Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszerésztudományi Kar
Gyógyszertechnológiai Intézet
Intézetvezető: Prof. Dr. habil. Szabó-Révész Piroska D.Sc.

Ph.D. tézisfüzet

AMMÓNIUM-METAKRILÁT-KOPOLIMER BÁZISÚ, NYÚJTOTT HATÓANYAG-FELSZABADULÁST BIZTOSÍTÓ MIKROSZFÉRÁK FORMULÁLÁSÁNAK OPTIMÁLÁSA

Sipos Péter

Konzulensek:

Prof. Dr. habil. Erős István D.Sc.
Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszertechnológiai Intézet

Dr. habil. Csóka Ildikó Ph.D.
Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerfelügyeleti Intézet

Szeged
2008

1. BEVEZETÉS

Hatóanyagleadó rendszerek, mint a mikro- és nanorészecskék, megfelelő választást biztosítanak a hatóanyag optimális terápiás vérszintjének tartós biztosítására, szabályozott és célzott hatóanyagleadó rendszerek előállítására. Szájon át adható, szabályozott hatóanyag-felszabadulású gyógyszerformaként évek óta ismert jelentőségük. A csoporton belül nagyvonalakban felsorolva a *mikrorészecskék* közé pelletek, mikrokapszulák és –szférák, liposzférák és makroemulziók tartoznak, míg *nanorészecskék* gyűjtőnéven többek között a lipid vagy polimer alapú nanorendszerek (kapszulák, és szférák), mikroemulziók, liposzómák, kohleátok és a nioszómák ismeretesek. A hatóanyag polimer vagy protein burokba, illetve mátrixba ágyazható, előbbi esetben kristályos/aggregált, utóbbi esetben molekulárisan diszperz formában. Vízoldékony hatóanyagok bezárása, illetve lipofil karakterű hatóanyagok vízoldékonyságának növelése a különböző mikrokapszulázási technikák segítségével sikeresen elvégezhető. Az utóbbi 15 évben számos tanulmány közölt kutatási eredményeket biokompatibilis polimerekről, mint hatóanyaghordozó rendszerekről. A mátrix szerkezetű mikroszférákból történő hatóanyag-felszabadulás szabályozható a mátrix szerkezet változtatásával, így érzékeny hatóanyagok, mint pl. peptidek vagy hormonok is megvédhetők a biológiai környezet lebontó folyamataitól. A mikrorészecskék a gyógyszerhordozó hosszú hatástartamát biztosíthatják, így az adagolás gyakorisága és a mellékhatások csökkenthetők.

2. CÉLKITŰZÉS

PhD munkám célja a BCS (Biopharmaceutical Classification System) rendszer besorolása szerint a 2. osztályba tartozó *modell* hatóanyag mikroszférákba történő sikeres bezárása, és az így előállított termékek vizsgálata volt. Mivel a mikroszférák területén a Gyógyszertechnológiai Intézetben korábbi tapasztalatok nem álltak rendelkezésre, a munka kiegészült preformulációs vizsgálatokkal.

A vizsgálatok során együtt alkalmaztam a jelen korszerű fizikai-kémiai, szerkezeti és képalkotó vizsgálatait, valamint a hatóanyag felszabadulásának vizsgálati módszereit. Érdeklődésem középpontjában a hatóanyag felszabadulását változtató paraméterek álltak. Annak a jelenségnek a hátterét vizsgáltam, hogy a függő változók értékeinek változtatása milyen befolyással van a termék szerkezetére, fizikai-kémiai paramétereire, illetve hogyan érhető el a hatóanyag időben elnyújtott felszabadulása minél nagyobb mennyiségű poláros koszolvens, és minél kevesebb segédanyag használatával. A hatékony előállításhoz, a komponensek hatásainak alaposabb megértéséhez, és a függő változók megfelelő értékeinek meghatározásához faktoriális kísérlettervezést alkalmaztam.

<u>Problémafelvetés</u>: A szakirodalomban alkalmazott eljárások a $W_1/O/W_2$ típusú összetett emulziós technikát részesítik előnyben hidrofil karakterű hatóanyag mikrokapszulázása esetén. A $W_1/O/W_2$ típusú összetett emulzió előállításához *lipofil* karakterű oldószer szükséges (leggyakrabban diklór-metán, CH_2Cl_2, használatos), ennek cseréje poláros oldószerekre a W_1 és W_2 fázisok összefolyásával, és az összetett emulzió megszűnésével, ezáltal a hatóanyag elvesztésével jár.

Jelen PhD munka során diklofenak-nátrium (mint modell hatóanyag) tartalmú stabil mikroszférák előállítása történt összetett emulziós rendszerekből a hagyományos és porlasztva-szárításos oldószer-elpárologtatási módszerek alkalmazásával. További cél volt az optimális összetételek meghatározása a függő változóknak a termék fizikai-kémiai paramétereire, stabilitására (gyógyszertechnológiai szempont), valamint a hatóanyag-felszabadulásra (biofarmáciai szempont) gyakorolt hatása révén. A vizsgálatok kimutatták, hogy poláros koszolvensek és megfelelő előállítási módszer használatával megfelelően stabil $W_1/O/W_2$ emulzió, így stabil mikroszféra termék állítható elő. A formulálás optimálása, illetve az összefüggések felfedése hozzájárul a gyógyszertechnológus munkájához.

A hidrofil karakterű hatóanyag tartalmának és bezárási hatékonyságának meghatározásához a szakirodalom nagyon gyakran a lipofil karakterű mikroszféra termék szerves oldószeres bontását (pl. oldás) alkalmazza, mely eljárást extrahálás és műszeres mérés követ. PhD munkámban korszerű, *egy* lépésben végezhető, *nem* invazív eljárással, energia-diszperziós röntgen fluoreszcens spektrofotométerrel végeztem.

Az elvégzett kísérleti munka főbb csoportjai:

- (**I**) preformuláció: (**i**) fontosabb előállítási paraméterek értékeinek változtatása; majd (**ii**) a komponensek termoanalitikai vizsgálata; (**iii**) a lehetséges hatóanyag-kopolimer kölcsönhatások vizsgálata. Különböző hatóanyag-kopolimer arányú filmek előállítása és azok termikus, valamint Raman spektroszkópiás szerkezeti vizsgálata történt.
- (**II**) SE- és SD-mikroszférák összehasonlítása: (**i**) a különböző előállítási technikák hatásainak összehasonlítása (SE = solvent evaporation, SD = spray-drying), (**ii**) a $W_1/O/W_2$ emulziók és a (**iii**) belőlük előállított mikroszférák szerkezetének termikus és Raman spektroszkópiás szerkezeti vizsgálata.
- (**III**) SE-mikroszférák formulálásának optimálása: a függő változók értékeinek optimálása kihívást jelentő feladat, mivel nem lehet meghatározni univerzálisan használható adalékanyagokat vagy előállítási technikát az összes hatóanyagra nézve. Cél a (**i**) W_1-fázis mennyiségének, a (**ii**) W_2-fázis mennyiségének, a (**iii**) W_1/O emulzió keverési sebességének, a (**iv**) hatóanyag-kopolimer arány és a (**v**) lágyító/kopolimer arány változtatásának értékelése kvalitatív faktoriális design alapján.
- (**IV**) SD-mikroszférák formulálásának optimálása: a különböző poláris koszolvensek (**i**) típusának és (**ii**) koncentrációjának, illetve a (**iii**) hatóanyag-kopolimer arány változtatásának értékelése kvantitatív faktoriális dizájn alapján.

A mikroszférák jellemzésére használt mérési módszerek:

(**i**) viszkozimetria – a szerves fázisok és a W_1/O emulzió viszkozitása (rotációs viszkoziméter);

(**ii**) az emulziós cseppek mikroszkópos jellemzése (Image analyser);

(**iii**) mikroszféra külső morfológia (SEM, pásztázó elektronmikroszkóp);

(**iv**) granulometriai analízis (lézer-diffraktometria);

(**v**) hatóanyag-tartalom (E) és bezárási hatékonyság (EE) meghatározása (EDXRF, energia-diszperziós röntgen fluoreszcens spektrofotométer);

(**vi**) termoanalízis és szerkezeti értékelés (derivatográfos és DSC analízisek);

(**vii**) lehetséges hatóanyag-kopolimer kölcsönhatások vizsgálata (Raman spektroszkópia);

(**viii**) oldószermaradék vizsgálat (staitkus head-space GC) és

(**ix**) in vitro hatóanyag-felszabadulás a mikroszféra termékekből, értékelés matematikai modellek segítségével

3.A ANYAGOK

(1) Diklofenak-Na (DS) (Ph.Eur. 5.), mint hidrofil karakterű *modell* hatóanyag (BCS, II osztály). Az Ammónio-metakrilát kopolimer (B-típus, M_r = 150000, USP/NF, Ph.Eur. 5./NF), mint biokompatibilis, de nem biodegradábilis hidrofób mátrix-képző, alacsony permeabilitási tulajdonsága és pH-független kioldódást biztosító tulajdonsága alapján lett kiválasztva.

(2) Diltiazem hydrochloride (DH) (Ph.Eur. 5.), mint hidrofil karakterű *modell* hatóanyag (BCS, II osztály), kitozánba (CHT) történő mikrokapszulázáshoz.

A diklórmetán (CH_2Cl_2), mint oldószer, valamint a koszolvensek: aceton (Me_2CO), metil-etil-keton (MeCOEt), *n*-propanol (*n*PrOH), és *n*-butil-acetát (*n*BuOAc) reagens minőségűek voltak. A szorbitán-monooleát (HLB = 4,3) és a polioxietilén 20 szorbitán-monooleát (HLB = 14,9), mint nemionos emulgensek, a polivinil-alkohol (PVA, M_r = 72000), mint védőkolloid, valamint a polietilén-glikol-sztearát, mint lágyító, gyógyszerkönyvi minőségűek (Ph.Eur. 5.) voltak.

3.B ELŐÁLLÍTÁS

Preformuláció

Preformulációs vizsgálatok céljából különböző hatóanyag-kopolimer összetételű filmek előállítása történt hagyományos oldószer-elpárologtatásos módszerrel. Az elkészített *fizikai* és *modell* keverékek termikus és Raman spektroszkópiás vizsgálatára került sor. A fizikai keverékkel ellentétben a modell keverékek a hatóanyag szilárd oldatát biztosítják a kopolimer mátrixban.

Hagyományos oldószer-elpárologtatás (SE-módszer)

A $W_1/O/W_2$ típusú összetett emulziós – oldószer-elpárologtatásos módszer során a hatóanyag vizes oldatát (W_1) a lipofil fázisban (tartalmazza az oldószert és/vagy a koszolvenst, a kopolimert, lágyítót, és a W/O emulgenst) emulgeáljuk. Az így keletkező W_1/O emulziót diszpergáljuk a W_2-fázisban (tartalmazza az O/W emulgenst és a protektív karriert). A körülmények minden minta esetében azonosak voltak, az

oldószer-elpárologtatás és a mikroszférák „száradása” (in-water drying) szobahőmérsékleten, légköri nyomáson ment végbe folyamatos keverés mellett. A mikroszférák elkülönítése centrifugálással történt, melyet vákuum-szűrés után fagyasztva szárítás követett.

Porlasztva szárítás (SD-módszer)

A $W_1/O/W_2$ emulzió porlasztva szárítása Büchi B-191 laboratóriumi porlasztva szárító készülékkel történt szabványos 0,7 mm-es fúvókát használva. A mikroszféra terméket új, nagy-hatékonyságú ciklon segítségével különítettem el. A körülmények minden minta esetében azonosak voltak (levegőáram: 11,6 $l \cdot min^{-1}$; sűrített levegő nyomása: 5 bar; pumpaáramlás: 2,1 $ml \cdot min^{-1}$), az értékeket előkísérletek útján határoztam meg. A bemenő hőmérséklet meghaladta az oldószerek forráspontját (> 140°C).

3.C VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

Kísérlettervezés (DOE). Az értékelés *kvalitatív*, illetve *kvantitatív* faktoriális kísérlettervezés segítségével történt.

Reológia. A szerves oldószerkeverékek abszolút viszkozitásának, a W_1/O emulzió szerves fázisának, és az összetett emulzió dinamikus viszkozitásának (mPas) mérése rotációs viszkoziméterrel történt.

Morfológia. Az összetett emulzió cseppjeinek mikroszkópos értékelése LEICA képanalizátorral, a mikroszférák *felületének* vizsgálata és morfológiai értékelése pásztázó elerktronmikroszkópos felvételek alapján történt.

Részecskeméret-analízis. A részecskeméretet lézer-diffraktometriás módszerrel (Malvern Mastersizer) határoztam meg, az átlagos méretet a *D [4.3]* paraméterrel (∝m) fejeztem ki.

Hatóanyag tartalom (%, w/w) és a **bezárási hatékonyság** (%) mérésekhez energia-diszperziós röntgen-fluoreszcens spektrofotométert (EDXRF) alkalmaztam.

Termoanalitika. A TG és DTG görbék felvétele azonos körülmények között (25-400 °C fűtési szakasz, 10 $°C \cdot min^{-1}$ fűtési sebesség) történt. A DSC vizsgálatokat azonos körülmények között (-5-300 °C fűtési szakasz, 10 $°C \cdot min^{-1}$ fűtési sebesség), állandó N_2 és Ar gázáramban végeztem. A termogramok, DSC görbék és az entalpiaváltozások (ΔH, $J \cdot g^{-1}$) kerültek rögzítésre.

Raman spektroszkópia. A komponensek, a fizikai és modell keverékek, a preformulált filmek és a mikroszférák szerkezeti vizsgálata Raman spektrumok felvételével (n = 3), illetve a spektrumok egymásból történő kivonásával történt.

Szerves oldószer tartalom vizsgálata. Az elkészült mikroszférákból statikus „head-space”-GC készülékkel határoztam meg az oldószermaradék koncentrációját.

Kumulatív hatóanyag kioldódás és kioldódási profil vizsgálatait módosított forgólapátos kioldó készülékkel (II-es készülék, Ph. Eur. 5.) végeztem. A kioldódás vizsgálata emulgens-mentes PBS-

közegben, 7,42-es pH, 37 ± 0,5 °C hőmérséklet és 100 $l \cdot min^{-1}$ keverési sebesség alkalmazása mellett történt.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS

4.1. MIKROSZFÉRÁK PREFORMULÁCIÓS VIZSGÁLATA

A mikrorészecskék előállítása előtt preformulációs vizsgálatokat szükséges elvégezni a komponensek kompatibilitásának és a tervezett hatóanyag polimerben való oldékonyságának meghatározására. Termikus mérések szükségesek továbbá magas hőmérsékletű előállítási módszer, pl. porlasztva szárítás alkalmazása előtt. A hatóanyag eloszlása a mikrorészecskékben fontos jellemző, mivel az előállítás során pl. kevésbé jó oldékonyságú polimorf módosulat keletkezhet. A hatóanyag molekuláris diszperziója előnyös, nagyobb mértékű hatóanyag-kioldódást biztosíthat. A kristályos állapotból történő hatóanyag kioldódás során a mátrix szerkezetben csatornák keletkezhetnek és a kioldódás sebessége olyan gyors lehet, ami lehetetlenné teheti a nyújtott hatás elérését.

Jelen preformulációs vizsgálat során a diklofenak-Na diszperzitásfokának, a hatóanyag-tartalmú kopolimer (= AMC) filmek termikus stabilitásának (TA), és a hatóanyag-kopolimer lehetséges molekuláris kölcsönhatásainak vizsgálata (RS) történt. Különös figyelem fordult a megfelelő hatóanyag/kopolimer arány megállapítására.

Problémafelvetés: Nagy hatóanyag/kopolimer (DS/AMC) arány esetén a kopolimer mennyisége elégtelen lehet a hatóanyag megfelelő beburkolására. Alacsony arány esetén a hatóanyag kioldódása gátolt lehet, így gátolt a hatóanyag gasztrointesztinális folyadékba való kioldódása.

Termoanalitikai mérések az AMC üvegesedési hőmérsékletének (T_g) csökkenése alapján igazolták, hogy a hatóanyag (= DS), diszperzitásfokától függő mértékben lágyítóként szerepelhet a DS-AMC filmekben. Szilárd oldat keletkezett 1:12-es és 1:8-as DS/AMC arányok alkalmazásakor. A hatóanyag-tartalom változtatásán kívül más változás nem okozott szignifikáns különbséget a termikus viselkedésben.

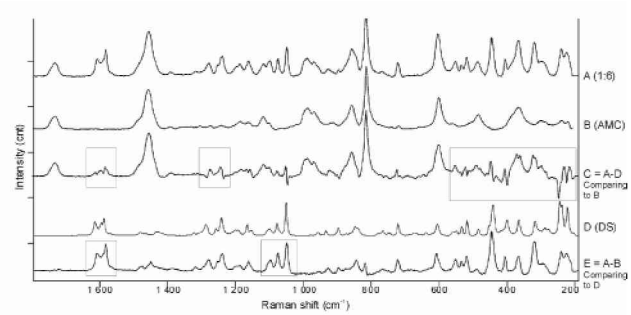
Raman-spektroszkópiás mérések igazolták a DS és az AMC kompatibilitását. A modell hatóanyag (DS) Raman-spektrumát (**1. ábra** D) kivonva a DS/AMC = 1:6 keverék (A) spektrumából (C) összehasonlíthatóvá vált az AMC spektrumával (B). A DS változásainak meghatározása a modell keverék (A) és az AMC (B) különbség-spektrumának (E) a DS spektrumával (D) történő összevetése alapján történt az AMC-nek megfelelő sávok (1500-1400 cm^{-1} és 850-800 cm^{-1}) figyelembe vételével.

A DS/AMC keverékekben csupán kisebb változások voltak észlelhetők, mint a DS $O_1C_8O_2$ funkciós csoport rezgésének (1581 cm^{-1}), valamint az AMC kvaterner ammónium-csoportjának (900-800 cm^{-1}) sáveltolódása és sávszélesedése, ami a vibrációs relaxációs idő csökkenésére utalt. A DS diklór-fenil-csoportjának rezgési sávja (1590 cm^{-1}) hiányzott, ez ionos kölcsönhatások hiányát feltételezi. Az észlelt DS-AMC interakciók gyengének bizonyultak ahhoz, hogy lényegesen befolyásolják a hatóanyag a

mátrixban való visszatartását, ezáltal a hatóanyag kioldódását. A fenti vizsgálatok alapján az 1:6, 1:8 és 1:12-es DS/AMC arányok bizonyultak megfelelőnek a preformulációs eljárás során.

1. Ábra

Raman-spektrumok:
(A) DS/AMC = 1:6 film
(B) AMC
(C) Film-DS különbség-spektrum
(D) DS
(E) Film-AMC különbség-spektrum.



4.2. AZ *SE*- ÉS *SD*-MIKROSZFÉRÁK ÖSSZEHASONLÍTÁSA

Az összehasonlító vizsgálat a négyféle koszolvens típusának és mennyiségének, valamint az előállítás módszerének hatását vizsgálja az emulziós cseppek szerkezetére, a mikroszférák morfológiájára és termikus viselkedésére.

Problémafelvetés: Előzetes kísérletek, illetve szakirodalmi adatok arra utaltak, hogy a poláros oldószerek, mint koszolvensek emelt koncentrációban a W_1 és W_2 fázisok összefolyását eredményezik, valamint az összetett csepp tulajdonságait hátrányosan befolyásolják. Ezáltal jelentős változást okoznak a fizikai szerkezetben, így a termikus viselkedésben.

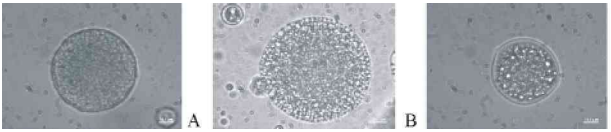
Kísérlettervezés (kvalitatív): Független változók – a koszolvensek logP értéke ($\mathbf{X_1}$), az előállítási módszer ($\mathbf{X_2}$) és a koszolvens koncentrációja (%, w/w, $\mathbf{X_3}$). Az **1. táblázat** mutatja a független változók különböző szintjeihez rendelt aktuális értékeket. A minták előállítása során a CH_2Cl_2 + Me_2CO, CH_2Cl_2 + *n*PrOH, CH_2Cl_2 + MeCOEt vagy CH_2Cl_2 + *n*BuOAc oldószerkeverékeket, mint a szerves fázis oldószerét, alkalmaztam. A mintákat SEM, DSC és RS mérések alapján értékeltem, a vizsgált függő változók a következőek: *1-3. számú DSC-csúcsok hőmérséklet-értéke* (°C, $\mathbf{Y_1}$), ΔH ($J \cdot g^{-1}$, $\mathbf{Y_2}$) és *EE* (%, $\mathbf{Y_3}$).

1. Táblázat. A független változók szintjeihez tartozó értékek (nem-randomizált)

Szint	**Érték**		
	X_1 (log P)	**X_2 (előállítási módszer)**	**X_3 (koszolvens konc.) (%, w/w)**
-1	0.234 (Me2CO)	Spray-dried (SD)	0
-0.3	0.559 (*n*PrOH)	----------	25
+0.3	0.736 (MeCOEt)	----------	50
+1	1.822 (*n*BuOAc)	Solvent evaporation (SE)	75

A W_1/O emulziós cseppek állapota meghatározza a képződő mikroszférák morfológiai tulajdonságait. A cseppek szerkezetét drasztikusan befolyásolta a DS/AMC arány változtatása (**2. ábra** A-C). 1:16-os DS/AMC arány esetén ($\mathbf{X_3}$: +1) a koszolvens koncentráció növelése ($\mathbf{X_2}$: -1→+1) a W_1 cseppek méretének növekedését okozta. Ennek ellenére az EE értéke nőtt, mivel egyúttal a kopolimer precipitációja is felgyorsult. A DS/AMC arány növelése ($\mathbf{X_3}$: -1→+1) állandó koszolvens koncentráció mellett ($\mathbf{X_2}$: 0) a W_1 cseppek növekedését, és összefolyását eredményezte. Az emulziós cseppek közötti határfelület megtört, a fizikai stabilitás kritikussá vált, ez a változás az EE értékek nagymértékű csökkenését eredményezte, hasonlóan az irodalmi adatokhoz.

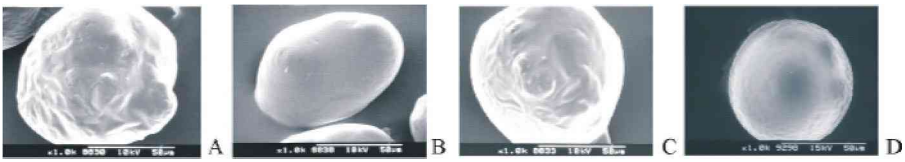
2. Ábra. Az összetett emulziós cseppek reprezentatív felvétele (100x nagyítás) (X_1;X_2;X_3), (A) -1;0;+1; (B) -1;0;0; (C) -1;0;+1



Az alapösszetételű SE-mikroszférák csak CH_2Cl_2 felhasználásával készültek, a várakozásoknak megfelelően gömb alakot mutattak, a felület porozitása nélkül (**3. ábra,** A), a CH_2Cl_2 egyenletes elpárolgására, ezáltal egyenletes megszilárdulási folyamatra utalva. Az SEM felvételek nem mutatták a részecskék deformitását, ami arra utal, hogy a két folyamat (a koszolvens extrakciója a W_2 fázisba, illetve a kopolimer precipitációja) egymással egyidőben zajlott. A mikroszférák felszínén hatóanyag-kristályok nem látszottak, és egyidejű átkristályosodás vagy aggregáció jeleit sem tapasztaltam. A hatóanyagmentes alapösszetételű SE-mikroszférák szférikus alakkal, sima felszínnel rendelkeztek (B).

Az alapösszetételű SD-mikroszférák sima felületű, szférikus részecskéket mutattak, a makropórusokra utaló jelek nélkül. Aggregáció, szabálytalan alak vagy felszíni hatóanyag kristályok nem látszottak (C). A megfelelő hatóanyagmentes minta részecskéi szabályos, sima felületűek voltak.

3. Ábra. Alapösszetételű mikroszférák: (A) hatóanyag-tartalmú SE-mikroszférák; (B) hatóanyag-mentes SE-mikroszférák; (C) hatóanyag-tartalmú SD-mikroszférák; (D) hatóanyag-mentes SD-mikroszférák.

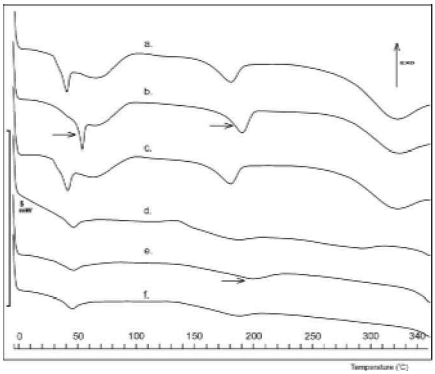


<u>Termoanalitikai mérések</u> arra utaltak, hogy sem a koszolvensek típusa, sem koncentrációja nem befolyásolta szignifikánsan a vizsgált termikus események menetét vagy a mért entalpiaváltozás értékeit (**4. ábra**), ez első lépésben a szerkezetek azonosságát mutatja. A független változók (koszolvens logP

értéke, koszolvens koncentrációja és előállítási módszer) és a hatóanyag bezárási hatékonyságának (EE) értékei között viszont szignifikáns összefüggést találtam, ez a tény viszont a szerkezet tényleges változására, pl. pórusok, csatornák kialakulására, a szerkezet megnövekedett hidrofilitására utal.

Az észlelt termikus különbségek a preformulációs fizikai keverékek és a mikroszférák között bizonyították a hatóanyag szilárd oldat állapotát a mikroszféra mátrixban. A poláris koszolvensek kevéssé befolyásolták a termikus eseményeket, a hatóanyag jelenléte meghatározó jelentőségű volt a változások előidézésében.

4. Ábra. Az előállított mikroszférák DSC görbéi.
(A) 100% CH_2Cl_2, spray-dried;
(B) 50% CH_2Cl_2, spray-dried, hatóanyagmentes;
(C) 50% CH_2Cl_2, spray-dried;
(D) 100% CH_2Cl_2, solvent evap.;
(E) 50% CH_2Cl_2, solvent evap., hatóanyagmentes;
(F) 50% CH_2Cl_2, solvent evap.



A Raman-spektroszkópiás mérések arra utaltak, hogy csak az előállítási módszer okozott lényeges változást a mikroszférák szerkezetében. Másrészt a hatóanyag és a kopolimer között kimutatható gyenge kölcsönhatások nem elegendőek a hatóanyag visszatartásához és ezáltal kioldódásának akadályozásához. A fenti eredmények alapján mind az SE-, mind az SD- technikák alkalmasnak bizonyultak DS-tartalmú mikroszférák előállítására, a porlasztva szárítás okozta hőstressz ellenére.

4.3. SE-MIKROSZFÉRÁK FORMULÁLÁS-OPTIMÁLÁSA

Az SE-mikroszférák előállítási paramétereinek hatásait vizsgáltam a W_1/O emulzió, illetve a termék szerkezetére és tulajdonságaira nézve. Az optimálás kvalitatív faktoriális kísérlettervezés segítségével készült, melyben a független változók a primer emulzió (W_1/O) és a külső vizes fázis (W_2) hányadosa ($\mathbf{X_1}$), a W_1/O emulzió keverési sebessége (rpm, $\mathbf{X_2}$), a hatóanyag/kopolimer (DS/AMC) arány ($\mathbf{X_3}$) és a lágyító/kopolimer (PEGS/AMC) arány ($\mathbf{X_4}$) voltak.

A **2. táblázat** foglalja össze a független változók különböző szintjeihez rendelt aktuális értékeket. A vizsgált függő változók a W_1/O emulzió viszkozitása - η (mPas, $\mathbf{Y_1}$), részecskeméret - $D\ [4,3]$ (∝m, $\mathbf{Y_2}$), specifikus fajlagos felület - SSA (m^2/g, $\mathbf{Y_3}$), hatóanyag-tartalom - E (%, w/w, $\mathbf{Y_4}$) és a bezárási hatékonyság - EE (%, $\mathbf{Y_5}$) voltak.

2. Táblázat. A független változók szintjeihez tartozó értékek (nem-randomizált)

Szint	Érték			
	X_1 (W_1/O:W_2)	X_2 (keverési seb.)	X_3 (DS/AMC)	X_4 (PEGS/AMC)
-1	1:5	14400	1:50	1:10
-0.3	1:10	17600	1:25	1:5
+0.3	1:15	20800	1:16	1:3.3
+1	1:20	24000	1:12	1:2.5

Az alábbi összefüggésekmutatkoztak a kísérletek elvégzésekor:

W_1/O : W_2 fázis aránya (X_1): A W_2-fázis mennyiségének négyszeresre növelése a részecskeméret és a bezárási hatékonyság szignifikáns csökkenését okozta. A részecskeméret csökkenésével a specifikus fajlagos felület/részecsketérfogat arány megnőtt, míg a kumulatív hatóanyag-kioldódás csökkent. A W_2 fázis mennyiségéből, ezáltal a felhasznált segédanyagok mennyiségéből kevesebb szükséges.

Keverési sebesség (X_2): A W_1/O emulzió előállítása során a magas, 24000 rpm-es fordulatszám már nem volt megfelelő, mert a nagymértékű mechanikus behatás károsan befolyásolta az emulziócseppek szerkezetét, a későbbiekben előnytelen hatóanyag-kioldódási profilt okozva.

DS/AMC arány (X_3): A hatóanyag koncentráció növelése a részecskeméret növekedését okozta, valamint a stabilabb, viszkózusabb W_1/O emulzió emelkedett bezárási hatékonyságot eredményezett, ez végeredményben a hatóanyag mennyiségének növelését engedi meg.

PEGS/AMC arány (X_4): A lágyító koncentrációjának növekedése a részecskeméret szignifikáns csökkenését, az így hidrofilebbé váló szerkezet a hatóanyag-kioldódás jelentős növekedését okozta. Tehát a nyújtott hatóanyag-felszabadulás elérését kisebb lágyító-koncentráció eredményezi.

4.4. SD-MIKROSZFÉRÁK FORMULÁLÁS-OPTIMÁLÁSA

Az optimálás a függő változók átlagos hatásai (average effects) és 3^3 típusú kvantitatív faktoriális kísérlettervezés alapján történt. A független változók a koszolvens logP értéke (X_1), az ICH besorolás szerint 3-as osztályba tartozó poláris koszolvensek koncentrációja (X_2) és a DS/AMC arány (X_3) voltak. A **3. táblázat** bemutatja a független változók különböző szintjeihez rendelt aktuális értékeket.

3. Táblázat. A független változók szintjeihez tartozó értékek (nem-randomizált)

Szint	Érték		
	X_1 (log P érték)	X_2 (koszolvens konc.) (%, w/w)	X_3 (DS/AMC)
-1	0.234 (Me_2CO)	25	1:32
-1A	0.559 (nPrOH)		
0	0.736 (MeCOEt)	50	1:24
+1	1.822 (*n*BuOAc)	75	1:16

A vizsgált függő változók: W_1/O viszkozitás - η (mPas, Y_1), *előállítási hatékonyság* (%, Y_2), részecskeméret – $D\ [4,3]$ (∝m, Y_3), bezárási hatékonyság - EE (%, Y_4) és a 6 óra alatt felszabadult hatóanyag összmennyisége - Q_6 (%, Y_5). Az Me_2CO, MeCOEt vagy *n*BuOAc poláros oldószereket

külön-külön kevertem a CH_2Cl_2-hoz, az emulzió szerves fázisát kialakítva. Az optimálási módszer robusztusságának igazolására az Me_2CO-t a hasonló vízoldékonyságú *n*PrOH-lal helyettesítve a vizsgálatokat újra elvégeztem. A hatóanyag kioldódási profilja a mátrix szerkezet koherens jellegének fontos jelzője, a mikroszférák szerkezetéről egyedül ezen vizsgálat alapján nehéz következtetéseket levonni, ezért volt szükség a fent említett függő változók bevonására. A mikroszférák tulajdonságaival szemben támasztott követelmények: alacsony W_1/O viszkozitás (η) és részecskeméret, lehetőleg nagy előállítási és hatóanyag-bezárási hatékonyság, valamint a Q_6 változó 20-80%-os értéke 1-6 óra alatt.

A **4. táblázat** foglalja össze az optimálás során a kitűzött követelmények és a független változók között talált összefüggéseket, melyek alapján lehetőség nyílik további mennyiségi adatok előrejelzésére.

Az $\mathbf{X_1}$ alacsony, illetve közepes értéke (-1; 0), az $\mathbf{X_2}$ magas értéke (+1) és az $\mathbf{X_3}$ alacsony értéke (-1) mellett a mikroszférák jó hatékonysággal voltak előállíthatók ($\mathbf{Y_2}$: 69-71%), magas bezárási hatékonysággal ($\mathbf{Y_5}$: 42-53%) és alacsony részecskemérettel ($\mathbf{Y_3}$: 141-145 ∝m). Nehéz megállapítani a változók optimális értékét a kitűzött Q_6 értéktartomány eléréséhez, mert néhány mintából tapasztalt gyors hatóanyag-kioldódási érték az átlagértéket az előre meghatározott limit fölé növelte, a statisztikus szignifikancia ellenére. Nyújtott hatóanyag-kioldódás elérésére a MeCOEt bizonyult optimális koszolvensnek az X_2 és X_3 változók alacsony és közepes (-1; 0) értékeinél, míg az *n*BuOAc és az *n*PrOH az X_2 alacsony és közepes értékeinél (-1; 0). Az Me_2CO-t *n*PrOH-lal helyettesítve a robusztusság igazolást nyert, a független változók hatásai szignifikánsnak bizonyultak.

4. Táblázat. A független változók szintjeinek optimálása a kitűzött követelmények elérésére

Függő változók	**Várt (relatív) hatások**	**Szükséges értékek**		
		$\mathbf{X_1}$	$\mathbf{X_2}$	$\mathbf{X_3}$
$\mathbf{Y_1}$	Alacsony W_1/O viszkozitás	-1	+1	+1
$\mathbf{Y_2}$	Magas előállítási hatékonyság	-1 / 0	-1 / +1	-1
$\mathbf{Y_3}$	Alacsony részecskeméret	-1	-1 / +1	-1
$\mathbf{Y_5}$	Magas bezárási hatékonyság	-1 / 0	+1	-1
$\mathbf{Y_6}$	$Q_6 \rightarrow$ 20-80% 6 órán belül	0 / +1	+1	-1 / +1

<u>A független változók által mutatott összefüggések:</u>

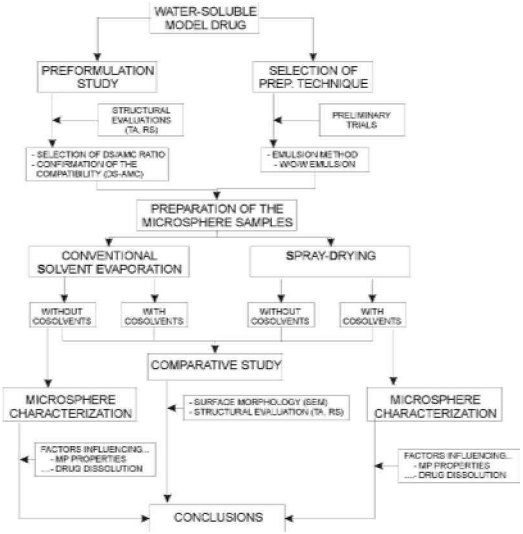
- A koszolvens logP értéke ($\mathbf{X_1}$): A CH_2Cl_2+koszolvens összetétel kulcsfontosságú volt a mikroszférák tulajdonságainak kialakulásában. Az Me_2CO és MeCOEt bizonyult a legjobb koszolvensnek, melyek alacsony W_1/O emulzió viszkozitást és gyors kopolimer-precipitációt biztosítottak. Az *n*BuOAc és különösen az *n*PrOH használata kedvezőtlenebb, mert kevéssé felhasználható *EE* és Q_6 értékeket eredményeztek. A hasznosság szempontjából a koszolvensek felállított sorrendje tehát: *n*BuOAc< *n*PrOH< MeCOEt< Me_2CO. Tehát a CH_2Cl_2 eredményesen helyettesíthető poláros koszolvensekkel, az összetett emulzió megtartotta stabilitását a porlasztva szárítás műveletéig.

- **Koszolvens koncentrációja (X_2)**: Az X_2 legnagyobb értéke (+1) pozitív hatást gyakorolt a termék jellemzőire, a CH_2Cl_2 75 % w/w koncentrációban is helyettesíthető koszolvensekkel.
- **DS/AMC arány (X_3)**: A vizsgálatok alapján az 1:32-es hatóanyag/kopolimer arány bizonyult hatékonynak. Az 1:16-os arány kevésbé stabil W_1/O emulziót eredményezett, amely gyakran a hatóanyagnak a külső vizes fázis felé történő diffúzióját okozta, így a bezárási hatékonyság csökkent ezen ozmotikus hatásoknak köszönhetően. A nagyobb átlagos szemcseméret és az alacsonyabb előállítási hatékonyság ellenére a *legfontosabb* követelményt, a nyújtott hatóanyag-felszabadulást az 1:16-os arány is teljesítette. Ez a tény az 1:16 hatóanyag/kopolimer arányt is optimálissá teheti, mivel így a formulálandó gyógyszerforma egyszeri dózisa ugyanolyan hatóanyag-kioldódási profil eléréséhez kevesebb segédanyagot kell, hogy tartalmazzon.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

A PhD disszertáció célja preformulációs tanulmányok után SE- és SD-mikroszférák formulálásának optimálása volt. Az optimálási lépéseket az **5. ábra** foglalja össze.

5. Ábra. Összefoglalás – a mikroszférák fejlesztésének a disszertációban követett útvonala



Preformuláció

Preformulációs célra a kopolimer (AMC) a hatóanyaggal, a védőkolloiddal és a lágyítóval egyenként és kombinációban képzett *fizikai* keverékeit és a hatóanyag-kopolimer *modell* keverékét készítettem el. Az összetételek változtatása nem okozott lényeges, a hatóanyag és a kopolimer közötti kölcsönhatásra utaló változást az RS mérések alapján. A TA és RS mérések eredményei alapján a hatóanyag/kopolimer arány széles tartományban változtatható a formuláció optimalizálása során mind az SE-, mind az SD-technika alkalmazása esetén.

A diltiazem-hidroklorid (DH) mikroszférák esetében a TA a hatóanyag molekuláris diszperziójára utalt a chitosan-mátrixban (CHT), hatóanyagkristály jelenléte SEM vizsgálatokkal nem volt kimutatható. Az előállítás körülményei kedvezően befolyásolták a részecskeméretet, a mikroszférák szférikus alakot mutattak. Az 1:1-es DH/CHT arány bizonyult a legmegfelelőbbnek.

SE- és SD-mikroszférák formulálás optimalálása

A hangsúly az előállítási paraméterek (keverési sebesség, hatóanyag/kopolimer és lágyító/kopolimer arány) hatásainak vizsgálatán volt, a W_1/O emulzió, a mikroszférák szerkezete és tulajdonságai, a morfológiai és fizikai-kémiai tulajdonságok, illetve az *in vitro* hatóanyagfelszabadulás szempontjából.

A röntgen fluoreszcens spektrofotometriás mérések (EDXRF) használata a mikroszférák bezárási hatékonyságának (EE) vizsgálatára a munka újdonságai közé tartozik. Az összetett emulziós módszer a mikroszférák nagy előállítási hatékonysággal történő előállítását tette lehetővé a 100-300 ∝m-es mérettartományban.

<u>Az ismertetett eredmények alapján levonható következtetések:</u>

(**1**) A W_1/O emulziók előállítása során a magas keverési sebesség a mikroszférák előnytelen tulajdonságait eredményezte. A W_1/O emulzió viszkozitásának növelése, változatlan összetétel mellett, 90 mPas-ig biztosította megfelelő tulajdonságú termék keletkezését. A vizsgálatok alapján a W_2 fázis mennyiségéből, ezáltal a felhasznált segédanyagok mennyiségéből kevesebb szükséges.

(**2**) A hatóanyag-koncentráció növelése a részecskeméret növekedését eredményezte, a viszkózusabb, stabilabb W_1/O emulzió a bezárási hatékonyság növekedése irányába hatott. A hatóanyag-tartalom és a lágyító koncentrációjának növelése ellentétes hatást gyakorolt a részecskeméretre. A kovalensen nem kötött lágyító használatával hidrofilebb karakterű, de lipofil mikroszférák előállítása történt, ez a hatóanyagfelszabadulás növekedését eredményezte. A lágyító koncentrációjának változtatása nem befolyásolta a W_1/O emulzió viszkozitását. Tehát a nyújtott hatóanyag-felszabadulás elérését kisebb lágyító-koncentráció eredményezi.

(**3**) Az SD-mikroszférák formulálásának optimálása során végzett kvantitatív faktoriális kísérlettervezés eredményei szerint az ICH besorolás szerint a 3-as osztályba tartozó poláris (ko)szolvensek használata és a hatóanyag/kopolimer (DS/AMC) arány változtatása hatékony módja az összetétel fejlesztésének. Lineáris összefüggés mutatkozott a független (koszolvens logP értéke, koszolvens koncentrációja, DS/AMC arány) és a függő változók (W_1/O emulzió viszkozitás, részecskeméret, előállítási és bezárási hatékonyság, Q_6 érték) között. A vizsgált poláros koszolvensek hatékonyan helyettesítették a CH_2Cl_2-t a 25-75% w/w koncentrációkban. Típusuktól függetlenül még magas koncentrációban is csak kisebb eltéréseket okoztak a mikroszférák szerkezetében a DSC profilok alapján, viszont a mikroszférák lényeges különbségeket mutattak fizikai-kémiai paramétereik tekintetében. A mérések igazolták a hatóanyag molekulárisan diszperz állapotát a mikroszférákban. A DSC-mérések a termékek stabilitását is kimutatták. Az SE- és SD-mikroszférák összehasonlító

vizsgálatai a DSC görbék alapján csak az előállítási módszerek és a hatóanyag-tartalmú, illetve -mentes minták között tártak fel lényeges szerkezeti különbséget.

(**4**) A változók optimálásához a cél 20-80%-os (időben nyújtott) hatóanyag-felszabadulás volt 6 órán belül. Az optimálás kvantitatív faktoriális kísérlettervezés alapján történt. A módszer robusztusságának vizsgálata az Me_2CO oldószer *n*PrOH-ra történő cseréjével történt. Az Me_2CO és a MeCOEt bizonyultak optimális oldószernek, amelyek a legjobban elősegítették a kopolimer precipitációját a porlasztva szárítás során és alacsony W_1/O viszkozitást biztosítottak. Az SD-mikroszférák vizsgált paramétereit (primer emulzió viszkozitása, előállítási és bezárási hatékonyság, valamint részecskeméret), illetve a 6 órán túli nyújtott hatóanyag-felszabadulást tekintve a vízzel elegyedő koszolvensek alkalmazása célszerűbb (X_1 = -1/0). A 6 órán belül biztosított, de nyújtott hatóanyag-felszabadulást figyelembe véve fordított a sorrend: *n*BuOAc > *n*PrOH > MeCOEt > Me_2CO (X_1 = 0/+1). A koszolvensek koncentrációja a következő sorrendben bizonyult optimálisnak: 50<25<75% w/w, illetve az 1:32-es, valamint az 1:16-os hatóanyag/kopolimer arány volt optimális.

(**5**) A hatóanyag-felszabadulás folyamata diffúzió-kontrollált volt, a Higuchi és a Baker-Lonsdale modellek illeszkedtek a legjobban a vizsgált minták kioldódási görbéire (R^2 > 0,95). A kioldódási kinetika értékelésekor a Higuchi modell volt a legtöbbször illeszthető. Az eredmények alapján a mikroszféra szerkezetében vagy a mátrix homogenitásában előforduló *eltérések* esetén a hatóanyag-felszabadulást a Baker-Lonsdale modell jellemezte leginkább (R^2 > 0,95).

(**6**) 75% w/w, azaz a legmagasabb alkalmazott koncentrációban, a mikroszféra termékekben az ICH besorolás szerint a 3-as veszélyességi osztályba tartozó poláros koszolvensek < 1000 ppm mennyiségben voltak jelen, ami megfelel az ICH és az USP által felállított követelményeknek. A 100% w/w CH_2Cl_2-nal előállított SD-mikroszférák oldószermaradéka (~ 808 ppm) meghaladta a megengedett mértéket.

A fenti eredmények alátámasztják az SE- és SD-mikroszférák alkalmazhatóságát nyújtott hatóanyag-felszabadulás biztosítására. A porlasztva szárításos (SD-)módszer és a poláris koszolvensek alkalmazása ígéretes lehetőséget biztosítanak mikroszférák hatékony és gyors előállítására. A részecskeméret *csökkentése* fontos szempont, ennek megfelelően kolloidális mérettartományba tartozó hatóanyag-hordozó polimeralapú mátrix-részecskék előállítását végeztem el, átlagos részecskeméretük 200-300 nm (nem közölt eredmény). A szabályozott hatóanyag-felszabadulás elérése és a bezárási hatékonyság növelése további kísérleteket igényel. Ezenkívül a CH_2Cl_2 teljes kiváltása poláros oldószerekkel fontos lépés lehet a környezetbarát előállítási technológia kialakításában.

6. ANNEX

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

[I.] ***P. Sipos***, *I. Csóka, S. Srčič, K. Pintye-Hódi, I. Erős*
Influence of preparation conditions on the properties of Eudragit microspheres produced by a double emulsion method *(Drug Dev. Res., 64, 41-54. 2005)* **IF: 0.891**

[II.] *A. Kovács, I. Csóka,* ***P. Sipos****, I. Erős*
Preparation, properties, stability and applicability scopes of complex emulsions in the cosmetics *(J. Oil Soap Cosm., 54, 100-109. 2005)* IF: ---

[III.] *T. Hekmatara, G. Regdon Jr.,* ***P. Sipos****, I. Erős, K. Pintye-Hódi*
Thermoanalytical study of microspheres containing diltiazem hydrochloride *(J. Therm. Anal. Cal. 86. 287-290., 2006)* **IF: 1.438**

[IV.] ***P. Sipos****, M. Szűcs, A. Szabó, I. Erős, P. Szabó-Révész*
An assessment of the interactions between diclofenac sodium and ammonio methacrylate copolymer using thermal analysis and Raman spectroscopy *(J. Pharm. Biomed. Anal., Accepted, 2007)* **IF: 2.121**

[V.] ***P. Sipos****, A. Szabó, I. Erős, P. Szabó-Révész*
Thermal behaviour of ammonio methacrylate copolymer - based microspheres prepared with polar cosolvents by different preparation techniques. A DSC and Raman spectroscopic study *(J. Therm. Anal. Cal. Közlésre elfogadva, 2008)* **IF: 1.438**

[VI.] ***P. Sipos****, K. Pintye-Hódi, I. Erős, P. Szabó-Révész*
Formulation optimization of sustained-release ammonio methacrylate copolymer microspheres. Effects of concentration and log P of polar cosolvents, and role of the drug/polymer ratio ***(Bírálat alatt)***

A PhD munkához tartozó, de az értekezésbe nem került közlemények

[VII.] ***P. Sipos****, I. Csóka, I. Erős*
Preparation and investigation of Eudragit microparticles, I. Microspheres – drugs with different water solubility *(Eur. J. Pharm. Sci., 25, S187-189, 2005)* IF: 1.949

[VIII.] *G. Regdon Jr., T. Hekmatara,* ***P. Sipos****, I. Erős, K. Pintye-Hódi*
Diltiazem hydrochloride and tolperisone hydrochloride containing microspheres and their thermoanalytical testing *(Eur. J. Pharm. Sci., 25, S176-178, 2005)* IF: 1.949

[IX.] *I. Erős, Zs. Makai, Z. Aigner, J. Bajdik,* ***P. Sipos***
Preparation and investigation of alginate based pharmaceutical dosage forms *(Eur. J. Pharm. Sci., 25, S94-96, 2005)* IF: 1.949

Egyéb közlemények

[X.] *M. Shourbaji,* ***P. Sipos****, S. Maher, P. Szabó-Révész, I. Erős*
Liberation of active substance from pharmaceutical suspensions I., Effect of surfactants on the active substance dissolving *(Acta Pharm. Hung., 2007)* IF: ---

[XI.] *M. Mohnicke,* ***P. Sipos****, Y. Zhou, J. Ulrich, P. Szabó-Révész*
Spray drying techniques in the crystallization of riboflavin *(BIWIC, 2005,* ISBN: 3-86010-797-6*)* IF: ---

Az értekezés alapjául szolgáló előadások és poszterek

PP = Poszter előadás, OP = Verbális előadás

[1.] *K. Sütő, I. Csóka,* ***P. Sipos****, I. Erős*, Multiple emulsion as pharmaceutical dosage form, *Symposium on Lipid and Surfactant Dispersd Systems, Moscow, 167-168, 1999* PP

[2.] ***P. Sipos****, I. Csóka, I. Erős*, V/O/V típusú emulzióból előállított mikrorészecskék hatóanyag-felszabadulásának jellemzése, *Országos PhD-hallgatói konferencia, Gödöllő, 2000* PP

[3.] *I. Csóka, K. Sütő,* ***P. Sipos****, I. Erős*, Characterization of multiple emulsions, *6th European Congress of Pharmaceutical Sciences, EUFEPS 2000, Budapest, Eur. J. Pharm. Sci., S15, 2000* OP

[4.] ***P. Sipos****, I. Csóka, I. Erős*, Mikroszféra – új lehetőség a hatóanyagok biohasznosíthatóságának fokozására, *Gyógyszerkémiai és Gyógyszertechnológiai Szimpózium, Visegrád, 2001* OP

[5.] ***P. Sipos****, I. Csóka, I. Erős*, Preparation of Eudragit microspheres with different internal matrix structures by means of different solvent evaporation techniques, *3rd International Conference of PhD Students, Miskolc, 177-179, 2001)* OP

[6.] ***P. Sipos****, I. Csóka, I. Erős*, Preparation of Eudragit microspheres with different internal matrix structures by means of different solvent evaporation techniques, *4. Zentraleuropäischen Symposium für Pharmazeutische Technologie, Wien, S262-263, 2001* PP

[7.] *I. Csóka, I. Erős,* ***P. Sipos****, K. Sütő, E. Bodnár, E. Soós-Csányi, M. Makai*, Drug liberation from emulsion drug delivery systems. 3. Drug liberation from multiple emulsions, *8th Conference on Colloid Chemistry, Keszthely, 68.p., 2002* PP

[8.] *I. Csóka, K. Sütő, T. Pénzes,* ***P. Sipos****, I. Erős*, Összetett emulziók stabilitása, *V. Nemzetközi Kozmetikai és Háztartásvegyipari Kongresszus, 87.p., 2002* PP

[9.] ***P. Sipos****, I. Csóka, I. Erős*, Eudragit mikroszférák előállítása módosított V/O/V összetett emulziók segítségével, *XIV. Országos Gyógyszertechnológiai Konferencia, Hévíz, 79.p., 2002* PP

[10.] ***P. Sipos****, I. Csóka, I. Erős*, Porlasztva szárítással előállított Eudragit mikroszférák vizsgálata, *Gyógyszerkémiai és Gyógyszertechnológiai Szimpózium, Visegrád, 2002* OP

[11.] ***P. Sipos***, Összetett emulziós technikával előállított Eudragit mikroszférák vizsgálata, *VI. Clauder Ottó Emlékverseny, Budapest, 17.p., 2002* OP

[12.] ***P. Sipos****, I. Csóka, I. Erős*, Összetett emulziós technikával előállított Eudragit mikroszférák vizsgálata, *XII. Congressus Pharmaceuticus Hungaricus, Budapest, 2003* PP

[13.] *T. Hekmatara, G. Regdon Jr.,* ***P. Sipos****, I. Erős, K. Pintye-Hódi*, Thermoanalytical testing of microspheres containing diltiazem hydrochloride and tolperisone hydrochloride, *8th International Conference on Pharmacy and Applied Physical Chemistry, PhandTA 8., Monte Verita, 22.p., 2004* PP

[14.] ***P. Sipos****, Zs. Makai, I. Erős*, Gyógyszertartalmú mikrorészecskék szemcseméret-analitikája, *IX. Szemcseméret-analitikai, Környezetvédelmi és Portechn. Szimpózium, B.füred, 96-97., 2004* PP

[15.] ***P. Sipos****, I. Csóka, S. Srčič, K. Pintye-Hódi, I. Erős*, Influence of preparation conditions on the properties of Eudragit microspheres produced by a double emulsion method, *PharmaBioTec Europe, Symposium of Pharmaceutical Biotechnology, Trieste, 2004* PP

[16.] ***P. Sipos****, I. Erős, P. Szabó-Révész*, Mikrorészecskék – Új lehetőségek a hatóanyagok biológiai használhatóságának fokozására, *A Magyar Tudomány Ünnepe, Szeged, 2004* OP

[17.] *E. Bányai,* ***P. Sipos****, I. Erős*, Paracetamol tartalmú mikrorészecskék a gyógyszerészetben, *XXXIX. Rozsnyay Mátyás Emlékverseny, (országos 2. helyezés) Lillafüred, 2004* OP

[18.] ***P. Sipos****, I. Csóka, I. Erős*, Preparation and investigation of microparticles, Microparticles with different coating material, Drugs with different water solubility, *6th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Siófok, 2005* PP

[19.] ***P. Sipos****, P. Szabó-Révész, I. Erős*, Mikroszférák és mikrokapszulák előállítása és vizsgálata különböző vízoldékonyságú hatóanyagokkal, *XIII. Congressus Pharmaceuticus Hungaricus, Budapest, 105.p., 2006* PP

[20.] ***P. Sipos****, I. Erős, P. Szabó-Révész*, Nyújtott gyógyszer-felszabadulást biztosító mikroszférák előállításának optimálása kísérlettervezéssel, *7. KeMoMo – QSAR Miniszimpózium, Szeged, 2007* OP

Az értekezés témájához nem tartozó előadások és poszterek

[No. **21 - 40.**]