



Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszerésztudományi Kar
Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet

Ph.D. értekezés tézisei

**Mikrokompozitok és pasztillák formulálása porlasztva szárítással és
olvadék technológia alkalmazásával**

Dr. Katona Gábor

Gyógyszerész

Témavezető:

Prof. Dr. Habil. Révész Piroska D.Sc.

Szeged

2017

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Gyógyszertechnológiai Program

Programvezető: Prof. Dr. Habil. Révész Piroska D.Sc.

Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet

Témavezető: Prof. Dr. Habil. Révész Piroska D.Sc.

Dr. Katona Gábor

**Mikrokompozitok és pasztillák formulálása porlasztva szárítással és
olvadék technológia alkalmazásával**

Szigorlati bizottság

Elnök

Prof. Dr. Erős István D.Sc., SZTE, Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet

Tagok

Dr. Dávid Ádám Ph.D., EGIS Plc.

Dr. Gáspár Róbert Ph.D., SZTE, Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet

Bíráló bizottság

Elnök

Prof. Dr. Dombi György D.Sc., SZTE, Gyógyszeranalitikai Intézet

Opponensek

Dr. Bácskay Ildikó Ph.D., DE, Gyógyszertechnológiai Intézet

Dr. Szepes Anikó Ph.D., F. Hoffmann- La Roche Ltd.

Szeged

2017

1. BEVEZETÉS

Napjainkban a gyógyszeripar számos technológiai műveletet alkalmaz, valamint a gyártás közben felhasznált segédanyagok száma is folyamatosan növekszik. Ebből adódóan a tervezés során számos műveleti paramétert kell figyelembe vennünk, amelyek befolyásolhatják a termék minőségét. Különböző gyártási folyamatok innovációjával a kiindulási anyagok megválasztása és a hulladék kezelése hatékonyabbá válhat. A mérgező és/vagy veszélyes reagensek, valamint az oldószer felhasználása elkerülhető a gyártás során, meggátolva ezzel az oldószermaradék megjelenését a termékben. A felhasználandó segédanyagok minimalizálása is fontos tényező a gyógyszerkészítmények formulálásában. A betegek számára meghatározó tényező a különböző kemikáliákkal való kontamináció minimalizálása, csökkentve ezzel az allergia vagy érzékenység lehetőségét.

Új kihívásként jelent meg a gyógyszeriparban a nano- és biotechnológia, ami számos innovatív lehetőséget jelent, azonban a konvencionális technológiai eljárások, mint porlasztva szárítás, vagy olvadék technológia is alkalmasak, új megközelítésben, innovatív termékek formulálására. Ezen ipari technológiák hatékonyan alkalmazhatók szerves oldószermentesen eljárások alkalmazására, bevezetve ezzel a “zöld” gyógyszerészeti gyakorlatot. A műveleti paraméterek optimalizálásával energia, idő és költség takarítható meg. A hőmérséklet csökkentésével pl. a hatóanyag bomlása meggátolható, ráadásul a köztitermék (pl. mikrokompozit) vagy végtermék (pl. pasztilla) egyetlen műveleti lépésben előállítható. A preformuláció során egy gyógyszerhordozó rendszer fejlesztése faktoriális kísérlettervvel, speciális igények figyelembe vételével, is optimalizálható (pl. pediátrikumok).

A pediátrikumok kis mennyiségű hatóanyagot tartalmaznak, így a gyógyszerforma kialakításában a gyógyszerhordozó rendszer formulálása kulcsfontosságú szerepet tölt be. A gyermekek speciális betegcsoportot képeznek, a gyógyszer elfogadása (compliance) nagymértékben javítható a beviteli kapu (per os) és forma helyes megválasztásával, szemben az injekciókkal vagy kúpokkal. Köztudott, hogy a „szupergenerikum” vagy “value added” készítmények különösen fontosak a pediátriai gyakorlatban, a kielégítetlen (orvosi) igények “unmet medical need” kezelésére. Ezek után tehát a konvencionálisan alkalmazott technológiák, mint porlasztva szárítás (Thi et al., *Int. J. Pharm.* 2012, Aguiar et al., *J. Pharm. Pharmacol.* 2016, Kaushik et al., *J. Chem. Pharm. Res.* 2015) vagy olvadék technológia (Phaemachud et al., *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.* 2010) lehetőséget adnak innovatív pediátriai készítmények fejlesztésére (pl. gyógyszeres szívószál és pasztilla).

2. CÉLKITŰZÉS

Munkánk során célul tűztük ki innovatív, pediátriában alkalmazható paracetamol (PCT) tartalmú szilárd gyógyszerhordozó rendszerek (DDS) fejlesztését konvencionálisan alkalmazott technológiákkal, mint a porlasztva szárítás és az olvadék technológia. Porlasztva szárítással mikrokompozitokat kívántunk előállítani gyógyszeres szívószál töltetként, olvadék technológiával pedig „*in situ coating*” eljárást alkalmaztunk pasztillák előállítására. Mindkét technológia esetén két részből állt a kísérletes munka: (i) DDS fejlesztése a munka preformulációs részében, illetve (ii) a hatóanyag inkorporálása a DDS-be. A technológiákat és a vizsgálatokat az 1. ábra szemlélteti.



1. ábra: A kutató munka során alkalmazott technológiák és vizsgálatok

A kutatómunka főbb lépései a következők:

- I. a pediátriában alkalmazott innovatív gyógyszerformák hagyományos módszerekkel (porlasztva szárítás és olvadék technológia) történő előállításának irodalmi feltérképezése,
- II. a megjelölt technológiák, mint szerves oldószermentes eljárások alkalmazása, mesterséges színezék és tartósítószermentes formulációk előállítására,
- III. a DDS-ek preformulációja során alkalmazott segédanyagok különböző műszeres analitikai módszerekkel történő vizsgálata,
- IV. kis (terápiás) mennyiségű PCT, mint modell hatóanyag inkorporálása a DDS-be, pediátriai összetétel tervezése céljából,
- V. léptéknövelhető, iparilag is hasznosítható forma és összetétel ajánlása a gyermekterápia számára.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Anyagok

A kísérletes munka modell hatóanyagaként PCT-t választottunk (Sanofi Aventis Frankfurt am Main, Németország). Egyik segédanyagként a D-(+)-trehalóz dihidrátot (TRE dihidrát, Karl Roth GmbH+Co. KG., Karlsruhe, Németország) választottuk. Ezt tekintettük 100%-os kristályos anyagnak. A D-(+)-trehalóz anhidrátot (β -forma) a TRE dihidrát dehidráálásával állítottuk elő vákuumban 85 °C-on 4 órán keresztül tartva (Nagase et al., *Carbohydr. Res.* 2002) differenciális pásztázó kalorimetriával (DSC) és porröntgen diffrakcióval (XRPD) ellenőrizve. A D-xilitol (XYL), β -D-mannitol (MAN), polietilén glikol 2000 (PEG 2000) és polietilén glikol 6000 (PEG 6000) a Sigma-Aldrich Chemie GmbH-től (Mannheim, Germany), a D-szorbitol pedig a Molar Chemicals Kft.-től (Halásztelek, Hungary) lett beszerezve.

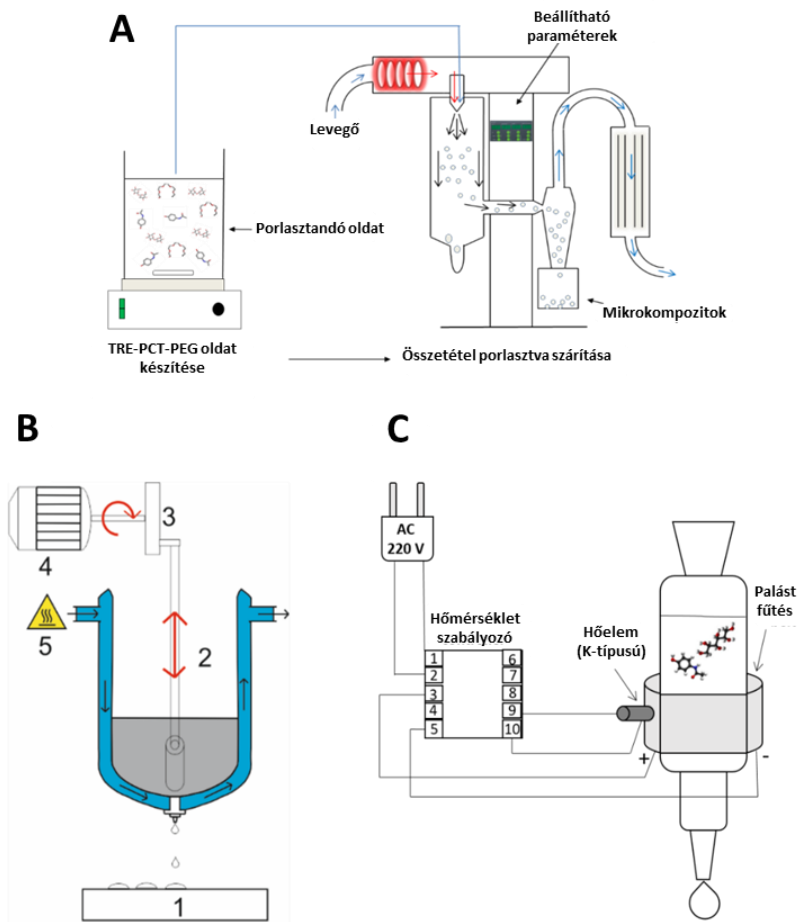
3.2. Módszerek

3.2.1. PCT tartalmú mikrokompozitok és pasztillák előállítása

A rekrisztallizációs kinetika vizsgálatához 10%-os TRE dihidrát tartalmú vizes oldatot, a mikrokompozitok előállításához 7,5% TRE, 1,5% PCT és 1,5% PEG vizes oldatot porlasztva szárítottunk Büchi 191 Mini Spray Dryer készülékkel (Büchi, Svájc) (2A ábra). A porlasztva szárított termékeket a vizsgálatokig exszikkátorban tároltuk kobalt(II)-kloridos szilikagél jelenlétében (25 \pm 2 °C, 32 \pm 5% RH).

A pasztillázáshoz "one-drop" pasztillázó készüléket (Kaiser Steel Belt Systems GmbH, Krefeld, Németország) használtunk (2B ábra). A XYL-MAN és PEG fizikai keverékét, mint a hordozó komponenseinek keverékét, a duplikátor üstben 110 °C-on megolvasztottuk. Egy állandó sebességgel mozgó tengely az olvadékot cseppek formájában átpréseli az üst alján található szelepen a 25 °C-on termosztált fémlemezre, amin az lapos aljú pasztillaként megszilárdul (Wendt et al., *Chem. Eng. Technol.* 2014).

XYL-SORB eutektikum és PEG-ek fizikai keverékét, mint a hordozó komponenseinek keverékét, egy palást fűtéssel felszerelt üveg cseppentőben 110 °C-on megolvasztottuk. A PCT-t eloszlattuk a hordozó olvadékában, majd 25°C-on termosztált fémlemezre cseppentettük, ahol lapos aljú pasztillaként megszilárdult (Fig. 2C) (Bülow et al., *Shaker Verlag* 1997).



2. ábra: Mikrokompozitok előállítása BÜCHI B-191 Mini Spray-Dryer készülékkel (A), one-drop pasztillázó készülék (1 – termosztált fémlemez, 2 – duplikátor üst, 3 - tengely, 4 - motor, 5 - termosztát) (B), palást fűtéssel felszerelt üvegceppentő (C).

3.2.2. Porróntgen diffrakciós analízis (XRPD)

A porróntgen diffrakciós vizsgálatokat Bruker D8 Advance diffraktométerrel (Bruker AXS GmbH., Karlsruhe, Németország) és VANTEC-1 detektorral végeztük. Sugárforrásként Cu K α sugárzást ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$) alkalmaztunk. A minták vizsgálata 40 kV feszültség és 40 mA áramerősség alkalmazása mellett 3° -tól 40° -ig (2θ) történt. A szkennelési sebesség $0,1^\circ/\text{min}$, a lépésköz pedig $0,007^\circ$ volt. A műszer kalibrálása korund segítségével történt. A polimorfok azonosítására a Cambridge-i Krisztallográfiai Adatbázist (CCDC ID: AI631510) használtuk.

3.2.3. Differenciális pásztázó kalorimetria (DSC)

A mintákat METTLER Toledo 821e DSC (Mettler-Toledo GmbH., Gießen, Németország) segítségével vizsgáltuk. A mintákat alumínium tégelyben vizsgáltuk különböző fűtési sebesség mellett, különböző hőmérséklet intervallumokban, állandó argon áram alatt ($150/\text{perc}$).

3.2.4. Porreológiai paraméterek meghatározása

A porreológiai paramétereket egy szoftverrel vezérelt PharmaTest PTG-1 (PharmaTest, Hainburg, Németország) porvizsgáló készülékkel mértük.

3.2.5. Szencseméret eloszlás (PSD)

A porlasztva szárított mikrokompozitok PSD-jét lézerdiffrakciós módszerrel mértük (Malvern Mastersizer Scirocco 2000; Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Egyesült Királyság). A PSD jellemzése a $d(0.5)$, $D[3,2]$ és $D[4,3]$ érték alapján történt.

3.2.6. Pásztázó elektron mikroszkópia (SEM)

A szemcsék morfológiai jellemzése SEM (Hitachi S4700, Hitachi Scientific Ltd., Tokyo, Japán) készülékkel történt. A szemcsék felszínén az elektromos vezetés kiváltására Bio-Rad SC 502 (VG Microtech, Uckfield, Egyesült Királyság) bevonó készülékkel készült.

3.2.7. Raman spektroszkópia (Raman)

A PCT tartalom egységességét a pasztillákban Cobalt TRS 100 (Cobalt Light Systems Ltd., Abingdon, Egyesült Királyság) transzmissziós Raman spektrométerrel (TRS) vizsgáltuk, 1700-200 $1/\text{cm}$ hullámszám tartományban. A különböző PCT polimorfok meghatározása Thermo Fisher DXR (Thermo Fisher Scientific. Inc., Waltham, MA, Egyesült Államok) diszperzív Raman spektrométerrel (DXR) történt, CCD kamera és 780 nm hullámhosszú diódalézer használatával.

A különböző PCT polimorfok lokalizálása a pasztillán belül Raman térképezéssel történt. A kémiai térkép feldolgozása többváltozós görbefulobontás – váltakozó legkisebb négyzetek módszerével (MCR-ALS) készült.

3.2.8. In vitro kioldódási vizsgálat

A PCT kioldódási profilját a mikrokompozitokban és különböző összetételű pasztillákban az USP-2 alapján forgólapátos kioldókészülékkel (Pharmatest, Hainburg, Németország) határoztuk meg. A forgólapát fordulatszáma a kioldás során 75 rpm volt. A kioldódás vizsgálatokat szájüregi körülményeket biztosítva, 100,0 ml ($\text{pH } 6.8 \pm 0,1$) foszfát pufferben és normál testhőmérsékleten ($37 \pm 0,5^\circ\text{C}$) végeztük. A gyomorüregi vizsgálatokat 900,0 ml, 0,1 N HCl oldatban ($\text{pH of } 1,2 \pm 0,1$) testhőmérsékleten ($37 \pm 0,5^\circ\text{C}$) végeztük (Mashru et al., *Drug. Deliv. Ind. Pharm.* 2005, Gahel et al., *Curr. Drug. Deliv.* 2009). A PCT tartalmat spektrofotometriásan határoztuk meg 244 nm-en.

4. EREDMÉNYEK

4.1. TRE alapú mikrokompozitok preformulációs vizsgálata

A preformuláció során különböző analitikai módszerekkel vizsgáltuk és kvantifikáltuk a porlasztva szárított TRE mintákban a különböző fizikai változásokat. Ezen módszerekkel a rekrisztallizációs kinetika jól nyomon követhető, a megjelenő polimorf módosulatok jól detektálhatók.

4.1.1. "Hot-humidity" kamrás XRPD analízis (HH-XRPD)

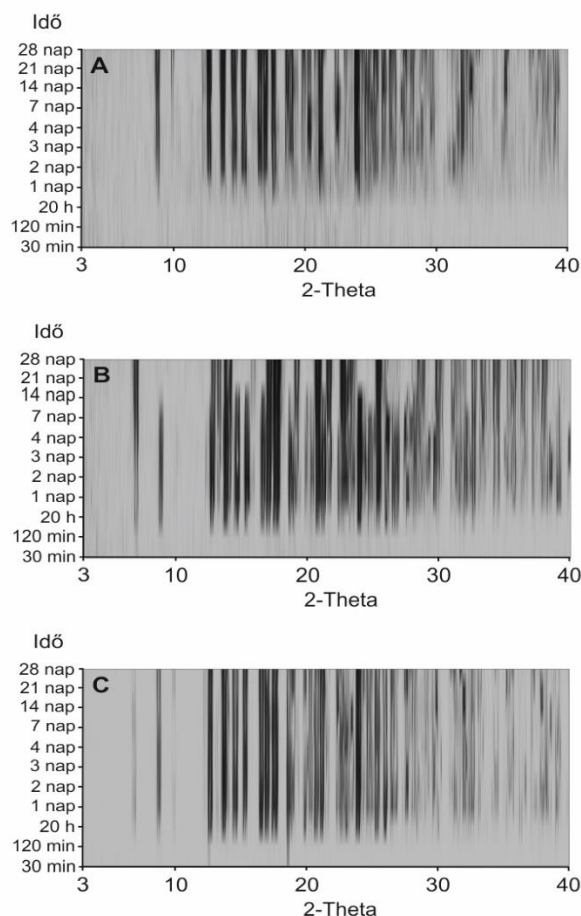
A szilárd gyógyszerformák fejlesztésénél fontos az amorf/kristályos arány meghatározása, vagy a kristályosodást gátló anyagok hatásának vizsgálata, ha a termék különböző hőmérsékleti és RH viszonyoknak van kitéve. Ha egy XRPD-hez csatlakoztatott klímakamrában állandó hőmérsékleten az RH-t kis léptékekben (10%) növeljük, néhány óra alatt pontos képet kapunk a minta viselkedéséről, ami jól korreláltható a hagyományos stabilitási vizsgálatok eredményeivel. A mérés során az RH-t 10, 20, 30, 40, 45, 50, 60 és 70%-ra állítottuk, 40 °C, 60 °C és 70 °C állandó hőmérsékleten, és a mintákat a különböző RH szinteken 1 óra termosztálás után vizsgáltuk. Ezel a vizsgálattal nemcsak a gyártás, tárolás és szállítás során fellépő környezeti hatásokat vizsgálhatjuk, hanem a bevétel után a gyógyszer-szervezet között fellépő interakciók is feltérképezhetők. Ebben a kontextusban a HH-XRPD-t a rekrisztallizációs kinetika meghatározására használtuk. Megállapítottuk, hogy a 40 és 60 °C-on vizsgált minták amorfak maradtak 45% RH-ig, effölött azonban megindult a TRE dihidrát polimorfjának rekrisztallizációja. A 70 °C-on vizsgált minták szintén amorfak maradtak 30% RH-ig, e felett megindult a TRE dihidrát formájának rekrisztallizációja, 60% RH felett pedig megjelent az anhidrát forma is. A 40, 60 és 70 °C-on felvett diffraktogramok a hőmérséklet növelésével egyenesen arányos rekrisztallizációs tendenciát mutattak. A csúcsok relatív intenzitása és csúcs alatti területe nőtt a hőmérséklet emelésével, így kijelenthető, hogy a hőmérséklet befolyásolja a rekrisztallizációs kinetikát.

4.1.2. Higrosztátban tárolt minták vizsgálata (XRPD)

A porlasztva szárított mintákat 28 napon keresztül 40 °C és 60 °C-on, 3-3 higrosztátban tároltuk, ahol azok 30%, 40% és 50% RH-nak voltak kitéve. Ezzel a módszerrel a termék tárolására vonatkozóan szerezhetünk információkat.

A visszakristályosodott TRE frakciókat különböző időpontokban vizsgáltuk a 28 nap során. A hagyományos XRPD vizsgálat azt mutatta, hogy azok a minták, amelyeket 40 °C, 30% és 40% RH-n, valamint 60 °C, 30% RH-n tároltuk, amorfak maradtak. A 40 °C, 50% RH-n tárolt

mintákban TRE dihidrát forma, a 60 °C, 40% RH-n tároltban TRE anhidrát forma, a 60 °C, 50% RH-n tároltban pedig mindkét polimorf forma megjelent. (3. ábra).



3. ábra: 28 napon keresztül tárolt minták felülnézeti XRPD diffraktogramjai 40 °C, 50% RH-n (A), 60 °C, 40% RH-n (B) és 60 °C, 50% RH-n (C)

A 3B ábrán látható, hogy a 8,531° 2θ szögnél lévő sötét sáv 14 nap után eltűnik, ami a TRE dihidrát TRE anhidrát formába történő átalakulását jelzi. Ezt bizonyítja a TRE anhidrát karakterisztikus sávjának megvastagodása 6,572° 2θ szögnél. A 3A és C ábrán nem látható polimorf átalakulás.

A 28 napos stabilitási vizsgálat során megjelenő polimorfok mennyiségét szintén kvantifikáltuk. A 40 °C, 50% RH-n tárolt mintában TRE dihidrát jelent meg, a többi minta ezen a hőmérsékleten amorf maradt. 60 °C, 40% RH-n megjelent a TRE anhidrát forma, viszont a minta kis része amorf maradt. 60 °C, 50% RH-n, mindkét polimorf forma detektálható volt és szinte teljes mértékben rekrisztallizálódott a minta. Ezt a módszert gyakran alkalmazzák DDS fejlesztés során stabilitási vizsgálatként.

4.1.3. DSC vizsgálat

DSC vizsgálat során az XRPD klímakamrájában különböző RH-n (10, 20, 30, 40, 45, 50 és 70%) 1 órán keresztül termosztált mintákat vizsgáltuk 25-250 °C között, 10 °C/perc fűtési sebességgel.

A visszakristályosodott TRE dihidrát mennyiségét a DSC görbén 108 °C-nál megjelenő endoterm csúcs integráljából számítottuk ki, amely csúcs a TRE dihidrát olvadáspontját jelöli. A kristályos frakciók mennyisége azt mutatta, hogy a rekrisztallizáció mértéke jelentősen nő az RH emelésével. Megállapítottuk, hogy a rekrisztallizáció mindhárom hőmérsékleten teljesen végbement. Az eredményeket összehasonlítva látható, hogy a DSC és HH-XRPD vizsgálatok eredményei jól korrelálnak. Ezzel a módszerrel csak a TRE dihidrát formája határozható meg, mivel a vizsgálat során a TRE dihidrát forma olvadéka TRE anhidrát formává kristályosodhat át, hamis mérési eredményt szolgáltatva ezzel. Ennek ellenére azonban a módszer jól alkalmazható preformuláció a során.

A HH-XRPD és DSC vizsgálatok során kapott kristályossági fokokat ábrázoltuk az idő függvényében minden hőmérsékleten. A szigmoid görbék azt mutatták, hogy a hőmérséklet növelésével egyenesen arányos a rekrisztallizáció tendenciája, a rekrisztallizációs félidő pedig csökken. A sebességi állandó (K) és a kristálynövekedés dimenziójának (n) meghatározásához az Avrami paraméterek meghatározására volt szükség. K és n paraméterek meghatározásához az Avrami egyenlet linearizálására volt szükség. Ábrázoltuk az $\ln [-\ln (1-a)]$ értékeket az $\ln (t)$ függvényében és egy egyenest kaptunk, amelynek meredeksége n , tengelymetszete pedig $\ln K$. Az aktivációs energiát (E_a) az Arrhenius egyenlet logaritmikus formájából számoltuk ki (I. táblázat).

I. táblázat: HH-XRPD és DSC módszerrel meghatározott Avrami paraméterek és aktivációs energia.

Módszer	t (°C)	n	K	E_a (kJ/mol)
HH-XRPD	40	3,373	5,79E-04	47,215
	60	3,566	1,70E-03	
	70	3,934	2,84E-03	
DSC	40	3,378	1,69E-03	41,645
	60	2,989	5,98E-03	
	70	3,156	6,29E-03	

4.2. PCT inkorporálása a mikrokompozitba

A TRE hordozó preformulációja után PCT-t inkorporáltunk a rendszerbe gyógyszeres szívószálba tölthető mikrokompozit formulálása céljából. Mivel a porlasztva szárítás a TRE amorfizálódását eredményezi, a kioldódás elég gyors ahhoz, hogy alkalmazás során a hatóanyag teljes mennyisége felszabaduljon. Ha alacsony RH-t biztosítunk a gyártás és tárolás során, az

amorf forma megőrizhető. A mikrokompozitok elektrosztatikus feltöltődésének, ezáltal adhéziójának csökkentéséhez PEG-eket alkalmaztunk. A PCT tartalmú mikrokompozitok porlasztva szárítása után gyógyszerforma vizsgálatokat végeztünk. Először meghatároztuk a termékek nedvességtartalmát és porreológiai tulajdonságait, majd vizsgáltuk a termékek szerkezetét a gyártás után és tárolás előtt, végül pedig kioldódási vizsgálatokat végeztünk.

4.2.1. Nedvességtartalom és folyási tulajdonságok meghatározása

A mikrokompozitok nedvességtartalmának meghatározása fontos paraméter a rekrisztallizáció és mikrobiológiai stabilitás szempontjából, mivel a TRE jó táptalaj a mikroorganizmusok számára. Ezen két szempont miatt törekedtünk minimalizálni a minták nedvességtartalmát. A nedvességtartalmat termogravimetriás analízissel (Mettler-Toledo TG/DSC1) határoztuk meg. Másik meghatározó paraméter a porreológia, ami a mikrokompozitok szívószálba tölthetőségét befolyásolja. (II. táblázat).

II. táblázat: Porlasztva szárított termékek nedvességtartalma és folyási paraméterei

Termék	Kifolyási idő (s)	Lejtőszög (°)	Porkúp térfogat (ml)	Térfogattömeg (g/100 ml)	Sűrűség (g/ml)	Nedvesség tartalom (%)
TRE-PCT	16,5	19,6	4,6	16,65	0,167	6,24
TRE-PCT-PEG 2000	12,6	8,8	27,5	14,31	0,143	4,05
TRE-PCT-PEG 6000	9,6	6,3	20,2	12,81	0,128	2,79

Megállapítható, hogy a PEG tartalmú minták kifolyási ideje rövidebb, a csökkent elektrosztatikus töltöttség miatt. A PEG tartalmú mintáknak a nedvességtartalma is kisebb, ami kedvezőbb stabilitási paramétereket jósol.

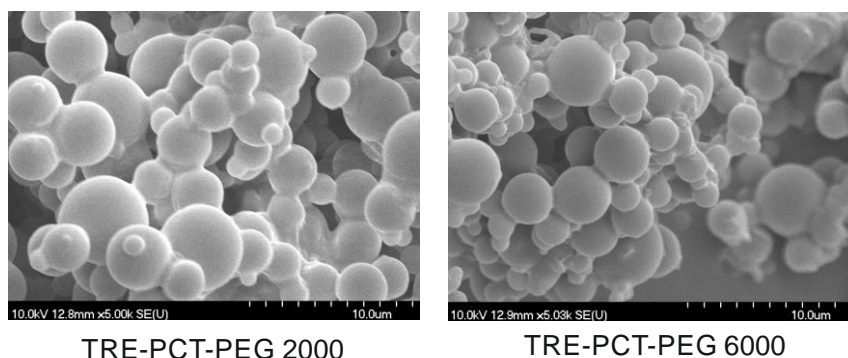
4.2.2. PSD és SEM

Mivel a nedvességtartalom meghatározás és a porreológiai vizsgálat is azt mutatta, hogy a PEG tartalmú minták kedvezőbb tulajdonságokkal rendelkeznek, így a későbbiekben már csak ezeket vizsgáltuk tovább. A porlasztva szárított PEG tartalmú minták PSD-jét lézerdiffrakciós módszerrel határoztuk meg (III. táblázat).

III. táblázat: PEG-ek befolyása a mikrokompozitok PSD-jére

Termékek	d(0,5) [µm]	D[3,2] [µm]	D[4,3] [µm]
TRE-PCT-PEG 2000	10,711	8,893	13,685
TRE-PCT-PEG 6000	6,897	5,667	7,938

A lézerdiffrakciós mérés eredményeként megállapítottuk, hogy a PEG 6000 tartalmú termékek átlagos szemcsemérete kisebb, mint a PEG 2000 tartalmúé. A porlasztva szárítás monodiszperz PSD-t eredményezett mindkét PEG tartalmú termékben (4. ábra).



4. ábra: A PEG tartalmú termékek SEM képei

A SEM képeken látható, hogy a porlasztva szárítás sima felszínű szférikus szemcséket eredményezett.

4.2.3. *In vitro* kioldódás vizsgálat

Az *in vitro* kioldódás vizsgálatok során 3-3 párhuzamos méréssel határoztuk meg a PCT kioldódását a PEG tartalmú mikrokompozitokból, szájüregi (pH 6.8 ± 0.1) és gyomorúri (pH $1,2 \pm 0,1$) pH-n.

Mindkét esetben a PCT teljes mértékben kioldódott a termékekből, szájüregi pH-n kevesebb, mint 2 perc alatt. A hatóanyag gyors kioldódási sebessége a relatív nagy fajlagos felülettel magyarázható. Savas közegben (pH $1,2 \pm 0,1$), a PCT kioldódása szintén kevesebb, mint 2 perc volt. Úgynevezett “burst effect” figyelhető meg a PEG 2000 tartalmú termék kioldási profilján, ami az amorf jellemből adódik.

Összegzés

A porlasztva szárított mikrokompozitok preformulációja során három analitikai módszerrel (HH-XRPD, XRPD, DSC) vizsgáltuk az amorf TRE rekristallizációját. Ennek fényében, a tárolási körülmények megfelelő megválasztásával, az amorf TRE rekristallizációja meggátolható. Az eredmények alapján megállapíthatjuk, a TRE alkalmas hatóanyag tartalmú mikrokompozitok porlasztva szárítással történő előállításához.

A PCT mikrokompozitba történő inkorporálása azt mutatta, hogy a PEG-ek csökkentik a szemcsék elektrosztatikus feltöltődését és javítják a termékek folyási tulajdonságát. A kioldódási vizsgálatok pedig igazolták a DDS megfelelőségét a PCT gyors és teljes kioldódása szempontjából (kevesebb mint 2 perc). Ezen eredmények alapján a két PEG tartalmú összetétel

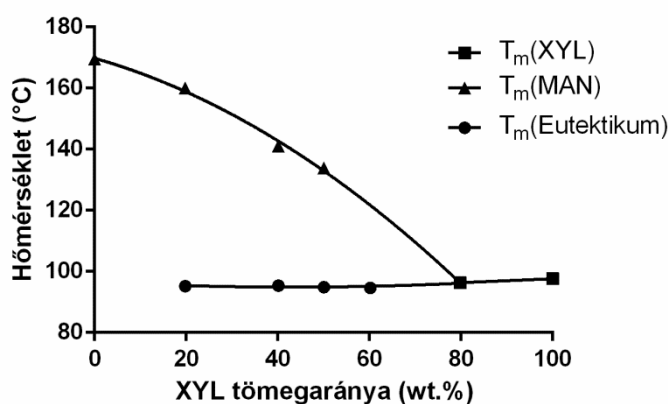
ajánlható a pediátriában alkalmazható gyógyszeres szívószál töltetének, vagyis „dose sipping” forma előállítására.

4.3. Olvadék technológiával előállított pasztillák preformulációja

4.3.1. A cukoralkoholok fázisdiagramja

Olvadék technológiával formulált DDS fejlesztése során a komponensek fizikai-kémiai interakcióinak vizsgálatával meghatározható a termék optimális összetétel.

A pasztilla krisztallizációs mechanizmusának megértéséhez a XYL–MAN és XYL–SORB fizikai keverékek eutektikus összetételét célszerű meghatározni a fázisdiagramok elkészítésével. 100 mg különböző arányú XYL–MAN és XYL–SORB szilárd diszperziót készítettünk és DSC módszerrel meghatároztuk az összetételek olvadáspontját. Az olvadáspontokat ábrázoltuk az XYL tömegarányának függvényében és a pontokra görbét illesztettünk. A görbék metszéspontja mutatja az eutektikus összetételt, ami XYL–MAN esetében 90-10 wt.% és XYL–SORB esetében 50-50 wt.%. A XYL-MAN keverék olvadását követően gyors dermedést tapasztaltunk, ezért lágyítóként PEG-et alkalmaztunk. A terner rendszer fázisdiagramját szintén meghatároztuk állandó (7,81%) PEG 6000 jelenlétében (5. ábra). Megállapítottuk, hogy PEG 6000 jelenlétében a XYL-MAN eutektikus összetétele 80-20 wt.% XYL-MAN arány felé tolódik el.



5. ábra: A XYL–MAN fázis diagramja állandó mennyiségű PEG 6000 jelenlétében (7.81 mg per 100 mg)

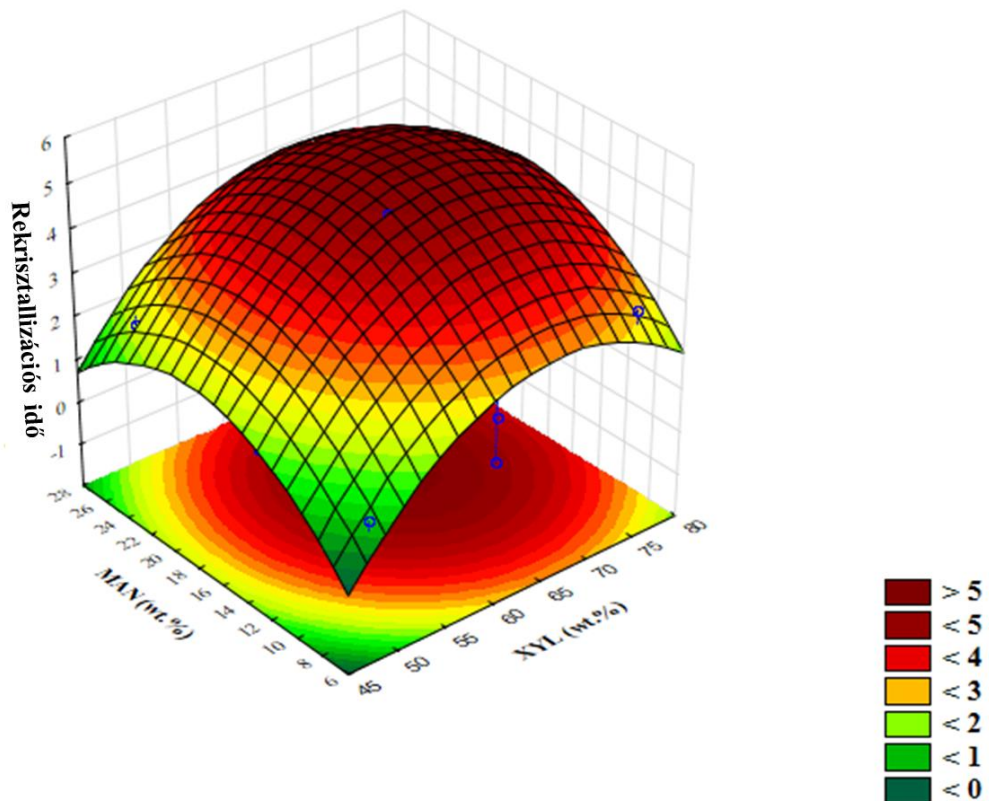
4.3.2. Az eutektikus összetétel optimalizálása

Munkánk során célunk volt 40 mg PCT tartalmú pasztillák fejlesztése. Mivel a PEG 6000 befolyásolja a XYL–MAN eutektikus összetételét, így az optimális hordozó összetételhez Box-Behnken kísérlettervet használtunk. A kísérletterv során három faktort (XYL, MAN and PEG 6000) vizsgáltunk 3 szinten a rekrisztallizációs idő függvényében, majd meghatároztuk a válaszfelszint (IV. táblázat).

IV. táblázat: A Box-Behnken kísérletterv faktorai és azok szintjei

Független változók (faktorok)	Szintek		
	-1	0	1
	Komponensek mennyisége (wt.%)		
XYL	48,13	61,25	75,94
MAN	6,88	15,31	25,31
PEG 6000	0	7,81	15,63

A pasztilla rekrisztallizációja a héj mentén indul és halad a mag felé. Ha ez a folyamat túl gyorsan megy végbe, a magasabb olvadáspontú komponensek (PCT, MAN) megszilárdulnak és lesüllyednek a pasztilla aljára, kialakítva ezzel egy inhomogén hatóanyag eloszlást. Azt az optimális összetételt kerestük, amely a leglassabban kristályosodik vissza megőrizve ezzel a komponensek homogén eloszlását a pasztillában. A kísérletterv eredményei azt mutatták, hogy mindhárom komponensnek szignifikáns hatása van a rekrisztallizációra. 95%-os konfidencia szinten a P-érték <0,05. A válaszfelület a rekrisztallizációs időt szemlélteti a komponensek összetételének függvényében (6. ábra).



6. ábra: A XYL–MAN–PEG 6000 tartalmú hordozó optimalizálása

A válaszfelszín 1-5 nap közötti rekrisztallizációt mutat (6. ábra). A felszín 61,25 wt.% XYL és 15,31 wt.% MAN összetételnél látható, ami arányaiban megegyezik a XYL-MAN eutektikum összetételével. Az összetétel ezen kívül 7,81 wt.% PEG 6000 is tartalmazott, valamint a PCT tartalom 15,63 wt.%-ra lett tervezve. A XYL–SORB pasztillák esetében 38,28 wt.% XYL-t, 38,28 wt.% SORB-ot (ami megegyezik az eutektikus összetétellel), 15,63 wt.% PCT-t és 7,81 wt.% PEG 2000 / 6000-et, mivel a PEG-eknek ebben az esetben nem volt szignifikáns hatásuk az összetételre.

4.4. PCT inkorporálása a pasztillákba

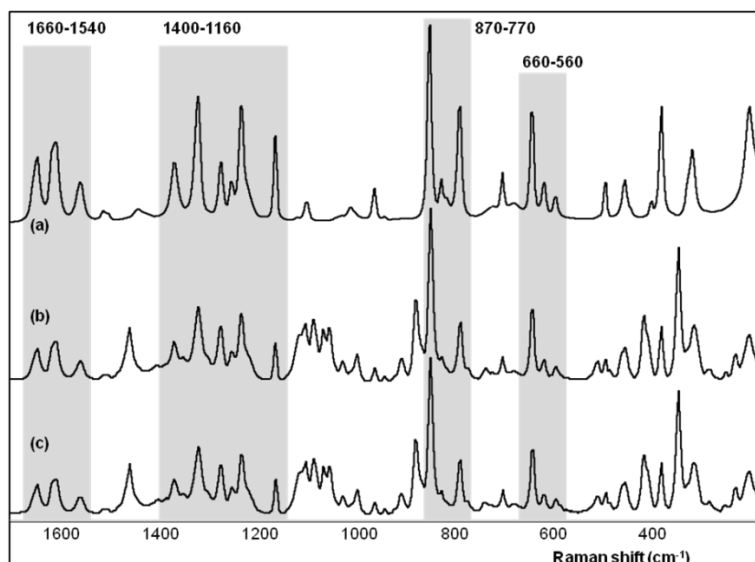
A faktoriális kísérlet alapján a XYL-MAN tartalmú pasztillák előállításához 61,25 wt.% XYL-t, 15,31 wt.% MAN-t, 7,81 wt.% PEG 6000-et és 15,63 wt.% PCT-t (6. ábra) használtunk a XYL-SORB tartalmú pasztillákhoz 38,28 wt.% XYL-t, 38,28 wt.% SORB-ot, 15,63 wt.% PCT-t és 7,81 wt.% PEG 2000/6000-et (7. ábra). Ez az összetétel képezte a legjobb pasztilla alakot, homogén héj textúrát. A PEG tartalom megfelelő kristályosodási időt eredményezett és csökkentette az összetétel olvadáspontját szilárd diszperziót képezve. (Akiladevi et al., *Int. J. Pharm. Sci.* 2011).



7. ábra: A pasztillázás lépései

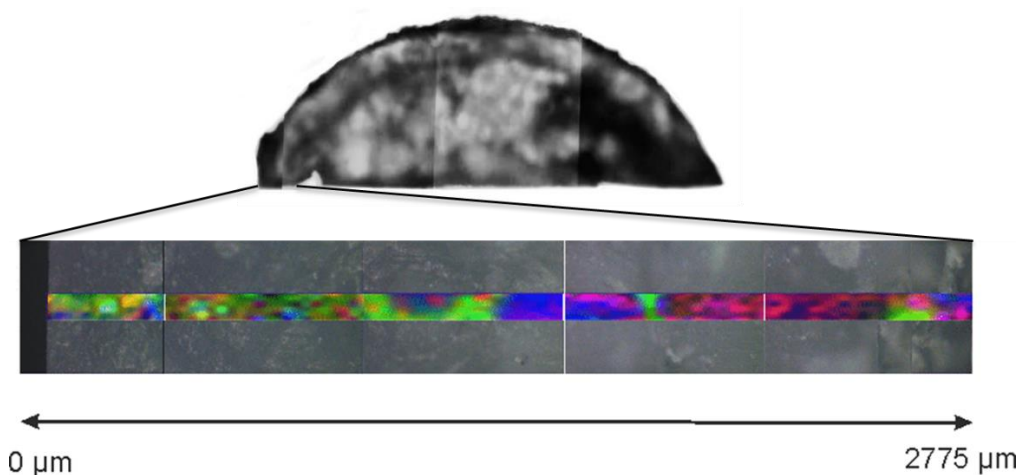
4.4.1. Raman spektroszkópia

A pasztilla lassú megszilárdulása miatt elsőként a PCT eloszlását vizsgáltuk TRS-sel. A 8. ábra mutatja a kiindulási PCT (a) a XYL-MAN-EUT + PCT + PEG 6000 pasztilla héj (b) és -mag (c) TRS spektrumát. A b és c spectrum alapvetően megegyezik, némi elhanyagolható különbség jelentkezik a nem PCT összetevők miatt. A pasztilla spektrumán látható, hogy a vizsgálat alatt nem történt kristályszerkezet változás a PCT karakterisztikus Raman sávjai 1660-1540, 1400-1160, 870-770 és 660-560 1/cm-nél találhatóak. A b és c azonossága bizonyítja a PCT homogén eloszlását a pasztillán belül.



8. ábra: A PCT (a), XYL-MAN-EUT + PCT + PEG 6000 pasztilla héj (b) és -mag (c) TRS spektruma

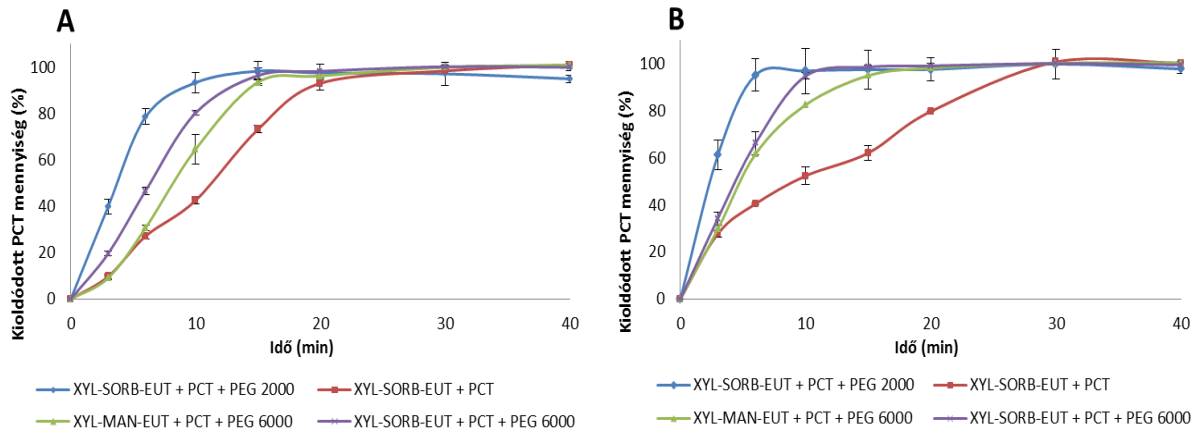
A 9. ábra a pasztilla héj Raman térképét mutatja 10-szeres nagyításban. A kémiai térkép feldolgozása és a komponensek azonosítása többváltozós görbefulbontás – váltakozó legkisebb négyzetek módszerével (MCR-ALS) készült. A vizsgálat célja a PCT és a XYL pasztillán belüli eloszlásának vizsgálata volt. A kémiai térkép alapján megállapítható, hogy a PCT polimorfok jól meghatározott csomagokban különülnek el egymástól a pasztillán belül, a pasztilla belseje felé haladva. A nagyobb XYL koncentráció (zöld színnel jelölve) a pasztilla héj külső részében koncentrálódik.



9. ábra: A komponensek Raman térképe 10-szeres nagyítással (monoklin PCT-kék, ortorombos PCT-piros) and XYL (zöld).

4.4.2. *In vitro* kioldódás vizsgálatok

A pasztillákból a hatóanyag *in vitro* kioldódását a teljes rekrisztallizáció után (5 nap) végeztük. 3-3 párhuzamos méréssel határoztuk meg a PCT kioldódási sebességét a különböző összetételű pasztillákból szájüregi (pH 6,8±0,1) és gyomornedvi (pH 1,2±0,1) pH-n. (10A és B ábra).



10. ábra: Olvadék technológiával előállított pasztillákból a PCT kioldódási vizsgálata szájüregi (pH 6,8±0,1) és gyomornedvi (pH 1,2±0,1) pH-n (átlag±SD, n=3).

Mindegyik esetben a PCT teljes mértékben kioldódott a pasztillákból szájüregi körülmények között (pH 6,8±0,1), kevesebb mint 20 perc alatt. Savas közegben (pH 1,2±0,1) is a PCT kioldódása 20 perc alatt végbement a PEG tartalmú pasztillákban. A PEG mentes pasztillák csak 30 perc alatt oldódtak fel. A pasztillák közti különbségek a felületi szabadenergiából adódnak. Az alacsonyabb felületi szabadenergiával rendelkező PEG tartalmú pasztillák nagyobb polaritással rendelkeznek és gyorsabb az oldódásuk mint a PEG menteseknek. Ha a beteg lenyeli a pasztillát a PCT liberáció 5 perc eltolódással szintén bekövetkezik. Megállapítottuk, hogy a PEG-ek alkalmazásával a pasztillák nedvesedése nőtt, ezáltal a PCT kioldódása gyorsabb volt, eleget téve a gyógyszerforma követelményeinek.

Összegzés

A munka ezen része pediátriában alkalmazható új PCT tartalmú hordozó rendszer olvadék technológiával történő fejlesztését mutatja be. Elsőként a XYL-MAN és XYL-SORB eutektikus összetételét határoztuk meg a DSC módszerrel fázisdiagramok meghatározásával. A PEG-ek mint hordozó komponensek nem gátolták meg a többi komponens rekrisztallizációját, a pasztilla szilárdulása végbement, a XYL a héjba koncentrált. A Raman vizsgálat a komponensek homogén eloszlását igazolta a pasztillán belül.

5. KONKLÚZIÓ

Munkánk során célul tűztük ki innovatív, pediátriában alkalmazható PCT tartalmú szilárd DDS fejlesztését konvencionálisan alkalmazott technológiákkal, mint a porlasztva szárítás és az olvadék technológia. Porlasztva szárítás során mikrokompozitokat állítottunk elő gyógyszeres szívószál töltetként, olvadék technológiaként pedig „*in situ* coating” eljárást alkalmaztunk pasztillák előállítására.

I. Első lépésként, a pediátriában alkalmazott innovatív gyógyszerformák hagyományos módszerekkel (porlasztva szárítás és olvadék technológia) történő előállításának irodalmi hátterét térképeztük fel. Ezután az innovációs lehetőségeket, valamint a pediátrikumok fejlesztésének szempontjait vizsgáltuk. Végül pedig összegyűjtöttük a gyógyszeres szívószál és pasztilla forma előnyeit és hátrányait, mint „unmet medical need” kezelésére szánt „value added” készítmények.

II. A kísérletes munka során két konvencionálisan alkalmazott technológiát alkalmaztunk szerves oldószer mentesen különböző innovatív per orálisan alkalmazható DDS-ek fejlesztésére. Az egyik DDS porlasztva szárított mikrokompozit volt, amelyek gyógyszeres szívószál töltetként alkalmazhatók. A másik DDS pedig „*in situ* coating” technológiával előállított pasztillák voltak. Az összetételek mesterséges színezék és tartósítószermentesek voltak.

III. A porlasztva szárított TRE DDS-ként történő alkalmazhatóságát különböző analitikai módszerekkel vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy a porlasztva szárítás során teljes mértékben amorfizálódik a TRE. HH-XRPD alkalmazásával módszert fejlesztettünk a TRE rekrisztallizációs kinetikájának egy mintán történő meghatározására, ami segíti a gyártási és tárolási körülmények helyes megválasztását. Az eredmények tükrében tehát a TRE alkalmazható porlasztva szárítással előállított hatóanyag hordozóként.

Olvadék technológia segítségével olyan kristályos pasztilla hordozót, DDS-t fejlesztettünk, amely két-két jól visszakristályosodó cukoralkohol és PEG mint kristályosodást gátló segédanyag adott arányú keverékéből áll. Ez a hordozó rendszer alkalmas volt a PCT inkorporálására.

IV. Miután kis mennyiségű PCT-t inkorporáltunk a DDS-ekbe, a gyógyszerforma vizsgálatokat is elvégeztük. A mikrokompozitok vizsgálata azt mutatta, hogy a PEG-ek csökkentették az elektrosztatikus feltöltődést, ezáltal jó folyási sajátságot biztosítottak. A porlasztva szárítás amorfizálódást eredményezett a mintákban (TRE, PCT), amit igazoltak a T_g

értékek is, viszont a PEG-ek szemikristályosak maradtak. A termékek normál hőmérsékleten és RH-n ($32\pm 5\%$) amorfak maradtak 3 hónap elteltével is.

A pasztillák 5 nap után teljesen megszilárdultak, héjuk főként XYL-ből állt. A Raman vizsgálatok igazolták a komponensek homogén eloszlását a pasztillán belül. Az *in vitro* kioldódás vizsgálatok pedig azt mutatták, hogy PEG jelenlétében a PCT kioldódása gyorsabb, mint a PEG mentes összetételekből, ami a csökkent felületi szabadenergiával, a nagyobb polaritással magyarázható.

V. Mindent összevetve megállapítható, hogy a porlasztva szárítás és az olvadék technológia jól alkalmazható olyan innovatív összetételű, gyermekterápiában javasolható gyógyszerformák fejlesztésére, amelyek szerves oldószermentes technológiával állíthatók elő, főleg természetes eredetű segédanyagokat tartalmaznak, amelyek biztosítják a kellemes ízt, a könnyebb bevehetőséget és a hatóanyag gyors felszabadulását.

A kutatómunka gyakorlati jelentősége és új vonatkozásai:

1. a porlasztva szárítás és az olvadék technológia ipari méretben is alkalmazható szerves oldószermentes technológia, ami alkalmas tartósítószer, valamint laktóz- és szacharóz mentes, pediátriában alkalmazható, különböző innovatív DDS-ek fejlesztésére,
2. a porlasztva szárítással előállított TRE alapú mikrokompozitok sikeresen alkalmazhatók amorf DDS fejlesztésében,
3. két cukoralkohol (xilit és mannit) és PEG alapú DDS-ek formulálása olvadék technológiával új összetételnek tekinthető (“*in situ coating*” eljárás), valamint
4. iparilag hasznosítható új PCT tartalmú formulációk ajánlása („dose sipping” - gyógyszeres szívószál, pasztilla) a pediátriai készítmények fejlesztésében.

Az értekezés alapját képző közlemények

1. **Katona G.**, Jójátrné Laczkovich O., Szabóné Révész P.: A trehalóz, mint amorfizálódásra hajlamos segédanyag, rekrisztallizációjának vizsgálata, *Acta Pharm. Hung.* (2014), 84, 7-14.
2. **Katona G.**, Sipos P., Frohberg P., Ulrich J., Szabó-Révész P., Jójárt-Laczkovich O.: Study of paracetamol-containing pastilles produced by melt technology, *J. Therm. Anal. Calorim.* (2016), 123, 2549-2559. (IF: 2.042, Citation: 2)
3. Jójárt-Laczkovich O., **Katona G.**, Aigner Z., Szabó-Révész P.: Investigation of recrystallization of amorphous trehalose through hot-humidity stage X-ray powder diffraction, *Eur. J. Pharm. Sci.* (2016), 95, 145-151. (IF: 3.773, Citation: -)
4. **Katona G.**, Szalontai B., Budai-Szűcs M., Csányi E., Szabó-Révész P., Jójárt-Laczkovich O.: Formulation of paracetamol-containing pastilles with in situ coating technology, *Eur. J. Pharm. Sci.* (2016), 95, 54-61. (IF: 3.773, Citation: -)

Egyéb közlemények

1. **Katona G.**, Jójátrné Laczkovich O., Szabóné Révész P.: Fagyasztva szárítás az innovatív gyógyszerkészítmények előállításában, *Gyógyszerészet* (2014), 58, 546-553.
2. Bartos Csi., Szabó-Révész P., Bartos Csa, **Katona G.**, Jójárt-Laczkovich O., Ambrus R.: The effect of an optimized wet milling technology on the crystallinity, morphology and dissolution properties of micro- and nanonized meloxicam, *Molecules* (2016), 21, 507. (IF: 2.465, Idézettség: -)

Az értekezés alapját képző előadáskivonatok

1. **Katona Gábor**, Jójártné Laczkovich Orsolya, Szabóné Révész Piroska: Porlasztva- és fagyasztva szárított trehalóz visszakristályosodásának vizsgálata. Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XV., Budapest, Magyarország, 2014. április 10-12. (poster presentation)
2. Jójártné Laczkovich Orsolya, Mártha Csaba, **Katona Gábor**, Szabóné Révész Piroska: Gyógyszertechnológiai formulálások során alkalmazott cukrok, cukoralkoholok amorfizálódási tulajdonságai. MKE Kristályosítási és Gyógyszerformulálási Szakosztály 7. Kerekasztal Konferenciája, Szeged, Magyarország, 2014. május 16-17. (verbal presentation)
3. Jójártné Laczkovich Orsolya, **Katona Gábor**, Szabóné Révész Piroska: Trehalóz rekrisztallizációs kinetikájának termoanalitikai vizsgálata. Termoanalitikai Szeminárium. Szeged, Magyarország, 2014. november 21. (verbal presentation)
4. Orsolya Jójárt-Laczkovich, **Gábor Katona**, Zoltán Aigner, Piroska Szabó-Révész: Investigation of amorphous trehalose using hot-humidity stage X-ray powder diffraction. 6th BBBB - Conference on Pharmaceutical Sciences: Strategies to Improve the Quality and Performance of Modern Drug Delivery Systems, Helsinki, Finland, 2015. szeptember 10-12. (poster presentation)
5. **Gábor Katona**, Péter Sipos, Patrick Frohberg, Joachim Ulrich, Piroska Szabó-Révész, Orsolya Jójárt-Laczkovich: Formulation of paracetamol-containing pastilles with in situ coating technology. 6th BBBB - Conference on Pharmaceutical Sciences: Strategies to Improve the Quality and Performance of Modern Drug Delivery Systems, Helsinki, Finland, 2015. szeptember 10-12. (oral poster presentation)
6. **Katona Gábor**, Sipos Péter, Frohberg Patrick, Ulrich Joachim, Szabó-Révész Piroska, Jójárt-Laczkovich Orsolya: Paracetamol tartalmú pasztillák előállítása "in situ coating" technológiával. Gyógyszertechnológiai és Ipari Gyógyszerészeti Konferencia 2015. Siófok, Magyarország, 2015. október 15-17. (verbal presentation)
7. Jójártné Laczkovich Orsolya, **Katona Gábor**, Bónis Erzsébet, Szabóné Révész Piroska: Kíméletes technológiák, amelyek alkalmasak fehérje természetű anyagok formulálására. Gyógyszerkémiai és Gyógyszertechnológiai Szimpózium '16, Herceghalom, Magyarország, 2016. szeptember 15-16. (verbal presentation)
8. **Katona Gábor**: Paracetamol tartalmú pasztillák formulálása "in situ coating" technológiával. XII. Clauder Ottó emléktverseny, Budapest, Magyarország, 2016.10.20-21. (verbal presentation)