

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszerésztudományi Kar
Gyógyszertechnológiai Intézet

Ph. D. értekezés tézisei

**FEHÉRJÉK VIZSGÁLATA SZILÁRD GYÓGYSZERFORMÁBA
TÖRTÉNŐ FELDOLGOZÁS SORÁN**

Kristó Katalin

Témavezető:

Prof. Dr. Habil. Hódi Klára D.Sc.

Szeged

2010.

BEVEZETÉS

Biológiaiailag aktív peptidek és fehérjékkel szemben az emberi szervezet nagy toleranciával bír, a fehérjék specifikus aktivitással rendelkeznek, ezért a terápiás hatóanyagok körében egyre nagyobb jelentőséggel bírnak. A szervezetből történő gyors clearance miatt gyakori injekció indokolt, ami azonban a betegek számára kellemetlenséggel és fájdalommal jár. Ezért igen fontos olyan gyógyszerformák fejlesztése, melyek fájdalommentes alkalmazást tesznek lehetővé. Jelenleg az alternatív beviteli módok széles körben elterjedtek szisztémás hatás kifejtése céljából. A fehérjék alkalmazását a gasztrointesztinális traktus hatásának elkerülésével a transzdermális, rektális, nazális és bukkális terápiás rendszerek teszik lehetővé. A gyógyszerformák lehetnek folyékony, félszilárd vagy szilárd halmazállapotúak, és rendelkezhetnek bioadhezív tulajdonságokkal. A szilárd gyógyszerformák (pl. tabletta bukkális vagy szublingvális alkalmazásra) alkalmazhatósága könnyebb, ezért ez egy ígéretes és sok kihívást magában rejtő megoldás lehet.

A fehérjék nagyon érzékeny anyagok, ezért a szilárd gyógyszerformába történő feldolgozásuk igen nehéz. A kismolekulájú hatóanyagok estében alkalmazott gyógyszer technológiai megoldások nem alkalmazhatóak fehérjetartalmú szilárd gyógyszerformák előállítása esetén, mert károsodhatnak a fehérjék vagy csökkenhet az aktivitásuk.

A fehérjék és az enzimek aktivitását és speciális szempontokat is figyelembe kell venni fehérjetartalmú szilárd gyógyszerformák előállításánál. Ennek a jelentősége egyre nő, mivel a biotechnológia fejlődésével egyre szélesebb körben terjed a fehérje típusú hatóanyagok alkalmazása. Ezekben az esetekben az előállítás során fellépő kritikus pontok definiálása igen fontos, ami a napjainkban egyre fontosabbá váló folyamat-ellenőrző technológia (PAT) fontos részét képezi.

Ez a dolgozat tartalmaz néhány példát amit figyelembe kell venni fehérjetartalmú szilárd gyógyszerformák előállításánál.

CÉLKITŰZÉSEK

Munkánk során két fő célt tűztünk ki magunk elé, az egyik hogy tanulmányozzuk a fehérjék feldolgozhatóságát gyógyszer technológiai folyamatok során, a másik pedig, hogy vizsgáljuk a fehérjék aktivitását konvencionális szilárd gyógyszerformába történő feldolgozás során. Cél volt, hogy a konvencionális szilárd formák előállítása esetében alkalmazható technológiákkal és berendezésekkel dolgozzunk.

Célunk volt továbbá, hogy különböző arányban pankreatint, mikrokristályos cellulózt (MCC) és magnézum-sztearátot (Mg st.) tartalmazó, közvetlen préseléssel előállított tabletták felületén tanulmányozzuk a bevonófolyadék szétterülését. A preformulációs vizsgálatok során fontos a tablettázhatóság vizsgálata is. Az egyes komponensek hatását különböző összetételekben vizsgáltuk felműszerezett tablettázógép segítségével, majd az eredményeket összehasonlítottuk a nedvesedés eredményekkel. Ezen eredmények alkalmasak lehetnek a tabletták mikroszerkezetének jellemzésére.

Végül egy komplex, pankreatint és peszint tartalmazó szilárd multipartikuláris gyógyszerformát állítottunk elő, amely alkalmas lehet gyermekgyógyászatban történő alkalmazásra. Két köztiterméket formuláltunk, melyeket kemény zselatin kapszulába töltöttünk. Az egyik egy intesztinoszolvens bevonattal ellátott, pankreatin tartalmú minitabletta, a másik pedig pepszin tartalmú granulátum volt.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Felhasznált anyagok a fehérjék segédanyagként történő alkalmazhatóságának vizsgálatához

Modell fehérjeként human szérum albumint (HSA) alkalmaztunk. A munkánk során alkalmazott HSA oldat koncentrációja 39,9 g/l (NaCl-ot, KCl-ot, Na₂HPO₄-ot, KH₂PO₄-ot is tartalmazott) volt. A fehérjeoldatot -50°C-on és 180-200 mTorr nyomáson liofilizáltuk, majd a liofilizált terméket az eredeti oldatban oldottuk, így 5%, 10%, 12,5% és 20%-os oldatokat állítottunk elő.

A HSA filmképző hatásának tanulmányozása során a hordozó a kiváló folyási sajátságokkal rendelkező és stabil őrölt cellulóz volt (Arbocel A 300).

A HSA oldat granuláló hatásának vizsgálatához különböző típusú MCC-t (Vivapur 101, 103 és 105) és örölt cellulózt (Arbocel P 290) alkalmaztunk. Ezekben a vizsgálatokban a töltőanyag mannit volt. Hidroxi-propilmetil cellulóz és hidroxi-propil cellulóz vizes oldatát alkalmaztuk azonos koncentrációban, hogy összehasonlítsuk a kiindulási HSA oldattal.

Felhasznált anyagok a fehérjék hatóanyagként történő alkalmazhatóságának vizsgálatához

A pankreatin a pankreasz által termelt emésztő enzim keverék. Sertés vagy szarvasmarha pankreászából állítják elő és lipázokat amilázokat és proteázokat tartalmaz így a zsírok, keményítő és a fehérjék emésztésében van szerepe. Hatóanyagként pankreatint (Ph.Eur. Richter Gedeon Plc., Budapest) (keményítóbontó aktivitás: 18 EPU/mg; proteolitikus aktivitás: 3,6 EPU/mg; lipolitikus aktivitás: 41 EPU/mg; zsír tartalom: 2,2%) alkalmaztunk. A pankreatin nedvességtartalma 6,68% volt és az átlagos szemcsemérete (D50) pedig 134 μ m.

A pepszin inaktív formában a gyomorban termelődik sósavval együtt, ami a pepszin aktív formájának kialakulásához szükséges, mivel az optimális pH ahol a pepszin megtartja funkcióját 1-3 között van. Formulálás során ezért szükség van savak alkalmazására. Munkánk során hatóanyagként sertés pepszint (Meditop Ltd.), savasító komponensként pedig borkósavat és citromsavat használtunk.

A pankreatin keményítóbontó aktivitásának meghatározása a VIII. Gyógyszerkönyv alapján történt, melyhez a következő anyagokra volt szükség: vízdékony keményítő, foszfát puffer (pH=6,8), 11,7 g/l nátrium-klorid oldat, 1 M sósav, 0,05 M kálium-jodid tartalmú jódoldat, 0,1 M nátrium-hidroxid oldat és 20%-os kénsav oldat.

A pepszin aktivitásának mérése is a VIII. Gyógyszerkönyv alapján történt, melyhez szarvasmarha hemoglobinra, Folin-Ciocalteu reagensre, triklórecetsavra és nátrium-hidroxidra volt szükség.

A nedvesség (granulálás vagy bevonás során léphet fel) hatásának tanulmányozásához desztillált vizet és 96%-os etanolt alkalmaztunk. Pankreatin tablettázásához MCC-t és magnézium-sztearátot (Mg-st.) használtunk segédanyagként. Az intesztinoszolvens bevonat előállításához alkalmazott bevonófolyadék 20% Acryl EZE (metakrilsav-etilakrilát kopolimer [1:1]) vizes diszperziót tartalmazott. A pepszin granulátum előállításához MCC-t (Vivapur 101) alkalmaztunk.

Módszerek

Fehérjék segédanyagként történő alkalmazhatóságának vizsgálata

Módosított rétegzéses technológiával fluidizációs berendezésben felsőporlasztással állítottunk elő mintákat. A HSA oldat koncentrációját változtattuk. A kiindulási por mennyisége és a felvitt HSA mennyisége azonos volt. Néhány más faktort is változtattunk, először az őrlött cellulóz felületére desztillált vizet porlasztottunk, hogy tanulmányozzuk a víz aggregáló hatását.

Különböző porkeverékeket vizsgáltunk a HSA granuláló hatásának tanulmányozása céljából, melyek mannitot (bukkális tabletták esetében konvencionálisan alkalmazott töltőanyag) és különböző típusú cellulózokat tartalmaztak. Örvényáramú granuláló berendezésben állítottunk elő mintákat. A porkeverék minden esetben 100 g mannitot és 100 g cellulózt tartalmazott. A cellulóz típusát és a granuláló folyadék összetételét változtattuk. A víz mennyisége minden mintánál azonos volt.

Pásztázó elektronmikroszkópos (Hitachi S2400) felvételeket készítettünk, hogy tanulmányozzuk a szemcsék felületét.

Vizsgáltuk a szemcsék átlagos szemcseméretét és szemcseméret eloszlását analitikai szitasorozat segítségével mindkét köztitermék esetében. A D50 értékeket egy számítógépes szoftver segítségével számítottuk ki.

A fluidizációs készülékben előállított mintákat 3 csoportba osztottuk szemcseméretük alapján ($<200\ \mu\text{m}$, $200\text{--}315\ \mu\text{m}$ és $>315\ \mu\text{m}$).

Vizsgáltuk 100 ml minta kifolyási idejét porreológiai berendezés segítségével, 10 mm átmérőjű kifolyási nyíláson keresztül. A nem megfelelő folyási tulajdonságú minták esetében 25 rpm keverést alkalmaztunk. Minden esetben 3 párhuzamos mérést végeztünk.

Mindhárom szemcseméretű csoport HSA koncentrációját foszfát pufferben ($\text{pH}=7,2$), spektrofotometriás módszerrel, 562 nm-en határoztuk meg, Micro BCATM Protein Assay alapján. Az összetétel alapján számított koncentráció 13,04% volt.

A granuláló folyadék felületaktív tulajdonságai növelhetik a granulálás hatékonyságát. A HSA, HPMC és HPC oldatok és a víz felületi feszültségét gyűrűkiszakításos módszerrel határoztuk meg. Bookfield LVDV-II viszkoziméterrel mértük az oldatok viszkozitását 25°C-on.

Minkét közttermék esetében meghatároztuk a töltött (ρ_0) és a tömörített (ρ_∞) sűrűséget STAV 2003 Stampfvolumeterrel, mely értékekből Carr indexet számoltunk. Három párhuzamos mérést végeztünk.

$$\text{Carr's index} = \frac{\rho_\infty - \rho_0}{\rho_\infty} \times 100$$

Vizgáltuk a 710 és 800 μm közötti, örvényáramú granuláló berendezésben előállított granulátumok törési szilárdságát. Húsz párhuzamos mérést végeztünk.

Nem csak a granuláló folyadék jellege, hanem a porkeverék nedvesedése is befolyásolja a granulálást. Az Enslin szám meghatározása egy egyszerű szemikvantitatív mérés, ami megmutatja, hogy 1 g por hány ml folyadékot abszorbeál (ml/g). Minden esetben 0,5 g port vizsgáltunk 5 párhuzamos méréssel. A statisztikai analízishez Statistica for Windows 8.1 AGA programmal kétmintás T-próbát használtunk. A konfidencia intervallum 95% ($p < 0,05$).

Fehérjék hatóanyagként történő alkalmazhatóságának vizsgálata

Ezeket a vizsgálatokat, mint preformulációs lépéseket hajtottuk végre. Ezen kísérletek fő célja a technológiai folyamatok fehérjékre gyakorolt hatásának tanulmányozása volt.

A pankeratin keményítőbontó aktivitásának és a pepszin aktivitásának mérése a VIII. Gyógyszerkönyv alapján történt.

Mindkét enzim aktivitását vizsgáltuk a tablettázás körülményeinek modellezése során. Ehhez hidraulikus présel, 2, 4, 6, 8, és 10 t (19,62, 39,24, 58,86, 78,48 or 98,1 kN) préserővel 12 mm átmérőjű, síkfelületű préstesteket állítottunk elő a következő összetételekben: 100% pankreatin, 100% pepszin, 50% pepszin-50% citromsav és 50% pepszin-50% borkősav porkeverék. Az enzim aktivitás mérés előtt az így előállított tablettákat dörzsmozsárban porítottuk.

Nem csak a nyomás hatását vizsgáltuk, mert mint ismert, a nagy présnyomás hőt indukál, ami egy igen gyors jelenség a préselés során, ezért egy független vizsgálat során tanulmányoztuk a hőmérséklet enzimaktivitásra gyakorolt hatását. Az enzimeket légszáraz állapotban 2 órán keresztül légszáraz állapotban tároltuk a következő hőmérsékleteken: 40, 50, 60, 70, 80, 90 és 100 °C.

A faktorok a pankreatin és a pepszin aktivitására gyakorolt hatásának vizsgálata céljából 2^3 teljes faktoriális tervet alkalmaztunk két középponti helyzettel.

A faktorok a hőmérséklet, idő és a folyadék tartalom voltak. A pankreatin esetében a folyadék desztillált víz és etanol volt. A pepszin esetében a folyadék desztillált víz volt három különböző összetétel során: 100% pepszin, 50% pepszin-50% borkósav és 50% pepszin-50% citromsav. Dörzsmozsárban homogenizáltuk a nedves masszákat, melyeket hermetikusan lezárva tároltuk a megadott ideig. Nedves granulálás során ~10-60% folyadék mennyiséget használnak, ezért vizsgálatunkban is ezt alkalmazzuk.

A következő megközelítés alkalmazásával meghatározható a faktorok közötti interakció, a válaszfelszín és a faktorok relatív hatása (b).

$$y=b_0+b_1x_1+b_2x_2+b_3x_3+b_{12}x_1x_2+b_{13}x_1x_3+b_{23}x_2x_3+b_{123}x_1x_2x_3$$

A számításokat a Statistica for Windows 8.1 AGA programmal végeztük. A matematikai értékelés során a konfidencia intervallum 95%, és szignifikáns különbség volt ha $p < 0.05$. A komponensek eloszlása közvetlen préselés során nagyon fontos paraméter mivel az ismeretlen szerkezet problémákat okozhat (nedvesedés, tablettázhatóság, kioldódás stb.).

Először különböző arányban pankreatint és MCC-t tartalmazó porkeveréket alkalmaztunk. A pankreatin tartalom 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80 és 100% volt. Továbbá vizsgáltuk a Mg-st. hatását, amit 1%-ban alkalmaztuk minden összetétel esetében. A porkeverékekből 1 MPa présnyomással 12 mm átmérőjű préstesteket préseltünk. Mivel a pankreatin gyomornedvben emésztődik, ezért intesztinoszolvens bevonattal szükséges ellátni, ezért 12 µl Acryl EZE diszperzió szétterülését vizsgáltuk a tableta felületén nedvesedési peremszög mérésen keresztül. Tíz párhuzamos mérést végeztünk.

A különböző minták felületén meghatároztuk a desztillált vízzel és dijódmétánnal mérhető nedvesedési peremszög értékeket.

Fehérjetartalmú szilárd gyógyszerforma előállítás

Első lépésként preformulációs vizsgálatokat végeztünk, mely keretében meghatároztuk a kifolyási időt, nedvességtartalmat, átlagos szemcseméretet és tömöríthetőséget, mely adatokból Carr indexet és Hausner faktort számoltunk. A korábbi eredményeink alapján a porkeverék összetétele 50% pankreatin, 49% Avicel 101 és 1% Mg st. volt, amit Turbula keverőben homogenizáltunk. Korsch EK0 excenteres tablettázógéppel 3 mm átmérőjű, 18 mg átlagtömegű tablettákat préseltünk. A hőmérséklet 28 °C, a relatív páratartalom pedig 48% volt. A minitablettákat Acryl EZE diszperzióval vontuk be fluidizációs készülékben Wurster feltét alkalmazásával. A bevonófolyadék 20% Acryl EZE, 0,2% szimetikon emulziót, 0,2% indigó kármin festéket és desztillált vizet tartalmazott.

Vizsgáltuk az így előállított bevonat nélküli tabletták átlagos tömegét, átmérőjét, magasságát, törési szilárdságát, kopási veszteségét, dezintegrációs idejét desztillált vízben és a pnkreatin aktivitását. Mértük a bevont tabletták átlagos tömegét, átmérőjét, magasságát és dezintegrációs idejét mesterséges gyomornedvben (pH=1,2) és mesterséges bélnedvben (pH=6,8). Kioldókészülékben meghatároztuk a tabletták hatóanyagtartalmát és a kioldódásvizsgálatot végeztünk. Először a bevont tablettákat mesterséges gyomornedvben (pH=1,2) tartottuk 2 órán keresztül a gyomorsavrezisztencia ellenőrzése céljából, majd a kioldóközeget mesterséges bélnedvre (pH=6,8) cserélve vizsgáltuk a hatóanyag leadást. 5 ml mintát vettünk a következő mintavételi időpontokban: 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 80, 100 és 120 perc. 6 párhuzamos mérést végeztünk.

A pepszin granulátum előállításához 50% pepszin és 50% MCC 101 tartalmú porkeveréket homogenizáltunk Turbula keverőben 10 percig. A granulátumokat örvényáramú granuláló berendezésben állítottuk elő 1000 ml térfogatú üveg tartályban. A granuláló folyadék desztillált víz volt.

A granulátumok átlagos szemcseméretét (D50) analitikai szitasorozat segítségével határoztuk meg. A hatóanyagtartalom meghatározáshoz és a kioldódás vizsgálatához kioldókészüléket használtunk. A kioldóközeg 900 ml, $37,0 \pm 0,5$ °C hőmérsékletű mesterséges gyomornedv (pH=1,2) volt. 10, 15, 20, 30, 45 és 60 percnél 5 ml mintát vettünk, melyek pepszin tartalmát spektrofotometriás módszerrel 274 nm-en határoztuk meg. 6 párhuzamos mérést végeztünk.

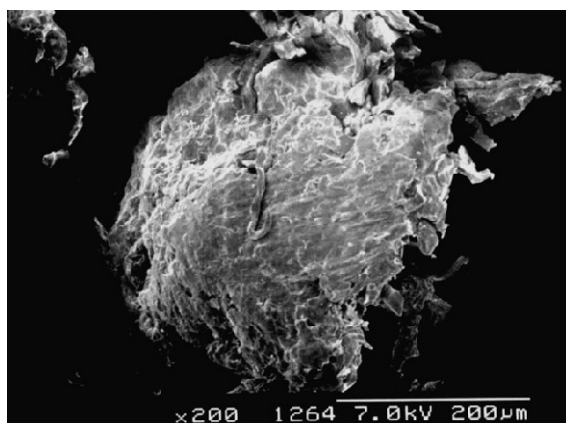
Első lépésben 75% pepszint és 25% borkősavat homogenizáltunk Turbula keverőben 10 percig. A bevont, pankreatin tartalmú minitablettát (320 mg) és a pepszin granulátum-borkősav keveréket (120 mg) hidroxipropil-metilcellulóz (HPMC) kapszulába töltöttük.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS

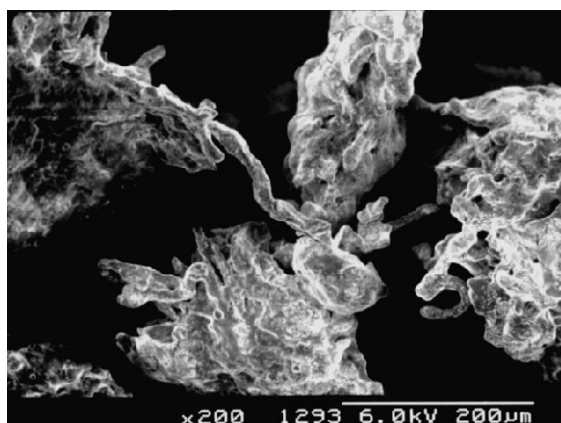
Fehérjék segédanyagként történő alkalmazhatóságának vizsgálata

A HSA oldat filmképző hatásának tanulmányozása

A pásztázó elektronmikroszkópos felvételeken látható az eredeti Arbocel A 300 egyenetlen felülete. (1. ábra). A 2. ábrán megfigyelhető a HSA réteg kialakulása a cellulóz felületén és a HSA hidak az egyes szemcsék között.



1. ábra: Arbocel A 300 (SEM 200)



2. ábra: S4 particle <315 µm (SEM 200)

Fő célunk volt, hogy tablettázáshoz felhasználható köztitermékeket állítsunk elő különböző koncentrációjú HSA oldatok felhasználásával. Megállapítottuk, hogy fluidizációs technikával jó kitermeléssel állíthatunk elő termékeket függetlenül az alkalmazott folyadék koncentrációjától. A feldolgozás a szemcseméret növekedését eredményezte, mely a HSA-nak köszönhető, mivel a víznek nincs aggregáló hatása. A legkisebb szemcseméret növekedés a 15%-os HSA oldattal készült minta esetében volt.

A folyási sajátságokat nem csak a szemcseméret, hanem a szemcsék alakja is befolyásolja. A HSA koncentrációja a kisebb szemcséket tartalmazó frakcióban volt nagyobb, a részecskék kopása és a porlasztva száradás miatt.

Megállapítottuk továbbá, hogy a módosított rétegzéses eljárás fluidizációs technikával alkalmas HSA tartalmú, szilárd gyógyszerformákhoz felhasználható köztitermék előállítására. Az optimalizált koncentrációjú HSA oldat kötőanyagként viselkedhet. Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a legjobb tulajdonságú termékek a 12,5% (homogén HSA eloszlás) és 15% (legjobb folyási tulajdonság) koncentrációjú HSA oldatok alkalmazásával érhetőek el.

A HSA oldat granuláló hatásának tanulmányozása

Megállapítottuk, hogy a HSA igen jó granuláló hatással bír MCC-okat tartalmazó rendszerek esetén azonban, ez az örölt cellulóz alkalmazásával nem mondható el. Azonos koncentráció esetén összehasonlítva konvencionálisan alkalmazott granuláló folyadékokkal megállapítottuk, hogy a HSA-val készült granulátumok szemcsemérete nagyobb, szignifikánsan jobb a tömöríthetősége, nagyobb a törési szilárdsága és a deformációs folyamat kedvezőbb. Az előnyös tulajdonságok magyarázata a fehérje jó adhezív tulajdonságaiban rejlik. Ez összefüggésben van a szemcsék szerkezetével és a vízfelvevő képességgel. Eredményeink alapján a legjobb tömöríthetőséggel (legnagyobb töltött sűrűség) és a legjobb mechanikai tulajdonságokkal rendelkező termék a MCC 105-tel és HSA oldattal készült granulátum.

Megállapítottuk, hogy a HSA oldat jól alkalmazható granuláló folyadékként, aminek nagy előnye lehet, hogy a fehérjék esetében nem szükséges egy további segédanyagot alkalmazni granuláló folyadékként.

Fehérjék hatóanyagként történő alkalmazhatóságának vizsgálata

Enzimek aktivitásának vizsgálata

Eredményeink alapján elmondható, hogy a közvetlen préselés nem befolyásolja sem a pepszin, sem pedig a pankreatin aktivitását. A magas hőmérséklet nem indukált enzimaktivitás csökkenést a relatív száraz anyag esetében. A nedvesség (ami nedves granulálás és bevonás során léphet fel) jelentős változásokat okozhat. Az etanol esetében nagyobb mértékű volt a csökkenés, mint a víznel, ezért ezt a komponenst el kell kerülni a formulálás során. Mindkét enzim esetében a legfontosabb faktor a hőmérséklet volt. A pepszin aktivitása szignifikánsan megváltozott savak alkalmazása mellett, ami citromsav esetében nagyobb mértékű volt.

Ezek az információk hozzásegíthetnek egy pankreatint és pepszint tartalmazó kombinált multipartikuláris gyógyszerforma megtervezéséhez. A nedves granulálás alkalmas a pankreatin feldolgozására 40 °C hőmérséklet alatt, alacsony vízmennyiség és rövid műveleti idő mellett. Egy megfelelőbb megoldás a minitabletta előállítás közvetlen préseléssel, mivel ebben az esetben a nedvesség károsító hatása elkerülhető. A nedves körülményeket a bevonás szempontjából is figyelembe kell venni. Megállapítottuk, hogy az etanol nem alkalmazható

ebben az esetben, ezért vizes rendszereket kell alkalmazni alacsony hőmérsékleten és a gyors szárítást előnyben kell részesíteni, a felület nedvesedése miatt.

A pepszin nedves granulálással feldolgozható savak alkalmazása nélkül alacsony hőmérsékleten és rövid műveleti idő alkalmazása mellett. Citromsav esetében a pepszin aktivitása szignifikánsan csökken a hőmérséklet emelésével. A nedves granulálás a pepszin feldolgozására citromsav alkalmazása mellett nem javasolható technológia. Ez a munka hangsúlyozni kívánja azon speciális szempontok fontosságát, amit figyelembe kell venni fehérjetartalmú szilárd gyógyszerformák előállításánál.

Felületi tulajdonságok vizsgálata

Munkánk során megállapítottuk, hogy az intesztinoszolvens bevonófolyadék szétterülésének mértéke a felületen a pankreatin tartalom arányának növelésével csökken. A változás azonban nem volt arányban a pankreatin tartalom változásával. A lineáris illesztéstől a legnagyobb mértékben az 50% pankreatin tartalmú minta tért el. Mg st. alkalmazásával ez az eltérés kisebb mértékű volt. A szétterülési koeficiens értékekből megállapítható, hogy a pankreatin dúsul fel a tabletták felületén a kétkomponensű rendszer esetében, továbbá a háromkomponensű rendszerénél pedig a Mg-st. dúsul fel a cellulóz és a pankreatin felületén is. Mg-st. alkalmazásával a jószolt nedvesedési értékektől való eltérés csökkenthető.

A plaszticitás nem a felületre, hanem az anyag egészére jellemző tulajdonság. A sűrűsödési munkában jelentkező különbségek jól alátámasztják a bevonó folyadék felületen történő szétterülésében mutatkozó tendenciát. A felületi szabadenergia meghatározása alkalmas lehet a tabletták felületi mikroszerkezetének jóslására.

Fehérjetartalmú szilárd gyógyszerforma előállítása

Pepszin és pankreatin tartalmú, kombinált, szilárd multipartikuláris gyógyszerformát állítottunk elő a minitabletták és a granulátumok kapszulába töltésével. Az eredményeink alapján látható, hogy az enzimaktivitás változását figyelembe kell venni az alkalmazandó technológia kiválasztása során. Az enzimek aktivitása nem csökkent szignifikánsan ezért ezek a technológiai megoldások alkalmasak pepszin és pankreatin tartalmú szilárd gyógyszerforma előállítására. A formulálás során más paraméterek hatását is figyelembe kell venni.

ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk fő célja volt, hogy tanulmányozzuk a fehérjék alkalmazhatóságát szilárd gyógyszerformába történő feldolgozás során.

Fő konklúziók a fehérjék segédanyagként történő alkalmazása esetében:

- Megállapítottuk, hogy a módosított rétegzéses eljárás fluidizációs technikával alkalmas HSA tartalmú, szilárd gyógyszerformákhoz felhasználható köztitermék előállítására, függetlenül az alkalmazott HSA oldat koncentrációjától.
- Az eljárás hatására szemcseméret növekedés jelentkezett, amit a HSA okozott, mert a víznek nincs aggregáló hatása.
- A HSA oldat nagyon jó granuláló hatással rendelkezett az általunk vizsgált összetételekben. Azonos koncentrációban összehasonlítva a konvencionálisan alkalmazott granuláló folyadékokkal, megállapítottuk, hogy nagyobb részecskék állíthatók elő, melyeknek szignifikánsan jobb a tömöríthetősége és nagyobb a törési szilárdsága.
- Az előnyös tulajdonságokat nem a felületi jellemzők tükrözik, hanem a fehérje jó adhezív tulajdonságai.
- Megállapítottuk, hogy a HSA jól alkalmazható granuláló folyadékként, aminek a nagy előnye, hogy fehérje hatóanyagok esetében nem szükséges további segédanyagot alkalmazni granuláló folyadékként.

Fő konklúziók a fehérjék hatóanyagként történő alkalmazása esetében:

- A közvetlen préselés alkalmazható technológia a pankreatin feldolgozására, mivel sem a préserő, sem pedig a hőmérséklet nem okozott észlelhető változást az enzim funkciójában.
- A granulálás vizes rendszer esetén és jól kontrollált körülmények között (alacsony nedvesség tartalom, rövid műveleti idő) alkalmas technológia a pankreatin feldolgozására.
- Közvetlen préselés esetében a pankreatin felületen történő feldúsulását figyelembe kell venni a feldolgozás során. Ez egy kritikus pont lehet a nedvesedés és a víz érzékeny hatóanyagok alkalmazásánál.
- Az alkalmas pepszinaktivitás elérése céljából savak hozzáadására van szükség. A pepszin alacsony préserő alkalmazásával együtt préselhető citromsavval vagy borkósavval.

- A pepszin alacsony hőmérsékleten, kis mennyiségű víz alkalmazásával és rövid műveleti idő mellett borkősavval együtt nedves granulálással feldolgozható.
- A pepszin feldolgozása nedves granulálással citromsav alkalmazása mellett nem javasolható.

A preformulációs vizsgálatok alapján megfelelő köztiterméket állítottunk elő és a vizsgált faktorkok fontosságát bizonyítottuk.

Gyakorlati alkalmazhatóság

A fehérjék alkalmazásának fontossága a terápiában egyre nő, ezért fontos, hogy a gyógyszerformulálás is kövesse ezt a tendenciát. Jelenleg, e hatóanyagok alternatív beviteli módon történő alkalmazása indokolt a betegek igényei miatt. Egy megoldás lehet a kis molekulájú hatóanyagok esetében használt, szilárd gyógyszerformák előállítására alkalmas technológiák alkalmazása. Munkánk során ezeket a megoldásokat vizsgáltuk, és a következő gyakorlati megállapításokat tettük:

- A fehérjék speciális tulajdonságokkal rendelkeznek, amit a formulálás során figyelembe kell venni. Ezen speciális tulajdonságok fő előnye, hogy a segédanyagok és a technológiai lépések száma csökkenthető. Ez nagyon fontos, mert a fehérjék érzékeny vegyületek, ezért az alkalmazott segédanyagok számát minimalizálni kell.
- A fluidizációs készülékben megvalósítható, módosított rétegzéses technológia és az örvényáramú granulálás alkalmas lehet fehérjetartalmú szilárd gyógyszerformákhoz felhasználható köztitermék előállítására. Egyes fehérjék esetében a közvetlen préselés is alkalmas technológia lehet.
- Ezen technológiák egyes lépéseit meg kell érteni és a kritikus pontokat definiálni és megfelelően kontrollálni kell. A PAT napjainkban egyre fontosabbá válik az ipari gyógyszergyártásban. Munkánk során bemutattunk néhány példát, melyek kritikus pontok lehetnek fehérje tartalmú, szilárd gyógyszerformák előállítása esetében.

Az érzékeny hatóanyagok formulálásánál, nagyon fontos ezeknek a szempontoknak a figyelembe vétele. Munkánk végső konklúziójaként és eredményeink alapján elmondható, hogy a hagyományosan alkalmazott berendezések és technikák (bizonyos feltételek mellett) alkalmasak lehetnek fehérjetartalmú szilárd gyógyszerformák előállítására a fehérjék speciális tulajdonságainak figyelembe vételével. Ezen szempontok további vizsgálata elősegítheti a fehérjetartalmú szilárd gyógyszerformák további fejlesztését.

KÖZLEMÉNYEK

1. **Katalin Kristó**, János Bajdik, István Erős, Imre. Dékány, Zsolt Pallai, Klára Pintye-Hódi:
Formulation of an intermediate product from human serum albumin for the production of a solid dosage form
Eur. J. Pharm. Biopharm. (2008) 68, 741–746.
2. **Kristó Katalin**, Bajdik János, Márki Árpád, Erős István, Falkay György, Hódi Klára: Humán interferon- α -orális szilárd gyógyszerformába történő feldolgozása
Acta Pharm. Hung. (2008) 78, 31-35.
3. **Katalin Kristó**, János Bajdik, István Erős, Klára Pintye-Hódi:
Evaluation of the binding effect of human serum albumin on the properties of granules
Eur. J. Pharm. Biopharm. (2008) 70, 791–795.
4. **Katalin Kristó**, János Bajdik, Peter Kleinebudde, Klára Pintye-Hódi:
Effect of lubricant on spreading of coating liquid on surface of tablets containing pancreatin
Pharm. Dev. Techn. (2010) 15, 354-359.
5. **Katalin Kristó**, János Bajdik, Klára Pintye-Hódi:
Optimization of the formulation of solid multiparticulate dosage forms containing pancreatin
Chem. Eng. Res. Des. (2010) 88, 1033-1036.

ELŐADÁSOK

1. **Kristó Katalin**, Szilárd gyógyszerformákban alkalmazható humán szérum albumin tartalmú köztitermékek előállításának optimalizálása
VIII. Clauder Ottó Emlékverseny, Budapest, 2007. április 12-13.
2. **Katalin Kristó**, János Bajdik, István Erős, Imre Dékány, Zsolt Pallai, Klára Pintye-Hódi, Formulation of an intermediate product from human serum albumin for production of a solid dosage form
2nd BBBB Conference on Pharmaceutical Sciences, Tallin-Tartu, 13-15 September, 2007.
3. **Kristó Katalin**, HSA tartalmú tabletták előállításának optimalizálása Magyar Tudomány Ünnepe, Szeged, 2007. november 6.
4. **Kristó Katalin**, Bajdik János, Hódi Klára, Erős István: Humán szérum albumin orális készítményben történő alkalmazása
MGYT Gyógyszerkutató Szimpózium, Szeged, 2007. november 9-10.
5. **Kristó Katalin**, Humán szérum albumin granuláló hatásának tanulmányozása és a granulátumok vizsgálata
II. Szent-Györgyi Albert Konferencia, Budapest, 2008. március 7-8.
6. **Katalin Kristó**, János Bajdik, István Erős, Klára Pintye-Hódi: Evaluation of the binding effect of human serum albumin on the properties of granules
6th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Barcelona, Spain, 7-10 April 2008.
7. **Kristó Katalin**, Bajdik János, Peter Kleinebudde, Hódi Klára: Bevonó folyadék szétterülésének vizsgálata különböző összetételű pancreatin tartalmú tabletták felületén
"Gyógyszer az ezredfordulón VII." Továbbképző Konferencia, Sopron 2008. szeptember 25-27.
8. Bajdik János, **Kristó Katalin**, Makai Zsolt, Joshua Müller, Klaus Knop, Peter Kleinebudde, Hódi Klára: Pórusképző anyagok hatása a bevonófolyadék szétterülőképességére
"Gyógyszer az ezredfordulón VII." Továbbképző Konferencia, Sopron 2008. szeptember 25-27.
9. **Kristó Katalin**, Pankreatin szilárd gyógyszerformába történő feldolgozása
IX. Clauder Ottó Emlékverseny, Budapest, 2009. április 23-24.

10. **Kristó Katalin**, Bajdik János, Hódi Klára: A pepszin szilárd gyógyszerformába történő feldolgozhatóságának tanulmányozása
Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XIV., Budapest, 2009. november 13-15.
11. **Katalin Kristó**, János Bajdik, Klára Pintye-Hódi: The investigation of pepsin activity during the modelling of the circumstances of processing into solid dosage form
7th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Valletta, Malta, 8-11 March 2010.
12. **Kristó Katalin**, A gyógyszer technológiai folyamatok pepszinaktivitásra gyakorolt hatásának tanulmányozása
IV. Szent-Györgyi Albert Konferencia, Budapest, 2010. március 19-20.

EGYÉB

1. **Kristó Katalin**, Fehérjetartalmú szilárd gyógyszerhordozó rendszerek előállítása, Pályamunka a MTA Szegedi Területi Bizottsága Gyógyszerészeti Szakbizottságának pályázatára, Szeged, 2007.
II. díj