



Szegedi Tudományegyetem

Gyógyszerésztudományok Doktori Iskola

Gyógyszertechnológiai Intézet

Ph.D. értekezés tézisei

Ko-kristályok gyógyszerészeti fejlesztése

Venczel Márta

Témavezető

Prof. Dr. Habil. Pintye-Hódi Klára Ph.D., DSc

Szeged

2012

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszerésztudományok Doktori Iskola
Gyógyszertechnológia Oktatási Program
Programvezető: Prof. Dr. Habil. Szabó-Révész Piroska Ph.D., DSc.

Gyógyszertechnológiai Intézet
Témavezető: **Prof. Dr. Habil. Pintye-Hódi Klára Ph.D., DSc.**

Venczel Márta

Ko-kristályok gyógyszerészeti fejlesztése

Szigorlati Bizottság:

Elnök: Prof. Dr. Erős István DSc., SZTE GYTK Gyógyszertechnológiai Intézet
Tagok: Dr. Bácskay Ildikó Ph.D., DEOEC Gyógyszertechnológiai Intézet
Dr. Gáspár Róbert Ph.D., SZTE GYTK Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet

Bíráló Bizottság:

Elnök: Prof. Dr. Báthori Mária DSc., SZTE GYTK Farmakognóziái Intézet
Opponensek:
Prof. Dr. Novák Krisztina DSc., SE Gyógyszerkémiai Intézet
Dr. Antal István Ph.D., SE Gyógyszerészeti Intézet
Tagok:
Dr. Lázár László Ph.D., SZTE GYTK Gyógyszerkémiai Intézet
Dr. Hajdú Zsuzsanna Ph.D., SZTE GYTK Farmakognóziái Intézet

Szeged

2012

1

1 BEVEZETÉS

A ko-kristályok olyan szilárd kristályos anyagok, amelyek kettő vagy több molekulát tartalmaznak egy kristályrácsban belül. Ko-kristályok képzésével számos, a preformulációs és a formulációs munka során felmerülő gyógyszerészi kihívás megoldható, pl. az oldékonyság, a kioldódás, a biohasználatosság, a kémiai stabilitás növelése, és a higroszkopóságra való hajlam csökkentése. Ko-kristályok képzése egy új gyógyszerészeti lehetőség a hatóanyagok fiziko-kémiai és biofarmáciai tulajdonságainak javítására. Az egyik legösszetettebb és legnehezebb formulációs feladat azon gyenge bázisok felszívódásának a javítása, melyek erősen pH függő oldékonysági tulajdonságokkal rendelkeznek; mindazonáltal kémiai és formulációs technológiák kombinálásával a kitűzött cél elérhetővé válik. Az egyik leggyakrabban alkalmazott kémiai művelet a só és/vagy ko-kristály képzés míg a gyógyszer technológiai lehetőségek körébe tartozik a mikronizálás, nanonizálás, lipid bázisú és amorf hatóanyag tartalmú formulációk kidolgozása. A célzott farmakokinetikai és farmakodinámiai eredmények eléréséhez a kémiai és a gyógyszerészeti megközelítések szinergizmusa szükséges.

2 CÉLKITŰZÉSEK

A Ph.D. munka tézisei:

- A kémiai és a gyógyszer technológiai műveletek közötti szinergiák feltárása és alkalmazása a gyógyszerészeti ko-kristályok fejlesztésének területén, a SAR1 jelzésű hatóanyag példáján, amely a Sanofi originális molekulája.
- Bemutatni a felfedező kutatás és a preklinikai fejlesztés területén dolgozó kutatók korai együttműködésének az előnyeit az un. korai gyógyszerformulálás területén.
- A preformulációs vizsgálatok eredmények értékelése a gyárthatóság szempontjából.

- Az átfolyó cellás kioldódás vizsgálatok hasznosságának értékelése a korai gyógyszerformulálás és a ko-kristály fejlesztés területén.
- Egy olyan gyakorlati útmutató összeállítása, amely a későbbiekben hasznos segítség lehet ko-kristály tartalmú formulációk fejlesztése során.

2.1 KORAI GYÓGYSZERFORMULÁLÁS

A korai gyógyszerformulálás céljai:

- A felfedező kutatás vizsgálatainak támogatása klasszikus és innovatív formulációkkal a biztonsági, hatékonysági és farmakokinetikai mérések robusztusságának biztosítása céljából.
- A lehetséges új gyógyszervegyületek korai fiziko-kémiai és biofarmáciai értékelése a fejleszhetőség szempontjából.
- A lehető leghamarabbi igen / nem döntés meghozatala a lehetséges új gyógyszerjelölt molekulára vonatkozóan.

A korai formulációs munka során oldatos forma fejlesztése az elsődleges cél. Ebben az esetben a felszívódást nem befolyásolja a hatóanyag szemcsemérete vagy pl. a polimorfia. Nem megfelelő, alacsony vérszint gyenge hatékonysági eredményeket okozhat, amely végső soron egy lehetséges gyógyszerjelölt visszautasításához vezethet. A felfedező kutatás késői vizsgálataihoz már a szuszpenziós gyógyszerforma kidolgozása a cél, amely jól modellezi az in vivo viszonyokat egy bevételre szánt tablettá vagy szuszpenzió alkalmazása után.

A gyógyszerjelölt vegyület oldékonysági tulajdonságai meghatározzák a fejleszhető gyógyszerforma típusát. Ha a hatóanyag oldékonysága nagyobb, mint 100 µg/ml, klasszikus, vizes bázisú oldatok vagy szuszpenziók fejlesztendők, de ha az oldékonyság 10 µg/ml-nél kisebb, csak innovatív formák – pl. nanodiszperziók, lipid, ciklodextrin tartalmú vagy amorf hatóanyagot tartalmazó gyógyszerformák – tudják támogatni a toxikológiai, farmakokinetikai és farmakodinámiai vizsgálatokat. Amennyiben a hatóanyagjelölt oldékonysága 10 és 100

$\mu\text{g/ml}$ közé esik, az előrejelzett dózisok alapján döntést kell hozni a klasszikus és innovatív formák között.

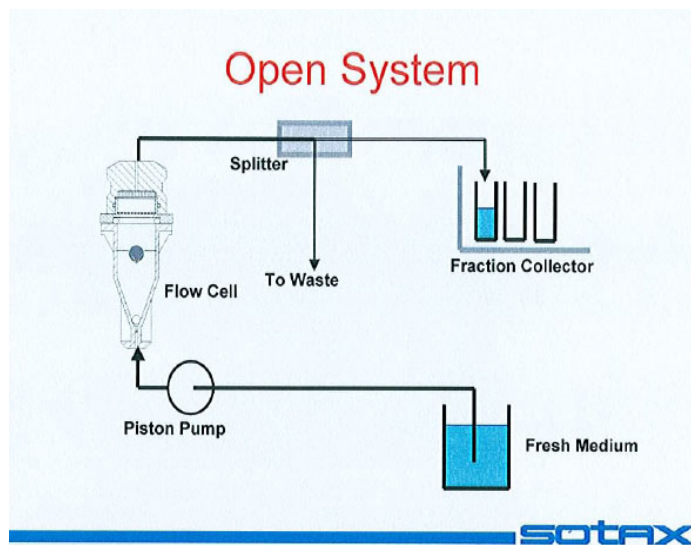
A korai kutatási szakaszban többnyire kevés hatóanyag áll rendelkezésre az egyes gyógyszerjelölt vegyületekből (néhány mg-tól néhány grammig), ezért a formulációs szakembereknek egyedi megoldásokat kell találniuk az állatkísérletek robosztus és stabil formákkal történő támogatásához.

2.2 ÁTFOLYÓ CELLÁS KIOLDÓDÁS VIZSGÁLAT

Az átfolyó cellás kioldódás vizsgálati technika az 1970-es évek elejétől ismert, amelyet elsősorban rossz vízoldékonyságú BCS II-es (Biopharmaceutical Classification System) és BCS IV-es csoportba tartozó hatóanyagok és ezek gyógyszerkészítményeinek vizsgálatára fejlesztettek ki. Ez technika nemcsak hatóanyagok és készítményeik értékelésére, összehasonlítására alkalmas, hanem a gyógyszerkutatás és fejlesztés (pl. só és ko-kristály képzés) során felmerülő kihívások megoldásában is képes segítséget nyújtani.

A klasszikus forgókosaras és forgólapátos kioldó készülékek alkalmazása során felmerülő legnagyobb korlát a “sink conditions” (híg viszonyok, telítetlen oldat) követelményének biztosítása, különösen vízben rosszul oldódó hatóanyagok esetében. Állandó, egy literes kioldó térfogat alkalmazása esetében a telítési koncentráció elérésének nagy a veszélye.

Jelenleg a gyógyszerkutatásból főként nagy molekulatömegű, kis vízoldékonyságú, a permeabilitás és/vagy az oldékonyság által limitált abszorpciójú vegyületek kerülnek fejlesztésbe, szemben a múlttal, amikor főként kis molekulatömegű és elfogadható vízoldékonyságú hatóanyagok kerültek gyógyszerészeti fejlesztésbe. A nyitott rendszerű átfolyó cellás kioldó készülék (1. ábra) egy olyan dinamikus rendszer, amely közelebb áll az in vivo szervezet állapotához, mint a klasszikus, statikus forgókosaras és forgólapátos kioldó készülékek. Az átfolyó cellás kioldó készülékben a kioldódott hatóanyag elszállításra majd összegyűjtésre kerül és megadja a lehetőségét a cellában újabb hatóanyag részletek kioldódására, az élő szervezetben lejátszódó abszorpciót és eliminációt modellezvén.



1. ábra - Nyitott rendszerű átfolyó cellás kioldó készülék

3 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1 ANYAGOK

3.1.1 A ko-kristály fejlesztés hatóanyagai

Három gyógyszerészeti hatóanyag értékelése és összehasonlítása történt meg: SAR1 vegyület, mint gyenge bázis, ennek sósavas sója és fumársavval képzett ko-kristálya.

3.1.2 Gyógyszerészeti segédanyagok

A Cremophor ELP-t a BASF szállította. A Cremophor ELP, a Chremophor EL tisztított minőségű terméke, amelyet főként bomlásra hajlamos hatóanyagok alkalmazása esetén javasolnak. Az alábbi segédanyagok a Mercktől kerültek beszerzésre: Tween 80, tejsav, citromsav, Span 85, PEG 200 és nátrium-hidroxid. Az Eudragit L100-55 az Evoniktól került beszerzésre. A következő segédanyagok a Sanofi belső raktárából kerültek megrendelésre: mannit, szulfobutil- β -ciklodextrin (CD), vitamin E TPGS, PVP K25, nátrium-docusát, Miglyol 812N, nátrium-lauril-szulfát, metil-cellulóz, HPMC, crospovidon, mikrokristályos cellulóz, magnézium-sztearát és kolloidális szilika.

3.2 MÓDSZEREK

3.2.1 Gyógyszerészeti módszerek

3.2.1.1 Korai gyógyszerformulálás

A prototípus formulációk gyártása 20-tól 100 grammig terjedő méretben került megvalósításra. Nyolc összetétel gyártása történt meg, amelyeket orális farmakokinetikai vizsgálatban értékeltünk.

Az 1-es összetétel mikronizált SAR1 hatóanyagot tartalmazott, metil-cellulóz és Tween 80 tartalmú közegben szuszpendálva (F1). A mikronizálás laboratóriumi légsugármalomban történt. A nanoszuszpenzió előállítása (F2) Elan típusú nanonizáló berendezésben került elvégzésre.

A Mygliol 812N bázisú w/o típusú emulziók készítése során a hatóanyag tejsavban került feloldásra a gyártás első lépéseként (F3 és F4). A hatóanyagot tartalmazó tejsavas oldathoz további segédanyagok kerültek hozzáadásra. Így az F3 esetében az összetétel 5% szulfobutil- β -ciklodextrint, míg az F4 5% Span 85-öt tartalmazott a szabad bázis kicsapódásának megakadályozására a bél lumen pH értékein.

A gyenge bázis tartalmú szuszpenzió (F5) laboratóriumi körülmények között dörzsoszárban, pisztillus alkalmazásával készült. A SAR1 hatóanyagot először 5% Cremophor ELP-ben szuszpendáltuk, majd a szuszpenzióhoz a tejsav oldat, a vitamin E TPGS 20%-os vizes oldata és végül a PEG 200 tervezett mennyisége került hozzáadásra. A pH beállítást pH=4-es értékre, nátrium-hidroxid hígított oldatával végeztük.

A SAR1 gyenge bázis citromsav tartalmú gyógyszerformája klasszikus, nedves granulálási eljárással készült. Az előállított granulátum 1 egységnyi részletét, 2 egységnyi 0,6%-os metil-cellulóz oldattal hígítottuk az állatkísérletes vizsgálathoz a beadás megkönnyítése érdekében (F6).

Az amorf hatóanyagot tartalmazó, stabilizált szilárd diszperzió előállításának kiindulási lépése a SAR1 hatóanyag, az N-metil-pirrolidon és az Eudragit L100-55 közös oldata. A szilárd

diszperzió előállítása vízzel történő megcseppentéssel történt. A kicsapódott, amorf hatóanyagot tartalmazó diszperzió mosása vízzel, míg elválasztása centrifugálással történt. A szilárd diszperzió szárítását 100 °C-on végeztük, 4 órán keresztül (F7). A részlegesen amorfizált SAR1 hatóanyag 2 % nátrium-lauril-szulfát tartalmú, 0,5 %-os metil-cellulóz szuszpenzióban került adagolásra az állatkísérletek során.

A SAR1 vegyület fumársavval képzett ko-kristályát először Cremophor ELP-el szuszpendáltuk a ko-kristály disszociációjának megakadályozása érdekében, a 0,6 %-os metil-cellulóz oldattal történő hígítás előtt (F8).

3.2.1.2 A gyárthatóság értékelésének fázisa

Négy összetétel került legyártásra miniaturizált, Mi-pro típusú (gyártó: Pro-C-ep), örvényáramú granulátorban, 30 grammos tételben, 10 %-os hatóanyagtartalommal. A ko-kristályos hatóanyag fizikai integritása granulálás után is analízisre került. A tablettázás Korsch excentrikus tablettázó gépen történt, 3-15 kN erővel. A tablettázási művelet során 30-35 N keménységű, lapos, peremes tablettákat állítottunk elő.

3.2.2 Állatkísérletek

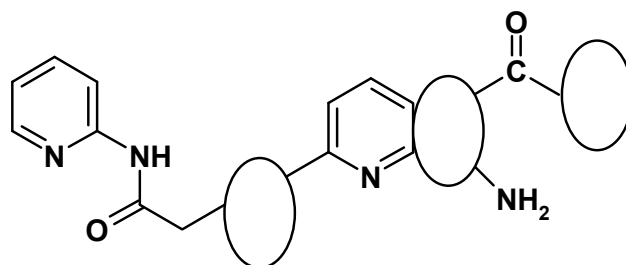
Az állatkísérleteket 210-270 grammos, 7 hetes patkányokkal végezték.

4 EREDMÉNYEK ÉS DISZKUSSZIÓ

4.1 KORAI GYÓGYSZERFORMULÁLÁS – SZŰK OLDÉKONYÁGI TARTOMÁNYÚ, GYENGE BÁZIS FORMULÁCIÓS LEHETŐSÉGEI

4.1.1 A gyógyszerjelölt vegyületek fiziko-kémiai és biofarmácia tulajdonságai

A 2. ábrán feltüntetett, onkológiai indikációra kidolgozott vegyületet választottuk modell hatóanyagként. A gyógyszerjelölt vegyület Caco-2 permeabilitása 32×10^{-7} cm/s, amely érték potenciálisan jó in vivo permeabilitást prediktál.



2. ábra: SAR1 vegyület, mint modell gyógyszer hatóanyag

Mindhárom gyógyszerjelölt vegyület – SAR1 gyenge bázis, SAR1 sósavas só és SAR1 fumársavas ko-kristály (1:1) – kiértékelését fiziko-kémiai és biofarmáciai szempontból egyaránt elvégeztük.

A szilárd fázisú NMR adatok alapján a ko-kristály képzés a SAR1 vegyület piridin nitrogénje és a fumársav karboxilát csoportja között történt meg. A hatóanyag, mint gyenge bázis, csak erős savakkal, mint pl. sósavval mutatott sóképződést, azonban erős savak hatására az amid kötés hidrolízist szenved. A hidrolitikus reakció során 2-amino-piridin és a megfelelő karbonsav képződik, mint bomlástermékek. A fentiekben vázolt savas hidrolízis folyamata miatt sem a hatóanyag, sem pedig azok formulációi HCl jelenlétében kémiaiilag nem stabilak. A sósavas sóval felmerülő újabb akadályt jelentette az a tény, hogy sztöchiometrikus sóképzés nem volt lehetséges. Mindazonáltal az állatkísérletekben biztató orális abszorpció és biohasználatosság volt mérhető. Patkány modellen 100 és 300 mg/kg adagolása esetén a plazmaszintek nem változtak arányosan a dózissal. A biohasználatosság 28 % (100 mg/kg) és 5,9 % (300 mg/kg) között volt mérhető.

A felvázolt kémiai instabilitási és sztöchiometriai problémák miatt a sósavas só nem volt alkalmas preklinikai fejlesztésre, viszont a kutatók figyelmét a ko-kristály képzésre irányította, a biohasználatosság növelése érdekében. A SAR1 vegyület, mint gyenge bázis önmagában kiváló fiziko-kémiai tulajdonságokat mutatott, de nagyon kis biohasználatosság volt mérhető a patkánnyal végzett állatkísérletek során. A mindössze 2 %-os biohasználatossági érték alapján, a gyenge bázis szemcseméret csökkentését határoztuk el mikronizálással és nanonizálással. Továbbá egyéb gyógyszerformulálási technikák kerültek

alkalmazásra a biohasználhatóság növelése érdekében, úgy mint permeabilitást növelő segédanyagok használata, in-situ sóképzés a nedves granulálási eljárás során és a hatóanyag amorfizálási eljárása.

A mért igen kis orális biohasználhatóságban döntő szerepe volt a gyógyszerjelölt vegyület erősen pH függő vízoldékonyságának. A hatóanyag telített oldatban mutatott oldékonysága 2 mg/ml pH=1,2-es mesterséges gyomornedvben, amely pH=2-es közegben 0,05 mg/ml alá csökken 37°C-on (3. ábra). Mindazonáltal a SAR1 szabad bázis és annak fumársavas ko-kristálya között szignifikáns különbség volt kimutatható 0,5 % nátrium-lauril-szulfát tartalmú, pH=4,5-ös acetát pufferben. A 4. ábra oldékonyság görbéi szerint a ko-kristályos forma rendelkezik gyorsabb oldékonysági kinetikával. A SAR1 vegyület fumársavas ko-kristályának jobb oldékonysági kinetikája korrelált a prototípus formulációk gyorsabb kioldódási és a legjobb farmakokinetikai eredményeivel.

A SAR1 vegyület, mint két vegyértékű molekula pKa értékei: $pK_{a1}=2,9$, $pK_{a2}=3,5$. Amennyiben a pKa értékek közel esnek egymáshoz, az alábbi egyenlet jellemzi a szolubilizációt:

$$\text{Log } C_B^{-2} = \text{log } S_{\text{HBH}} + 2 (\text{pH} - \text{pKa})$$

ahol: C = koncentráció,

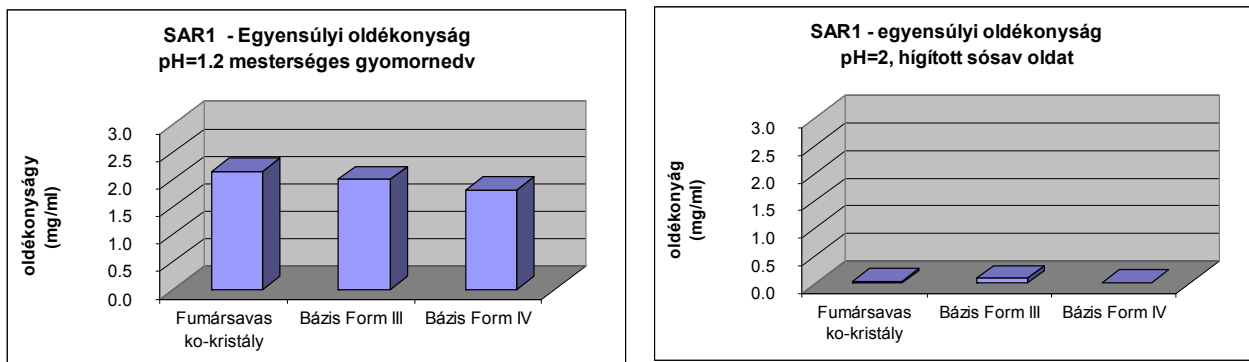
S = oldékonyság.

A fenti képlet egy pH egység változásra eső drámai, százszoros oldékonyság csökkenést vagy növekedést jelöl.

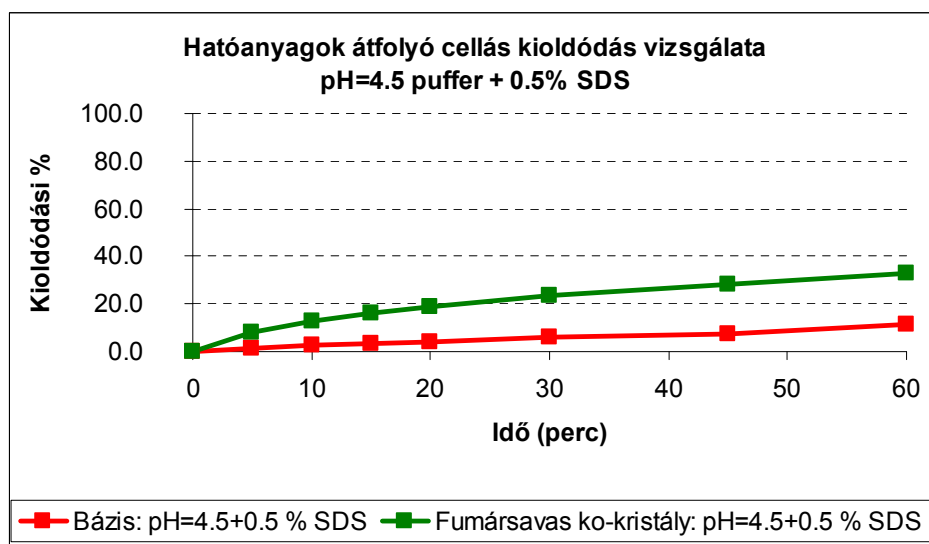
Azon bázisos vegyületek esetében, amelyek erősen pH függő oldékonysági tulajdonságokkal rendelkeznek és a gyomor savas pH értékén oldódnak, a bél irányába történő mozgásuk során nagy a valószínűsége a kicsapódásnak. A gyógyszerjelölt vegyületek nagyon szűk jó vízoldékonyságú tartománya miatt az in vivo kioldódás növelésének elősegítésére és a megfelelő plazmaszint biztosítására felületaktív anyagok alkalmazását tanulmányoztuk.

A másik kihívás a ko-kristályos vegyületek fejlesztése során, a ko-kristály-képzésre felhasznált vegyület nagy vízoldékonysága. Ko-kristályok esetében hidrogén hidas kötés

alakul ki az anyavegyület és a ko-kristály-képző között. Amennyiben a ko-kristályos hatóanyag vizes közegbe kerül, pl. nedves granulálás során, védő hatás nélkül a ko-kristály nagy valószínűséggel disszociálni fog az anyavegyületre és a megfelelő ko-kristály-képzőre. A fentiekben leírt disszociáció a ko-kristályt tartalmazó összetétel biohasznosulását jelentősen befolyásolhatja.



3. ábra: Telített oldékonysági eredmények: SAR1 szabad bázis és SAR1 fumársavas ko-kristály



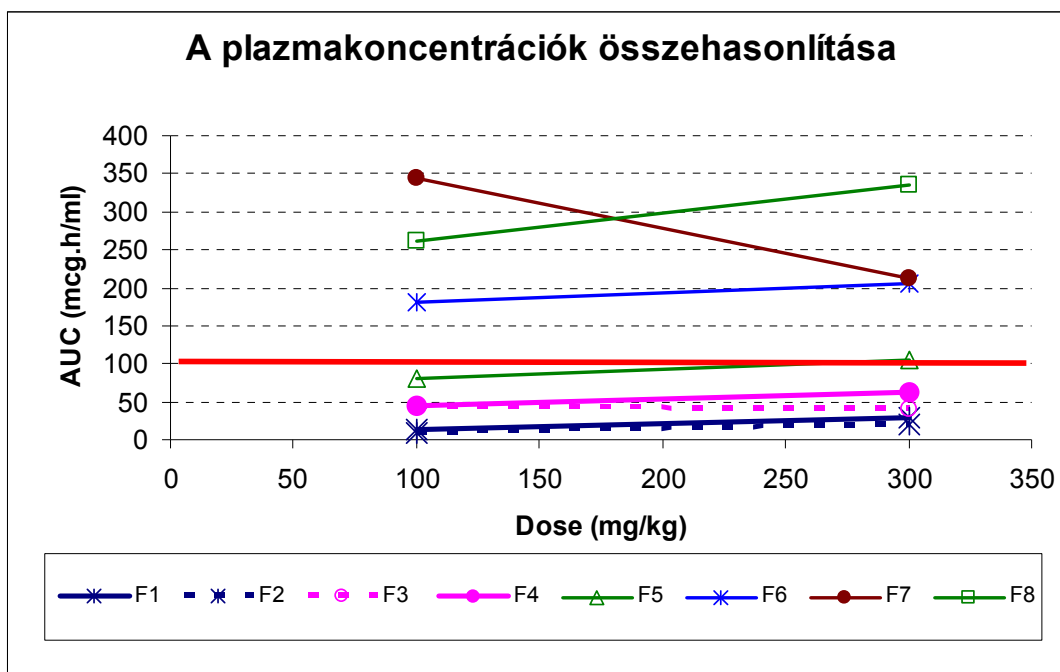
4. ábra: Összehasonlító átfolyó cellás kioldódási eredmények: SAR1 szabad bázis és SAR1 fumársavas ko-kristály

4.1.2 Farmakokinetikai eredmények

A plazmából mért AUC eredményeket az 1. táblázatban fogalaltuk össze és az 5. ábrán grafikususan is ábrázoltuk.

1. táblázat: Farmakokinetikai eredmények

Dózis (mg/kg)	bázis mikronizát	bázis nanonizált	bázis + tejsav + CD	bázis + tejsav + Span 85	bázis + tejsav+ permeabilitást növelők + szolubilizálók	citromsav tartalmú granula	részlegesen amorf hatóanyag	ko-kristály + permeabilitást növelő + szolubilizáló
	AUC (µg.h/ml)							
A formuláció jelzése	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
100	14	10	41.6	44.0	81.5	180	344	262
300	30	19	40.2	63.1	104.0	205	212	335



5. ábra: A mért AUC értékek a dózis függvényében

F1: bázis mikronizált, F2: bázis nanonizált, F3: bázis + tejsav + CD, F4: bázis + tejsav + Span 85, F5: bázis + tejsav + permeabilitást növelő + szolubilizáló, F6: citromsav tartalmú granula, F7: részlegesen amorf hatóanyag, F8: ko-kristály + permeabilitást növelő + szolubilizáló + ko-kristály védő

4.1.3 A PK eredmények értékelése

A célul kitűzött 100 mcg.h/ml plazma szintet három mintával értük el (F6, F7 and F8) 100 mg/kg és 300 mg/kg, egyszeri, orális adagolás után. Az F5 jelzésű mintával szintén elértük a 100 mcg.h/ml plazma szintet, de csak 300 mg/kg adagolása után. Az F7-es jelzésű minta esetében a plazmaszintek csökkenése volt megfigyelhető 100 és 300 mg/kg dózisok között, amely csökkenés a többi minta esetében nem volt megfigyelhető. A mindkét dózusra érvényes, legjobb plazmaszintet a SAR1 vegyület fumársavas ko-kristályát tartalmazó mintával értük el (F8). A mért AUC eredmények alapján, a részlegesen amorf bázist tartalmazó F7-es minta szintén biztató eredményeket mutatott, viszont az előrejelzett méretnövelési problémák és a 300 mg/kg dózisonál észlelt plazmaszint csökkenés miatt a ko-kristályt tartalmazó minta került preklinikai fejlesztésbe.

4.1.4 Következtetések

A hatóanyagjelöltek fiziko-kémiai és biofarmáciai értékelése alapján a formulációs lehetőségek mind a toxikológiai, mind pedig a klinikai vizsgálatokhoz meghatározásra kerültek. SAR1 vegyület fumársavas ko-kristályát jelöltük ki preklinikai fejlesztésre, mindazonáltal a ko-kristályos hatóanyag erősen pH függő oldékonysági profilja és a ko-kristály képző fumársav jó vízdékonysága további problémákat vetett fel. A ko-kristályos hatóanyag idő előtti SAR1 bázissá és fumársavvá történő disszociációját Cremophor ELP alkalmazása visszaszorította. 5 % Cremophor ELP használata, mint permeabilitást fokozó, szolubilizáló és ko-kristály védő segédanyag, a legjobb plazma szinteket biztosította patkány modellen.

4.2 A GYÁRTHATÓSÁG VIZSGÁLATA – A KO-KRISTÁLYOS HATÓANYAG INTEGRITÁSÁNAK ÉS A CREMOPHOR ELP GYÓGYSZERÉSZETI FUNKCIÓJÁNAK VIZSGÁLATA

A ko-kristályos hatóanyaggal történő gyógyszerészeti fejlesztés egyik legfontosabb célja, a ko-kristályos hatóanyag fizikai integritásának maximális biztosítása. Gyógyszeripari szempontok szerint, a leginkább preferált granulálási eljárás a nedves granulálás. Vizsgálatunk célja volt annak felmérése, hogy a nedves granulálási eljárás miként befolyásolja a ko-kristály fizikai integritását. További vizsgálatokat végeztünk annak felderítésére, hogy a Cremophor ELP miként befolyásolja a ko-kristályos hatóanyag fizikai integritását és a hatóanyag kioldódását. Az értékeléshez négy forma került gyártásra SAR1 fumársavas ko-kristállyal, azonos kvalitatív és kvantitatív összetételben. A gyártási folyamat során a víz, mint granuláló folyadék és a Cremophor ELP különböző sorrendben került adagolásra, a gyártási folyamat robusztusságának felmérése céljából.

4.2.1 Következtetések

A ko-kristályok, mint gyógyszerészeti hatóanyagok fizikai integritásának megőrzése rendkívül fontos a gyártás során, a gyorsabb oldékonyság és ezen keresztül a jobb biohasznosulás biztosításához. Mivel a ko-kristály anyavegyülete és a ko-kristály-képző között csupán hidrogénhid kötés áll fenn, a gyógyszerészeti ko-kristályok hajlamosak vizes környezetben lassú vagy gyors disszociációra. A por röntgendiffrakciós (XRPD) vizsgálati eredmények alapján, a ko-kristály legjobb integritása akkor volt biztosítható, mikor a granulálás a Cremophor ELP vizes oldatával történt. Gyors kioldódást mértünk mind a négy ko-kristály tartalmú minta esetében. Vizsgálataink szerint a Cremophor ELP megfelelő gyógyszerészeti segédanyag a ko-kristályok fizikai integritásának növelésére és pozitív biohasználhatóságra gyakorolt hatásuk biztosítására. átfolyó cellás kioldódás vizsgálat - mint egy hasznos eszköz a felfedező kutatástól a preklinikai fázisig

4.2.2 Átfolyó cellás kioldódás vizsgálat a ko-kristály fejlesztés területén

A vizsgálat célja egy olyan kioldódás vizsgálati módszer kidolgozása volt, amely képes különbséget tenni azon minták között, amelyek a SAR1 fumársavval képzett ko-kristályának (1:1) különböző szemcseméretű anyagát tartalmazzák. A SAR1 fumársavas ko-kristály fizikai

integritását mikronizálás után XRPD módszerrel analizáltuk. A klasszikus forgólapátos és átfolyó cellás kioldódás vizsgálati módszereket prototípus mintákon hasonlítottuk össze.

4.2.2.1 Diszkriminatív kioldódás vizsgálati módszer kidolgozása

Diszkriminatív kioldódás vizsgálati módszer kidolgozásához a ko-kristály tartalmú mintákat elsőként az átfolyó cellás kioldó készülékben vizsgáltuk. A továbbiakban megismételtük a vizsgálatot klasszikus forgólapátos kioldó készülékben is, az átfolyó cellás módszerrel kiválasztott kioldó közegben. Az átfolyó cellás kioldódás vizsgálatokat az alábbi, három különböző pH-n végeztük:

- pH=1,2 mesterséges gyomornedv pepszin nélkül,
- pH=4,5 acetát puffer, 0,5 % nátrium-lauril-szulfát tartalommal,
- pH=6,8 foszfát puffer, 0,5 % nátrium-lauril-szulfát tartalommal, a „sink conditions” követelményének biztosítása érdekében.

4.2.2.2 Következtetések

Vizsgálataink alapján, arra a következtetésre jutottunk, hogy az átfolyó cellás kioldódás vizsgálat egy megfelelő eszköz ko-kristály tartalmú minták vizsgálatához. Az átfolyó cellás módszer kisebb kioldó térfogata eliminálja a ko-kristályos hatóanyag korai disszociációjának veszélyét.

4.3 GYAKORLATI ÚTMUTATÓ KUTATÓK RÉSZÉRE KO-KRISTÁLYOS HATÓANYAGOK ALKALMAZÁSA ESETÉN

Jelen tanulmányban a ko-kristályos hatóanyag fizikai integritását a Cremophor ELP biztosította. A Cremophor ELP potenciális ko-kristály védő lehet, mindazonáltal a további ko-kristályos hatóanyagok integritására gyakorolt hatását az analitikus és a kémikus kollégákkal szoros együttműködésben szükséges értékelni. A korai gyógyszerformulálást már a kutatási szakaszban el kell indítani annak érdekében, hogy robosztus farmakokinetikai és

farmakodinámiás eredményeket kapjunk. Az átfolyó cellás kioldódás vizsgálatoknak létjogosultsága van ko-kristály tartalmú összetételek vizsgálata esetében.

5 ÖSSZEFOGLALÁS

A gyógyszerészeti ko-kristályok tervezése lehetséges az anyavegyület és a ko-kristály-képző pl. karbonsav, alcohol-amin és alcohol-piridin funkciós csoportjai között. A ko-kristályok disszociációra érzékenyek vizes mikro környezetben, ezért a kémikus, analitikus és gyógyszertechnológus szakemberek együttműködése szükséges ezen speciális hatóanyagok fizikai integritásának megőrzéséhez és ellenőrzéséhez. A ko-kristállal történő összetétel fejlesztés kritikus fiziko-kémiai és gyógyszerészeti paramétereit feltártuk. A **CMC egység (kémia, gyártás és kontroll) szoros együttműködésére** volt szükség a feladat elvégzésének sikeréhez. A gyógyszerészeti ko-kristályok megoldást jelenthetnek biohasználhatósági problémák esetében, amit a SAR1 esetében fumársavas ko-kristállal bizonyítottunk. A ko-kristályok jobb oldékonysága és gyorsabb kioldódási sebessége felelős a jobb in vivo abszorpcióért. Fontos megjegyezni, hogy a gyógyszerészeti ko-kristály fizikai integritásának megtartása szükséges a célzott terápiás hatás eléréséhez és az összetétel és gyógyszerforma robusztusságának biztosításához. A SAR1 fumársavas ko-kristály fizikai integritását Cremophor ELP-el biztosítottuk.

A **korai gyógyszerformulálás** alkalmazásának a vezérmolekula kiválasztási szakaszától van létjogosultsága a farmakokinetikai és farmakodinámiás vizsgálatok robusztus gyógyszerformával történő biztosítás érdekében.

A klinikai minta **gyárthatóságának** értékelését a gyógyszerforma fejlesztés során kell elvégezni. A korai gyógyszerformulálás eredményeit gyárthatóság szempontjából SAR1 ko-kristályon végeztük el. A Cremophor ELP és a víz, mint granuláló folyadék hozzáadási sorrendjének meghatározása a ko-kristály fizikai integritásának szempontjából megtörtént. A legjobb ko-kristály integritást akkor értük el, mikor a granulálás a Cremophor ELP vizes oldatával történt. Azonban a kioldódási eredményekben bekövetkező kis mértékű csökkenéssel számolni kell, a Cremophor ELP olajos részének hatása miatt. A prototípus

minták kidolgozása és gyártása során a **korai gyógyszerformulálás** szempontjait alkalmaztuk. A felfedező kutatási szakaszban oldatokat, szuszpenziókat és innovatív gyógyszerformákat gyártottunk.

Az **átfolyó cellás kioldódás vizsgálat** egy kiváló eszköz mind a felfedező kutatás mind pedig a preklinikai fázis gyógyszerjelölt vegyületeinek értékelésére, különösen akkor, mikor kis mennyiségű anyagok állnak rendelkezésre a gyógyszer technológiai értékeléshez. Ez a kioldódási technika alkalmas diszkriminatív tulajdonságú kioldódás vizsgálati módszerek kidolgozására akkor is, mikor ez nem lehetséges klasszikus módszerrel, 500 vagy 1000 ml-es kioldó közeg alkalmazásával.

Szakmai iránymutatásként kijelenthetjük, hogy gyógyszerészeti ko-kristályok fejlesztése védő segédanyagok, mint pl. Cremophor ELP alkalmazásával lehetséges. Ezen védő segédanyagok képesek a ko-kristály fizikai integritását és terápiás hatását biztosítani.

Közlemények

I. **Venczel, M.**; Szvoboda, I; Podányi, B.; Valente, D.; Menegotto, J.; Pintye-Hódi, K.; Ujhelyi G., Formulation possibilities of a weak base with a narrow solubility range, Cryst. Growth Des., 2012, 12 (3) pp 1101-1110, DOI: 10.1021/cg200462g.

IF=4.389

II. Ujhelyi, G.; **Venczel, M.**; Bajdik, J.; Kónya, M.; Vajdai, A., Klasszikus és innovatív technológiák a gyógyszerfejlesztésben. Magyar Kémikusok Lapja 2010. LXV. 9.

III. Tóth, A.; Csernák, L., Koritsánszky, K.; Salamon, E.; **Venczel, M.**; Végeli, E., Stabilized pharmaceutical compositions and process for the preparation thereof. 1998. WO1998026765.

IV. Jakab, B.; Kálmánné, M.I.; Tóth, A.; Ujhelyi, G.; Vas, J.; **Venczel, M.**, Stable pharmaceutical composition comprising pravastatin sodium. 2003. WO/2003/063836.

V. **Venczel, M.**; Budavári, Z; Szabó, A.; Pintye-Hódi, K.; Ujhelyi G., Co-crystal integrity and pharmaceutical role of Cremophor ELP, accepted for publication by International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences in 2012.

VI. **Venczel, M.**; Ujhelyi, G.; Sovány, T.; Pintye-Hodi, K. Flow through dissolution - a useful tool from discovery phase to preclinical development, submitted.

Összefoglalás

I. **Venczel, M.**; Ujhelyi, G.; Sovány, T.; Pintye-Hódi, K., Flow through dissolution - a useful tool from discovery phase to preclinical development, Gyógyszerészet LIII:(2009/11 Suppl.I.) p. S49 Paper E-29.

Előadások

I. **Venczel, M.**; Ujhelyi, G.; Sovány, T.; Pintye-Hódi, K., Az átfolyó cellás kioldó készülék szerepe a gyógyszerfejlesztésben, Gyógyszerkémiai és Gyógyszertechnológiai Szimpózium, Szeptember 2009

II. **Venczel, M.**; Ujhelyi, G.; Sovány, T.; Pintye-Hódi, K., Flow through dissolution - a useful tool from discovery phase to preclinical development, Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XIV. November 2009