

Szegedi Tudományegyetem  
Gyógyszertudományok Doktori iskola

Gyógyszertechnológiai Ph.D. program  
Programvezető: Prof. Dr. Szabó-Révész Piroska Ph.D.

Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet  
Intézetvezető: Dr. habil. Csóka Ildikó, Ph.D.  
Témavezető: Dr. habil. Zoltán Aigner Ph.D.

**Gyulai Orsolya**

**KÖZVETLEN PRÉSELÉSRE ALKALMAS AMBROXOL-HIDROKLORID  
SZFÉRIKUS KRISTÁLYOK ELŐÁLLÍTÁSA**

**Szigorlati bizottság:**

Elnök: Dr. Csóka Ildikó, PhD, SZTE Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet  
Tagok: Dr. Zupkó István, PhD, SZTE Gyógyszerhatástani és Biofarmácia Intézet  
Dr. Kiss Dorottya, PhD, Richter Gedeon NyRt.

**Bíráló bizottság:**

Elnök: Dr. Dombi György, PhD, SZTE Gyógyszeranalitikai Intézet  
Opponensek: Dr. Markovits Imre, PhD, Egis Gyógyszergyár Zrt.  
Dr. Pálinkó István, PhD, SZTE TTIK Szerves Kémiai Tanszék  
Tagok: Dr. Csupor Dezső, PhD, SZTE Farnakognóziai Intézet  
Dr. Szakonyi Zsolt, PhD, SZTE Gyógyszerkémiai Intézet

SZEGED

2018

## 1. BEVEZETÉS

Napjainkban a gyógyszerhatóanyagokat (API-k) szilárd – főként tablettá – formában alkalmazzuk leggyakrabban. Ipari szempontból elegendő ismernünk a tabletták tulajdonságait, mint például az összetétel vagy a fizikai-kémiai jellemzők, azonban a legegyszerűbb paraméterek, mint például szín, szag és méret, képesek befolyásolni a betegek adherenciáját az adott készítményhez. Minél nagyobb mérettel rendelkezik egy tablettá, annál valószínűbb, hogy a páciens nem szívesen nyeli le, amivel kockáztathatja a terv szerinti gyógyulást. Ha azonban csökkentjük a tablettá méretét, például úgy, hogy a felhasznált segédanyagok mennyiségének egy részét elhagyjuk, a beteg-adherencia növelhető. A közvetlen préselés egy jól használható módszer a kisebb méretű tabletták gyártására, mert gyorsabb, gazdaságosabb és gyakran olcsóbb is, mint a jól ismert, nedves vagy száraz granulálást is alkalmazó összetettebb eljárások. Alkalmazása során azonban számba kell vennünk azt is, hogy a kiindulási kristályoknak szférikus – vagy szférikushoz közeli – morfológiával kell rendelkezniük, ezzel biztosítva a megfelelő folyási és egyéb porreológiai alapkövetelményeket.

A szférikus kristályosításon belül tipikus és nemtipikus módszereket különböztetünk meg (Chatterjee et al. 2017). A nemtipikus módszerek alkalmazása során (mint például az antiszolvens kristályosítás (O'Ciardha et al. 2012; Kaialy et al. 2014; Lamesic et al. 2017), hűtéses kristályosítás (Simon et al. 2009; Pataki et al. 2013) vagy e kettő kombinációja (Szabo-Revesz et al. 2001; Nagy et al. 2008) a morfológiát – főként fizikai – paraméterek változtatásával tudjuk beállítani, mint például a hőmérséklet, az oldószer-rendszer összetételének vagy a telítettségnek a változtatásával. A hűtéses kristályosítás esetében például a hőmérséklet ciklikus változtatása (hűtés-fűtés) elősegíti a szférikus kristályok képződését és a szemcseméret-eloszlás egységesítését. Ahhoz, hogy valós időben meg tudjuk figyelni a húr hosszúság (átlagos kristálmérettel arányos mennyiség) változását és a beütések (kristályok darabszámával arányos mennyiség) számát, többek között az FBRM technikát alkalmazhatjuk. A tipikus szférikus kristályosítási módszerek során, mint pl. a kváziemulziós-oldószer diffúziós módszer (Morishima et al. 1993; Espitalier et al. 1997) háromféle oldószer alkalmazunk: a hatóanyag jó oldószerét, antiszolvensét, illetve egy hídképző oldószert, ami mindkettővel részlegesen elegyedik és jól nedvesíti a hatóanyagot. Az oldószer-rendszer változtatásával és a különféle emulgensek alkalmazásával a morfológia jól változtatható.

Az ipari gyártás során a paraméter optimalizálás mindennapos eljárás a termékminőség fejlesztésének szempontjából. A paraméter optimalizálás a „Quality by Design” alapelvein nyugszik (Juran 1986), tehát mindig a vevő elvárásait beleépítve a termékbe fejleszthetjük azt. A termék minőségét pedig az eljárás hordozza, amivel azt előállítjuk, tehát ebben is kódolni kell a termékminőséget. A gyártás során fellépő kockázatokat fel kell ismerni és kezelni kell, amire kiválóan alkalmazhatóak az úgy nevezett „quality tool”-ok, vagyis a minőségtervezés eszközei, mint például az Ishikawa-diagram vagy a Pareto-elemzés. Az előbbi alkalmazásával feltárható a legtöbb problémát okozó faktor gyökere (Hartung et al. 2012; Reddy et al. 2015; Casian et al. 2017; Iurian et al. 2017). A Pareto-elemzés által információt szerezhetünk arról, hogy melyek a kritikus paraméterek és melyekre kell nagyobb figyelmet fordítanunk a fejlesztés során (Vilfredo Pareto 1971; Litten 2010; Hartung et al. 2012; O'Ciardha et al. 2012; Power et al. 2015). Ezeket alkalmazva a minőség már a gyártáskor “beépíthető” a termékbe.

## **2. CÉLKITŰZÉS**

Három nagyobb részre bontható a kutatómunka.

**A.** Az első részben a hatóanyag kiválasztása után alkalmaztuk a különböző kristályosítási eljárásokat, összehasonlítottuk a tipikus és nemtipikus kristályosítási módszerek által képződött termékeket és meghatároztuk, hogy melyik technika/technikák során keletkeznek megfelelő habitussal rendelkező szemcsék. Ezt leginkább fénymikroszkópos szemcseméret – és alak – analízissel végeztük, de olyan technikákat is alkalmaztunk, mint a SEM, a DSC, a TG és az XRPD, a felületi simaság és a polimorfia feltérképezésének céljából.

**B.** A munka második részében a nemtipikus módszereket vizsgáltuk és a szférikus agglomeráció paramétereit optimalizáltuk a QbD alapelvei szerint. Első lépésben kockázatelemzést hajtottunk végre, amelynek az eredményeire faktoriális kísérleti tervet alapoztunk és elvégeztük a kristályosítási műveleteket a különféle paraméterekkel. Vizsgáltuk a termékek tulajdonságait és statisztikai analízist végeztünk, majd pedig kiszűrtük a szignifikáns hatásokat.

**C.** Végezetül, információt gyűjtöttünk az agglomeráció mechanizmusáról a nemtipikus módszerek FBR szondás vizsgálata során. A végső következtetéseket a húr hossz és a részecskeszám on-line követése alapján tudtuk levonni.

### **3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK**

#### **3.1 ANYAGOK**

Az ambroxol-hidroklorid (AMB HCl) hatóanyagot a Teva Gyógyszergyár Zrt. biztosította. A dimetil-szulfoxid (DMSO) és *n*-hexán oldószereket a Scharlau Concept-től, az etil-acetátot, az izopropil-alkoholt (IPA), az *n*-pentánt, *n*-heptánt és az *n*-dodekánt a Molar Chemicals-től szereztük be, a metanolt (MeOH) és az etanolt (EtOH) pedig a VWR Hungary-tól. A felhasznált izopropil-acetát a Brenntag Hungary-tól származott. A tisztított víz (W) gyógyszerkönyvi minőségű volt. A Span 80, Tween 20, és Span 20 emulgensek Sigma-Aldrich termékek voltak. Minden felhasznált vegyszer analitikai tisztaságú volt.

#### **3.2. Módszerek**

##### **Általános információ**

Egy Julabo F32-ED Refrigerated/Heating Circulator<sup>®</sup> termosztátot használtunk a kívánt hőmérséklet beállításához mind a kristályosítási, mind pedig az oldékonysági vizsgálatokhoz. Az kristályosítás termékeit egy Memmert hősterilizátorral szárítottuk 40 °C-on, 24 órán át. A metastabil zóna szélességét és az on-line vizsgálatokat Mettler Toledo FBRM D600R szondával végeztük, a hőmérsékletet pedig egy Huber Petite Fleur Pilot ONE termosztáttal. Az átlagos szemcseméretet iControl FBRM 4.3.377 vezérlőszoftverrel állapítottuk meg.

##### **Oldékonysági vizsgálatok**

A gravimetriás módszert alkalmaztuk (Nordstrom and Rasmuson 2006) tiszta MeOH-ban, EtOH-ban, IPA\_ban, tisztított vízben és különböző arányú keverékekben (W/MeOH, W/EtOH és W/IPA esetében is 1:1, 1:3 és 3:1 arányok). A vizsgálatokat 25 és 65 °C között végeztük.

##### **Szférikus kristályosítás tipikus módszerekkel**

##### **A kváziemulziós technika (QESD)**

Az oldékonysági vizsgálatok eredményei alapján oldószerként a W/MeOH = 1:3, W/EtOH = 1:3 és 1:1 keverékeket alkalmaztunk. A hídkepző oldószer MeOH és EtOH volt, antisolvensként pedig etil-acetátot, izopropil-acetátot, *n*-pentánt, *n*-hexánt, *n*-heptánt és *n*-dodekánt alkalmaztunk. Az 1:5 szolvens/antisolvens arány bizonyult megfelelőnek, amit irodalmi adatok is alátámasztottak (Toldy et al. 2012). A Span 80/Tween 20 és Span 80/Span 20 emulgensek adagolásának és mennyiségük változtatásának hatását is

tanulmányoztuk olyan HLB (hydrophilic-lipophilic balance (Griffin 1949)) értéket beállítva, ami a legnagyobb kitermeléshez vezetett és amely során a legstabilabb emulzió képződött.

$$HLB_{\text{össz}} = \text{Tömeg}\%_1 \cdot HLB_1 + \text{Tömeg}\%_2 \cdot HLB_2$$

Egy duplafalú 150 ml-es lombikot használtuk a kísérletek során, 60 ml oldószertérfogat mellett.

## **Szférikus kristályosítás nemtipikus módszerekkel**

### **Szférikus agglomeráció (SA)**

A hatóanyag közel telített oldatait készítettük el MeOH, W/EtOH = 1:1 és 1:3 keverékekben és DMSO-ban. Etil-acetátot, izopropil-acetátot, *n*-pentánt, *n*-hexánt és *n*-heptánt alkalmaztunk kicsapószerként. 1:2, az 1:5 és az 1:10 térfogatarányokat alkalmaztunk. Az AMB HCl oldatot cseppenként adagoltuk az antiszolvenshez, majd enyhe keverés mellett 24 órán keresztül végeztük a kristályosítást 25 °C-on.

### **Hűtéses kristályosítás alternáló hőmérsékletprofilal (ATP)**

A hatóanyag közel telített oldatából indultunk ki (W/MeOH = 1:3 oldószerben) 60 °C-on. A megfelelő hűtés-fűtési program 70 °C-ról indult, hogy biztosan minden szilárd részecske oldott állapotban legyen. Ezután fokozatosan hűtöttük a rendszert 0,3 °C / perces sebességgel egészen 50 °C-ig, ahol megtörtént a beoltás. Ezután 30 °C-ra hűtöttük és rövid keverés után visszamelegítettük 50 °C-ra. Ezt a lépést 4-5 alkalommal ismételtük, majd az egész rendszert 10 °C-ra hűtöttük.

### **A metastabil zóna meghatározása**

A hatóanyag oldatának öt különböző koncentrációja mellett (W/MeOH = 1:3 oldószerben) mértük le a “clear point-ot” és a “cloud point-ot”, ami végezetül kirajzolta a metastabil zónát.

### **Kockázatelemzés és faktoriális terv**

Első lépésben a QTPP-eket, CQA-kat, CMA-kat és a CPP-eket jelöltük ki irodalmi adatok, kistérfogatú előkísérletek és személyes tapasztalatok alapján. Ezután Ishikawa-diagramot és Pareto-elemzést mint “quality eszközöket” használtunk a meghatározó paraméterek kiszűrésére és a LeanQbD programot a kockázat súlyossági tényezőinek meghatározására. A kockázatelemzés kiértékelése során meghatároztuk a faktoriális terv függő és független változóit. A függő változók fénymikroszkóposan mérhető paraméterek, amelyek változásának mértékét (szignifikáns / nem szignifikáns) Statistica 13 for Windows program segítségével határoztuk meg, majd megadtuk a polinóm egyenleteket.

## A paraméter-optimalizáláshoz alkalmazott SA módszer

A paraméter-optimalizálás érdekében az SA módszerhez faktoriális tervet készítettünk, ami a kockázatelemzés eredményein alapult. Oldószerként DMSO-t (440 mg/ml), antizolvensként etil-acetátot alkalmaztunk 1:5 arányban.

## Nemtipikus kristályosítási módszerek az on-line vizsgálatokhoz

Az 1. táblázatban összefoglalt eljárás-paramétereket alkalmaztuk az SA módszer esetén, a kockázatelemzés eredményei alapján.

**1. táblázat:** Az SA kísérletsorozat során használt paraméterek. A “dT” oszlop jelöli a hőmérséklet különbségét az oldószer és az antizolvens között

Minta neve	Keverés időtartama (perc)	dT (°C)	Keverés típusa	Reaktor típusa és oldószertérfogat
SA 1 A	30	0	síkrázó	duplafalú reaktor (78 ml)
SA 1 B	90	0		
SA 1 C	30	10		
SA 1 D	90	10		
SA 2 A	30	0	propeller keverő	duplafalú reaktor (500 ml)
SA 2 B	90	0		
SA 2 C	30	10		
SA 2 D	90	10		

## ATP módszer az on-line megfigyelésekhez

Jó oldószerként a W/MeOH keverék 1:3-as térfogatarányát választottuk, ami 60 °C-on telített volt a hatóanyaggal. Az eljárás-paramétereket a 2. táblázatban foglaltuk össze.

**2. táblázat:** Az ATP módszer eljárás-paraméterei az on-line vizsgálatokhoz

Minta név	Keverés típusa	Reaktor típusa és oldószertérfogat
ATP 1	síkrázó	duplafalú reaktor (120 ml)
ATP 2	propeller keverő	duplafalú reaktor (750 ml)

## Termékvizsgálatok

A részecskékről készült képeket egy JVC gyártmányú digitális kamerával készítettük, amelyet összekötöttünk a mikroszkóppal és a számítógépes programmal. A méretskálákat az Image J program segítségével helyeztük a felvételekre.

Az átlagos szemcseméretet és annak eloszlását, az oldalarányt és a kerekdedséget a LEICA Q500 MC képanalizáló programmal számoltuk ki legalább 1000 szemcse alapján. A részecskék morfológiáját, felületének simaságát SEM-mel vizsgáltuk. A vizsgálat előtt

vákuumgőzölő segítségével elektromosan vezetővé tettük a minták felszínét. A légnyomás 1,3-13,0 mPa közé esett.

A porröntgen felvételeket egy BRUKER D8 Advance diffraktométerrel készítettük, ami Vântec 1 vonaldetektorral volt felszerelve (Cu  $K_{1\alpha}$  radiation = 1.5406 Å). A méréseket 3-40 ° 2 $\theta$  értékek között mértük, 40 kV-ot és 40 mA-t alkalmazva a minta forgatása közben. A mérési paraméterek a következők voltak: filter: Ni; idő: 0,1 s; szöglépés: 0,007°, mintatartó: Si (alacsony háttérű). A DSC görbékét egy Mettler Toledo DSC 821° készülékkel vettük fel 25 és 300 °C között, Ar gáz keringetése közben (10 L/h). A fűtési program lineáris volt, 10 °C/perc fűtési sebesség mellett. A minták tömege 2 és 5 mg közé esett egy 40  $\mu$ l-es Al mintatartóban. A TG görbékét egy Mettler Toledo TGA/DSC 1 STAR° rendszerrel gyűjtöttük 25 és 300 °C között 10 L/h-s N<sub>2</sub> gáz cirkuláltatása mellett, 10 °C/perc fűtési sebességgel. A minták tömege 9 és 12 mg közé esett egy 100  $\mu$ l-es Al mintatartóban.

A kifolyási sebességet, a csuszamlási lejtőszöget és a térfogattömeget egy Pharma Test PTG-1 porvizsgáló készülékkel, teflon tölcséren keresztül mértük, továbbá a manuális, gyógyszerkönyvi módszerrel is, üvegtölcsért alkalmazva (Medicines 2005). A térfogattömeget és a tömörített sűrűséget egy STAV 2003 Stampfvoluméterrel vizsgáltuk és az eredmények alapján kiszámoltuk a Carr indexet és a Hausner faktort.

A kristályok / kristály agglomerátumok mechanikai szilárdságát számszerűen egy egyedi fejlesztésű pellettörő készülékkel állapítottuk meg, amelyhez számítógépes szoftver is tartozik. A szoftver képes a törési görbék kirajzolására is.

A maradékoldószer-tartalom meghatározására Agilent 7890B PAL RSI85 gázkromatográfiás berendezést alkalmaztunk Shimadzu 2010 Plus AOC-5000 headspace injekciós rendszerrel felszerelve.

#### **4. EREDMÉNYEK**

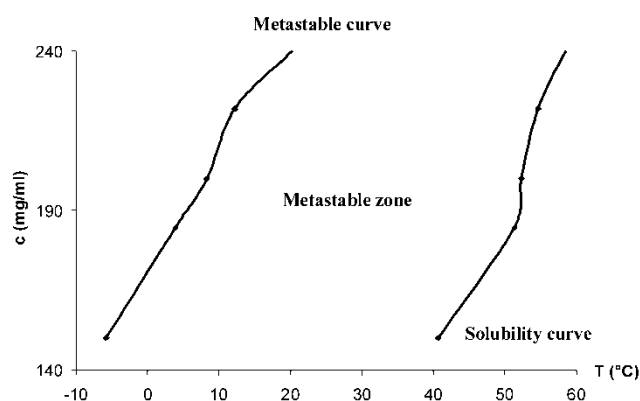
##### **OLDÉKONYSÁG ÉS METASTABIL ZÓNA**

A hatóanyag oldékonysági adatai alapján kiválasztásra kerültek a különböző kristályosítási típusokhoz tartozó oldószerrendszerek (3. táblázat).

**3. táblázat:** A különböző kristályosítási típusokhoz tartozó oldószerrendszerek

Kristályosítási módszer	Oldószer	Antiszolvensek	Emulgensek
QESD	W/EtOH (1:1) és W/MeOH (1:3)	<i>n</i> -heptán, <i>n</i> -hexán, <i>n</i> -pentán	Span80/Span20
SA	DMSO	etil-acetát	-
ATP	W/EtOH (1:1) és W/MeOH (1:3)	-	-

Az AMB HCl hatóanyag esetében a metastabil zóna (1. ábra) viszonylag szélesnek bizonyult, így a spontán kristályképződés csak az alacsonyabb hőmérséklet-tartományban következhet be. Amikor ez megtörténik, akkor viszont mindig gyors folyamatról van szó, ami előnytelen a szemcseméret-növekedés szempontjából, tehát a további kísérleteink során egy szigorúan szabályozott beoltási módszer volt szükséges, hogy elősegítsük a lassú kristályképződést és növekedést, ami előnyös a nagyméretű szemcsék képződésének szempontjából.



**1. ábra:** Az AMB HCl hatóanyag hőmérsékletfüggő metastabil zónája W/MeOH = 1:3 oldószerben

**A QESD, SA és ATP termékek jellemzése****A QESD módszer termékei**

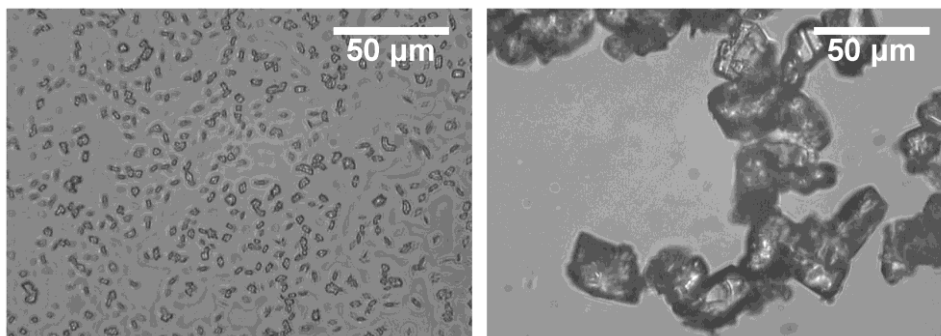
A QESD módszer alkalmas arra, hogy a módszer során használt oldószer váltogatásával befolyásolni tudjuk a kristályok morfológiáját. A felhasznált emulziós rendszerek összetételei a 4. táblázatban kerültek összefoglalásra.

**4. táblázat:** A QESD módszerhez felhasznált oldószer-összetételek

	Oldószer	Antiszolvens	Hídképző oldószer	Emulgens (20 µl)	Össztérfogat (ml)
QESD 1	W/MeOH = 1:3	heptán	MeOH	Span80/Tween20	15
QESD 2	MeOH	pentán	MeOH	Span80/Tween20	15

A 2. ábrán szemléltetjük az oldószerrendszer hatását a morfológiára és szemcseméretre.





**2. ábra:** Morfológia- és méretváltozások a különböző QESD oldószerrendszerek esetén (balra: QESD 1; jobbra: QESD 2)

### Az SA módszer termékei

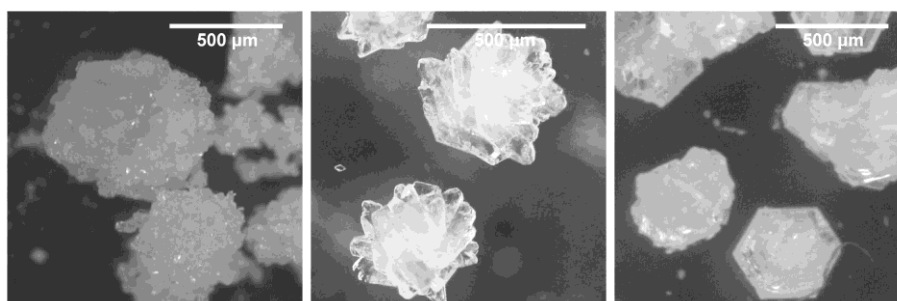
A szolvens / antiszolvens arány változtatásával különböző kristálméretűek érhetőek el az AMB HCl esetében. A szférikus agglomerációval képződött termékek tulajdonságait az 5. táblázatban foglaltuk össze. Az 1:5 oldószerarány alkalmazása bizonyult a leghatékonyabbnak az átlagos szemcseméret növelésének szempontjából (SA 15: 865 µm), noha mindegyik termék mutatott bizonyos mértékű szemcseméret-növekedést (SA 12: 618 µm, SA 110: 140 µm) a kiindulási anyaghoz képest (13 µm).

**5. táblázat:** Az SA termékek jellemzői

	Oldószer	Antisolvens	Oldószer/antiszolvens arány	Össztérfogat (ml)
SA 12	DMSO	etil-acetát	1:2	20
SA 15			1:5	
SA 110			1:10	

Az említett termékek fénymikroszkópos felvételei a 3. ábrán találhatóak.

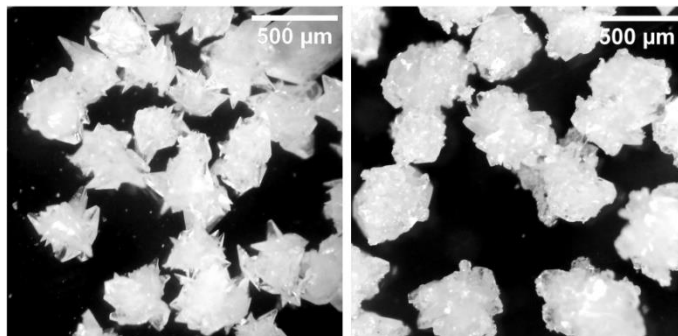
A fénymikroszkópos felvételek alapján kijelenthető, hogy a nagyméretű, szférikus részecskék, amelyek az SA módszer során keletkeztek, nem egyedi kristályok, hanem agglomerátumok.



**3. ábra:** Az SA termékek fénymikroszkópos felvételei különböző arányú DMSO/etil-acetát rendszerekben előállítva (balról jobbra: SA 12, SA 15, SA 110)

### Az ATP módszer termékei

Ennél a módszernél különösen nagy jelentőséggel bírt a keverőtípus helyes megválasztása, ezért mind síkrázóval, mind pedig propellerkeverővel elvégeztük a termékek előállítását. A különbségek a kristálymorfológiában is megmutatkoztak (4. ábra).



**4. ábra:** A különböző keverési módok hatása a kristályhabitusra (balra: propellerkeverő; jobbra: síkrázó)

A propellerkeverővel tüskés felszínű kristályokat nyertünk, míg a síkrázó a nagyobb, simább felszínű kristályok keletkezésének kedvezményezett. Mindkét esetben méretnövekedés következett be ( $13 \mu\text{m} \rightarrow 260$  és  $295 \mu\text{m}$  – ilyen sorrendben). Az XRPD, DSC és TG vizsgálatok alapján kizárható a polimorfia változása.

### A paraméteroptimalizálás eredményei

Az SA módszert optimalizáltuk, és előkísérletek, továbbá irodalmi adatok alapján Pareto-diagramokat generáltunk, amelyek megmutatták a kockázati tényezők súlyosságát az egyes CMA-kra és CPP-kre. A keverési idő és típus, a  $dT$  (T-különbség az oldószer és antiszolvens között) és az összetétel (szolvent/antiszolvens arány) voltak azok a faktorok, amelyek a legmagasabb kockázati tényezővel rendelkeztek. A faktoriális kísérleti terv során ezeket választottuk független változóknak.

**6. táblázat:** A faktoriális kísérleti tervhez választott faktorok és szintek a Pareto-elemzés alapján

Faktor	Szintek			Szintek száma
	Alacsony	Közép	Magas	
Keverő típus	síkrázó/propeller			2
Összetétel (szolvens/antiszolvens arány)	1:5	-	1:10	2
$dT$ (°C)	0	10	20	3
Keverési idő (perc)	30	90	150	3

A CQA-k Pareto-elemzése után az alábbi következtetéseket tudtuk levonni: a kerekdedség, az oldalarány és a részecskeméret voltak a legmagasabb súlyossági faktoral rendelkező faktorok és eszerint, ezeket választottuk a faktoriális kísérleti terv függő változóinak (7. táblázat). A statisztikai analízis során meghatároztuk a szignifikáns hatásokat, majd összefoglaltuk a 7. táblázatban.

**7. táblázat:** A faktoriális terv statisztikai analízis során meghatározott szignifikáns hatásai

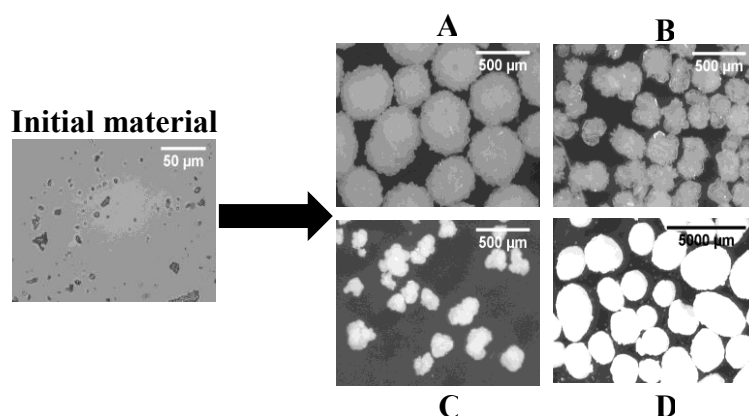
Függő változó	A faktorok szignifikanciája									R <sup>2</sup>	Illesztett R <sup>2</sup>
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>4</sub> <sup>2</sup>	X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	X <sub>2</sub> X <sub>4</sub> <sup>2</sup>	X <sub>3</sub> <sup>2</sup>		
Átlagos méret (µm)	+	+	+	+	+	-	+	+	-	0,74	0,58
Oldalarány	+	+	-	-	+	+	-	-	-	0,61	0,41
Kerekdedség	+	-	-	-	+	-	-	-	-	0,38	0,25
Kitermelés (%)	+	-	+	-	+	-	-	-	+	0,65	0,49

X<sub>1</sub>: Keverési típus      X<sub>2</sub>: Összetétel      X<sub>3</sub>: Keverési idő      X<sub>4</sub>: dT

A táblázatban csak azok a faktorok vannak feltüntetve, amelyek szignifikáns hatást gyakoroltak a rendszerre.

### Fénymikroszkópos vizsgálatok eredményei

A faktoriális kísérleti terv során előállított termékek jellemzőinek statisztikai elemzése során azt tapasztaltuk, hogy közülük 4 rendelkezett a megfelelő átlagos szemcsemérettel, oldalaránnyal és kerekdedséggel (A, B, C, D) a kiindulási anyaghoz képest. Ezeket a paramétereket fénymikroszkóposan határoztuk meg. A változások az 5. ábrán figyelhetőek meg.



**5. ábra:** A kiindulási anyag és az SA agglomerátumok fénymikroszkópos felvételei

A 8. táblázatban foglaltuk össze az SA termékek részecskeméret-, oldalarány- és kerekdedség-adatait (A, B, C, D termékek).

**8. táblázat:** A szemcseméret- és morfológia-vizsgálat eredményei és az optimálisnak bizonyult paraméterek az SA módszer esetében (H-magas kockázati tényező; M-közepes kockázati tényező; L-alacsony kockázati tényező)

	<b>Kiindulási anyag</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
Átlagos méret (µm)	13,12	248,17	176,82	142,50	441,53
Oldalarány	1,67	1,34	1,43	1,45	1,40
Kerekdedség	2,37	1,41	1,37	1,88	1,49
Kitermelés (%)	-	37,46	32,17	14,14	18,98
<b>Alkalmazott paraméterek</b>					
Keverési típus	-	Síkrázó			
Összetétel	-	1:5			
Keverési idő (perc)	-	90 (M)	30 (L)	90 (M)	30 (L)
dT (°C)	-	0 (L)	0 (L)	10 (M)	10 (M)

### A porreológiai vizsgálatok eredményei

Az SA termékek közül a “B” terméket választottuk ki a porreológiai sajátságok tesztelésére, hiszen ez a termék állítható elő a leggyorsabban és a legnagyobb mennyiségben. A kiindulási anyaghoz képest nagymértékű javulást mutattak a paraméter-optimalizált termék porreológiai tulajdonságai (9. táblázat). A Carr-indexet és Hausner-faktort kiszámolva szintén javulás tapasztalható, ami egyértelműen azt jelenti, hogy a paraméter-optimalizált SA termék közvetlen préselésre sokkal inkább alkalmazható, mint a kiindulási anyag.

**9. táblázat:** Az SA (B) termék és a kiindulási anyag porreológiai sajátságainak összevetése és jellemzése Carr kategóriái alapján

	Térfogattömeg (g/ml)	Tömörített sűrűség (g/ml)	Kifolyási idő (s)	Csuszamlási lejtőszög (°)	Carr-index	Hausner-faktor	Kategória (Carr 1965)
Kiindulási AMB HCl SA termék	0,54	0,81	mérhetetlen	mérhetetlen	32,67	1,49	<b>Nagyon rossz</b>
	0,43	0,53	13,6	31,3	18,8	1,23	<b>Jó</b>

## A mechanikai szilárdságvizsgálat eredményei

A vizsgálat eredményei alapján a törési szilárdság megfelelő nagyságú ahhoz, hogy a részecskék (agglomerátumok vagy egyedi szemcsék) megtartsák a morfológiájukat a különféle mechanikai behatások ellenére is. A törési erő értékei ~2,5-3,2 N-ig terjedtek (10. táblázat), ami relatíve nagy törési szilárdságot mutat, ha figyelembe vesszük a részecskék 200-300 µm-es átlagos méretét.

**10. táblázat:** Az SA termékekhez tartozó átlagos törési erők 20 törés alapján

Minta	Törési erő (N)
A	2,95 ± 0,06
B	3,02 ± 0,04
C	2,53 ± 0,07
D	3,13 ± 0,04

## A nemtipikus módszerek (SA, ATP) on-line megfigyelése FBRM-mel

A munka során az SA/A, B, C, D és az ATP termékek képződését vizsgáltuk kétféle reaktorban és keverővel előállítva a termékeket. Az "1"-es indexszel ellátott termékeket egy duplafalú, 250 ml-es reaktorban állítottuk elő 80 ml folyadéktérfogatban, a "2"-es indexszel ellátott termékeket pedig egy duplafalú, 750 ml-es reaktorban, 500 ml ösztérfogatban. Az első esetben síkrázós keverést alkalmaztunk, a második esetben pedig propellerkeverőt. Az így képzett termékek jellemzőit a 11-12. táblázatokban foglaltuk össze.

**11. táblázat:** Az SA termékek jellemzőinek összehasonlítása a kétféle (1 és 2) módszer alkalmazása hatására

Kiindulási anyag						
Oldalarány	Kerekdedtség		Átlagos méret (µm)			
1,67	2,37		13,12			
SA 1-2						
Minta neve	Kisebb reaktor, síkrázó (SA 1)			Nagyobb reaktor, propelleres keverés (SA 2)		
	Oldalarány	Kerekdedtség	Átlagos méret (µm)	Oldalarány	Kerekdedtség	Átlagos méret (µm)
A	1,36	1,48	123	1,30	1,71	178
B	1,36	1,51	125	1,31	1,78	175
C	1,37	1,54	100	1,35	1,74	158
D	1,33	1,50	157	1,30	1,65	136

Több mint egy nagyságrendnyi méretnövekedést tapasztaltunk. A kerekdedség-értékek az SA 1 esetben némileg jobbák voltak, köszönhetően a síkrázó "görgető" effektusának. A

propelleres keverés esetében a szemcseméret nagyobb mértékű növekedést mutatott, ami feltehetően a turbulens áramlásnak köszönhető, ugyanis az egyedi részecskék nagyobb mértékben képesek az agglomerációra minden oldalról, hiszen azt egyáltalán nem vagy csak kismértékben gátolja a reaktor falával való érintkezés. Az ATP módszerrel elért eredményeket a 12. táblázatban foglaltam össze.

**12. táblázat:** Az ATP módszer különböző körülmények között előállított termékeinek jellemzői

Kiindulási anyag						
Oldalarány	Kerekdedség		Átlagos méret ( $\mu\text{m}$ )			
1,67	2,37		13,12			
ATP 1-2						
Ciklus száma	Kisebb reaktor, síkrázó (ATP 1)			Nagyobb reaktor, propellers keverés (ATP 2)		
	Oldalarány	Kerekdedség	Átlagos méret ( $\mu\text{m}$ )	Oldalarány	Kerekdedség	Átlagos méret ( $\mu\text{m}$ )
1.	1,37	1,55	141	1,50	1,64	125
2.	1,29	1,67	219	1,29	1,46	152
3.	1,30	1,41	345	1,23	1,52	183
4.	1,30	1,35	395	1,24	1,38	197
13.	1,30	1,32	404	1,27	1,31	298

Az kísérlet során mintákat vettünk az 1., 2., 3., 4. és a 13. hűtési ciklus után a termékből és vizsgáltuk a méret és morfológia jellemzőit, változásait. Az ATP 1 módszer során nagyobb átlagos méretet tapasztaltunk, az ATP 2 módszernél alkalmazott “agresszívebb” keverési mód pedig a termékek alacsonyabb részecskeméretét produkálta, ami a szemcsék törésének tudható be. Az átlagos méret mindkét esetben folyamatosan nőtt a ciklusszámmal, míg a kerekdedség csupán kismértékben javult, az oldalarány pedig a 3. ciklus után nem mutatott további jelentős csökkenést.

Az optimalizált termékek maradékoldószer-tartalmát meghatározva kijelenthető, hogy az ICH Q3C Guideline szerinti Class 2 és 3 csoportoknak megfelelő határértékek alatti maradékoldószer-tartalommal rendelkeznek.

## 5. ÖSSZEFOGLALÁS

A PhD disszertációm fő célja az volt, hogy megtaláljam a legjobb eredményeket produkáló szférikus kristályosítási módszert az AMB HCl hatóanyag esetében, továbbá hogy felfedjem a kristályképződést befolyásoló legfontosabb tényezőket. A nemtipikus módszerek esetében parameter-optimalizálást is végeztem.

### **A) A nemtipikus szférikus kristályosítási módszerek alkalmazása és összehasonlítása**

Összeállítottuk az első tanulmányt, amely az ambroxol-hidroklorid hatóanyag szférikus kristályosítási módszereit vizsgálta (QESD, SA, ATP) és hasonlította össze, továbbá megállapította, hogy melyek a legjobban alkalmazható eljárások. A munka újdonsága, hogy, noha a megfelelő szférikus kristályosítási módszerek kiválasztásának már ismert a protokollja számos hatóanyag esetén, nincs kiforrott megoldás a vízben és etanolban egyaránt nem jól oldódó hatóanyagokra. A szemcseméret-analízis alapján megállapítottuk, hogy a nemtipikus módszerek azok, amelyek a leginkább nagyméretű és szférikus szemcsékhez vezetnek. A porreológiai tulajdonságokat is vizsgáltam és nagymértékű javulást tapasztaltam a kiindulási anyag tulajdonságaihoz képest.

### **B) Az SA módszer paraméter optimalizálása**

A QbD alapelveit alkalmaztuk eljárásfejlesztés érdekében. Az Ishikawa-diagram összeállítása kistérfogatú előkísérletek és irodalmi adatok alapján történt. Segítségével ki tudtuk jelölni a QTPP-eket, CQA-kat, CMA-kat és CPP-eket. Az adatokat betápláltuk a LeanQbD programba és elvégeztük a Pareto-analízist. Az eredmény alapján meghatároztuk a faktoriális kísérleti tervhez szükséges független és függő változókat és megterveztük azt. Elvégeztük a kristályosítási kísérleteket és a termékeket porreológiai és morfológiai szempontból vizsgáltuk és összehasonlítottuk a kiindulási anyaggal. Nagymértékű javulást tapasztaltunk.

### **C) A nemtipikus kristályosítási módszerek megfigyelése on-line vizsgálómódszer segítségével**

Az SA és ATP módszereknél is megállapítottuk a kritikus kristályképződési szakaszt. Az SA módszernél ez a keverés első 10 percében történt meg. Az ATP módszer esetében a második hűtési ciklus után vett minták esetében tapasztaltuk a legnagyobb mértékű javulást morfológia és méret szempontjából. A különböző keverési módszerek okozta különbségeket is megfigyeltük és megpróbáltuk feltárni mechanizmusukat. Azt is megállapítottuk, hogy az ATP módszer során egyedi kristályok képződnek, míg, az SA módszer során inkább agglomerátumok képződése a jellemző.

## **6. AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI VONATKOZÁSAI**

Ez a tanulmány az első, ami az ambroxol-hidroklorid szférikus kristályosítására nyújt megfelelő megoldást és nem csupán a helyes módszer megválasztását közli, hanem kockázatelemzéssel látja el azt és optimalizált paraméterekkel hajtja végre az eljárást. Ipari szemszögből közelíti meg a problémát és a QbD alapelvei szerint a minőséget igyekszik beleépíteni a termékbe a tervezési tér feltérképezése segítségével. Az ipari szemléletmódnak

köszönhetően az itt megszerzett tapasztalatok vélhetően ténylegesen átépíthetőek lesznek a gyakorlatba. Nagymértékű javulást tapasztaltunk a nemtipikus módszerrel előállított termékek porreológiai sajátságait vizsgálva a kiindulási anyaghoz képest, ami arra enged következtetni, hogy a keletkező kristályok alkalmasak lehetnek a közvetlen préseléses tablettagyártásra csökkentett mennyiségű segédanyag használata mellett is. Így a hatóanyagból történő gyógyszerformulálás gyorsabbá, gazdaságosabbá tehető.



## **AZ ÉRETEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK**

I. Gyulai, O.; Szabó-Révész, P.; Aigner, Z.:

Comparison study of different spherical crystallization methods of ambroxol hydrochloride

Cryst. Growth Des., 2017, 17 (10), 5233-5241

DOI: 10.1021/acs.cgd.7b00764

IF: 4,055

II. Gyulai, O.; Kovács, A.; Sovány, T.; Csóka, I.; Aigner, Z.:

Optimization of the critical parameters of the spherical agglomeration crystallization method by the application of the Quality by Design approach

Materials 2018, 11(4), 635

DOI:10.3390/ma11040635

IF: 2,654

III. Gyulai, O.; Aigner, Z.:

A szférikus kristályosítás típusai, jelentősége a gyógyszeriparban

Acta. Pharm. Hung. APHGAO 88, (043) 17-26. (2018) IF: 0,00

IV. Gyulai, O.; Aigner, Z.:

On-line observation of the crystal growth in the case of the non-typical spherical crystallization methods of ambroxol hydrochloride

Powder Technology 336, 144-149 (2018)

IF: 2,942

## AZ ÉRETEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ ELŐADÁSKIVONATOK

### Szóbeli előadások

1. Az ambroxol-hidroklorid szférikus kristályosításához szükséges paraméterek beállítása; **Gyulai Orsolya**, Aigner Zoltán; MKE Kristályosítási és Gyógyszerformulálási Szakosztály, 9. Kerekasztal Konferencia, Balatonszemes, 2016. május 6-7.
2. Az ambroxol-hidroklorid szférikus kristályosításának módszerei; **Orsolya Gyulai**, Clauder Ottó Emlékverseny, Budapest, 2017. október 20-21.
3. A szférikus agglomeráció paramétereinek optimalizálása faktoriális kísérleti terv alapján; **Gyulai Orsolya**, Aigner Zoltán; MKE Kristályosítási és Gyógyszerformulálási Szakosztály, 10. Kerekasztal Konferencia, 2017. május 19-20.
4. Optimization of the parameters of the spherical agglomeration method; **Orsolya Gyulai**, Zoltán Aigner, ICG 2017 – Italian Crystal Growth, Milánó, 2017. november 20-21.
5. Közvetlen préselésre alkalmas szférikus kristályok előállítása, **Gyulai Orsolya**, Aigner Zoltán; MKE Kristályosítási és Gyógyszerformulálási Szakosztály, 11. Kerekasztal Konferencia, Balatonszemes, 2018. május 4-5.
6. Following crystal growth with the help of FBRM technique in case of ambroxol hydrochloride spherical agglomerates; **Orsolya Gyulai**, Zoltán Aigner, 9th Global Chemistry Congress, Lisszabon, 2018. július 23-24.

### Poszterprezentációk

1. Spherical crystallization of ambroxol-hydrochloride; **Orsolya Gyulai**, Piroska Szabó-Révész, Zoltán Aigner; 5th International School of Crystallization (ISC2016) Granada, 2016. május 29 - június 3.
2. Refining the parameters of spherical crystallization methods; **Orsolya Gyulai**, Piroska Szabó-Révész, Zoltán Aigner, 23<sup>rd</sup> International Workshop on Industrial Crystallization - BIWIC 2016, Magdeburg, 2016. szeptember 6-8.
3. Optimization of the parameters of spherical agglomeration; **Orsolya Gyulai**, Zoltán Aigner, FIP PSWC 2017 – Pharmaceutical World Congress, Stockholm, 2017. május 21-24.
4. Optimization of the parameters of spherical agglomeration; **Orsolya Gyulai**, Zoltán Aigner, ECS 4 – 4th European School of Crystallography, Varsó, 2017. július 2-7.
5. Parameter optimization of the spherical agglomeration method; **Orsolya Gyulai**, Anita Kovács, Tamás Sovány, Ildikó Csóka, Zoltán Aigner, BBBB Conference, Balatonfüred, 2017. október 5-7.



