

Szegedi Tudományegyetem  
Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Gyógyszertechnológia Oktatási Program  
Programvezető: Prof. Dr. Révész Piroska

Gyógyszertechnológiai Intézet  
Témavezető: **ifj. Dr. Regdon Géza**

**Nikowitz Krisztina**

## **VÍZOLDÉKONY HATÓANYAGOT TARTALMAZÓ BEVONT PELLETEK ELŐÁLLÍTÁSA ÉS VIZSGÁLATA**

### **Szigorlati bizottság:**

Elnök: *Prof. Dr. Erős István*, SZTE GYTK Gyógyszertechnológiai Intézet  
Tagok: *Dr. Antal István*, SE GYTK Gyógyszerészeti Intézet  
*Dr. Zupkó István*, SZTE GYTK Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet

### **Bíráló bizottság:**

Elnök: *Prof. Dr. Máthé Imre*, SZTE GYTK Farmakognóziai Intézet  
Opponensek: *Prof. Dr. Zelkó Romána*, SE GYTK Egyetemi Gyógyszertár Gyógyszerügyi  
Szervezési Intézet  
*Dr. Bácskay Ildikó*, DE OEC Gyógyszertechnológiai Intézet  
Tagok: *Dr. Dávid Ádám*, EGIS Gyógyszergyár Nyrt.  
*Dr. Martinek Tamás*, SZTE GYTK Gyógyszerkémiai Intézet

Szeged

2014

## **1. Bevezetés**

A piacra kerülő gyógyszerkészítményeknek számos kritériumnak kell megfelelniük. Ezek legtöbbje, bár kulcsfontosságú a hatás szempontjából, nem termékspecifikus és nem reflektál a végső gyógyszerforma funkcionalitását meghatározó szabályszerűségekre. Míg ezen kritériumok és vizsgálataik kiemelt figyelmet kapnak és számos fejlett technikát fejlesztettek ki meghatározásukra, a kész gyógyszerforma viselkedésének megértése háttérbe szorult, noha szükség lenne rá a termékviSSzahívások elkerülése érdekében.

A modern gyógyszerkészítmények vitathatatlanul legfontosabb tulajdonsága a kioldódás, minthogy ez határozza meg a gyógyszer hatásosságát. A mind a betegek, mind az orvosok által előnyben részesített módosított hatóanyag-leadású készítmények kioldódási profilja a kezelt állapot jellemzőihez igazítható, ezért e készítmények esetében a kioldódást befolyásoló tulajdonságok ismerete különösen fontos. Munkánk során modell összetételeken vizsgáltuk a pelletek kioldódását potenciálisan befolyásoló tulajdonságokat és kísérletet tettünk a módosított hatóanyag-leadású pelletek viselkedésének megismerésére.

## **2. Célkitűzés**

A pellet tartalmú gyógyszerformák egyre nagyobb népszerűsége tesz nek szert, ennek ellenére még az egyébként rutinnak számító eljárások esetében is sokkal kevesebb közlemény foglalkozik vizsgálatukkal, mint a tablettákéval. Célul tűztük ki a különböző analitikai módszerek alkalmazását, szükség esetén kifejlesztését vagy módosítását a pelletek vizsgálatára, valamint az egyéb gyógyszerformák vizsgálatában sikerrel alkalmazott módszerek korlátainak meghatározását pelletek esetében.

Munkánk első szekciója egy Raman-spektroszkópiás eljárás kifejlesztését írja le, amellyel piridoxin-hidroklorid tartalmú pelletek filmvastagságát határoztuk meg. Két különböző konfigurációjú berendezésben készült azonos összetételű minták segítségével tanulmányoztuk az előállítás körülményeinek hatását a vizsgálat eredményére.

A második szekcióban egy nem tipikus jelenség okaira keressük a választ, amely diltiazem-hidroklorid tartalmú rétegzett pelletekben lépett fel. E szekció két kisebb részre tagolódik: a jelenség hátterének és a minta tulajdonságaira gyakorolt hatásának

feltárása az első, míg a kristályossági fok intakt pelletékből történő meghatározása a második részben kapott helyet.

### **3. Anyagok**

Modell hatóanyagként diltiazem-hidrokloridot (Ph. Eur., az EGIS Nyrt., Budapest adománya) és piridoxin-hidrokloridot (Ph. Eur.) alkalmaztunk, Cellet 500 (Shin-Etsu Chemical Co., Ltd., Tokió, Japán, a Harke Pharma ajándéka) inert magot és Kollidon 25 (polivinil-pirrolidon; BASF, Ludwigshafen, Németország), ill. Pharmacoat 606 (hipromellóz; BASF, Ludwigshafen, Németország) kötőanyagot használtunk a hatóanyag rétegzéséhez, valamint bevonatként az Acryl-EZE (Colorcon, Dartford, Kent, Egyesült Királyság) polimetakrilátot tartalmazó, készre formulált bevonórendszert vittünk fel.

### **4. Minták**

A minták neve két vagy három betűből és két számból áll. Az első betű a mintában található hatóanyagra utal az alábbiak szerint:

D –diltiazem-hidroklorid

P – piridoxin-hidroklorid.

A második betű a mintában alkalmazott kötőanyagot jelzi:

K – Kollidon 25

P – Pharmacoat 606.

A PP jelzésű minták esetében a harmadik betű az előállítás helyét jelöli:

S – Szeged

D – Düsseldorf, Németország.

Az első számjegy 0 vagy 1, amely a bevonat hiányára vagy meglétére utal. A második számjegy a sarzsszámot jelzi.

### **5. Eredmények és értékelés**

#### *5.1. - I. szekció – Piridoxin-hidroklorid tartalmú pelletek*

##### 5.1.1. Mintaelőállítás

A mintaelőállítást két különböző Strea-1 készülékben azonos sarzsmérettel végeztük. A két berendezés közti fő különbség a Wurster-kolonna használata és a kolonna geometriája volt. A felszereltség miatt a paraméterekben fellépő

különbségeket az 1. táblázat tartalmazza. A rozsdamentes acél kolonnát inline Raman mérésekre alkalmas szondával ellátva használtuk.

1. táblázat: A hatóanyag-rétegzés és a bevonás paramétere

|                            | Strea-1 - Szeged                     | Strea-1 - Düsseldorf           |
|----------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| Belépő levegő hőmérséklete | 50 °C                                | 50 °C                          |
| Kilépő levegő hőmérséklete | 43 °C                                | 37 °C                          |
| Adagolási sebesség         | 6 ml/min                             | 6 ml/min                       |
| Belépő levegő sebessége    | 80 m <sup>3</sup> /h (változtatható) | 130 m <sup>3</sup> /h (fixált) |
| Fúvóka átmérő              | 1 mm                                 | 1 mm                           |
| Kolonna anyaga             | Üveg                                 | Rozsdamentes acél              |
| Wurster-kolonna            | Igen                                 | Nem                            |
| A porlasztó elhelyezkedése | Alsó                                 | Alsó                           |

A szegedi készülék jelentősen jobb kitermelést produkált: a hatóanyag-rétegzés 98-99%, míg a bevonás 96-98% értékeket eredményezett. A düsseldorfi berendezésnél megfigyelt kisebb, 92-95%-os rétegzési és 91-94%-os bevonási értékekhez valószínűleg a kolonna kialakítása is hozzájárult. A rozsdamentes acél kolonna alakja elősegíti az ütközéseket az egyes szemcsék, ill. a szemcsék és a berendezés fala között.

### 5.1.2. A hatóanyag-tartalom és a bevonatvastagság meghatározása

#### 5.1.2.1. Szemcseméret és filmvastagság

A piridoxin-hidroklorid tartalmú mintákat a Leica és a Camsizer műszerekkel is vizsgáltuk. A Leica készülékkel végzett analízishez 300 szemcsét vizsgáltunk, és eredményeit a Camsizerrel mért mintegy 15000 részecske adataival vetettük össze.

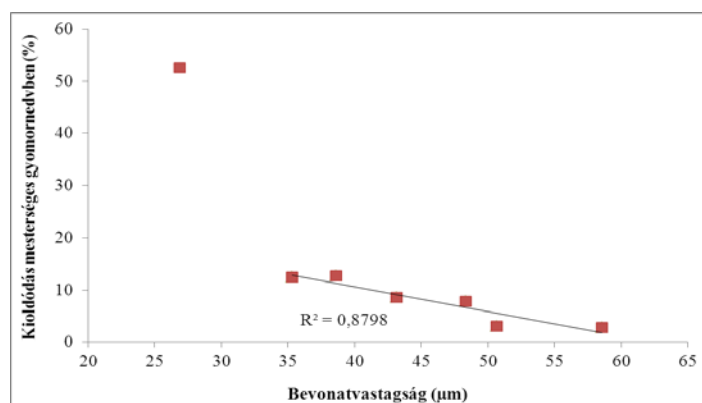
A két módszerrel kapott eredmények mind az átlagos szemcseméret, mint a bevonatvastagság esetében következetesek: míg a filmvastagságra kapott értékek többnyire egyenlőnek tekinthetők, az átlagos szemcseméret a Leicával mérve általában nagyobb, de (amint az a filmvastagság értékeiből következtethető) ez az eltérés állandó. Ez nagy valószínűséggel a berendezések közötti különbségekkel magyarázható: A Leica képanalizáló rendszer mozdulatlan szemcséről készült sztereomikroszkópos képeket elemez, ahol a részecskék árnyéka torzíthatja a mérést. A torzítás mértéke függ többek között az alkalmazott szoftvertől és az elemzett képek felbontásától. A Camsizer a mozgó (szabadon eső) szemcsék árnyékát méri, így a torzító hatás a kalibráció során kiküszöbölhető.

A továbbiakban a Camsizerrel kapott filmvastagság értékeket alkalmaztuk. A filmvastagság lineáris korrelációt mutat a felvitt bevonó polimer tömegével ( $R^2=0,9219$ ), ami arra utal, hogy az eltérő előállítási körülmények ellenére a bevonat sűrűsége a két mintasorban azonos.

#### 5.1.2.2. Kioldódás

Foszfát-pufferben (pH=6,8) valamennyi minta teljes kioldódást mutatott 60 perc után. A bevonat gyomornedvvel szembeni ellenállása összefüggést mutatott a filmvastagsággal. A vastagabb bevonatok jobb (tehát kisebb) kioldódási értéket produkáltak mesterséges gyomornedvben. Az előállításhoz használt berendezéstől függetlenül a hasonló filmvastagságú minták hasonló kioldódási értéket mutattak, tehát az előállítási körülmények nem befolyásolták a bevonat minőségét. A 35  $\mu\text{m}$ -es vagy annál vékonyabb bevonatok nem teljesítették a Ph. Eur. gyomorsav-ellenálló filmekkel szemben támasztott követelményeit. A PPD11-es minta (26,88  $\mu\text{m}$ ) kioldását 2 óra után megszakítottuk, mivel a mesterséges gyomornedvben mutatott kioldódása meghaladta az 50%-ot.

A gyomornedvben mutatott kioldódást a bevonatvastagság függvényében ábrázolva látszik, hogy a megszakított kioldódási vizsgálathoz tartozó érték a többitől távol helyezkedik el, azonban e pontot kivonva az elemzésből lineáris összefüggést tapasztaltunk ( $R^2=0,8798$ ) a két érték között (1. ábra). A felvitt bevonó polimer tömege és a kioldódás között nem találtunk szoros összefüggést ( $R^2=0,6842$ ), ami alátámasztja azon korábbi eredményeket, amelyek azt mutatják, hogy a tömegnövekedés nem jelzi megbízhatóan előre a kioldódást annak ellenére sem, hogy a bevonatvastagságnak jó indikátora.



1. ábra: A filmvastagság és a mesterséges gyomornedvben mutatott kioldódás összefüggése (az egyenest az első pont kihagyásával illesztettük)

### 5.1.2.3. Raman-spektroszkópia

Az SNV-korrigált Raman-spektrumokon főkomponens-analízist végeztünk, hogy az alapvonalbeli különbségek torzító hatása nélkül elemezhesük a spektrumok közötti variancia struktúráját, valamint alkalmaztuk a részleges legkisebb négyzetek módszerét (PLS) annak érdekében, hogy mindkét mintasor filmvastagságát egyformán jól prediktáló modellhez jussunk.

Az SNV-korrekció az alapvonal kivonásával és a spektrumok normalizálásával eléri, hogy az egyébként várható, az alapvonalbeli különbségeket leíró első főkomponens ne jelenjen meg az analízis eredményeként. Ezzel a csúcsokban jelentkező változatosság jobban láthatóvá válik. A korrigált spektrumok elemzéséből kitűnik, hogy a spektrumok varianciájának 91,44%-a írható le az első főkomponenssel (PC), ami a titán-dioxidra jellemző csúcsokat mutatja. A második főkomponens a piridoxin-hidroklorid spektrumára hasonlít, de a titán-dioxid  $638,1 \text{ cm}^{-1}$  hullámszámnál található csúcsa is megtalálható benne negatív előjellel. Ezen főkomponens a variancia 6,03%-át fedi le. A főkomponens-együtthatókat (ún. score-okat) koordináta-rendszerben ábrázolva az egyes minták az első főkomponens mentén filmvastagság szerint növekvő sorba rendezetten található meg.

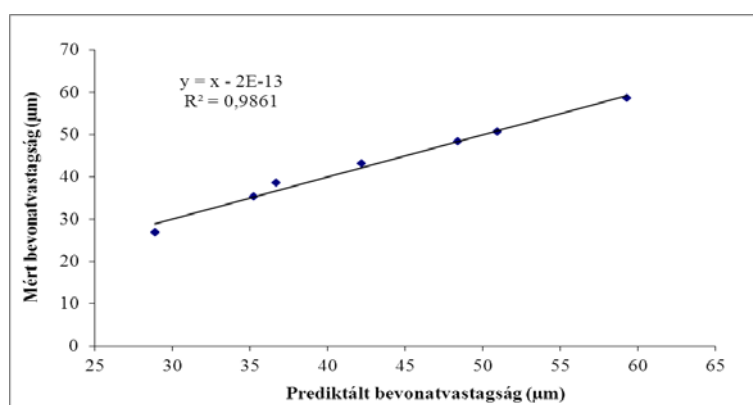
A PLS-analízis hegyomlás-ábrája alapján (nem szerepel) a túlillesztés nélkül legjobb modellt két PLS-komponens használatával kaptuk, amelyek összesen a spektrumok varianciájának 97,4%-át, míg a filmvastagságbeli variancia 98,61%-át magyarázzák.

Az első komponens ismét a titán-dioxid Raman-spektrumára hasonlít. Ez a komponens felel az X-irányú (spektrális) variancia 91,43%-áért, valamint az Y-irányú (bevonatvastagságbeli) variancia 96,36%-áért. Ez azt jelzi, hogy az első komponens egyedül is viszonylag jól képes modellezni a bevonatvastagságot. A második PLS-komponens mindössze 5,94%-ban tartalmazza a spektrumok közti változatosságot és csak 2,25%-ban a bevonatvastagságét. Ez a látens változó a piridoxin-hidrokloridra jellemző csúcsok negatívjait tartalmazza. A két PLS-komponens tehát azt mutatja, hogy a minták fordítottan arányos mennyiségben tartalmazzák a titán-dioxidot és a piridoxin-hidrokloridot; emiatt az analízis várt eredménye egy szignifikáns PLS-komponens volt.

Végleges modellünkben két PLS-komponenst alkalmaztunk, amely 1,15 RMSEC-et (a kalibráció négyzetes hibájának négyzetgyöke) és a „leave-one-out”

módszerrel keresztvalidálva 2,29 RMSECV-t (a keresztvalidáció négyzetes hibájának négyzetgyöke) eredményezett. Az illesztett egyenes meredeksége és y-tengelymetszete szintén alátámasztja a modell érvényességét (2. ábra). Érdeemes megjegyezni, hogy amennyiben csak az első PLS-komponenst alkalmazzuk, az így kapott modell is jó korrelációt ( $R^2=0,9636$ ) mutat, azonban a második komponens alkalmazása valamelyest tovább csökkenti a keresztvalidáció hibáját.

A Raman-spektroszkópiában alkalmazott lézerek kis területet világítanak meg és csekély penetrációval rendelkeznek. Esetünkben a megvilágított terület  $28,3 \text{ mm}^2$  volt, tehát a legkisebb megfigyelt mérettel számolva is kevesebb, mint 100 pelletet mértünk az egyes mintákból egyszerre. Ez a szám jelentősen kisebb a szakirodalomban javasoltnál, és sokkal kisebb, mint a Camsizerrel lemért részecskék száma. Korábbi, nyújtott hatóanyagleadású pelleteken végzett vizsgálatokkal ellentétben, ahol a bevonatvastagságot a kioldódás jó indikátorának találták, a késleltetett hatóanyagleadást eredményező bevonatok esetében a kép bonyolultabbnak tűnik. Eredményeink arra utalnak, hogy létezik egy küszöb-érték, amely fölött a fenti összefüggés fennáll. E küszöbérték megjelenésének egyik oka az elégtelen filmképződés lehet. A minta által az alsó porlasztásos berendezésben elszenvedett nagyobb mechanikai stressz repedések és töredeзések keletkezésén keresztül hozzájárulhatott a rossz kioldódási eredményhez, ami a vékonyabb bevonatokat (pl. a PPD11 minta esetében) hátrányosabban érintheti, mint a vastagabb bevonattal ellátottakat.



2. ábra: Az SNV-korrigált Raman-spektrumok PLS-regressziójából származó lineáris modell

### 5.1.3. Összefoglalás

Két különböző fluidizációs berendezésben előállított mintasorozat filmvastagságának Raman-spektroszkópiás mérését valósítottuk meg. A kioldódási vizsgálatok során nem találtunk olyan utalást, ami azt jelezné, hogy a különböző berendezésekben előállított bevonatok különböznenek, azonban az előállítási paraméterek és a Raman-spektrumok arra utalnak, hogy bizonyos szintű szerkezeti különbségek fennállnak. Az eredmények alapján a késleltetett hatóanyagleadású pelleték kioldódási eredményei egy küszöbérték felett előre jelezhetők a bevonat vastagsága alapján.

## *5.2. - II. szekció – Diltiazem-hidroklorid tartalmú pelleték*

### 5.2.1. Mintaelőállítás

Mivel a diltiazem-hidroklorid jobban oldódik vízben a piridoxin-hidrokloridnál, nagyobb koncentrációjú oldatot tudtunk alkalmazni az így lerövidülő hatóanyag-rétegzéshez. Ez azonban azt jelentette, hogy a Pharmacoat 606 azonos mennyiségének alkalmazása mellett az oldat túl viszkózussá vált a megfelelő porlasztáshoz. A viszkozitás csökkentése érdekében kötőanyagként Kollidon 25-öt alkalmaztunk a minták egy részénél.

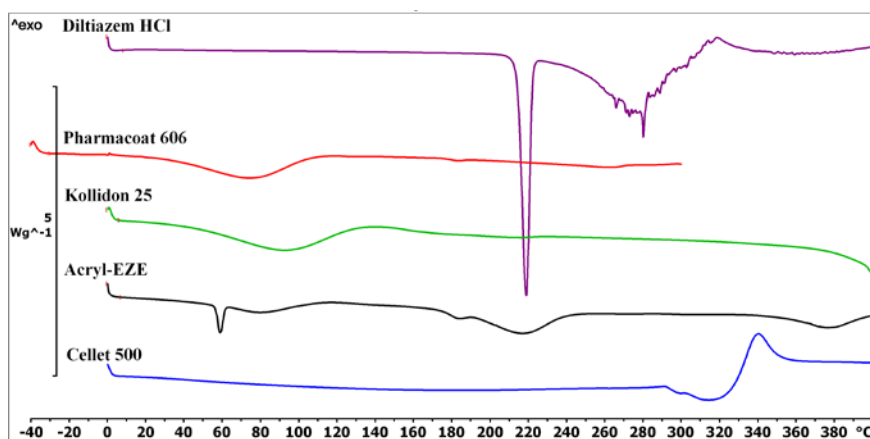
### 5.2.2. A hatóanyag migrációjának és rekrisztallizációjának vizsgálata

#### *5.2.2.1. Termoanalízis*

Az alapanyagok DSC-görbéit a 3. ábra mutatja be. A hatóanyag görbájén 214°C-nál található endoterm csúcs az olvadáspontot jelzi, a második, széles endoterm jel pedig bomlásra utal. A Kollidon 25 és a Pharmacoat 606 görbéin megjelenő széles endoterm csúcsok a polimerek vízvesztését mutatják. Üvegesedési átmenet ( $T_g$ ) nem figyelhető meg, valószínűleg elfedi a vízvesztés hatására megjelenő csúcs illetve a vízvesztés hatására bekövetkező lágysági változások. Az Acryl-EZE  $T_g$ -je ~45°C-nál látható, de a bevonórendszer segédanyagaira jellemző csúcsok nem jelennek meg a görbén.

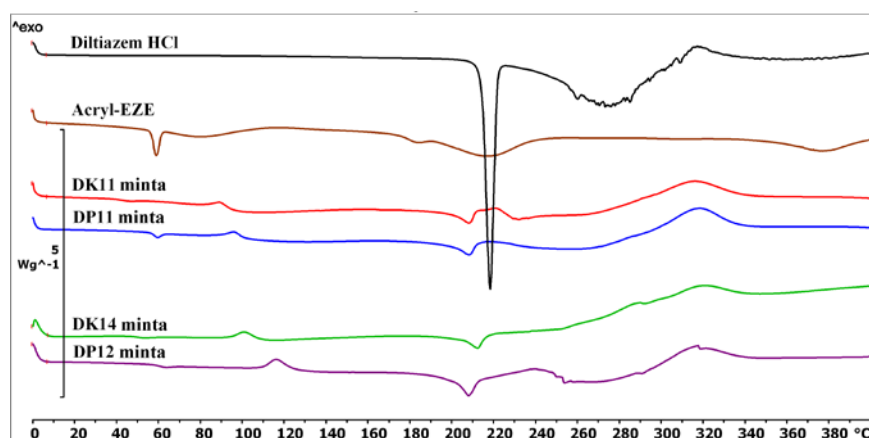
Amint a 4. ábra mutatja, a diltiazem-hidroklorid olvadási endotermje valamennyi mintában megjelenik, ám mintegy 10°C-kal alacsonyabb hőmérsékleten, mint ahogy az a tiszta hatóanyagban megfigyelhető. A bevont minták DSC-görbéin ~100°C-nál exoterm csúcs jelent meg. Az Acryl-EZE  $T_g$ -je nem mutatott jelentős eltolódást, és a kötőanyagként használt polimerek  $T_g$ -je nem látható a görbéken.





3. ábra: Az alapanyagok DSC-görbéi

A TG-görbék alapján megállapítható (nem szerepel), hogy 50°C-nál lassú tömegvesztés kezdődik, ami 100°C-nál enyhén gyorsul. A bevont minták esetében az előbbi érték valamivel nagyobb. A 100°C-ig bekövetkezett tömegvesztés minden esetben mindössze néhány százalék; ez megfeleltethető a kötő polimerek korábban leírt vízvesztésének, ami megmagyarázza a bevont mintákban tapasztalt késlekedést is, hiszen bennük a víz jelentős része a bevonat alatt található. A minták a diltiazem-hidroklorid olvadáspontja felett gyorsan nagy tömegvesztéséget szenvednek, ami ismét egyezik az alapanyagokról szerzett ismereteinkkel.



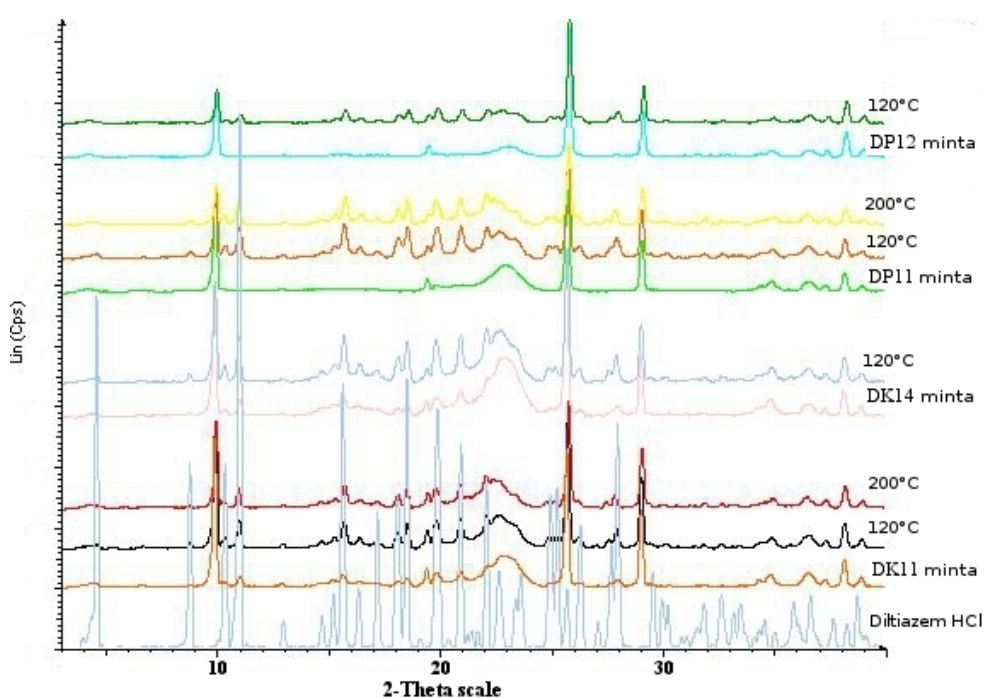
4. ábra: Diltiazem-hidroklorid tartalmú minták reprezentatív DSC-görbéi

#### 5.2.2.2. Porröntgen-diffrakciós analízis

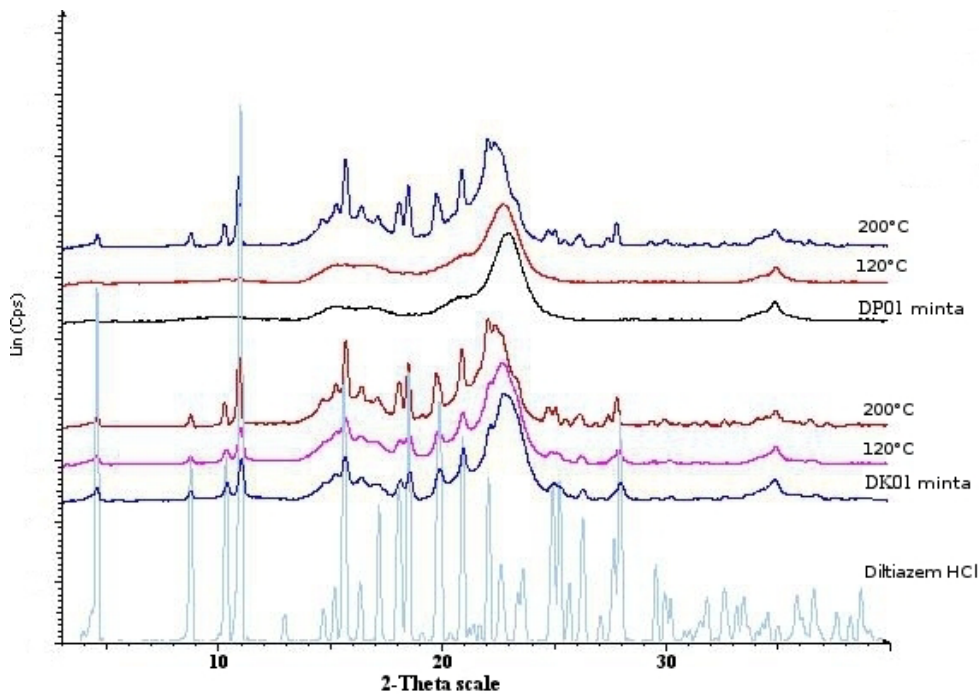
A diltiazem-hidroklorid porröntgen-diffraktogramja több csúcsot tartalmaz; ezek közül a 4,125° 2 $\theta$ ; 8,328° 2 $\theta$ ; 9,907° 2 $\theta$ ; 10,547° 2 $\theta$ ; 18,070° 2 $\theta$ ; 19,442° 2 $\theta$ ; 21,661° 2 $\theta$  és 27,575° 2 $\theta$  értéknél találhatók a minták diffraktogramjaiban is megfigyelhetjük. A Cellet 500, a Kollidon 25 és a Pharmacoat 606 polimer és/vagy

mikrokristályos anyagok, ezért diffraktogramjuk csak kiszélesedett, kis csúcsokat tartalmaz, amelyek nem hátráltatják a más anyagokból származó éles csúcsok azonosítását. Az Acryl-EZE bevonórendszer diffraktogramja két éles, intenzív csúcsot tartalmaz, amelyek a gyártó által összetevőként feltüntetett talkumtól származnak.

A porröntgen diffraktogramokat kiindulási helyzetben szobahőmérsékleten, majd a mintákat 120°C, majd 200°C hőmérsékletre melegítve detektáltuk. A kísérlet eredményei az 5. a és 5. b ábrán láthatók. A bevont minták diffraktogramjaiban 25,648° 2 $\theta$ -nál éles kristályos csúcs jelent meg. Ezt a bevonófolyadékban jelen levő titán-dioxidtól származóként azonosítottuk. A diltiazem-hidrokloridhoz tartozó csúcsok a hőterhelés hatására valamennyi esetben nőttek ill. egyes esetekben megjelentek (a részben már eleve kristályos hatóanyagot tartalmazó minták esetében csak a 9,907° 2 $\theta$ ; 10,547° 2 $\theta$ ; 15,897° 2 $\theta$ ; 18,070° 2 $\theta$ ; 19,442° 2 $\theta$  és 21,661° 2 $\theta$  csúcsok voltak láthatóan jelen). A bevonatlan minták esetében a hatóanyag-csúcsok csak 200°C-ra melegítve jelentek/nőttek meg, míg a bevont minták ugyanezt a jelenséget már 120°C-on mutatták.



5. a ábra: Bevont minták porröntgen diffraktogramja különböző hőmérsékleteken detektálva



5. b ábra: Bevonatlan minták porróntgen diffraktogramja különböző hőmérsékleteken detektálva

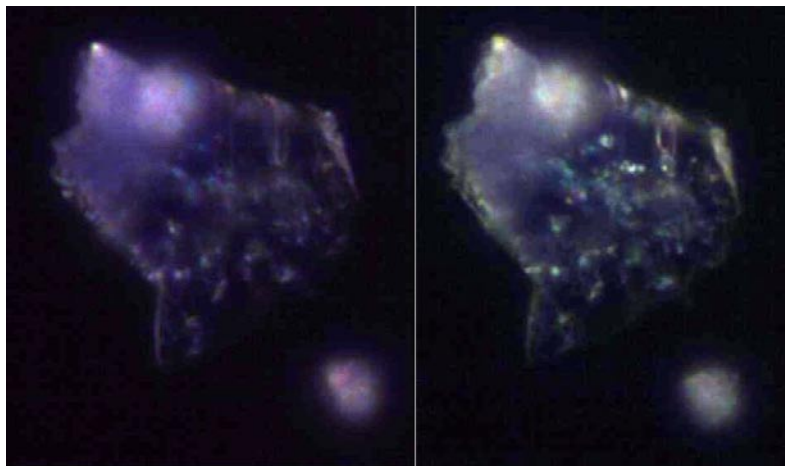
A mintaelőállítás során lejátszódó folyamat igen hasonló a szilárd diszperziók oldatból történő előállításához. Eszerint tehát a hatóanyag-rétegzés során szilárd diszperzió képződhet, amely az összetételtől és az előállítási paraméterektől függően a hatóanyagot annak bármely fizikai állapotában, formájában tartalmazhatja.

### 5.2.2.3. Fűthető tárgyasztallal szerelt polarizációs mikroszkópos vizsgálatok

A bevonat egy darabjának polarizációs mikroszkóppal készült fényképe (6. ábra) keresztezett Nikol-prizma állásnál azt mutatja, hogy a film már a hőkezelés előtt is tartalmaz kristályos anyagot (a 6. ábra bal oldalán). Hőkezelés után (az ábra jobb oldalán) a kettőtörést mutató részecskék száma megnőtt, ami a diltiazem-hidroklorid rekrisztallizációját jelzi.

A hatóanyag a bevonatba vándorolt és részben amorf formában maradt, ami a későbbi hőterhelésre kristályosodott. A migráció legvalószínűbb magyarázata az, hogy a rendkívül jól oldódó diltiazem-hidroklorid feloldódott a felületet érő bevonó diszperzió cseppjeiben a bevonás során, valamint a Mizuno és mtsai. által leírt lágyítási mechanizmus is szerepet játszhatott a folyamatban. A kötő polimerek szintén szerepet játszhatnak azáltal, hogy a hatóanyaggal szilárd diszperziót alakítanak ki, tovább növelve az oldódási sebességet. Ez utóbbi elméletet a DSC analízis is

alátámasztja, hiszen a rekrisztallizációra utaló exoterm csúcs a kötőanyag nélkül készült bevont minta esetében nem jelenik meg. A hatóanyag vándorlása valószínűleg az egységes bevonatréteg kialakulásával lezárul, így csak a hatóanyag kis hányadát érinti.



6. ábra: Bevonatdarab polarizált fényben hőkezelés előtt és után

Tekintve, hogy a hatóanyagréteg már tartalmaz amorf hatóanyagot, a hatóanyag migrációja nem magyarázza megfelelően a rekrisztallizációban a bevont és bevonatlan minták között tapasztalt viselkedésbeli különbségeket. A bevonatlan minták DSC görbéin széles endoterm csúcs figyelhető meg, amely a szakirodalom szerint a kötőanyagként alkalmazott polimerek (PVP és HPMC) vízvesztésével magyarázható. E csúcs a bevont minták görbéiről hiányzik és a TG görbe tanúsága szerint a vízvesztés is csak a forráspontnál indul meg, ami arra utal, hogy legalább a DSC analízis időtartamára nézve a bevonat vízzáró réteggént viselkedhet. A hatóanyag rekrisztallizációjához tartozó exoterm csúcs szintén a víz forráspontjának magasságában található. Ez felveti a kérdést: szerepet játszhat-e a víz a hatóanyag rekrisztallizációjában?

A szakirodalom több olyan elmélet ismertet, amelyek magyarázhatják a víz bevont mintáinkra gyakorolt hatását. Sok tanulmány bizonyítja, hogy a víz polimerek esetében lágyítóként viselkedhet, és mint ilyen, a vizsgálataink során tapasztalt 100°C körüli hőmérsékletre csökkentheti a polimer üvegesedési hőmérsékletét. Mivel a bevonatlan mintákból a víz nagy része a fenti hőmérséklet elérése előtt elpárolog, e minták esetében a hatás nem jön létre. A víz a mikrokristályos cellulóz mag pórusaiba is bekerülhet (kanóchatás) a hatóanyag-rétegzés során. Mivel a diltiazem-hidroklorid erősen vízdékvény, feloldódhat a magból a felszín felé haladó vízben és a szemcse

felszínén a víz elpárolgásával kristályos formában maradhat vissza. A víz a rekrisztallizációt jelző exoterm csúcs hőmérsékletén forr, így a képződő gőz nyomása a pellet pórusaiban valószínűleg gyorsan növekszik a folyamat során. Ahogy korábban leírtuk, a víz lágyító hatást fejt ki, tehát a pórusok a gőznyomás hatására megnőhetnek, ezáltal eltávolítva a rekrisztallizációt addig megakadályozó fizikai gátakat.

#### *5.2.2.4. Stabilitás*

E mechanizmusok egy időben egymástól függetlenül működhetnek és valószínűleg működnek is. Ez a hasonló természetű minták stabilitásának vizsgálatánál problémát jelent; a vizsgálatok során tekintetbe kell venni, hogy a gyorsított stabilitásvizsgálatok során alkalmazott magas páratartalom a polimer mátrix lágyításán keresztül valószínűleg a hatóanyag kristályosodásához vezet.

E probléma kiküszöbölésére a mintákat 40°C hőmérsékleten és 70% relatív páratartalom mellett, 40°C hőmérsékleten alacsony (25%) páratartalom mellett, szobahőmérsékleten 75% relatív páratartalom mellett, valamint szobahőmérsékleten (20°C) és beltéri páratartalom mellett (45%) is vizsgáltuk. A teljesen amorf kiindulási minták mindkét nagy páratartalmú környezetben egy napon belül rekrisztallizálódtak, míg a kisebb páratartalomon tárolt minták a vizsgálat végén, 50 nap múlva is amorfnak bizonyultak.

A vízvesztés rekrisztallizációban játszott szerepének tisztázására lassú fűtési sebességgel újabb TG-DSC vizsgálatokat végeztünk. Az 1°C/min fűtési sebesség várakozásaink szerint biztosíthatta, hogy a víz magasabb hőmérsékletek elérése előtt átdiffundálhasson a bevonaton, ezzel kiegyenlítve a vízvesztési trendeket a bevont és bevonatlan termékek között. A DSC és TG görbék várakozásainknak megfelelően azt mutatták, hogy a tömegvesztés a mintákban hasonlóan alakult, a bevont mintákban csak kismértékű késlekedés volt tapasztalható, valamint a rekrisztallizáció a bevont mintákban a bevonatlan mintákkal azonos időben jelentkezett. Ez alátámasztja, hogy a víz gyors gőzzé alakulása esetünkben kulcsszerepet játszik a rekrisztallizációs viselkedésben jelentkező különbség kialakulásában.

#### 5.2.3. Kristályossági fok megállapítása

A DK01-5 mintákból hat almintát vettünk és porröntgen-diffraktogramjaikat rögzítettük. A diffraktogramok alapján megkíséreltük egy ssNMR-mérésekre

alapozott kalibrációs görbe létrehozását a hatóanyag kristályossági fokának megállapítására.

#### *5.2.3.1. Alapanyagok és minták porröntgen jellemzői*

A DK01-5 minták csak egyetlen kristályos anyagot, a diltiazem-hidrokloridot tartalmazzák; ennek porröntgen-diffraktogramját a korábbiakban ismertettük. Az összetételben szereplő további anyagok polimer és/vagy mikrokristályos (Kollidon 25 ill. Cellet 500) tulajdonsággal bírnak, így diffraktogramjuk széles, elnyúlt csúcshalmaz(oka)t, ún. halo-(ka)t tartalmaz.

A DK03 minta röntgen-amorfnak bizonyult, viszont diffraktogramjában nem jelent meg olyan új halo, amely egyértelműen az amorf hatóanyaghoz lett volna köthető. Ezt okozhatja az, hogy az egyes anyagokból származó halo-k széles  $2\theta$  tartományban átfedik egymást, de eredhet az intenzitás- és koncentrációbeli különbségekből is. Esetünkben valószínűleg mindkét esetről szó van. A többi minta diffraktogramjában a diltiazem-hidrokloridhoz tartozó csúcsok elcsúsztak eredeti helyükről, ennek mértéke azonban sem a csúcsok, sem a minták között nem konzisztens.

#### *5.2.3.2. A kristályossági fok meghatározása egyváltozós módszerekkel*

A legjobb eredményt adó csúcsok és paraméterek kiválasztására előzetes számításokat végeztünk; ezek során a  $9,907^\circ 2\theta$ ;  $10,547^\circ 2\theta$ ;  $19,442^\circ 2\theta$ ;  $20,521^\circ 2\theta$  és  $27,575^\circ 2\theta$  csúcsokat találtuk legjobbnak.

A csúcs alatti területet használó egyváltozós regresszió a tekintetbe vett szélesebb  $2\theta$  tartomány miatt általában jobb eredményre vezet a csúcs magasságát alkalmazónál. Esetünkben azonban a csúcsmagasság majdnem mindig jobb regressziós paraméterekhez vezetett, mint a csúcs alatti terület. A korábban ismertetett egyenlet szerint a területek összegéből is elvégeztük a regressziót. A regressziós modellből számított kristályossági fokot a ssNMR-rel mért kristályossági fok függvényében ábrázoltuk. A modellt leíró matematikai paraméterek közül a meredekséget, az y-tengelymetszetet, a determinációs együttható ( $R^2$ ) és az átlagos négyzetes hiba négyzetgyökét a kalibrációra és a keresztvalidációra nézve (RMSEC és RMSECV) alkalmaztuk. Az illesztést nem az origóból kiindulva végeztük, de a kapott y tengelymetszet értékekből látszik, hogy a modell paraméterei ebben az esetben sem csökkennének jelentősen. Az eredményeket a 2. táblázaban ismertetjük.

2. táblázat: A Savitzky-Golay eljárással simított diffraktogramokból kapott egyváltozós lineáris modellek regressziós paraméterei

|                   | Kristályos és amorf területek hányadosa | Csúcsmagasságok összege | Csúcs pozíciója (2 $\theta$ ) |                   |                   |                   |                   |
|-------------------|---|-------------------------|-------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                   |   |                         | 9,907°                        | 10,547°           | 19,442°           | 20,521°           | 27,575°           |
| Meredekség        | 1                                       | 1                       | 1                             | 1                 | 1                 | 1                 | 1                 |
| y tengely-metszet | $2 \cdot 10^{-5}$                       | $8 \cdot 10^{-5}$       | $5 \cdot 10^{-5}$             | $1 \cdot 10^{-4}$ | $1 \cdot 10^{-4}$ | $3 \cdot 10^{-5}$ | $3 \cdot 10^{-5}$ |
| R <sup>2</sup>    | 0,881                                   | 0,9028                  | 0,9165                        | 0,8846            | 0,8972            | 0,9277            | 0,9173            |
| RMSEC             | 5,12                                    | 4,62                    | 4,28                          | 5,04              | 4,75              | 3,99              | 4,26              |
| RMSECV            | 5,38                                    | 4,86                    | 4,52                          | 5,29              | 5,00              | 4,20              | 4,51              |

Mivel az ssNMR az XRPD-hez képest rendkívül kis mintákkal dolgozik, ésszerű feltételezés, hogy nagyobb eséllyel történnek mintavételi hibák az ssNMR mérések során, így a kapott eredmény nem feltétlen lesz reprezentatív a teljes mintára nézve. Bár az XRPD méréseket megelőző mintavétel során a reprezentatívabb mintavétel érdekében keverést alkalmaztunk, az egyes alminták kristályossági foka egymástól és az ssNMR-rel kapott „elméleti értéktől” eltérhet az előállítás során fellépő áramlás inhomogén volta miatt. Ismételt ssNMR mérések kiküszöbölnék ezen problémát és javítanák a modell minőségét, de a mérések nagy költség- és időigénye miatt párhuzamos mérésekre nem került sor.

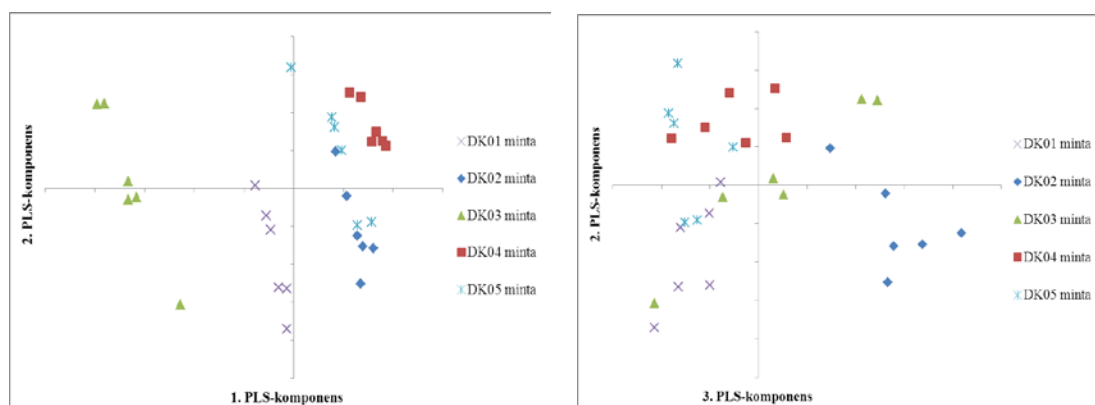
Bár az eredmények ígéretesek, az egyváltozós regressziós modellek messze nem ideálisak, és a fentebb tárgyalt problémák miatt esetenként megbízhatóságuk is kérdéses. A továbbiakban ezért többváltozós analízissel, a részleges legkisebb négyzetek módszerének alkalmazásával a paraméter-kiválasztás nehézségeit kiküszöbölve próbáltunk jobb modellt létrehozni.

### 5.2.3.3. A kristályossági fok meghatározása többváltozós módszerrel

A PLS analízis a hegyomlás-ábra alapján három szignifikáns látens változót eredményezett, amelyek összesen 89,25% porrontgen-varianciát magyaráznak (ez nagyjából megegyezik a főkomponens-analízis eredményével), valamint a kristályossági fok varianciájának 95,81%-át írja le. A PLS-komponensek súlyvektorait ábrázolva a komponensek igen hasonlóak a diltiazem-hidroklorid porrontgen-diffraktogramjához. Mindkét komponens tartalmazza a minták diffraktogramján megfigyelt amorf halo-t pozitív, ill. negatív előjellel. A harmadik PLS-komponens legjellemzőbb eleme egy amorf halo-ra emlékeztető negatív képlet,

ami nem köthető a mikrokristályos cellulózhoz, valamint (a zaj mellett) a hatóanyagra jellemző csúcsokat is tartalmaz.

A komponens-együtthatókat (ún. score-okat) ábrázolva (score plot) ugyanazt a csoportba rendezettséget mutatja, mint a PCA (ld. 7. a ábra). A minták hozzávetőlegesen kristályossági fok szerint növekvő sorrendbe rendezettek az első PLS-komponens tengely mentén. A DK02 és DK05 minták ebben az irányban nem válnak el egymástól, azonban a DK02 minta a harmadik PLS-komponens mentén egyértelműen elkülönül (ld. 7. b ábra).



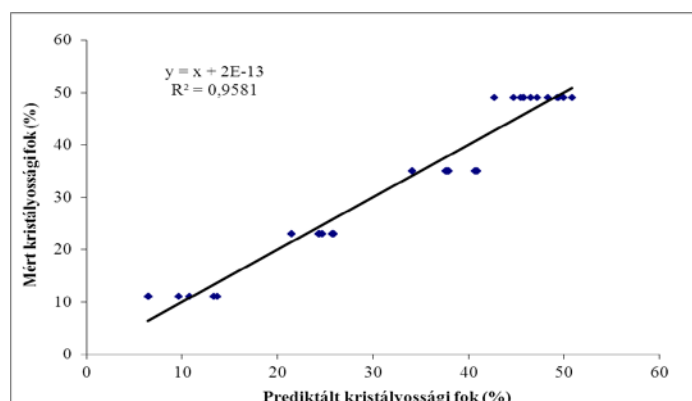
7. a-b ábra: A PLS-komponens együtthatók a PLS-komponensek terében ábrázolva (score plotok)

A 8. ábrán bemutatott, a PLS-analízis eredményeként kapott modell valamennyi korábbi próbálkozásnál jobb mutatókat ér el 3,04 RMSEC és 3,88 RMSECV értékekkel.

Ezen eredmények azt mutatják, hogy a Bragg-Brentano típusú porröntgen-diffraktométer a kezdeti nehézségek ellenére alkalmas lehet az ép pelletek kristályossági fokának meghatározására. Az adatokból egyváltozós analízissel nyert modellek változatos prediktív értékkel rendelkeztek, és gyakran a legjobb modellek származtak a legkétesebb forrásból. Ez jelzi, hogy bár az egyváltozós módszer megfelelő lehet, a modellalkotáshoz felhasznált paramétert nagyon gondosan kell megválasztani. Ezzel szemben a PLS-analízis jobb eredményt adott, és a kapott modell validitása is kevésbé kétségbe vonható. A PLS-modell megalkotása ezenkívül az előkészítő munka hiánya miatt gyorsabbnak is bizonyult, mivel az egyváltozós analízishez nemcsak a csúcsokhoz és az amorf háttérhez tartozó adatok szétválasztására, hanem előzetes számításokra is szükség volt ahhoz, hogy



kiválasszuk a legmegfelelőbb, ebben az esetben egyáltalán nem nyilvánvaló prediktív értékkel bíró paramétert.



8. ábra: A hatóanyag kristályossági fokának PLS-analízissel nyert lineáris modellje ép pelleték porröntgen diffraktogramja alapján

#### 5.2.4. Összefoglalás

Ebben a szekcióban diltiazem-hidroklorid tartalmú pelleteket vizsgáltunk egy érdekes jelenség hátterének és kioldódásra és stabilitásra gyakorolt hatásának felderítésére. Ezenkívül megkíséreltük a bevonatlan minták kristályossági fokának meghatározását ép pelletekből mind egyváltozós, mind többváltozós módszerekkel.

### **6. Összegzés, újdonság, gyakorlati alkalmazhatóság**

Munkánk során különböző faktorok és jelenségek enteroszolvens bevonattal ellátott pelleték kioldódására gyakorolt hatását vizsgáltuk. A mintákat fluidizációs berendezésben oldatrétegzéssel és szuszpenzióból történő bevonással állítottuk elő. Két modell hatóanyagot és két modell hidrophil polimer kötőanyagot vizsgáltunk, majd a négy lehetséges összetételt vizsgáltuk és összevetettük az összetétel, az előállítási paraméterek és a fellépő egyéb jelenségek hatását a rétegzett pelleték viselkedésére.

- Különböző összetételű hatóanyaggal rétegzett és bevont pelleteket állítottunk elő fluidizációs készülékben. Az előállítás során tapasztalt problémákat sikeresen kiküszöböltük. A folyamatot másik berendezésre transzferálva azt tapasztaltuk, hogy a technológia elég robusztus ahhoz, hogy a berendezésekben mutatkozó jelentős különbségek ellenére alkalmazható legyen.
- A szemcseméret meghatározására két különböző képanalízis-módszert vizsgáltunk. A bevonat-vastagság mérésében a két módszer

annak ellenére hasonló eredményeket adott, hogy a részecskeméreteket illetően jelentős eltéréseket tapasztaltunk a két mérés között. Eredményeink alapján a nagyszámú mintát használó automatizált módszer kevésbé volt érzékeny a mintavételből és a minta tulajdonságaiból eredő hibákra.

- A Raman-spektrometria alkalmasnak bizonyult bevont pelletek bevonat-vastagságának mérésére. Többváltozós analízissel a különböző körülmények között készült minták elkülöníthetőek voltak. A fluidizációs készülék típusa és elrendezése valószínűleg befolyásolja a bevonat szerkezetét, ez a különbség azonban a kioldódásra nem gyakorolt hatást. Eredményeinkből következtethetünk a mesterséges gyomornedvben mutatott kioldódás és a bevonatvastagság közötti összefüggésre.
- Feltártuk a bevonat a minták termikus viselkedésére gyakorolt váratlan hatásának okát. A hatóanyag migrációjának kioldódásra gyakorolt hatását elemeztük és vizsgáltuk az általánosan alkalmazott stabilitási vizsgálatok alkalmazhatóságát is.
- A kristályossági fok ép, bevonatlan pelletekből történő meghatározására alkalmas modellt alkottunk.
- A stabilitásvizsgálatok eredményei felhívják a figyelmet a csomagolóanyag és a tárolási körülmények fontosságára.

Valamennyi vizsgálatot a pellet mint gyógyszerforma alaposabb megismerését szem előtt tartva végeztük, mivel e területen sokkal kevesebb tapasztalattal rendelkezünk, mint a tabletták esetén, noha a két gyógyszerforma számos kritikus tulajdonságon és jellegzetes viselkedésformán osztozik.

## PUBLICATIONS RELATED TO THE THESIS

- I. **Krisztina Nikowitz**, Friederike Foltmann, Markus Wirges, Klaus Knop, Klára Pintye-Hódi, Géza Regdon jr., Peter Kleinebudde  
Development of a Raman method to follow the evolution of coating thickness of pellets  
Drug Development and Industrial Pharmacy (in Press, accepted manuscript  
DOI:10.3109/03639045.2013.795583)  
IF: 1.539 (2012)
- II. **Krisztina Nikowitz**, Klára Pintye-Hódi, Géza Regdon jr.  
Study of the recrystallization in coated pellets - Effect of coating on API crystallinity  
European Journal of Pharmaceutical Sciences 48(3):563-571, 2013  
IF: 2.987 (2012)
- III. **Nikowitz Krisztina**, Hódi Klára, *iff.* Regdon Géza  
Rétegzéses technológia elve és alkalmazási lehetősége multipartikuláris rendszerekben  
Gyógyszerészet, July 2011, publication for continuing education.  
IF: -
- IV. **Krisztina Nikowitz**, Péter Kása jr., Klára Pintye-Hódi, Géza Regdon jr.  
Study of the preparation of a multiparticulate drug delivery system with a layering technique  
Powder Technology 205(1):155–159, 2011  
IF: 2.080
- V. Tamás Sovány, **Krisztina Nikowitz**, Géza Regdon jr., Péter Kása jr., Klára Pintye-Hódi  
Raman spectroscopic investigation of film thickness  
Polymer Testing 28(7):770-772, 2009  
IF: 1.667

## PRESENTATIONS RELATED TO THE THESIS

- I. **Nikowitz Krisztina**, *Friederike Foltmann, Markus Wirges, Klaus Knop, Peter Kleinebudde, Hódi Klára, ifj. Regdon Géza*  
Bevonatvastagság jellemzése Raman spektrumok multivariáns analízisével  
XVII. Országos Gyógyszertechnológiai Konferencia és  
IX. Gyógyszer az Ezredfordulón Konferencia 2012, Siófok
- II. **Krisztina Nikowitz**, *Markus Wirges, Klaus Knop, Peter Kleinebudde, Klára Pintye-Hódi, Géza Regdon jr.*  
Physicochemical investigation of a multiparticulate drug delivery system  
4th BBBB Conference, 2011, Bled, Slovenia
- III. *Géza Regdon jr., Krisztina Nikowitz, Klára Pintye-Hódi, Ulrich J. Griesser*  
Study of the recrystallization in coated pellets  
8th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology 2011, Graz, Austria
- IV. **Krisztina Nikowitz**, *Péter Kása jr., Klára Pintye-Hódi, Géza Regdon jr.*  
Study of the preparation of a delayed release drug delivery system  
7th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, 2010, Valetta, Malta
- V. **Nikowitz Krisztina**, *Hódi Klára, ifj. Regdon Géza*  
Diltiazem-hidroklrid tartalmú bevont multipartikuláris rendszerek előállítása és vizsgálata  
Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XIV., 2009, Budapest
- VI. **Nikowitz Krisztina**: Bevonási körülmények és kristályosodási jelenségek vizsgálata bevont pelletekben  
10th Clauder Ottó Emlékverseny, 2011, Budapest
- VII. **Nikowitz Krisztina**, *Sovány Tamás, ifj. Kása Péter, Hódi Klára, ifj. Regdon Géza*  
Különböző bevonatvastagságú rétegzett pelletek előállítása és vizsgálata  
MKE Analitikai Napok, 2010, Budapest