυτό, η ανάλυση των προϊόντων αποικοδόμησης δεν αποτελεί μόνο εργαλείο ποιοτικού ελέγχου αλλά και μέσο κατανόησης των μηχανισμών χημικής αστάθειας των PPIs[70][71][72][22].

Στο πλαίσιο αυτό, οι μελέτες εξαναγκασμένης αποικοδόμησης (forced degradation studies) αποτελούν βασικό εργαλείο για τη διερεύνηση της συμπεριφοράς των φαρμακευτικών ουσιών υπό ακραίες συνθήκες καταπόνησης. Οι συνθήκες αυτές περιλαμβάνουν συνήθως όξινη και βασική υδρόλυση, οξειδωτική καταπόνηση, θερμική έκθεση και φωτοαποικοδόμηση, οι οποίες εφαρμόζονται σκόπιμα ώστε να επιταχυνθεί η διαδικασία διάσπασης και να παραχθούν προϊόντα αποικοδόμησης σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα. Η προσέγγιση αυτή επιτρέπει όχι μόνο την παρακολούθηση της σταθερότητας αλλά και την πρόβλεψη πιθανών degradation pathways που θα μπορούσαν να εμφανιστούν κατά την αποθήκευση ή τη διάρκεια ζωής του προϊόντος[70][71][72][22].

Η αναλυτική διερεύνηση των προϊόντων αποικοδόμησης απαιτεί συνδυασμό τεχνικών υψηλής διακριτικής ικανότητας. Η RP-HPLC χρησιμοποιείται κυρίως για τον χρωματογραφικό διαχωρισμό και την παρακολούθηση της εμφάνισης νέων χημικών ειδών, η LC-MS/MS επιτρέπει τη μοριακή ταυτοποίηση και τη μελέτη των μηχανισμών αποικοδόμησης μέσω ανάλυσης θραυσμάτων m/z , ενώ η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) παρέχει την τελική δομική επιβεβαίωση των απομονωμένων προϊόντων. Παράλληλα, τεχνικές όπως HPTLC και chiral chromatography χρησιμοποιούνται συμπληρωματικά για την παρακολούθηση related substances και τον έλεγχο εναντιομερών προσμίξεων[70][71][72][22].

Ιδιαίτερη σημασία έχει επίσης η κανονιστική διάσταση του impurity profiling. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες ICH Q3A και Q3B, κάθε προσμείξη που υπερβαίνει συγκεκριμένα όρια πρέπει να ανιχνεύεται, να ποσοτικοποιείται και, όπου απαιτείται, να ταυτοποιείται και να αξιολογείται τοξικολογικά. Οι απαιτήσεις αυτές έχουν οδηγήσει στην ανάπτυξη ολοένα και πιο ευαίσθητων και εκλεκτικών αναλυτικών τεχνικών, ικανών να ανιχνεύουν προσμίξεις σε επίπεδα ιχνών και να παρέχουν πλήρη χαρακτηρισμό τους. Στην περίπτωση των PPIs, όπου η αποικοδόμηση είναι συχνά ταχεία και πολυπαραγοντική, η ανάγκη για αξιόπιστες stability-indicating και impurity-profiling μεθόδους είναι ακόμη μεγαλύτερη[70][71][72][22].

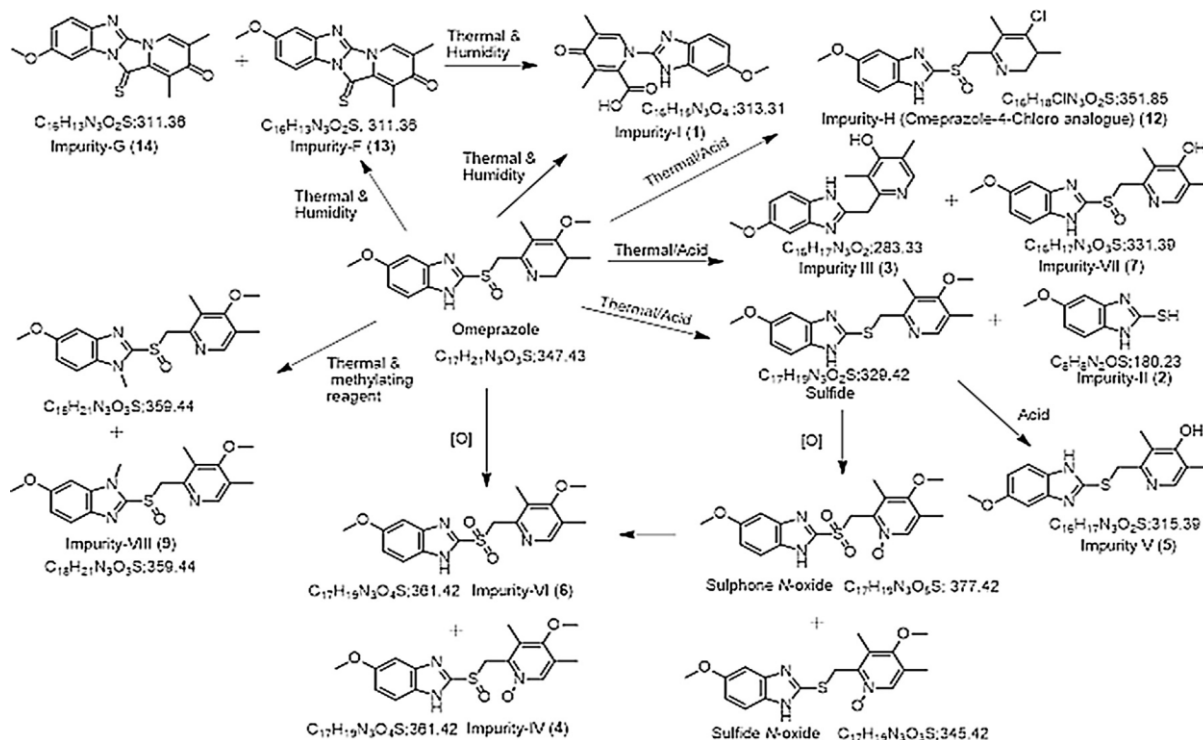
Η εργασία των Jadhav et al. αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα σύγχρονης μελέτης impurity profiling της ομεπραζόλης, στην οποία συνδυάζονται τεχνικές RP-UPLC και

TOF/MS για τη διερεύνηση related substances και μη φαρμακοποιικών προσμίξεων. Σε αντίθεση με τις συμβατικές μελέτες ποσοτικού προσδιορισμού, η συγκεκριμένη εργασία επικεντρώνεται στη λεπτομερή χαρτογράφηση των προϊόντων αποικοδόμησης και στην ανάπτυξη σταθεροενδεικτικής μεθόδου υψηλής διακριτικής ικανότητας. Η ομεπραζόλη, λόγω της παρουσίας του ευαίσθητου σουλφοξειδίου και του ετεροκυκλικού βενζιμιδαζολικού συστήματος, παρουσιάζει αυξημένη αστάθεια υπό όξινες και οξειδωτικές συνθήκες, γεγονός που οδηγεί στον σχηματισμό πολύπλοκου impurity profile[70].

Στο πειραματικό μέρος χρησιμοποιήθηκε σύστημα RP-UPLC συζευγμένο με φασματομετρία μάζας τύπου time-of-flight (TOF/MS), το οποίο προσφέρει υψηλή διακριτική ικανότητα και ακριβή προσδιορισμό του μοριακού βάρους των προϊόντων αποικοδόμησης. Η χρωματογραφική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με στήλη αντίστροφης φάσης μικρού μεγέθους σωματιδίων, επιτρέποντας ταχύτερους χρόνους ανάλυσης και καλύτερο διαχωρισμό συγκριτικά με τα κλασικά συστήματα HPLC. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγμα υδατικού ρυθμιστικού διαλύματος και οργανικού διαλύτη, ενώ εφαρμόστηκε gradient elution προκειμένου να επιτευχθεί αποτελεσματικός διαχωρισμός τόσο της κύριας ουσίας όσο και των προϊόντων αποικοδόμησης[70].

Η ομεπραζόλη υποβλήθηκε σε συνθήκες όξινης, βασικής, οξειδωτικής, θερμικής και φωτολυτικής καταπόνησης. Τα stress conditions επιλέχθηκαν ώστε να προκαλέσουν ελεγχόμενη αποικοδόμηση και να επιτρέψουν τη δημιουργία αντιπροσωπευτικού impurity profile. Μετά την καταπόνηση, τα δείγματα αναλύθηκαν αρχικά χρωματογραφικά και στη συνέχεια τα προϊόντα αποικοδόμησης ταυτοποιήθηκαν μέσω TOF/MS, με βάση το ακριβές μοριακό βάρος και τα πρότυπα θραύσης[70].

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ομεπραζόλη αποικοδομείται έντονα σε όξινες και οξειδωτικές συνθήκες, οδηγώντας στον σχηματισμό πολλαπλών προϊόντων διαφορετικής πολικότητας και μοριακής δομής. Η ανάλυση TOF/MS επέτρεψε την ανίχνευση μη φαρμακοποιικών προσμίξεων σε επίπεδα ιχνών και την πρόταση πιθανών degradation pathways, που περιλάμβαναν οξείδωση του σουλφοξειδίου, διάσπαση του βενζιμιδαζολικού συστήματος και αναδιατάξεις του μορίου. Η μελέτη αυτή ανέδειξε τη σημασία των υβριδικών τεχνικών UPLC-MS στο impurity profiling, καθώς επιτρέπουν όχι μόνο τον διαχωρισμό αλλά και την ακριβή μοριακή ταυτοποίηση των related substances[70].



Εικόνα 25: Πιθανή οδός αποικοδόμησης της OMP, συμπεριλαμβανομένου του μοριακού τύπου και του μοριακού βάρους[70].

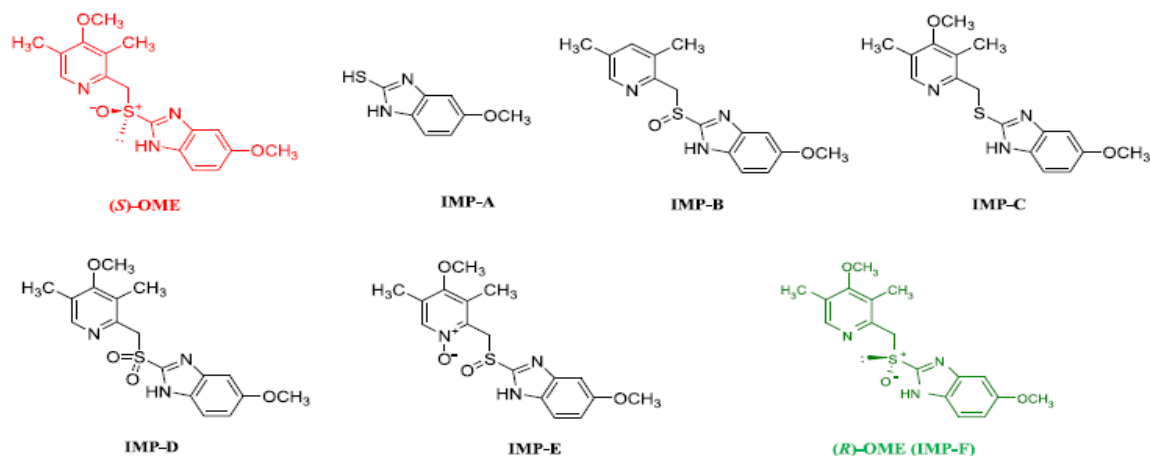
Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης η διερεύνηση εναντιομερών προσμίξεων μέσω χιραλικών χρωματογραφικών τεχνικών, όπως φαίνεται στη μελέτη των Gallinella et al., η οποία επικεντρώθηκε στον προσδιορισμό της εναντιομερικής καθαρότητας της εσομεπραζόλης παρουσία related substances. Η εσομεπραζόλη αποτελεί το S-εναντιομέρες της ομεπραζόλης και η παρουσία του R-ισομερούς θεωρείται chiral impurity, η οποία μπορεί να επηρεάσει τη φαρμακοκινητική, τη βιοδιαθεσιμότητα και το συνολικό φαρμακολογικό προφίλ του προϊόντος.

Στο πειραματικό μέρος εφαρμόστηκαν reversed-phase enantioselective HPLC μέθοδοι με χρήση εξειδικευμένων χειρόμορφων στατικών φάσεων. Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε chiral στήλες τύπου polysaccharide-based stationary phase, οι οποίες επιτρέπουν διαφορετικές στερεοχημικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δύο εναντιομερών και της στατικής φάσης. Η κινητή φάση αποτελούνταν από κατάλληλο μίγμα οργανικών διαλυτών και ρυθμιστικού διαλύματος, ενώ η ανίχνευση πραγματοποιήθηκε με UV detector σε μήκος κύματος περίπου 299 nm[71].

Τα χρωματογραφήματα έδειξαν σαφή διαχωρισμό μεταξύ του S- και του R-ισομερούς, καθώς και των related substances που συνυπήρχαν στο δείγμα. Η αξιολόγηση της enantiomeric purity βασίστηκε στους διαφορετικούς χρόνους κατακράτησης των εναντιομερών, οι οποίοι προέκυπταν από τις διαφορετικές στερεοχημικές αλληλεπιδράσεις τους με τη χειρόμορφη στατική φάση. Η μέθοδος παρουσίασε υψηλή εκλεκτικότητα και επαρκή ευαισθησία για την ανίχνευση χιραλικών προσμίξεων σε πολύ χαμηλά επίπεδα[71].

Η σημασία της χιραλικής ανάλυσης είναι ιδιαίτερα αυξημένη στη φαρμακευτική ανάλυση, καθώς διαφορετικά εναντιομερή μπορεί να εμφανίζουν διαφορετική βιολογική δραστικότητα ή διαφορετικό μεταβολισμό. Για τον λόγο αυτό, η παρακολούθηση της optical purity της εσομπραζόλης αποτελεί ουσιαστικό τμήμα του impurity profiling και της διασφάλισης της φαρμακευτικής ποιότητας. Η μελέτη ανέδειξε ότι οι chiral HPLC τεχνικές αποτελούν εξειδικευ-

μένο αλλά απαραίτητο εργαλείο για τον έλεγχο στερεοχημικών προσμίξεων και τη συμμόρφωση με τις κανονιστικές απαιτήσεις σχετικά με την εναντιομερική καθαρότητα των φαρμακευτικών προϊόντων[71].



Εικόνα 26: Δομές της (S)-OME και των πιθανών οργανικών προσμίξεών της[71].

Η ανάγκη για περαιτέρω δομική διερεύνηση των προϊόντων αποικοδόμησης των PPIs αναδεικνύεται στη μελέτη των DellaGreca et al., η οποία επικεντρώνεται στη διερεύνηση της αποικοδόμησης της λανσοπραζόλης και της ομεπραζόλης σε υδατικό περιβάλλον. Η μελέτη αυτή παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς δεν εξετάζει μόνο τη φαρμακευτική σταθερότητα των ουσιών αλλά και τη συμπεριφορά τους στο περιβάλλον, προσεγγίζοντας το impurity profiling από μια ευρύτερη χημική και περιβαλλοντική σκοπιά[72].

Στο πειραματικό μέρος, τα δείγματα των PPIs υποβλήθηκαν σε ελεγχόμενες συνθήκες αποικοδόμησης παρουσία φωτός και οξειδωτικών παραγόντων, ώστε να προσομοιωθούν συνθήκες που θα μπορούσαν να επικρατούν σε υδατικά περιβάλλοντα. Μετά την καταπόνηση, πραγματοποιήθηκε χρωματογραφικός διαχωρισμός των προϊόντων αποικοδόμησης και ακολούθησε δομική διερεύνηση με φασματοσκοπικές τεχνικές, συμπεριλαμβανομένης της NMR[72].

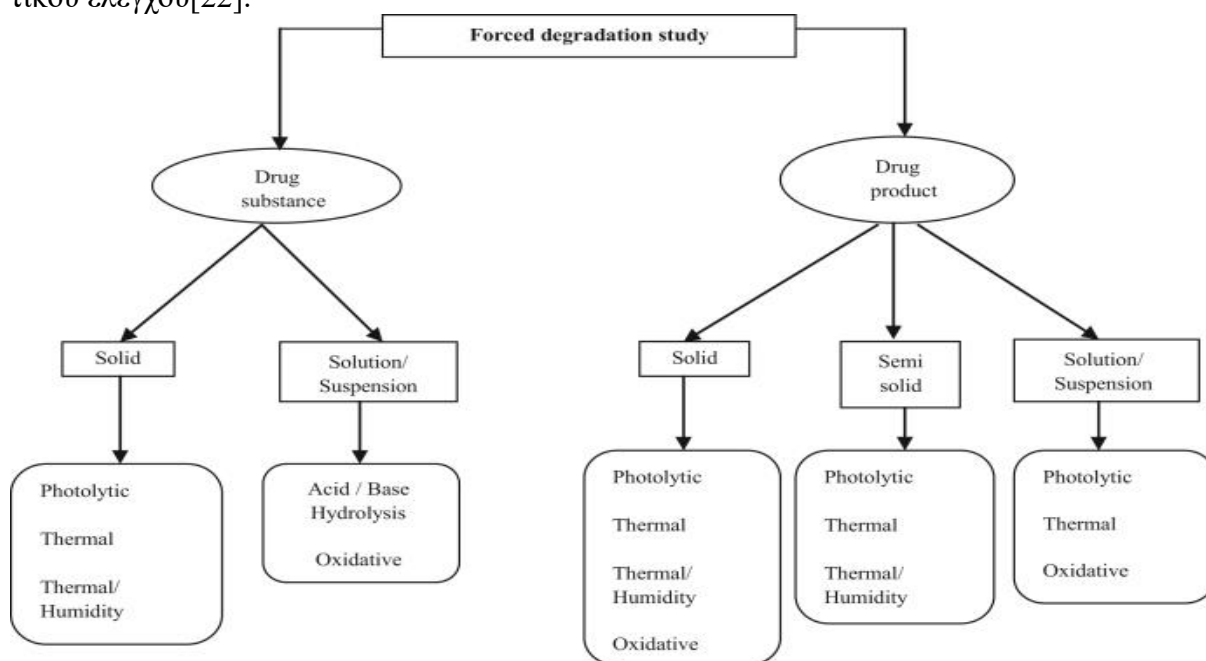
Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού χρησιμοποιήθηκε για την επιβεβαίωση των δομικών μεταβολών που είχαν υποδειχθεί από τις χρωματογραφικές και φασματομετρικές αναλύσεις. Μέσω των φασμάτων ^1H και ^{13}C NMR κατέστη δυνατή η παρακολούθηση μεταβολών στο ηλεκτρονικό περιβάλλον των ατόμων άνθρακα και υδρογόνου, επιτρέποντας την αναγνώριση οξειδωτικών μετατροπών, αναδιατάξεων και διασπάσεων του βενζιμιδαζολικού συστήματος[72].

Οι αλλαγές στις χημικές μετατοπίσεις σε σχέση με το αρχικό μόριο επιβεβαίωσαν ότι η αποικοδόμηση των PPIs συνοδεύεται από εκτεταμένες ηλεκτρονιακές και δομικές μεταβολές. Η εμφάνιση νέων σημάτων στα φάσματα NMR και η μεταβολή της έντασης υπαρχόντων κορυφών παρείχαν σημαντικές πληροφορίες για τη δομή των σχετιζόμενων ουσιών. Η μελέτη ανέδειξε ότι η NMR αποτελεί ιδιαίτερα σημαντικό εργαλείο στο impurity profiling, καθώς επιτρέπει την τελική δομική επιβεβαίωση προϊόντων αποικοδόμησης που έχουν προηγουμένως εντοπιστεί μέσω χρωματογραφικών ή φασματομετρικών τεχνικών[72].

Παράλληλα με τις πειραματικές μελέτες, το θεωρητικό και κανονιστικό πλαίσιο των forced degradation studies υποστηρίζεται από την ανασκόπηση των Blessy et al., η οποία θεωρείται μία από τις βασικότερες βιβλιογραφικές πηγές στον τομέα της ανάπτυξης stability-indicating μεθόδων. Σύμφωνα με την προσέγγιση αυτή, οι forced degradation studies δεν αποσκοπούν απλώς στη δημιουργία προϊόντων αποικοδόμησης αλλά στην κατανόηση της χημικής συμπεριφοράς των φαρμακευτικών ουσιών και στην πρόβλεψη πιθανών pathways αστάθειας[22].

Η ανασκόπηση υπογραμμίζει ότι οι συνθήκες stress testing πρέπει να είναι επαρκώς ισχυρές ώστε να προκαλούν μερική αποικοδόμηση χωρίς όμως να οδηγούν σε πλήρη καταστροφή του μορίου. Στόχος είναι η παραγωγή ενός αντιπροσωπευτικού impurity profile, το οποίο θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη και επικύρωση stability-indicating αναλυτικών μεθόδων[22].

Επιπλέον, δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στη συμμόρφωση με τις οδηγίες ICH και στις απαιτήσεις για ανίχνευση, ποσοτικοποίηση και ταυτοποίηση των προσμίξεων. Οι κατευθυντήριες οδηγίες καθορίζουν συγκεκριμένα thresholds πάνω από τα οποία οι προσμίξεις πρέπει να αξιολογούνται τοξικολογικά και να τεκμηριώνεται η ασφάλειά τους. Η εφαρμογή forced degradation studies θεωρείται επομένως αναπόσπαστο τμήμα της φαρμακευτικής ανάπτυξης και του ποιοτικού ελέγχου[22].



Εικόνα 27: Ενδεικτικό διάγραμμα ροής που περιγράφει τις διάφορες συνθήκες καταπόνησης που χρησιμοποιούνται για την αποικοδόμηση της δραστικής ουσίας και του φαρμακευτικού προϊόντος[22].

Συνολικά, ο προσδιορισμός προσμίξεων των PPIs αναδεικνύεται ως μια σύνθετη και πολυ-παραγοντική αναλυτική διαδικασία που υπερβαίνει τον απλό ποσοτικό έλεγχο και εστιάζει στη βαθύτερη κατανόηση της χημικής αστάθειας των μορίων. Οι μελέτες δείχνουν ότι η αποικοδόμηση των PPIs δεν αποτελεί απλή απώλεια δραστηριότητας αλλά ένα δίκτυο παράλληλων χημικών διεργασιών που οδηγεί σε δομικά διαφορετικά προϊόντα με ιδιαίτερα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Η RP-HPLC συμβάλλει κυρίως στον διαχωρισμό και την παρακολούθηση των προϊόντων αποικοδόμησης, η LC-MS/MS επιτρέπει τη μοριακή ταυτοποίηση και την πρόταση μηχανισμών σχηματισμού, ενώ η NMR παρέχει την τελική και καθοριστική δομική επιβεβαίωση. Παράλληλα, οι chiral τεχνικές συμβάλλουν στον έλεγχο στερεοχημικών προσμίξεων, επεκτείνοντας το impurity profiling και στη διερεύνηση της optical purity[70][71][72][22].

Ο συνδυασμός όλων αυτών των τεχνικών αποτελεί αναγκαία προϋπόθεση για την πλήρη χαρτογράφηση των degradation pathways και τη διασφάλιση της ποιότητας, της σταθερότητας και της ασφάλειας των φαρμακευτικών σκευασμάτων που περιέχουν PPIs[70][71][72][22].

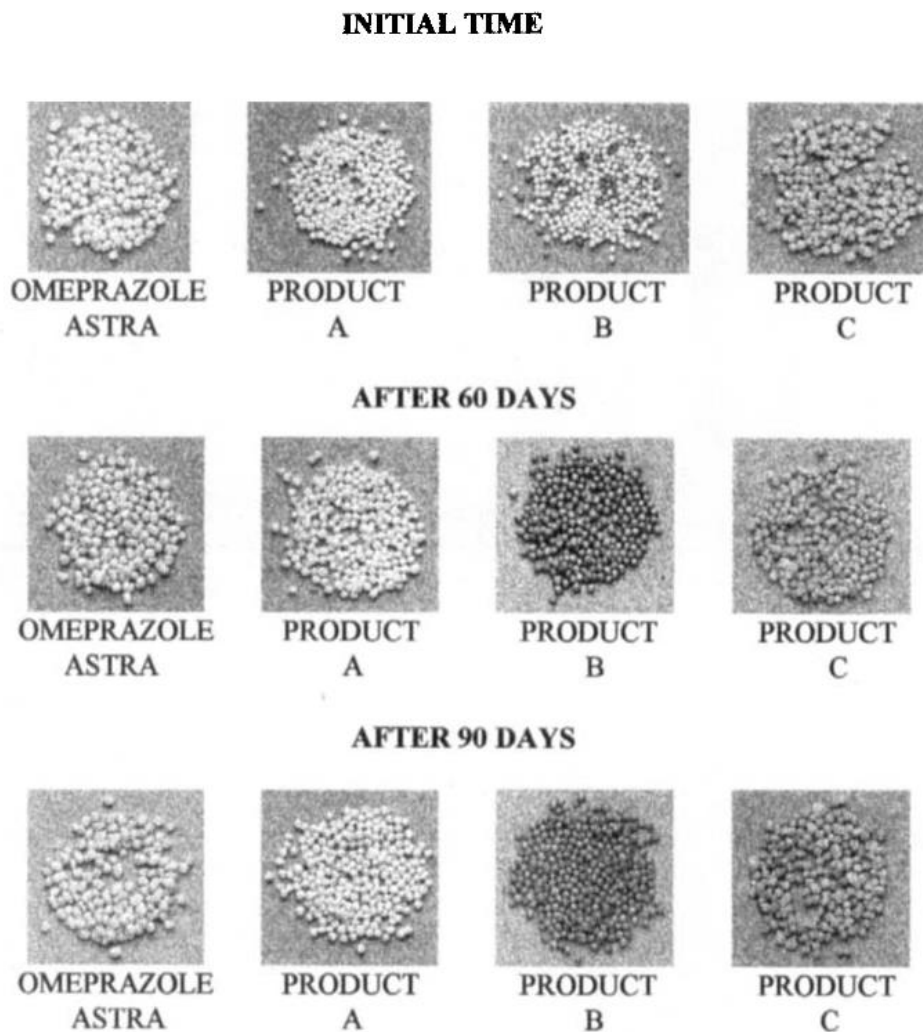
2.2.3 Μελέτες Διαλυτότητας και Διάλυσης (Dissolution Studies)

Οι μελέτες διαλυτότητας και διάλυσης αποτελούν θεμελιώδες εργαλείο για την αξιολόγηση της φαρμακοτεχνικής συμπεριφοράς των αναστολέων αντλίας πρωτονίων (PPIs), καθώς οι ενώσεις αυτές παρουσιάζουν έντονη pH-εξαρτώμενη σταθερότητα και αποικοδομούνται ταχέως σε όξινο περιβάλλον. Για τον λόγο αυτό, τα περισσότερα φαρμακευτικά σκευάσματα PPIs διαμορφώνονται ως εντεροδιαλυτές μορφές, ώστε να προστατεύεται η δραστική ουσία κατά τη διέλευσή της από το στομάχι και να απελευθερώνεται στο λεπτό έντερο, όπου επικρατούν ευνοϊκότερες συνθήκες pH για τη σταθερότητα και την απορρόφησή της. Οι δοκιμές dissolution δεν χρησιμοποιούνται μόνο για τον έλεγχο της ταχύτητας απελευθέρωσης αλλά και για την αξιολόγηση της ακεραιότητας της εντεροδιαλυτής επικάλυψης, της σταθερότητας της δραστικής ουσίας και της πιθανής εμφάνισης προϊόντων αποικοδόμησης κατά τη διάρκεια της ανάλυσης [74][75][76][77][78][79].

Η μελέτη των Storpirtis και Rodrigues επικεντρώθηκε στην αξιολόγηση των ιδιοτήτων διάλυσης εντεροδιαλυτών pellets ομεπραζόλης και στη διερεύνηση του σχηματισμού προϊόντων αποικοδόμησης κατά τη διάρκεια της διαδικασίας dissolution. Σκοπός της εργασίας ήταν να εξεταστεί κατά πόσο οι συνθήκες διάλυσης και η ποιότητα της εντεροδιαλυτής επικάλυψης επηρεάζουν τη σταθερότητα της ομεπραζόλης, δεδομένου ότι πρόκειται για δραστική ουσία ιδιαίτερα ευαίσθητη στο όξινο pH[74].

Στο πειραματικό μέρος χρησιμοποιήθηκε apparatus τύπου USP για τη διεξαγωγή δοκιμών διάλυσης σε δύο στάδια: αρχικά σε όξινο μέσο προσομοίωσης γαστρικών υγρών και στη συνέχεια σε ρυθμιστικό διάλυμα εντερικού pH. Τα δείγματα συλλέγονταν σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα και αναλύονταν χρωματογραφικά για τον προσδιορισμό τόσο της αποδεσμευόμενης ομεπραζόλης όσο και πιθανών degradation products.[74].

Η ανάλυση έδειξε ότι ακόμη και μικρές αστοχίες στην εντεροδιαλυτή επικάλυψη μπορούσαν να οδηγήσουν σε πρόωρη αποδέσμευση της δραστικής ουσίας στο όξινο στάδιο και σε σημαντική αποικοδόμηση της ομεπραζόλης. Παράλληλα, παρατηρήθηκε ότι διαφορετικά προφίλ διάλυσης συνδέονταν με διαφοροποιήσεις στον σχηματισμό προϊόντων αποικοδόμησης, γεγονός που ανέδειξε τη στενή σχέση μεταξύ dissolution behavior και χημικής σταθερότητας των PPIs [74].



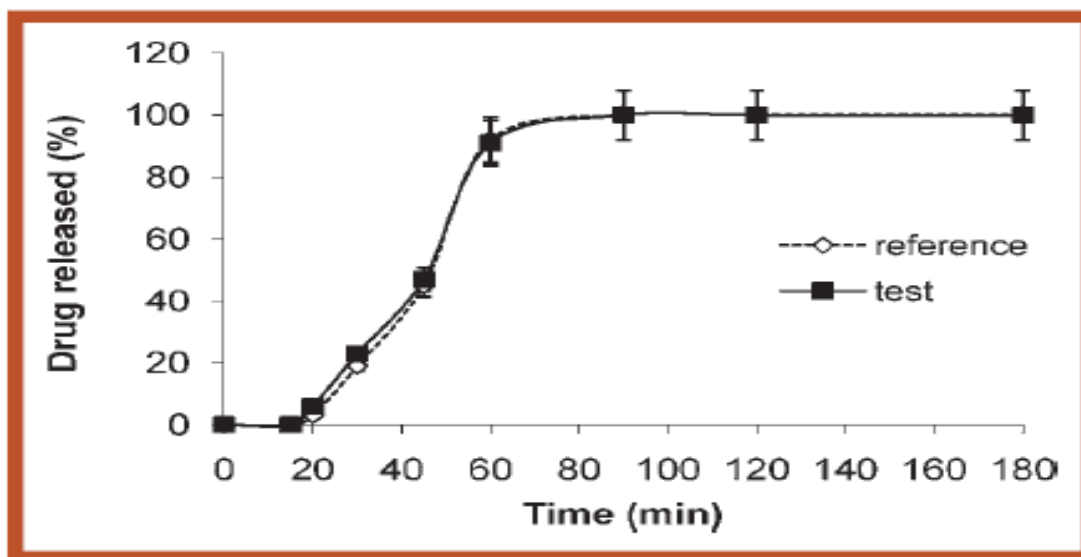
Εικόνα 28: Εμφάνιση των εντερικά επικαλυμμένων σφαιριδίων (pellets) που περιέχουν ομεπραζόλη στην αρχή της μελέτης και μετά από 60 και 90 ημέρες[74].

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης η μελέτη των de Campos et al., η οποία διερεύνησε τη συμπεριφορά διαφορετικών σκευασμάτων παντοπραζόλης χρησιμοποιώντας βιοσχετικά μέσα διάλυσης (biorelevant media) και διαφορετικά dissolution apparatus. Σκοπός της εργασίας ήταν να αξιολογηθεί κατά πόσο οι συμβατικές δοκιμές dissolution μπορούν να προβλέψουν αξιόπιστα την in vivo συμπεριφορά των σκευασμάτων και να συγκριθεί η απόδοση διαφορετικών πειραματικών συνθηκών[75].

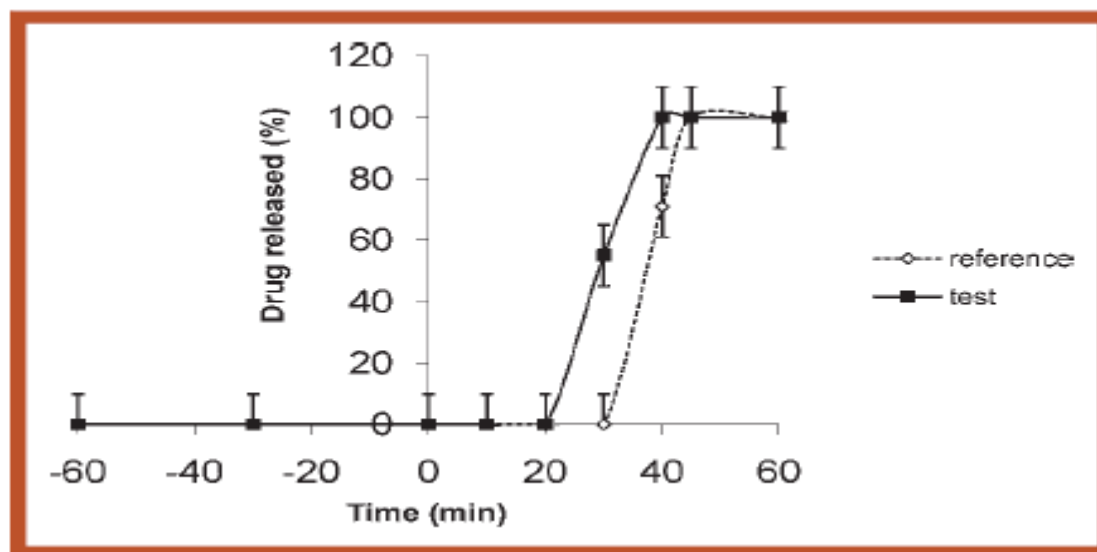
Στο πειραματικό μέρος χρησιμοποιήθηκαν apparatus τύπου USP I και USP II, ενώ εφαρμόστηκαν τόσο συμβατικά ρυθμιστικά διαλύματα όσο και βιοσχετικά μέσα που προσομοίαν τις συνθήκες του γαστρεντερικού σωλήνα υπό κατάσταση νηστείας. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε προκαθορισμένα χρονικά σημεία, με προσδιορισμό της αποδεσμευόμενης παντοπραζόλης μέσω HPLC[75].

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η επιλογή του dissolution apparatus και του dissolution medium επηρεάζει σημαντικά το προφίλ απελευθέρωσης της δραστικής ουσίας. Ειδικότερα, τα biorelevant media παρείχαν πιο ρεαλιστική εικόνα της in vivo συμπεριφοράς των σκευασμάτων συγκριτικά με τα απλά ρυθμιστικά διαλύματα, ενώ παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στον ρυθμό αποδέσμευσης μεταξύ των διαφορετικών apparatus. Η μελέτη αυτή

ανέδειξε τη σημασία της χρήσης βιοσχετικών dissolution protocols για την ακριβέστερη πρόβλεψη της βιοφαρμακευτικής συμπεριφοράς των PPIs [75].



Εικόνα 29: Προφίλ αποδέσμευσης φαρμάκου για δύο σκευάσματα pantoprazole σε μέσο FaSSIF (Fasted State Simulated Intestinal Fluid), χρησιμοποιώντας τη συσκευή USP apparatus 2, με ταχύτητα περιστροφής 50 rpm [75].



Εικόνα 30: Προφίλ αποδέσμευσης φαρμάκου δύο σκευασμάτων παντοπραζόλης με χρήση μέσου FaSSIF σε συσκευή USP apparatus 3, με ρυθμό εμβάπτισης 10 rpm [75].

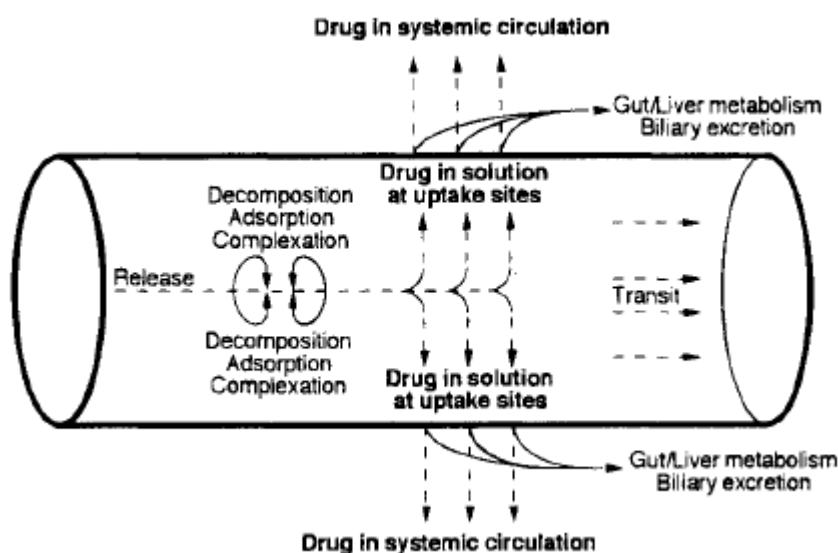
Η σημασία των βιοσχετικών μέσων διάλυσης αναδεικνύεται εκτενώς στην εργασία των Dressman et al., όπου οι δοκιμές dissolution παρουσιάζονται όχι μόνο ως εργαλείο ποιοτικού ελέγχου αλλά και ως μέσο πρόβλεψης της in vivo απορρόφησης των από του στόματος φαρμακευτικών μορφών. Σκοπός της μελέτης ήταν η αξιολόγηση του κατά πόσο τα in vitro dissolution δεδομένα μπορούν να συσχετιστούν με τη βιοδιαθεσιμότητα και τη φαρμακοκινητική συμπεριφορά των φαρμάκων μετά τη χορήγησή τους στον ανθρώπινο οργανισμό. Η εργασία επικεντρώνεται ιδιαίτερα στη σημασία της επιλογής κατάλληλου dissolution medium και στην ανάγκη προσομοίωσης των φυσιολογικών συνθηκών του γαστρεντερικού σωλήνα [78].

Στο πειραματικό και θεωρητικό πλαίσιο της μελέτης αναλύεται η χρήση βιοσχετικών μέσων διάλυσης, όπως FaSSIF (Fasted State Simulated Intestinal Fluid) και FeSSIF (Fed State

Simulated Intestinal Fluid), τα οποία σχεδιάστηκαν ώστε να προσομοιώνουν τη σύσταση των εντερικών υγρών υπό συνθήκες νηστείας και μετά από γεύμα αντίστοιχα. Τα μέσα αυτά περιέχουν χολικά άλατα, φωσφολιπίδια και επιφανειοδραστικούς παράγοντες, επιτρέποντας ρεαλιστικότερη προσομοίωση της διαλυτότητας και της απορρόφησης λιπόφιλων ή pH-εξαρτώμενων φαρμάκων. Η μελέτη υπογραμμίζει ότι τα συμβατικά ρυθμιστικά διαλύματα συχνά αποτυγχάνουν να αναπαραγάγουν το πραγματικό περιβάλλον του γαστρεντερικού σωλήνα, οδηγώντας σε dissolution profiles με περιορισμένη προγνωστική αξία [78].

Ιδιαίτερη σημασία δίνεται επίσης στη συσχέτιση in vitro–in vivo (IVIVC), η οποία αποτελεί βασικό στόχο των dissolution studies στη σύγχρονη φαρμακευτική ανάλυση. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, η χρήση βιοσχετικών dissolution media μπορεί να βελτιώσει σημαντικά τη δυνατότητα πρόβλεψης της απορρόφησης και της βιοδιαθεσιμότητας ενός φαρμάκου, μειώνοντας την ανάγκη για εκτεταμένες in vivo μελέτες. Η προσέγγιση αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική για τους αναστολείς αντλίας πρωτονίων, καθώς η σταθερότητα και η διαλυτότητά τους μεταβάλλονται σημαντικά ανάλογα με το pH και τη σύσταση του μέσου διάλυσης [78].

Η εργασία των Dressman et al. συνέβαλε ουσιαστικά στη διαμόρφωση της σύγχρονης φιλοσοφίας των dissolution studies, αναδεικνύοντας ότι οι δοκιμές διάλυσης δεν αποτελούν μόνο μέσο ποιοτικού ελέγχου αλλά και εργαλείο βιοφαρμακευτικής αξιολόγησης και πρόβλεψης της in vivo συμπεριφοράς των φαρμακευτικών προϊόντων [78].



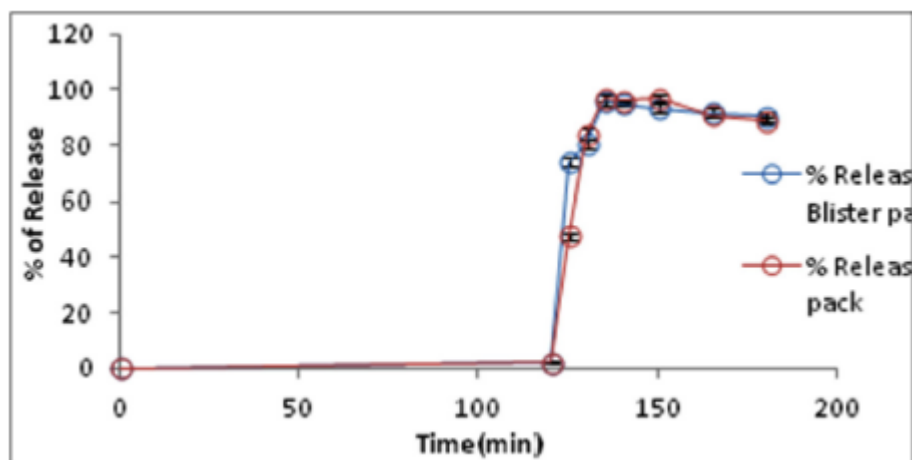
Εικόνα 31: Σχηματική απεικόνιση της σχέσης μεταξύ αποδέσμευσης, διάλυσης, απορρόφησης και συστηματικής κυκλοφορίας φαρμάκων από του στόματος φαρμακοτεχνικές μορφές [78]

Η εργασία των Mohapatra et al. επικεντρώθηκε στη βελτίωση της εντεροδιαλυτής συμπεριφοράς δισκίων ομεπραζόλης μέσω χρήσης hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate (HPMCAS). Σκοπός της μελέτης ήταν η ανάπτυξη γαστροανθεκτικών δισκίων με βελτιωμένο dissolution profile και αυξημένη σταθερότητα σε όξινο περιβάλλον.[76].

Στο πειραματικό μέρος παρασκευάστηκαν διαφορετικές φαρμακοτεχνικές συνθέσεις με μεταβολή της συγκέντρωσης του πολυμερούς επικάλυψης και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν δοκιμές διάλυσης σε όξινο και ρυθμιστικό στάδιο. Η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας αξιολογήθηκε μέσω UV και HPLC αναλύσεων, ενώ συγκρίθηκαν τα dissolution profiles των διαφορετικών συνθέσεων[76].

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χρήση HPMCAS προσέφερε σημαντικά βελτιωμένη προστασία της ομεπραζόλης στο όξινο στάδιο και οδήγησε σε ταχύτερη και πληρέστερη αποδέσμευση στο εντερικό περιβάλλον. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι η μεταβολή της

συγκέντρωσης του πολυμερούς επηρέαζε άμεσα τη συμπεριφορά διάλυσης, γεγονός που ανέδειξε τον κρίσιμο ρόλο της επιλογής πολυμερούς στη φαρμακοτεχνική απόδοση των PPIs [76].



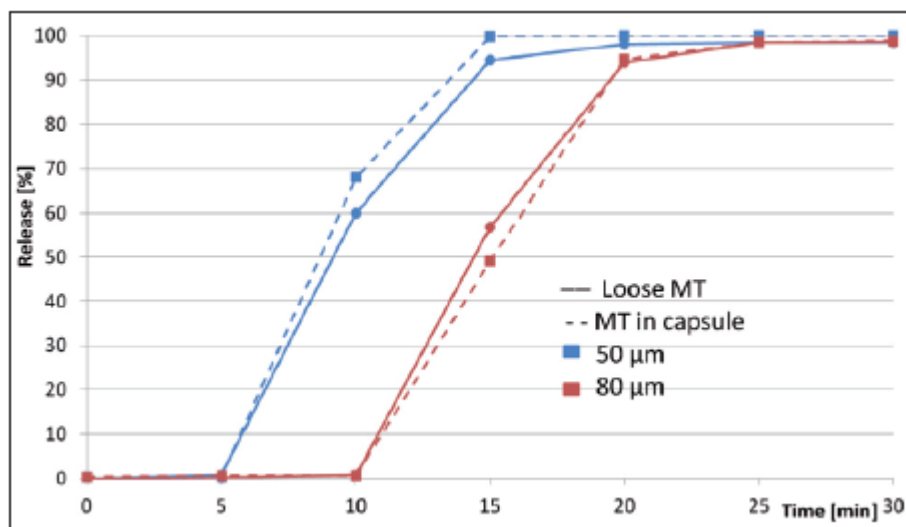
Εικόνα 32: Προφίλ διάλυσης της ομεπραζόλης από δισκίο παρατεταμένης αποδέσμευσης μετά από αποθήκευση σε θάλαμο σταθερότητας στους 40°C/75% σχετική υγρασία (RH)[76].

Αντίστοιχα, οι Szczepańska και Sznitowska συνέκριναν τη διαδικασία επικάλυψης και τη συμπεριφορά διάλυσης γαστροανθεκτικών minitables και συμβατικών δισκίων παντοπραζόλης, με στόχο τη διερεύνηση της επίδρασης της φαρμακοτεχνικής μορφής στην αποτελεσματικότητα της εντεροδιαλυτής επικάλυψης και στη συνολική dissolution behavior του σκευάσματος. Η μελέτη επικεντρώθηκε ιδιαίτερα στη σύγκριση της ομοιομορφίας της επικάλυψης, της αντοχής στο όξινο περιβάλλον και της αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας κατά το εντερικό στάδιο [77].

Στο πειραματικό μέρος παρασκευάστηκαν γαστροανθεκτικά minitables και συμβατικά δισκία παντοπραζόλης, τα οποία επικαλύφθηκαν με εντεροδιαλυτά πολυμερή μέσω διαδικασιών coating υπό ελεγχόμενες συνθήκες. Η αξιολόγηση της συμπεριφοράς διάλυσης πραγματοποιήθηκε με dissolution apparatus τύπου USP σε δύο στάδια: αρχικά σε όξινο μέσο προσομοίωσης γαστρικών υγρών και στη συνέχεια σε ρυθμιστικό διάλυμα εντερικού pH. Η αποδέσμευση της παντοπραζόλης προσδιορίστηκε χρωματογραφικά σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα, ενώ παράλληλα αξιολογήθηκε η ακεραιότητα της επικάλυψης μετά την έκθεση στο όξινο στάδιο [77].

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα minitables παρουσίασαν πιο ομοιόμορφη και αναπαραγωγίμη συμπεριφορά διάλυσης συγκριτικά με τα συμβατικά δισκία. Η βελτιωμένη απόδοση αποδόθηκε κυρίως στη μεγαλύτερη επιφάνεια κατανομής της επικάλυψης και στη μικρότερη γεωμετρική διάσταση των minitables, οι οποίες επέτρεπαν αποτελεσματικότερη προστασία της δραστικής ουσίας από το όξινο περιβάλλον. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ταχύτερη και πληρέστερη αποδέσμευση της παντοπραζόλης κατά το εντερικό στάδιο, γεγονός που υποδεικνύει ότι η γεωμετρία της φαρμακοτεχνικής μορφής επηρεάζει ουσιαστικά τη dissolution kinetics και τη συνολική βιοφάρμακευτική συμπεριφορά του σκευάσματος [77].

Η μελέτη αυτή ανέδειξε ότι η χρήση minitables μπορεί να προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα στη σχεδίαση γαστροανθεκτικών μορφών PPIs, καθώς συνδυάζει βελτιωμένη ομοιομορφία επικάλυψης, αυξημένη αναπαραγωγικότητα dissolution profiles και αποτελεσματικότερη προστασία της δραστικής ουσίας έναντι της όξινης αποικοδόμησης [77].



Εικόνα 33: Σύγκριση της αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας (API) στη φάση του ρυθμιστικού διαλύματος (phosphate buffer pH 6.8, 900 mL) από ελεύθερα minitables (MT) και από minitables εντός ζελατινικής κάψουλας (πάχος επικάλυψης 50 ή 80 µm). Οι συνθήκες της δοκιμής ήταν: συσκευή καλαθιού (basket apparatus), 100 rpm και θερμοκρασία 37 ± 0.5 °C. Πριν από τη φάση του ρυθμιστικού διαλύματος, τα δείγματα υποβλήθηκαν σε όξινη φάση διάλυσης (0.1 M HCl, 900 mL για 2 ώρες). Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές (n=6)[77].

Επιπλέον, οι δοκιμές dissolution αποτελούν βασικό μέρος των κανονιστικών απαιτήσεων σύμφωνα με USP, FDA και ICH guidelines, καθώς χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της ομοιομορφίας μεταξύ παρτίδων, τη σύγκριση γενόσημων σκευασμάτων και την εκτίμηση πιθανής συσχέτισης in vitro–in vivo. Η σύγκριση dissolution profiles πραγματοποιείται συχνά μέσω των παραγόντων f1 (difference factor) και f2 (similarity factor), οι οποίοι χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της ομοιότητας μεταξύ δύο προφίλ διάλυσης. Τιμές f2 μεταξύ 50 και 100 θεωρούνται ενδεικτικές παρόμοιας dissolution behavior και χρησιμοποιούνται ευρέως σε μελέτες βιοϊσοδυναμίας και αξιολόγησης γενόσημων φαρμακευτικών προϊόντων [78][79].

Συνολικά, οι μελέτες dissolution στα PPIs καταδεικνύουν ότι η συμπεριφορά απελευθέρωσης των δραστικών ουσιών εξαρτάται από ένα σύνολο παραγόντων που περιλαμβάνουν τη σύσταση της επικάλυψης, το είδος του πολυμερούς, τη γεωμετρία της φαρμακοτεχνικής μορφής, το dissolution medium και τις πειραματικές συνθήκες. Η εφαρμογή προηγμένων dissolution protocols και βιοσχετικών μέσων επιτρέπει ακριβέστερη προσομοίωση της in vivo συμπεριφοράς και συμβάλλει ουσιαστικά στη διασφάλιση της ποιότητας, της σταθερότητας και της βιοφαρμακευτικής απόδοσης των φαρμακευτικών προϊόντων που περιέχουν PPIs [74][75][76][77][78][79].

3. Συζήτηση-Συμπεράσματα

Οι αναστολείς αντλίας πρωτονίων (PPIs) αποτελούν μία από τις σημαντικότερες κατηγορίες φαρμάκων για την αντιμετώπιση παθήσεων που σχετίζονται με την υπερέκκριση γαστρικού οξέος, όπως η γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση, το πεπτικό έλκος και το σύνδρομο Zollinger–Ellison. Παρά τη μεγάλη θεραπευτική τους σημασία, οι ενώσεις αυτές χαρακτηρίζονται από αυξημένη χημική αστάθεια, γεγονός που επηρεάζει σημαντικά τόσο τη φαρμακοτεχνική ανάπτυξη όσο και τον ποιοτικό έλεγχο των σκευασμάτων τους. Η παρουσία του ευαίσθητου σουλφοξειδικού συστήματος και η έντονη pH-εξαρτώμενη συμπεριφορά των PPIs καθιστούν τις ενώσεις αυτές ιδιαίτερα επιρρεπείς σε αποικοδόμηση υπό όξινες, θερμικές, οξειδωτικές και φωτολυτικές συνθήκες, οδηγώντας στον σχηματισμό πολλαπλών προϊόντων διάσπασης και σχετιζόμενων ουσιών.

Η παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση ανέδειξε ότι η χημική σταθερότητα των PPIs διαφοροποιείται σημαντικά μεταξύ των επιμέρους δραστικών ουσιών. Η λανσοπραζόλη εμφανίζει αυξημένη ευαισθησία σε όξινο περιβάλλον και φωτολυτική καταπόνηση, ενώ η ομεπραζόλη παρουσιάζει έντονη τάση αποικοδόμησης λόγω της υψηλής δραστικότητας του σουλφοξειδικού της συστήματος. Αντίθετα, η παντοπραζόλη εμφανίζει σχετικά αυξημένη σταθερότητα σε ορισμένες συνθήκες καταπόνησης, γεγονός που αποδίδεται στις δομικές διαφοροποιήσεις του μορίου της και ιδιαίτερα στις ηλεκτρονικές επιδράσεις των υποκαταστατών της. Οι διαφοροποιήσεις αυτές υπογραμμίζουν ότι ακόμη και μικρές μεταβολές στη μοριακή δομή μπορούν να επηρεάσουν ουσιαστικά τη χημική συμπεριφορά, τη σταθερότητα και το προφίλ αποικοδόμησης των PPIs.

Οι μελέτες forced degradation που αναλύθηκαν στο πλαίσιο της εργασίας κατέδειξαν ότι η αποικοδόμηση των PPIs δεν αποτελεί μία απλή διαδικασία απώλειας δραστικότητας αλλά ένα πολύπλοκο δίκτυο παράλληλων χημικών αντιδράσεων. Η όξινη υδρόλυση οδηγεί συνήθως σε ταχεία αποικοδόμηση των ενώσεων μέσω πρωτονίωσης και αναδιάταξης του ετεροκυκλικού συστήματος, ενώ οι οξειδωτικές συνθήκες προκαλούν μετατροπές του σουλφοξειδίου και σχηματισμό σουλφονικών ή άλλων οξειδωμένων παραγώγων. Παράλληλα, η θερμική και φωτολυτική καταπόνηση μπορούν να προκαλέσουν δευτερογενείς αντιδράσεις διάσπασης και αναδιάταξης, οδηγώντας στη δημιουργία προϊόντων με διαφορετικά φυσικοχημικά και πιθανώς διαφορετικά τοξικολογικά χαρακτηριστικά. Οι παρατηρήσεις αυτές αναδεικνύουν τη σημασία της πλήρους κατανόησης των degradation pathways για τη διασφάλιση της φαρμακευτικής ποιότητας και ασφάλειας.

Ιδιαίτερα σημαντική αποδείχθηκε η συμβολή των σύγχρονων αναλυτικών τεχνικών στη διερεύνηση της σταθερότητας και των προσμίξεων των PPIs. Οι μέθοδοι RP-HPLC αποτέλεσαν τον βασικό πυλώνα του ποιοτικού ελέγχου, καθώς προσφέρουν υψηλή εκλεκτικότητα, αξιοπιστία και δυνατότητα σταθεροενδεικτικής ανάλυσης. Μέσω των stability-indicating HPLC μεθόδων κατέστη δυνατός ο διαχωρισμός της κύριας δραστικής ουσίας από τα προϊόντα αποικοδόμησης, επιτρέποντας την παρακολούθηση της χημικής αστάθειας υπό διαφορετικές συνθήκες καταπόνησης. Παράλληλα, οι πολυ-αναλυτικές RP-HPLC προσεγγίσεις επέτρεψαν την ταυτόχρονη ποσοτικοποίηση περισσότερων δραστικών ουσιών σε συνδυασμένα σκευάσματα, μειώνοντας τον χρόνο ανάλυσης και αυξάνοντας την αποδοτικότητα του ποιοτικού ελέγχου.

Η εφαρμογή τεχνικών LC-MS/MS και UPLC-TOF/MS ανέδειξε περαιτέρω τη σημασία της φασματομετρίας μάζας στο impurity profiling των PPIs. Οι τεχνικές αυτές προσφέρουν υψηλή ευαισθησία και δυνατότητα ακριβούς μοριακού χαρακτηρισμού των προϊόντων αποικοδόμησης, ακόμη και όταν αυτά βρίσκονται σε επίπεδα ιχνών. Μέσω της ανάλυσης θραυσμάτων m/z και της παρακολούθησης συγκεκριμένων μεταβάσεων ιόντων κατέστη δυνατή η πρόταση πιθανών μηχανισμών αποικοδόμησης και η αναγνώριση μη

φαρμακοποιικών προσμίξεων. Η δυνατότητα αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική για ενώσεις όπως τα PPIs, όπου η αποικοδόμηση οδηγεί σε πολύπλοκα και πολυπαραγοντικά impurity profiles.

Παράλληλα, η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) αποδείχθηκε καθοριστική για την τελική δομική επιβεβαίωση των προϊόντων αποικοδόμησης. Μέσω της ανάλυσης ^1H και ^{13}C NMR κατέστη δυνατή η διερεύνηση των ηλεκτρονιακών μεταβολών που συνοδεύουν την αποικοδόμηση των PPIs και η επιβεβαίωση οξειδωτικών μετατροπών ή αναδιατάξεων του ετεροκυκλικού συστήματος. Η NMR δεν λειτούργησε μόνο ως συμπληρωματική τεχνική αλλά ως απαραίτητο εργαλείο για την πλήρη δομική αποσαφήνιση των related substances που εντοπίστηκαν μέσω χρωματογραφικών και φασματομετρικών αναλύσεων.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσίασε επίσης η διερεύνηση χιραλικών προσμίξεων στην περίπτωση της εσομεπραζόλης. Η ανάπτυξη chiral HPLC μεθόδων επέτρεψε τον διαχωρισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό των εναντιομερών, υπογραμμίζοντας τη σημασία της εναντιομερικής καθαρότητας για τη φαρμακολογική και φαρμακοκινητική συμπεριφορά των σκευασμάτων. Η παρουσία του R-ισομερούς ως chiral impurity μπορεί να επηρεάσει τη βιοδιαθεσιμότητα και την αποτελεσματικότητα του προϊόντος, γεγονός που καθιστά τις chiral analytical techniques σημαντικό τμήμα του σύγχρονου impurity profiling.

Οι μελέτες dissolution ανέδειξαν ότι η φαρμακοτεχνική μορφή και η εντεροδιαλυτή επικάλυψη αποτελούν καθοριστικούς παράγοντες για τη σταθερότητα και τη βιοφάρμακευτική απόδοση των PPIs. Η ακεραιότητα της επικάλυψης επηρεάζει άμεσα την προστασία της δραστικής ουσίας στο όξινο περιβάλλον του στομάχου, ενώ η επιλογή κατάλληλων πολυμερών μπορεί να βελτιώσει σημαντικά το dissolution profile και τη συνολική in vivo συμπεριφορά των σκευασμάτων. Οι μελέτες σε pellets, minitables και gastro-resistant tablets έδειξαν ότι η γεωμετρία της φαρμακοτεχνικής μορφής, η επιφάνεια επικάλυψης και οι συνθήκες αποδέσμευσης επηρεάζουν ουσιαστικά την αποτελεσματικότητα της γαστροανθεκτικής προστασίας και την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας στο εντερικό στάδιο.

Ιδιαίτερα σημαντική αποδείχθηκε η χρήση βιοσχετικών μέσων διάλυσης (biorelevant dissolution media), όπως FaSSIF και FeSSIF, τα οποία προσομοιώνουν τις φυσιολογικές συνθήκες του γαστρεντερικού σωλήνα. Οι μελέτες αυτές κατέδειξαν ότι τα συμβατικά dissolution media συχνά αδυνατούν να προβλέψουν αξιόπιστα την in vivo συμπεριφορά των PPIs, ενώ τα βιοσχετικά μέσα προσφέρουν ακριβέστερη εικόνα της διαλυτότητας, της σταθερότητας και της πιθανής απορρόφησης των φαρμάκων. Η ανάπτυξη IVIVC προσεγγίσεων αποκτά επομένως ιδιαίτερη σημασία, καθώς επιτρέπει τη συσχέτιση των in vitro dissolution δεδομένων με τη βιοδιαθεσιμότητα και τη φαρμακοκινητική συμπεριφορά των σκευασμάτων.

Παράλληλα, η παρούσα ανασκόπηση υπογραμμίζει τη σημασία των κανονιστικών απαιτήσεων σχετικά με τον έλεγχο προσμίξεων και τη σταθερότητα των φαρμακευτικών προϊόντων. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες ICH, οι προσμίξεις και τα προϊόντα αποικοδόμησης που υπερβαίνουν συγκεκριμένα όρια πρέπει να ανιχνεύονται, να ποσοτικοποιούνται και να αξιολογούνται τοξικολογικά. Η συμμόρφωση με τις απαιτήσεις αυτές καθιστά απαραίτητη την ανάπτυξη αξιόπιστων stability-indicating και impurity-profiling μεθόδων υψηλής ευαισθησίας και εκλεκτικότητας.

Συνολικά, η παρούσα εργασία αναδεικνύει ότι η χημική σταθερότητα των αναστολέων αντλίας πρωτονίων αποτελεί ένα πολυπαραγοντικό φαινόμενο που εξαρτάται από τη μοριακή δομή, τις περιβαλλοντικές συνθήκες, το pH, τη φαρμακοτεχνική μορφή και τις συνθήκες αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας. Η ολοκληρωμένη μελέτη των PPIs μέσω συνδυασμού χρωματογραφικών, φασματομετρικών, φασματοσκοπικών και dissolution τεχνικών επιτρέπει βαθύτερη κατανόηση των μηχανισμών αποικοδόμησης, του impurity profiling και της

βιοφαρμακευτικής συμπεριφοράς των σκευασμάτων. Η ανάπτυξη ολοένα και πιο προηγμένων analytical techniques και biorelevant dissolution methodologies αναμένεται να συμβάλει περαιτέρω στη βελτιστοποίηση της ποιότητας, της σταθερότητας και της ασφάλειας των φαρμακευτικών προϊόντων που περιέχουν PPIs, καθώς και στην ανάπτυξη πιο αποτελεσματικών και αξιόπιστων θεραπευτικών μορφών στο μέλλον.

Βιβλιογραφία

1. Strand, D. S., Kim, D., & Peura, D. A. (2016). 25 years of Proton Pump Inhibitors: A Comprehensive review. *Gut And Liver*, 11(1), 27–37. <https://doi.org/10.5009/gnl15502>
2. Olbe, L., Carlsson, E., & Lindberg, P. (2003). A proton-pump inhibitor expedition: the case histories of omeprazole and esomeprazole. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2(2), 132–139. <https://doi.org/10.1038/nrd1010>
3. Ramakrishna, B. (2015, September 1). *Proton pump inhibitors: A balanced view*. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4669877/>
4. Shin, J. M., Cho, Y. M., & Sachs, G. (2004). Chemistry of covalent inhibition of the gastric (H⁺, K⁺)-ATPase by proton pump inhibitors. *Journal of the American Chemical Society*, 126(25), 7800–7811. <https://doi.org/10.1021/ja049607w>
5. Shin, J. M., & Sachs, G. (2008). Pharmacology of proton pump inhibitors. *Current Gastroenterology Reports*, 10(6), 528–534. <https://doi.org/10.1007/s11894-008-0098-4>
6. Shin, J. M., & Kim, N. (2013). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the proton pump inhibitors. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 19(1), 25–35. <https://doi.org/10.5056/jnm.2013.19.1.25>
7. Shin, J. M., Munson, K., Vagin, O., & Sachs, G. (2008). The gastric HK-ATPase: structure, function, and inhibition. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 457(3), 609–622. <https://doi.org/10.1007/s00424-008-0495-4>
8. Jana, K., Bandyopadhyay, T., & Ganguly, B. (2016). Revealing the mechanistic pathway of acid activation of proton pump inhibitors to inhibit the gastric proton pump: a DFT study. *The Journal of Physical Chemistry B*, 120(51), 13031–13038. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b09334>
9. Singh, R., & Jain, N. (2022). *Study of proton pump inhibitors and cysteine interactions.*, 10(8), 1–10. Retrieved from <https://ijcrt.org/papers/IJCRT2208358.pdf>
10. *Synthesis or rupture: duration of acid inhibition by proton pump inhibitors.* (2003, March 1). PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12712216/>
11. Marker, T., Steimbach, R. R., Perez-Borrajero, C., Luzarowski, M., Hartmann, E., Schleich, S., Pastor-Flores, D., Espinet, E., Trumpp, A., Teleman, A. A., Gräter, F., Simon, B., Miller, A. K., & Dick, T. P. (2025). Site-specific activation of the proton pump inhibitor rabeprazole by tetrathiolate zinc centres. *Nature Chemistry*, 17(4), 507–517. <https://doi.org/10.1038/s41557-025-01745-8>
12. Cartee, N. M. P., & Wang, M. M. (2020b). Binding of omeprazole to protein targets identified by monoclonal antibodies. *PLoS ONE*, 15(9), e0239464. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239464>
13. Wołowicz, Ł., Osiak-Gwiazdowska, J., Jaśniak, A., Janiak, M., Wydeheft, L., Łukasiak, M., Pellowiska, M., & Grześk, G. (2025b). Pharmacodynamics, pharmacokinetics, interactions with other drugs, toxicity and clinical effectiveness of proton pump inhibitors. *Frontiers in Pharmacology*, 16, 1507812. <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1507812>
14. Horn, J. (2000). The proton-pump inhibitors: Similarities and differences. *Clinical Therapeutics*, 22(3), 266–280. [https://doi.org/10.1016/s0149-2918\(00\)80032-6](https://doi.org/10.1016/s0149-2918(00)80032-6)
15. Blume, H., Donath, F., Warnke, A., & Schug, B. S. (2006). Pharmacokinetic drug interaction profiles of proton pump inhibitors. *Drug Safety*, 29(9), 769–784. <https://doi.org/10.2165/00002018-200629090-00002>

16. Robinson, M., & Horn, J. (2003). Clinical pharmacology of proton pump inhibitors. *Drugs*, 63(24), 2739–2754. <https://doi.org/10.2165/00003495-200363240-00004>
17. Kirchheiner, J., Glatt, S., Fuhr, U., Klotz, U., Meineke, I., Seufferlein, T., & Brockmöller, J. (2008). Relative potency of proton-pump inhibitors—comparison of effects on intragastric pH. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 65(1), 19–31. <https://doi.org/10.1007/s00228-008-0576-5>
18. Abed, M. N., Alassaf, F. A., Jasim, M. H., Alfahad, M., & Qazzaz, M. E. (2020). Comparison of antioxidant effects of the proton Pump-Inhibiting drugs omeprazole, esomeprazole, lansoprazole, pantoprazole, and rabeprazole. *Pharmacology*, 105(11–12), 645–651. <https://doi.org/10.1159/000506232>
19. Carstensen JT, Rhodes CT. Drug stability: Principles and practices. *Drug Dev Ind Pharm*. 1993;19(3):291–319. <https://doi.org/10.3109/03639049309042217>
20. Aulton ME, Taylor K. *Aulton's pharmaceuticals: The design and manufacture of medicines*. 5th ed. Elsevier; 2018.
21. Florence AT, Attwood D. *Physicochemical principles of pharmacy*. 6th ed. London: Pharmaceutical Press; 2016.
22. Blessy M, Patel RD, Prajapati PN, Agrawal YK. Development of forced degradation and stability indicating studies of drugs—A review. *J Pharm Anal*. 2014;4(3):159–165. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2013.09.003>
23. Waterman KC, Adami RC. Accelerated aging: Prediction of chemical stability of pharmaceuticals. *Int J Pharm*. 2005;293(1–2):101–125. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.12.007>
24. Kommanaboyina B, Rhodes CT. Trends in stability testing, with emphasis on stability during distribution and storage. *Drug Dev Ind Pharm*. 1999;25(7):857–868. <https://doi.org/10.1080/03639049909078599>
25. International Council for Harmonisation (ICH). ICH Q1A (R2): Stability testing of new drug substances and products. 2003.
26. World Health Organization (WHO). Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products. 2009.
27. Bajaj S, Singla D, Sakhuja N. Stability testing of pharmaceutical products. *J Appl Pharm Sci*. 2012;2(3):129–138.
28. Srebro, J., Brniak, W., & Mendyk, A. (2022). Formulation of Dosage Forms with Proton Pump Inhibitors: State of the Art, Challenges and Future Perspectives. *Pharmaceutics*, 14(10), 2043. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14102043>
29. Bae, S., Kwon, J., Lee, M., Yu, K., & Lee, S. (2023). Development of a fast onset proton pump inhibitor: Comparison of Fixed-Dose combination of Rabeprazole and sodium bicarbonate (YPI-011) to the conventional Enteric-Coated Rabeprazole. *Drug Design Development and Therapy*, Volume 17, 497–506. <https://doi.org/10.2147/dddt.s391716>
30. Shende P, et al. Light-induced degradation in pharmaceutical compounds: Mechanisms and protective strategies. *J Pharm Anal*. 2019;9(4):223–234.
31. Rathore KS, et al. Photostability considerations for solid oral dosage forms. *Int J Pharm*. 2020;583:119372.
32. Dhurke R, Kushwaha I, Desai BG. Improvement in Photostability of Pantoprazole Sodium by Microencapsulation. *PDA J Pharm Sci Technol*. 2013;67(1):43–52.
33. Santos L, et al. Effects of solvent and environmental conditions on the photostability of pharmaceuticals. *Int J Pharm*. 2018;547:1–10.
34. Sharma A, et al. Strategies to enhance light stability of proton pump inhibitors. *Pharmaceutics*. 2021;13(5):685.
35. *Kinetics of omeprazole degradation in solid state*. (2011b, October 1). PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21928721/>

36. Stroyer, A., McGinity, J., & Leopold, C. (2006). Solid state interactions between the proton pump inhibitor omeprazole and various enteric coating polymers. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 95(6), 1342–1353. <https://doi.org/10.1002/jps.20450>
37. Musthafa, M. (2025). *Analytical Techniques in Pharmaceutical Analysis: A Comprehensive Review*. *International Journal of Pharmacy and Analytical Research*, 2(4), 180–184. Retrieved from <https://ijpar.com/ijpar/article/view/888>
38. Khan, M. R., & Kumar, R. (2020). A review on analytical methods for pharmaceutical and personal care products and their transformation products. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 10(6), 527–540. <https://www.sciencedirect.com/science/a>
39. Agarwal, A., & Kumar, N. (2021). Modern trends in analytical techniques for method development and validation of pharmaceuticals: A review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 11(6), 186–193. <https://www.researchgate.net/public>
40. Hussien, A. A. (2022). High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): A review. *Annals of Advances in Chemistry*, 6(1), 010–020. <https://doi.org/10.29328/journal.aac.1001026>
41. Singh, D., Chauhan, V., Chaudhar, S., & Kaushik, A. (2021). A REVIEW ON INSTRUMENTATION AND VALIDATION METHOD OF UV-VISIBLE SPECTROSCOPY AND HPLC FOR THE ANALYSIS OF DRUGS. *International Research Journal of Pharmacy*, 12(3), 14–21. <https://doi.org/10.7897/2230-8407.1203126>
42. Liu, M. (2025). The application of Ultraviolet-Visible Spectrophotometry in pharmaceutical analysis. *Applied and Computational Engineering*, 159(1), 85–92. <https://doi.org/10.54254/2755-2721/2025.23761>
43. Beccaria, M., & Cabooter, D. (2020). Current developments in LC-MS for pharmaceutical analysis. *The Analyst*, 145(4), 1129–1157. <https://doi.org/10.1039/c9an02145k>
44. D'Ovidio, C., Locatelli, M., Perrucci, M., Ciriolo, L., Furton, K. G., Gazioglu, I., Kabir, A., Merone, G. M., de Grazia, U., & Savini, F. (2023). LC-MS/MS application in pharmacotoxicological field: Current state and new applications. *Molecules*, 28(5), 2127. <https://doi.org/10.3390/molecules28052127>
45. View of A Review of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry and its Applications in Chemical Analysis. (n.d.). <https://jopir.in/index.php/journals/article/view/268/246>
46. Thirumalaikumaran et al.,(2023). A REVIEW OF DIFFERENT DISSOLUTION METHODS. (2023). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 14(11). [https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.14\(11\).5212-21](https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.14(11).5212-21)
47. Rangarao, B. G., Monica, K., & Bhattacharyya, S. (2022). A BRIEF REVIEW ON PHARMACEUTICAL DISSOLUTION INTERLINKING THE ASPECTS OF SCIENCE AND REGULATION. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences Assiut*, 45(1), 11–21. <https://doi.org/10.21608/bfsa.2022.239165>
48. Chevalier, E., Viana, M., Artaud, A., Chomette, L., Haddouchi, S., Devidts, G., & Chulia, D. (2009). Comparison of Three Dissolution Apparatuses for Testing Calcium Phosphate Pellets used as Ibuprofen Delivery Systems. *AAPS PharmSciTech*, 10(2), 597–605. <https://doi.org/10.1208/s12249-009-9252-z>
49. Bretnall, A. E., & Clarke, G. S. (2020). *Analytical method validation for quality assurance and process validation professionals*. American Pharmaceutical Review. <https://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/569734-Analytical-Method-Validation-for-Quality-Assurance-and-Process-Validation-Professionals/>
50. Shinde, S. S., & Khulbe, P. (2023). *Analytical method validation: A comprehensive review of current practices*. *SEEJPH*, 21, 244–253.

51. Chavan, S. D., & Desai, D. M. (2022). Analytical method validation: A brief review. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 16(2), 389–402. <https://doi.org/10.30574/wjarr.2022.16.2.1165>
52. Pawar, A., Shinde, S., Baokar, S., & Patil, R. (2025). Analytical Method Validation: ICH and USP perspectives. *International Journal of Research and Review*, 12(8), 70–77. <https://doi.org/10.52403/ijrr.20250809>
53. Mathew, M., Gupta, V. D., & Bailey, R. E. (1995). Stability of Omeprazole Solutions at Various pH Values as Determined by High-Performance Liquid Chromatography. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 21(8), 965–971. <https://doi.org/10.3109/03639049509026660>
54. Tutunji, M. F., Qaisi, A. M., El-Eswed, B., & Tutunji, L. (2006b). An in vitro investigation on acid catalyzed reactions of proton pump inhibitors in the absence of an electrophile. *International Journal of Pharmaceutics*, 323(1–2), 110–116. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.05.057>
55. Battu, S., & Pottabathini, V. (2015). Hydrolytic degradation Study of lansoprazole, identification, isolation and characterisation of base degradation product. *American Journal of Analytical Chemistry*, 06(02), 145–155. <https://doi.org/10.4236/ajac.2015.62013>
56. Todorović, N., Panić, J. Č., Zavišić, M., Krtolica, J., Ratajac, R., Petrović, J., Bosiljčić, D., Kladar, N., Milošević, N., & Lalić-Popović, M. (2023). Compounding of Liquid and Solid Dose Adjustable Formulations with Pantoprazole: Comparison of Stability, Applicability and Suitability. *Pharmaceutics*, 15(3), 717. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15030717>
57. Leitner, A., & Zöllner, P. (2002). Visual documentation of the stability of intravenous solutions of omeprazole (Losec) and pantoprazole (Pantoloc). *European Journal of Hospital Pharmacy*, 8(3), 64–66.
58. Popielarz-Brzezińska, M. (2011). Kinetics of omeprazole degradation in solid state. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*, 68(5), 753–757.
59. Murakami, F. S., Cruz, A. P., Pereira, R. N., Valente, B. R., & Silva, M. A. S. (2009). Physico-chemical solid-state characterization of omeprazole sodium: thermal, spectroscopic and crystallinity studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 49(1), 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2008.10.005>
60. Al Bratty, M., Makeen, H. A., Alhazmi, H. A., et al. (2020). HPLC–DAD method for investigating pantoprazole for its stress-dependent degradation by photolysis and oxidation. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 10(3), 247–255
61. Kumar, V., Sharma, S., & Singh, R. (2011). Development and validation of a stability-indicating RP-HPLC method for rabeprazole sodium under stress conditions. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(5), 1234–1240
62. Missaghi, S., Young, C., Fegely, K., & Rajabi-Siahboomi, A. (2010). Delayed release film coating applications on oral solid dosage forms of proton pump inhibitors. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 36(2), 180–189. <https://doi.org/10.3109/03639040903026660>
63. Riedel, R., & Leopold, C. S. (2005). Degradation of omeprazole induced by enteric polymer solutions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 60(1), 95–101. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2004.12.009>
64. Bestebreurtje, P., de Koning, B. A. E., Roeleveld, N., Knibbe, C. A. J., Tibboel, D., van Groen, B., van de Ven, C. P., Plötz, F. B., & de Wildt, S. N. (2020). Rectal omeprazole in infants with gastroesophageal reflux disease: A randomized pilot trial. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 45(5), 635–643. <https://doi.org/10.1007/s13318-020-00630-8>

65. Kumar A, Nanda RK, et al. Simultaneous RP-HPLC determination of rabeprazole, pantoprazole and itopride in pharmaceutical dosage forms. *J Food Drug Anal.* 2015;23(1):52–60. doi:10.1016/j.jfda.2014.05.003
66. Reddy, K. V. N., Rao, J. V. L. N. S., & Mukkanti, K. (2010). Stability-indicating RP-HPLC method for determination of pantoprazole in pharmaceutical dosage forms. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 52(2), 200–204
67. Bageshwar, D., Khanvilkar, V., & Kadam, V. (2011). *Stability-indicating high-performance thin-layer chromatographic method for simultaneous estimation of pantoprazole sodium and itopride hydrochloride in combined dosage form.* *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 1(2), 90–96. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2011.09.012>
68. Reddy, G. V., & Rao, J. V. L. N. S. (2013). Development of a simple UV spectrophotometric method for the determination of lansoprazole and study of its degradation profile. *International Journal of Pharmaceutical Analysis and Research*, 2(3), 145–152.
69. Wang, Y., Wang, C., & Zhang, J. (2017). An LC–MS/MS method for the determination of omeprazole in human plasma and its application to pharmacokinetic study. *Biomedical Chromatography*, 31(9),
70. Jadhav SB, Kumar CK, Bandichhor R, Bhosale PN. Development of RP-UPLC-TOF/MS stability-indicating method for omeprazole and its related substances and identification of non-pharmacopoeial impurities. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2016;118:370–379.
71. Gallinella B, Ferretti R, Zanitti L, Sestili I, Mosca A, Cirilli R. Comparison of reversed-phase enantioselective HPLC methods for determining the enantiomeric purity of SSS-omeprazole in the presence of its related substances. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2016;6(2):132–136.
72. DellaGreca M, Iesce MR, Previtera L, Rubino M, Temussi F, Brigante M. Degradation of lansoprazole and omeprazole in the aquatic environment. *Chemosphere*. 2006;63(7):1087–1093.
73. Rao RN, Nagaraju V. Chiral chromatographic separation of esomeprazole and related enantiomeric impurities by HPLC. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2004;35(2):349–357.
74. Storpirtis, S., & Rodrigues, D. (1998). Evaluation of dissolution properties and degradation products of omeprazole in enteric-coated pellets. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 24(12), 1211–1218. <https://doi.org/10.3109/03639049809089956>
75. de Campos, D. R., Klein, S., Zoller, T., & Dressman, J. B. (2010). Evaluation of pantoprazole formulations in different dissolution apparatus using biorelevant medium. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 74(2), 371–377. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1296247>
76. Mohapatra, S., Sahoo, R. N., Mallick, S., & Mohapatra, R. (2021). Enteric dissolution enhancement of engineered gastro-resistant omeprazole tablets using hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 55(3), 677–684. <https://doi.org/10.5530/ijper.55.3.139>
77. Szczepańska, M., & Sznitowska, M. (2019). Comparison of the coating process and in vitro dissolution of gastro-resistant minitables and tablets with pantoprazole. *Pharmazie*, 74(8), 467–470. <https://doi.org/10.1691/ph.2019.8180>
78. Dressman, J. B., Amidon, G. L., Reppas, C., & Shah, V. P. (1998). *Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms.* *Pharmaceutical Research*, 15(1), 11–22. DOI: 10.1023/A:1011984216775
79. Klein, S. (2010). *The use of biorelevant dissolution media to forecast the in vivo performance of a drug.* *The AAPS Journal*, 12(3), 397–406. DOI: 10.1208/s12248-010-9203-3

Υπεύθυνη Δήλωση Συγγραφέα:

Δηλώνω ρητά ότι, σύμφωνα με το άρθρο 8 του Ν.1599/1986, η παρούσα εργασία αποτελεί αποκλειστικά προϊόν προσωπικής μου εργασίας, δεν προσβάλλει κάθε μορφής δικαιώματα διανοητικής ιδιοκτησίας, προσωπικότητας και προσωπικών δεδομένων τρίτων, δεν περιέχει έργα/εισφορές τρίτων για τα οποία απαιτείται άδεια των δημιουργών/δικαιούχων και δεν είναι προϊόν μερικής ή ολικής αντιγραφής, οι πηγές δε που χρησιμοποιήθηκαν περιορίζονται στις βιβλιογραφικές αναφορές και μόνον και πληρούν τους κανόνες της επιστημονικής παράθεσης.