



Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem

Szerves Kémia és Technológia Tanszék

Budapest, 2014.

**Folyamatos eljárásokkal előállított spironolakton tartalmú szilárd
diszperziók bomlástermék-tartalmának vizsgálata**

TDK dolgozat

Készítette: Drávavölgyi Gábor MSc. hallgató

Témavezető: Dr. Marosi György egyetemi tanár

Konzulens : Vigh Tamás doktorjelölt

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, *Dr. Marosi Györgynek*, hogy TDK dolgozatomat a tanszéken készíthettem el, és tanácsaival segítette munkámat.

Hálával tartozom konzulensemnek, *Vigh Tamásnak*, aki mindig figyelemmel kísérte munkámat, és rengeteg segítséget nyújtott dolgozatom megírásához.

Bevezetés

Napjainkban a gyógyszeripari vállalatok egyik legnagyobb kihívása az egyre élesedő gazdasági versenyhez való alkalmazkodás az egyre szigorodó gyógyszerhatósági direktívák betartása mellett. A verseny eredményeként az utóbbi években a gyógyszerpiac vezető termelői egyre nagyobb hangsúlyt fektetnek az innovációs lehetőségek kihasználására, ezen belül is a számos gazdasági és technológiai előnyt magában hordozó folyamatos üzemű technológiákkal előállított gyógyszerkészítmények fejlesztésére.

A nagy befektetési költséggel és kockázattal járó innovációs fejlesztések mozgatórugója az egészség- és iparpolitikai nyomáson^{1, 2} kívül a vállalatok profitmaximalizálásra törekvése a költségek csökkentésén, valamint a minél nagyobb piaci részesedés elérésén keresztül³. A gyógyszeripari vállalatok idő- és költséghatékony termelésében, termékeinek minőségi megfelelőségében⁴ és környezetvédelmi szerepvállalásában⁵ igen nagy szerepe van a folyamatos üzemű technológiák alkalmazásának. A folyamatos üzemű, stacioner állapotban működtetett készülékek könnyen automatizálhatóak, a folyamatanalitikán alapuló technológiák (PAT) és a tervezéssel biztosított minőség (QbD) eszköztárának használatával – számos egyéb előny mellett – pedig minimalizálható a selejtarány⁶.

Az olvadék alapú extrúzió (*melt extrusion; ME*) nagy múltra tekint vissza a polimerek feldolgozásában. Ezt a folyamatos gyártási eljárást az elmúlt pár évtizedben sikeresen alkalmazták a gyógyszeriparban is, elsősorban szilárd diszperziók előállítására⁷. Az előállított extrudátumokból granulátum, pellet, film, implantátum készíthető orális, transzdermális és transzmukozális gyógyszerhordozó rendszerekhez. Az eljárás – számos előnye mellett – igen nagy hátránya, hogy alkalmazása során a betáplált anyag intenzív hőmérsékleti és nyírási igénybevételnek van kitéve. Ezen igénybevételek gyógyszerhordozó rendszerek előállításakor bizonyos esetekben döntően meghatározhatják az előállított termék szennyezésprofilját^{8, 9} és farmakokinetikai tulajdonságait.

A tanszéki kutatások során az elmúlt években számos eredmény és tudományos közlemény született, amelyek igazolják a fent említett eljárás gyógyszeripari alkalmazhatóságát. Ezekben a munkákban elsősorban rossz vízoldhatóságú hatóanyagok kioldódásjavítását tűzték ki célul. Dolgozatomban azt vizsgáltam, hogy a folyamatos eljárással előállított, lehetséges gyógyszerkészítmények bomlástermék-tartalma mennyire felel meg a szigorú gyógyszerkönyvi előírásoknak.

Munkám fő célja annak elemzése volt, hogy az olvadék alapú extrúzióval előállított készítmények szennyezésprofilja milyen módon és mértékben befolyásolható az egyes

feldolgozási paraméterek változtatásával, illetve különféle adalékanyagok alkalmazásával. Ennek során részletesebben is vizsgálni kívántam a molekuláris hatóanyag-diszperziók termikus viselkedését (elektrosztatikusan szálképzett termékek segítségével), ami alapján várhatóan következtetések vonhatók le egy olvadékextrúziós rendszer viselkedésével kapcsolatban.

Tartalom

1. Irodalmi rész	7
1.1. A szájon át adagolt gyógyszerek útja a szervezetben (L-ADME)	7
1.1.1. Azonnali hatóanyag-leadású készítmények	8
1.1.2. Késleltetett hatóanyag-felszabadulás	8
1.1.3. Elnyújtott hatóanyag-leadás	8
1.2. Lipofil vegyületek biohasznosulása	8
1.3. Hatóanyagok oldódási sebességének növelése	10
1.3.1. Az oldódási sebességet meghatározó tényezők	10
1.3.2. A kioldódás gyorsítása a fajlagos felület növelésével	10
1.3.3. A hatóanyagok oldhatóságának javítása	11
1.3.4. Hatóanyagok amorfizálása	12
1.3.4.1. Összefüggés az anyagi szerkezet és az oldhatóság közt	12
1.3.4.2. Az amorfizálás előnyei	13
1.3.4.3. Stabilitás és kémiai reaktivitás	13
1.3.5. Szilárd diszperziók és szilárd oldatok	14
1.3.5.1. Első generációs szilárd diszperziók	14
1.3.5.2. Második generációs szilárd diszperziók	14
1.3.5.3. Harmadik generációs szilárd diszperziók	14
1.3.5.4. Amorf hatóanyag szemcsék, vagy azok szilárd diszperzióinak előállítás	15
1.4. Folyamatos készítménytechnológiai eljárások	16
1.4.1. Elektrosztatikus szálképzés	17
1.4.2. Gyógyszerhatóanyagok ömledékextrúziós feldolgozása	18
1.4.2.1. Az ömledékextrúzió gyógyszeripari hasznosíthatóságának korlátai	20
1.4.2.2. Az ömledékextrúzió gyógyszeripari hasznosíthatóságának kiterjesztése	21
1.5. Gyógyszerkészítmények tisztaságvizsgálata	23
1.5.1. Tisztaságvizsgáló analitikai módszerek	24
2. Anyagok és módszerek	26
2.1. Felhasznált hatóanyag	26
2.2. Mátrixanyagok és segédanyagok az extrúzióhoz és a szálképzéshez	26
2.2.1. Eudragit® E PO (EudE)	26
2.2.3. Polietilén-glikol 20000 Da (PEG20K)	27
2.2.4. Hidroxipropil- β -ciklodextrin (HP β CD)	28
2.2.5. α -tokoferol (TOK)	28

2.2.6.	Aerosil 200 (SIL)	29
2.3.	Gyártási, kezelési és analitikai módszerek	29
2.3.1.	Ömledékextrúzió (HME)	29
2.3.2.	Oldat alapú elektrosztatikus szálképzés (SES)	30
2.3.3.	Termogravimetria (TG)	31
2.3.4.	Por-röntgendiffrakció (XRPD)	31
2.3.5.	Raman térképezés.....	31
2.3.6.	In vitro kioldódásmérés	32
2.3.7.	Fordított fázisú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás vizsgálatok (RP-HPLC)	32
3.	Kísérleti eredmények és értékelésük.....	35
3.1.	Célkitűzések és az előkísérletek összefoglalása	35
3.2.	Spironolakton tartalmú extrudátumok bomlástermék-tartalmának csökkentése	37
3.2.1.	A megfelelő RP-HPLC módszer kidolgozása az extrudátumok tisztaság-vizsgálatára	37
3.2.2.	Segédanyagok hatása az extrudátumok tisztaságára	41
3.2.3.	A feldolgozási hőmérséklet csökkentésének hatása az extrudátumok tisztaságára	44
3.2.4.	A tartózkodási idő hatása az extrudátumok tisztaságára	47
3.2.5.	Spironolakton tartalmú molekuláris diszperziók termikus viselkedésének vizsgálata	51
	Irodalomjegyzék	60

1. Irodalmi rész

1.1. A szájon át adagolt gyógyszerek útja a szervezetben (L-ADME)

A forgalomban lévő, főként terápiás alkalmazású gyógyszerek egyik leggyakoribb adagolási formája a szájon át történő bevétel. A perorális készítmények – például tabletták, kapszulák, granulátumok, porok, szuszpenziók, emulziók vagy oldatok – orvosi segítség nélkül is alkalmazhatóak, nagy tömegben és gazdaságosan gyárthatóak, és rendszerint hosszan eltarthatóak. Ezek a készítmények alkalmazásuk során általában nem tartózkodnak számottevő ideig a szájban, hanem a nyelőcsövön keresztül a gyomorba kerülnek. Általános cél, hogy a biológiai hatást kiváltó hatóanyag, már a gyomorsavban oldatba kerüljön a készítményből. Ennek első elengedhetetlen lépése szilárd gyógyszerformák esetén a hatóanyagsemcsék felszabadulása a készítményből (*liberáció*), ezáltal a biológiailag aktív vegyület a gyomorban jelen lévő viszonylag nagy térfogatú savas folyadékba kerül. Éhomi állapotban ennek térfogata kb. 0,5 l, pH-ja 1-2; étkezés utáni térfogata 1-3 l, pH-ja pedig 3-6. A gyomorsav többek között sósavat, szervesetlen sókat és lebontó enzimeket tartalmaz. A gyomor belső felszíne viszonylag kicsi (kb. 1 m²), tartalmát átlagosan 2-4 óra alatt üríti a vékonybélbe, így rendszerint elenyésző mértékben járul hozzá a gyógyszerhatás következő kinetikai lépéséhez, a felszívódáshoz (*abszorpcióhoz*).

Jókora felszínének (kb. 250 m²), valamint bőséges vérellátásának köszönhetően a vékonybél fontos szerepet játszik a per os adagolt gyógyszerek felszívódásában. Az abszorpció alapfeltétele, hogy a vegyület oldott formában legyen. A gasztrointesztinális rendszer e szakaszán a pH folyamatosan nő, jellemzően 6,8-tól 8-ig. A vékonybél utáni szakasz a vastagbél, amelyben a víz és a sók felszívódásán túl érdemi abszorpció ritkán vagy csak kevéssé történik.

A vérkeringésbe került hatóanyag megoszlása (*disztribúciója*) során eloszlik a szervezetben, és eljut a hatás helyére, ahol a megfelelő receptorhoz kapcsolódva fejti ki biológiai hatását. Ez ellen hatnak a szervezet védekező mechanizmusai, amelyek lebontják (*metabolizálják*) a nem hasznosult hatóanyagot. Különösen fontos a máj méregtelenítő szerepe. A hatóanyag metabolitjai ezt követően kiürülnek a szervezetből (*elimináció*)¹⁰.

1.1.1. Azonnali hatóanyag-leadású készítmények

Sok esetben fontos, hogy a szájon át beadott gyógyszerkészítmény néhány percen belül felszívódjon és kifejtsen hatását, pl. migrén, láz, szívpanaszok, kiugró magas vérnyomás esetén. A tabletta szétesése és a hatóanyag gyors felszabadulása érdekében könnyen oldódó tablettamátrixot és szétesést elősegítő anyagokat használnak. Korábban ezek kémiaiilag nem módosított dezintegránsok voltak (alginátok, keményítők, cellulózok stb.), ma viszont még gyorsabb hatású, úgynevezett szuperdezintegránsokat alkalmaznak. Ezek kémiaiilag módosított, jellemzően térhálós polimerek, amelyek a gyomornedvvel érintkezésbe kerülve duzzadnak, szétfeszítve ezáltal a préselt készítményt. Ilyen például a módosított cellulóz (Ac-Di-Sol, Vivasol), a térhálósított polivinilpirrolidon (Polyplasdone XL-10) és a módosított keményítő (Primojel, Explotab)¹¹.

1.1.2. Késleltetett hatóanyag-felszabadulás

Késleltetett hatóanyag-leadás esetében a gyógyszervegyület ideálisan addig nem szabadul fel a készítményből, amíg az a gasztrointesztinális traktus egy meghatározott pontjára el nem ér. Ezek közül igen gyakoriak a gyomornedvnek ellenálló bevonattal ellátott tabletták. Ezeket a készítményeket olyan polimerekkel vonják be, amelyek savas közegben nem, de semleges, illetve lúgos közegben jól oldódnak. Ilyen készítményekre abban az esetben van szükség, amikor a farmakon gyomorirritáló hatású vagy bomlik a gyomornedvben¹². A hatóanyag-felszabadulás helye és sebessége magában a bélszakaszban is szabályozható különböző bevonatok^{13, 14} alkalmazásával.

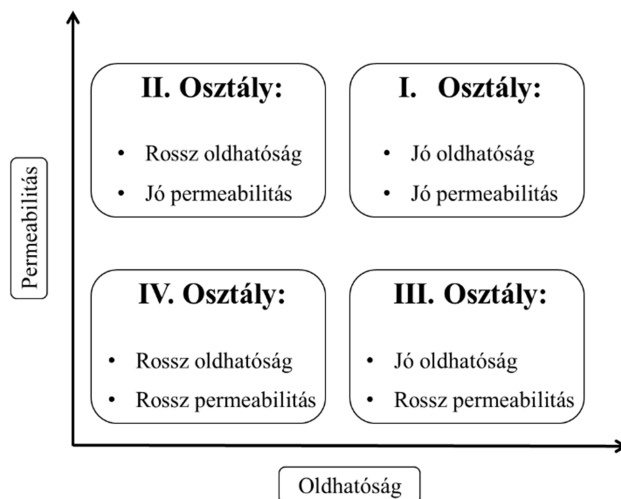
1.1.3. Elnyújtott hatóanyag-leadás

Amennyiben a gyógyszervegyület lassú és egyenletes felszabadulását kívánjuk elérni, lassan széteső tablettára, illetve lassan oldódó mátrixanyagokra van szükség. A szétesési időt növelhetik a készítmény gyártásánál alkalmazott különböző kötőanyagok (polivinilpirrolidon) és lipofil komponensek (pl. sztearin, paraffin). Szintén kedvező a gélesedő polimerek alkalmazása, ilyen pl. a hidroxipropil-cellulóz és a poliakrilsav (Carbopol)¹⁵.

1.2. Lipofil vegyületek biohasznosulása

Minden gyógyszerkészítmény esetében kívánatos, hogy a terápiás hatást a lehető legkisebb dózissal biztosítani lehessen, tehát a beadott hatóanyag minél nagyobb hányada kerüljön be a vérkeringésbe a felszívódás során. Az ezt jellemző, hatásfok-jellegű mennyiséget biohasznosulásnak nevezzük. A gyógyszerformától, a hatóanyag jellemzőitől és

a kívánt kinetikától függően más-más okai lehetnek a gyenge biohasznosulásnak. A vegyületek a biofarmáciai osztályozási rendszer (BCS, Biopharmaceutical Classification System) szerint négy csoportba sorolhatók egyensúlyi oldhatóságuk és intesztinális permeabilitásuk alapján (1. ábra)¹⁶.



1. ábra A biofarmáciai osztályozási rendszer

A felszívódást hátráltathatja a gyenge permeabilitás, amennyiben a hatóanyag lassan jut át a bélfalon (III. és IV. osztály). Szintén a biohasznosulást csökkentheti a hatóanyag gyenge vízoldhatósága (II. és IV. osztály). E vegyületek kristályai többnyire lassan oldódnak, illetve a gyenge oldhatóság miatt a közeg hamar telítődik, ami megakadályozza a további oldódást. Ez különösen nagy problémát jelent az azonnal oldódó készítmények fejlesztésekor, ugyanis a hatóanyag egy része még azelőtt túljuthat a felszívódás helyén, hogy oldatba kerülne¹⁷. Az 1.1-es pontban említetteknek megfelelően a hatóanyagok csak oldott formában képesek felszívódni, tehát megfelelő készítménytechnológiai eljárásokkal biztosítani kell, hogy az aktív anyag szolvatáltan érjen a felszívódás helyére. A gyógyszer technológiában arra törekednek, hogy szerves oldószerekben (alkohol, glikolok, glicerín, olajok stb.) oldott hatóanyagok beadása helyett a vizes közegbeli oldódást segítsék elő, illetve a vízoldhatóságot javítsák. Az ezeket célzó stratégiák és technológiák fejlesztésének szükségszerűségét támasztja alá, hogy az újonnan piacra kerülő gyógyszerek hatóanyagai egyre nagyobb mértékben a BCS II. osztályba tartoznak.

1.3. Hatóanyagok oldódási sebességének növelése

1.3.1. Az oldódási sebességet meghatározó tényezők

A BCS II. osztályba sorolt hatóanyagok kioldódása többféle készítménytechnológiai stratégia megválasztásával gyorsítható. A hatóanyag szerkezetbeli oldódásának kinetikáját a Noyes–Whitney-egyenlet (1. egyenlet) írja le. Az összefüggésből következik, hogy a kioldódás gyorsítható

- az oldódó szemcsék kioldóközeggel érintkező felületének (A) növelésével
- a hatóanyag oldhatóságának (c_s) javításával

$$\frac{dX}{dt} = \frac{A \cdot D}{h} \cdot \left(c_s - \frac{X_d}{V} \right)$$

ahol

1. egyenlet A Noyes-Whitney-egyenlet

- D a diffúziós együttható
- A a szilárd hatóanyag oldószerrel érintkező aktív felülete
- h a felületet körülvevő diffúziós réteg vastagsága
- c_s a telítési koncentráció a helyi fiziológiai körülmények között
- V a kioldóközeg térfogata
- X_d a már oldatba került hatóanyag mennyisége

1.3.2. A kioldódás gyorsítása a fajlagos felület növelésével

A részecsk nagyságnak biofarmáciai szempontból rendkívül nagy jelentősége van, hiszen a hatóanyagkristályok oldódása a szilárd-folyadék határfelületen megy végbe, a szemcseméret csökkentésével pedig nő a fajlagos felület. Nemcsak a kristályok mérete, hanem azok *habitusa* (a kristály külső megjelenési formája, alakja) is befolyásolja az oldódás sebességét, ugyanis a különböző formáknak eltérhet a fajlagos felülete. *Mikronizálással* mikroméretű és közelítőleg gömb alakú kristálytörmelékkel vagy szabálytalan, amorf sajátságú szemcséket lehet előállítani¹⁸.

Szubmikronos szemcsék előállítása további előnyöket jelent. A Noyes–Whitney-egyenletből következő sebességnövekedésnél jóval nagyobb javulás érhető el, köszönhetően annak, hogy nano mérettartományban óriási az egységnyi térfogatra jutó felület és felületi feszültség. Ez végsősoron jobb oldhatósághoz vezet az Ostwald-Freundlich-egyenletnek megfelelően.

$$\frac{S(r)}{S(bulk)} = \exp \frac{2 * \gamma * V_m}{R * T * r}$$

ahol

- $S(r)$ az r sugarú részecske oldhatósága
- $S(bulk)$ a nem szubmikronos részecskék oldhatósága
- γ a felületi feszültség
- V_m a moláris térfogat
- R az egyetemes gázállandó
- r a részecske sugara

2. egyenlet Az Ostwald-Freundlich-egyenlet

A szubmikronos szemcsék nagyon könnyen aggregálódnak, ezért stabilizálni kell azokat. Nanoszuszpenziók esetében a diszperziós közeg általában víz, de lehet glicerín vagy olaj is. Az összetapadást felületaktív anyagok adagolásával akadályozzák. Szintén kézenfekvő módszer a kolloid szilárd diszperziók és szilárd oldatok előállítása. Ezekben a rendszerekben egy szilárd hordozóban oszlatják el a hatóanyag szubmikronos szemcséit.

1.3.3. A hatóanyagok oldhatóságának javítása

Az elmúlt három évtizedben, a gyógyszerjelölti státuszt elérő vegyületek sajátságaiban megfigyelhető tendenciák alapján, az újonnan szintetizált hatóanyagok igen rossz vízdoldhatósággal rendelkeznek^{19, 20}. Ez, a piacra kerülő originális gyógyszerkészítmények számát jelentősen csökkentő tendencia az elmúlt évtizedekben kialakuló és folyamatosan fejlődő, kétféle gyógyszerkutatási stratégia, a nagy áteresztőképességű kötődésvizsgálat (high-throughput screening) és a szerkezet-hatás összefüggésen alapuló racionális gyógyszertervezés széleskörű alkalmazásával magyarázható²⁰. A hatóanyagok szerkezetoptimalizálása során különböző kémiai módszerekkel lehet javítani az oldhatóságot: *vízoldékony sók képzésével, poláris csoportok beépítésével vagy oldható profarmakonok alkalmazásával*²¹. A készítménytechnológiában szintén lehetséges az oldhatóság javítása az alábbi módszerekkel:

- **Polimorfia:** A polimorfia kémiai azonos anyagok eltérő kristályszerkezetben történő megjelenését jelenti. Az egyes polimorf módosulatok eltérő morfológiai jellemzőiből fakadóan gyógyszeripari hasznosságuk is eltérhet. Az egyes módosulatok szabadenergiája és oldhatósága eltérő. Stabil módosulatnak az a polimorf tekinthető, amelyiknek a legkisebb a Gibbs-féle szabadenergiája adott hőmérsékleten és nyomáson. Az instabil módosulatok kisebb-nagyobb sebességgel átalakulnak stabil formává, ezért szükség esetén ezt az átalakulást kinetikailag gátolni kell. Erős

mechanikai megmunkálás (pl. tablettázás²²), könnyen eredményezhet polimorf átalakulást.

- **Komplekképzés:** A molekuláris komplekképződés hidrogénhidak és dipól-dipól erők által, továbbá hidrofób kölcsönhatások következtében jöhet létre. Ennek során gyakran megváltoznak a gyógyszer olyan fontos tulajdonságai, mint a stabilitás, permeabilitás vagy a kompatibilitás²³
- **Szolubilizálás:** Felületaktív anyagok segítségével szintén növelhető az oldhatóság. Ily módon vízben nem, vagy csak rosszul oldódó hatóanyagokból tiszta, legfeljebb opaleszkáló oldatot készíthetünk a gyógyszer kémiai struktúrájának megváltoztatása nélkül. A gyógyszertechnológiában erre alkalmas vegyületek a tenzidek (felületaktív anyagok). A felületaktív anyagok amfipatikus szerkezetűek, tehát poláros és apoláros csoportjaik egyaránt vannak, így vizes közegben micellát képeznek. A micella hidrofíli csoportjai szolubilizálják a micella hidrofób belsejében helyet foglaló rosszul oldható, apoláros hatóanyagot²⁴
- **Amorfizálás:** A hosszútávú térbeli rendezettségrel nem rendelkező szilárd anyagokat, melyek nem rendeződtek kristályrácsba amorfoknak nevezzük. Az amorf anyagok ezen állapota egy metastabil állapot, tehát idővel kristályosodhatnak, ezt pedig ilyen típusú készítményekben megfelelően gátolni szükséges, hisz ebben az esetben eltérő farmakokinetikai sajátsággal rendelkező gyógyszerforma keletkezhet²⁵.

1.3.4. Hatóanyagok amorfizálása

1.3.4.1. Összefüggés az anyagi szerkezet és az oldhatóság közt

Az amorf anyagokban teljes mértékben hiányzik a hosszútávú rendezettség. Dermedés közben a részecskék nem rendeződnek kristályrácsba, tehát energiájuk nem csökken a rácsenergiával. Emiatt egy adott anyag amorf formájának az anyag összes kristályos formájánál nagyobb energiájúnak kell lennie. Ez az oka annak, hogy az amorf forma oldhatósága is nagyobb az összes kristályos formáénál²⁶. Az összefüggést a 3. egyenlet számszerűsíti (amelyben ΔG a kristályos és amorf forma szabadentalpia-különbsége, R az egyetemes gázállandó, T az abszolút hőmérséklet és S az oldhatóság).

$$\Delta G = -R * T * \ln \frac{S_{\text{amorf}}}{S_{\text{kristályos}}}$$

3. egyenlet Összefüggés az amorf és kristályos forma szabadentalpája között

A szabadentalpiában mutatkozó különbség az entrópia, entalpia és hőkapacitás értékeiből becsülhető²⁷. Amorfizált hatóanyag oldásával jelentős túltelítést érhetünk el az adott körülmények között stabil kristályos forma oldhatóságához képest. A kristályosodás ekkor termodinamikailag kedvezményezett, de az átalakulás segédanyagokkal hátráltatható. A kinetikai gátat jelentő rácsenergia hiányából fakadóan az amorf anyagoknak nemcsak az oldhatósága jobb, de gyorsabban is oldódnak, mint a kristályos formák²⁸.

1.3.4.2. Az amorfizálás előnyei

A gyógyszerhatóanyagok amorfizálása többek között az alábbiak miatt lehet szükséges:

- egyes kristályos formák nehezen préselhetők tablettázás során, mint a könnyebben deformálható amorf forma²⁹
- amorf formában lévő hatóanyagok lényegesen jobb oldhatósággal rendelkeznek a kristályszerkezet hiányából adódó szabadenergia-többlet miatt³⁰
- egy lejárt védettséggű hatóanyag amorf formában újból szabadalmaztatható³¹

1.3.4.3. Stabilitás és kémiai reaktivitás

A hatóanyagok amorf formája metastabil (**1.3.4.1.**). Az ilyen állapotban lévő farmakonok feldolgozásuk, valamint tárolásuk során kristályosodhatnak. Az átalakulást elősegíti a megnövekedett hőmérséklet és páratartalom. A két szerkezeti forma közötti transzformáció különösen hátrányos a gyógyszeriparban, ahol a készítmények tartalmát – a hatóanyag formájára is kiterjedően – definiálni kell, és az eltartás során az összetételben csak kismértékű változás történhet.

Az amorf hatóanyag tárolása során nemcsak fizikai, de kémiai átalakulást is szenvedhet³². A megnövekedett reaktivitás egyik fő oka a szabadabb molekuláris mobilitás, ami növeli a kölcsönhatások valószínűségét. A másik fő ok az amorf állapot nagyobb felületi szabadenergiájából származó megnövekedett higroszkóposság. A feldolgozási, illetve tárolási környezet páratartalmától függő szorbeált nedvesség hatására szilárd fázisú bomlási folyamatok játszódhatnak le³³.

Az amorf készítmény tárolása során bekövetkező szilárd fázisú átalakulások kockázatát a készítmény fejlesztésekor ellenőrizni és minimalizálni szükséges²⁵. A kémiai, illetve fizikai átalakulásokhoz szükséges amorf részecskék érintkezése, valamint felületi nedvességadszorpciója egyidejűleg csökkenthető, amennyiben az amorf állapotú hatóanyag egy alkalmas mátrixpolimerben kellő mértékben elosztatva van jelen a készítményben. A molekulák mozgékonyága minimalizálható, ha a készítményt a mátrix üvegesedési

hőmérséklete (T_g) alatt tárolják, illetve előnyös lehet az anyag T_g értékét növelő adalékanyagok alkalmazása. Mivel a víz – lágyító hatása révén – csökkentheti a T_g értékét, mind a levegő relatív nedvességtartalma, mind a készítményben maradt nedvesség fontos tényező az eltartás során.

1.3.5. Szilárd diszperziók és szilárd oldatok

1.3.5.1. Első generációs szilárd diszperzók

A szakirodalmi áttekintés során megállapítottam, hogy a *szilárd diszperzióknak* nevezett finomeloszlású gyógyszerrendszerek első leírása Sekiguchitól és Obitól származik, 1961-ből. Leírták, hogy vízben rosszul oldódó hatóanyagok megfelelő hordozóval alkotott eutektikus elegyének előállításával javítható a hatóanyag-leadás sebessége, következésképpen a biohasznosulás is³⁴. Munkájukban a megnövekedett biohasznosulást a hatóanyag mikrokristályos állapotából adódó megnövekedett fajlagos felületnek tulajdonították. 1966-ban Goldberg és munkatársai közleményeikben^{35, 36} már a hatóanyag molekuláris jelenlétét is feltételezték a mikrokristályos hatóanyaghányad mellett az alkalmazott mátrixban. Az ilyen típusú formulációkban elsősorban kristályos hordozókat (pl. karbamidot, és cukrokat) alkalmaztak.

1.3.5.2. Második generációs szilárd diszperzók

A hatvanas évek végén megjelentek a második generációs szilárd diszperziók, amelyek a hordozókat amorf formában tartalmazták. A legsikeresebb mátrixalkotóknak a polimerek bizonyultak. Ezek lehetnek teljesen szintetikus (pl. polivinilpirrolidon, polietilén-glikol, polimetakrilátok stb.) vagy természetes polimerek (pl. cellulózszármazékok), és ciklodextrin származékok³⁷. Az amorf szilárd oldatokban, a hatóanyag és a hordozó teljesen elegyedik egymással. Ezek a rendszerek a farmakon részecskeméretét közel molekuláris szintre képesek csökkenteni.

1.3.5.3. Harmadik generációs szilárd diszperziók

A közelmúltban kimutatták, hogy az oldódási profil tovább javítható, amennyiben a hordozó felületi aktivitással vagy önemulgeáló tulajdonsággal rendelkezik – megjelentek a harmadik generációs szilárd diszperziók. Ezek mátrixa felületaktív anyag, vagy amorf polimerek és tenzidek keveréke. Harmadik generációs szilárd diszperziók alkalmazásával a

rossz vízdoldhatóságú hatóanyagok kiváló biohasznosulásának biztosítása mellett elkerülhető a farmakon visszakristályosodása is^{38, 39}.

1.3.5.4. Amorf hatóanyag szemcsék, vagy azok szilárd diszperzióinak előállítása

A kristályos hatóanyagok amorfizálására számos módszer található a szakirodalomban (1. táblázat). Az egyes technológiák ipari mértékű méretnövelhetőségénél elsődleges szempont a robosztusság, az oldószermentesség, és a nyírási, illetve a termikus igénybevételektől mentes feldolgozás.

1. táblázat Amorf állapotú hatóanyagok előállításának lehetőségei

Módszer	Kiindulási fázis	Elv	Irodalom
Oldószeres módszerek			
gyors bepárlás	folyadék (oldat)	oldószer-eltávolítás	40
fagyasztva szárítás	oldat (fagyasztott)	oldószer-eltávolítás	41
porlasztva szárítás	oldat	oldószer-eltávolítás	42
elektrosztatikus szálképzés	oldat	oldószer-eltávolítás	43
Olvadékos módszerek			
gyors hűtés	folyadék (olvadék)	energiaelvonás	44
olvadékeextrúzió	szilárd (kristályos)	energiabevitel	7
elektrosztatikus szálképzés	szilárd (kristályos)	energiabevitel	45, 46
diszpergálás olvadékba	szilárd (kristályos)	energiabevitel, -elvonás	47
Egyéb módszerek			
örlés, mikronizálás, préselés	szilárd (kristályos)	energiabevitel	48

A porlasztva, valamint fagyasztva szárítás során a mátrixképzőt és a hatóanyagot egy erre alkalmas oldószerben együtt oldják, majd az oldószer olyan módon távolítják el (intenzív párologtatással vagy szublimálással), hogy a polimerláncok közt molekulárisan diszpergált hatóanyagnak ne legyen lehetősége migrálni és átrendeződni. Az eljárások előnye, hogy akár kétkomponensű rendszerekkel is megvalósítható, valamint hogy a szemcseméret és a porozitás megválasztása (a gyártási paraméterek megfelelő beállításával) a kioldódás

szabályozását is lehetővé teszi. A művelet hátránya a szakaszosság, a viszonylag kis termelékenység és a magas energiaköltségek. Az egyszerűbben megvalósítható porlasztva szárításos eljárások során az apoláris maradvány-oldószerek készítménybeli koncentrációja számottevő lehet⁴⁹, melyet megfelelő követő eljárásokkal (pl. fluidszáritás) a hatóságok által meghatározott határértékek⁵⁰ alá kell csökkenteni.

1.4. Folyamatos készítménytechnológiai eljárások

A folyamatos technológiák alkalmazása a legtöbb iparágban (pl. élelmiszeripar, vegyipar stb.) általánosnak tekinthető. A gyógyszeripar azonban sokáig erősen ragaszkodott a hagyományos – szakaszos – technológiákhoz, a hatóságok szigorú szabályozásai ugyanis megnehezítették a változások bevezetését a gyártási folyamatokban. A gyógyszerpiac termelőire ható egyre élesedő gazdasági verseny azonban arra ösztönzi a gyártókat, hogy gazdaságosabb, innovatív gyártási technológiák alkalmazásával törekedjenek a nagyobb profitra. Ennek következménye a folyamatos technológiák és a folyamatos gyártósorok elterjedése, melyek számos területen idő- és költséghatékonyabbnak bizonyulnak a korábbi szakaszos technológiáknál. Folyamatos üzemű gyártósorok alkalmazásának legfőbb előnyei tehát a szakaszos technológiákkal szemben^{4, 51}:

- kisebb helyigénnyel rendelkeznek
- beüzemelésük kisebb beruházási költséget igényel
- jobb anyag- és energiahatékonysággal dolgoznak
- gyors optimálhatóságuknak köszönhetően méretnövelésük egyszerűbben megoldható, valamint a készülékek kihasználatlansága, „holtideje”, a gyártási folyamat során minimálisra csökkenthető
- környezetvédelmi szempontból előnyösebbek
- az előállított termékek minőségének biztosítása könnyebben megoldható a folyamatanalitikán alapuló technológiák (PAT) alkalmazásának segítségével

Az egyesült államokbeli gyógyszerügyi hatóság (Food and Drug Administration, FDA), felismerve a szakaszos technológiák innovációt visszatartó hatását 2004-ben kiadta a folyamatanalízisen alapuló technológiák (Process Analytical Technologies, PAT) fejlesztésével és alkalmazásával kapcsolatos irányelveit⁵². Ez a dokumentum bátorítja a gyógyszeripart a gyártási folyamat olyan módon való megtervezésére, ami biztosítja a termék megfelelő minőségét. Olyan – célszerűen folyamatos – eljárásokat ajánl, amelyekben a

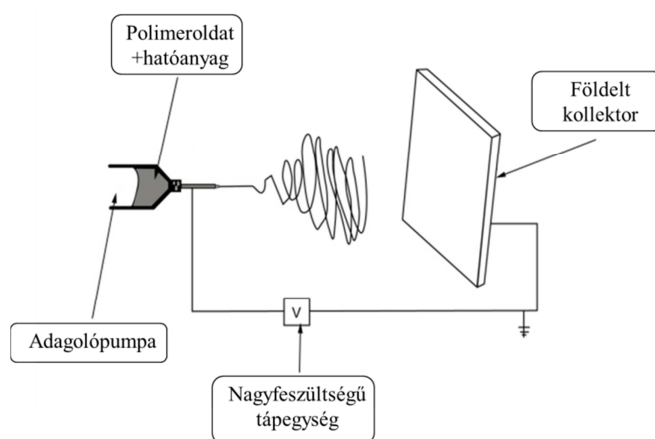
készülékben tartózkodó anyag „on-line” vagy „in-line” módon, valós időben vizsgálható. A PAT alkalmazásával akár olyan folyamat is fejleszthető, amely terméke gyártást követő minősítés nélkül is felszabadítható (real-time release testing)⁵³.

Szintén előnyös lehet a tervezett minőség koncepciójának (Quality by Design, QbD) alkalmazása. Ennek során kockázatelemzéssel és a statisztika eszköztárával vizsgáljuk, hogy a kritikus folyamatparaméterek miként befolyásolják a kritikus termékjellemzőket. Az összefüggések feltárását követően meghatározható egy ún. tervezési tér. Ha a kritikus folyamatparamétereket és anyagjellemzőket e téren belül tartjuk, a termék megfelelő minőségű lesz⁵⁴. Így a gyártási eljárás önmagában garantálhatja a megfelelő minőségű terméket.

A legtöbb iparágban alkalmazott folyamatos gyártási technológiák hatalmas összegyűjtött ismeretanyaggal rendelkeznek. Logikus megoldásnak tűnik tehát a gyógyszeripar innovációs lehetőségeinek kutatása más iparágak – főként műanyag- és élelmiszeripar – jól bevált, nagy hagyományokkal rendelkező feldolgozási műveleteinek gyógyszeripari adaptálásával. Ilyen, a gyógyszeriparban egyre nagyobb teret nyerő eljárások a hatóanyagok ömledékextrúziós feldolgozása⁷ és elektrosztatikus szálképzése⁴³.

1.4.1. Elektrosztatikus szálképzés

Az oldatalapú elektrosztatikus szálképzés (*solvent-based electrospinning, SES*) során a mátrixpolimer és a hatóanyag szerves oldószeres vagy vizes oldatát egy elektróddal érintkezve nagyfeszültségre kötik (~10–35 kV), míg a gyűjtőként szolgáló ellenelektrodot általában földelik (2. ábra). A nagy elektromos térerősség hatására kialakuló Coulomb-erő képes az oldatból szálakat húzni. Ez a kilépő folyadéksugár az ellenpólusú kollektor felé haladva felgyorsul, elvékonyodik és megszilárdul. Az így kialakított szövedék szálainak átmérője elérheti a szubmikronos mérettartományt. Az oldószeres elektrosztatikus szálképzés alkalmazásának nagy előnye, hogy az oldószer ultragyors elpárolgásával az oldott hatóanyag általában amorf, vagy molekulárisan diszpergált formában marad a polimer mátrixban. Az eljárás gyógyszeripari alkalmazhatóságát, többek között a rossz vízoldhatóságú kristályos hatóanyagok kioldódási sebességének növelését tovább fokozza a szálak nagy fajlagos felülete. Az elektrosztatikus szálképzés egy folyamatos, eredményesen méretnövelhető technológia. Ipari mértékű alkalmazása már régóta ismert a textiliparban. Azonban akárcsak az előző pontban bemutatott porlasztva szárításos eljárásoknál, ennél a technológiánál is figyelembe kell venni a végtermékként kapott random szövedék szerves maradékoldószer-tartalmát⁵⁵.



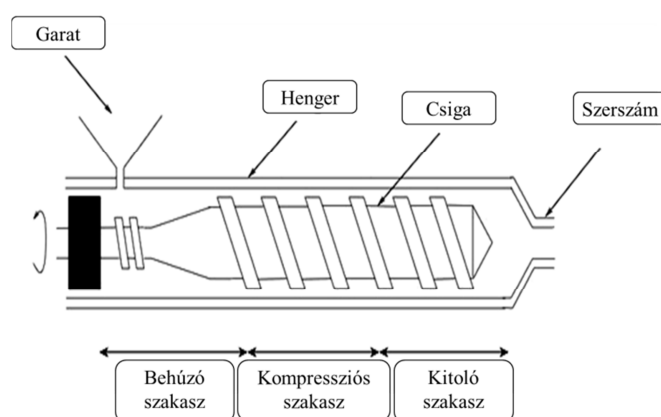
2. ábra Az elektrosztatikus szálképző berendezés sematikus rajza

Az oldószeres eljárások mellett az olvadékos technológiák alkalmazása a hatóanyagok amorfizálásának másik lehetősége. Olvadékdiszperziókban molekuláris szintű eloszlottság is megvalósulhat⁵⁶. Az olvadékalapú elektrosztatikus szálképzés (*solvent-free melt electrospinning; MES*) viszonylag régóta ismert technológia, de gyógyszeripari alkalmazására – tanszéki kutatásainkat összefoglaló közleményeken kívül – nem található példa a szakirodalomban. Az eljárás annyiban különbözik az előző bekezdésben bemutatott oldat alapú elektrosztatikus szálképzéstől, hogy ebben az esetben a szálképzés nem a polimer szerves vagy vizes oldatából, hanem a polimer ömledékéből történik, így alkalmazásával elkerülhető a nagy mennyiségű oldószer alkalmazása. Ipari alkalmazását megkönnyítheti viszonylag egyszerű méretnövelhetősége, azonban figyelembe kell venni az eljárás során fennálló intenzív hőhatásokat is, melyek a végtermék szennyezésprofilját és eltarthatóságát egyaránt befolyásolhatja.

1.4.2. Gyógyszerhatóanyagok ömledékextrúziós feldolgozása

Az utóbbi évtizedekben egyre több vizsgálat tárgyát képezi a hatóanyagok ömledékextrúziós feldolgozása. A műanyagiparból átvett eljárásban a hatóanyagot polimerömledékben vagy más kötőanyagban oszlatják el. Az ömledékextrúzió nagy előnye, hogy teljes mértékben oldószermentes, így nincs szükség nagy költséggel járó oldószerkezelési eljárásokra (pl. regenerálás, megsemmisítés stb.), valamint az előállított termék szárítására, esetleg maradékoldószer-tartalmának vizsgálatára. A hatóanyag a feldolgozás során részben vagy teljes egészében feloldódik a polimerömledékben, ennek köszönhetően rendkívül jó homogenitás érhető el. Az iparban legelterjedtebb egycsigás extrúder felépítését a 3. ábra szemlélteti. Az alapanyagot a garaton keresztül juttatják a berendezésbe manuálisan vagy szállítással. Az extrúder központi része egy hőmérséklet-

szabályzókkal ellátott hengerből és egy, vagy két csigából áll, amelyek a porkeverék és az abból hő hatására keletkező ömledék szállítását végzik. A henger fűtését és hűtését több zónára osztják, ami lehetővé teszi az optimális feldolgozhatóságot eredményező hőfokprogram beállítását. Az ikercsigás extrúdereket többnyire különleges célokra használják, főleg por alapanyag feldolgozására vagy nagyfokú homogenizálást igénylő feladatok megoldására. A termék alakját és hozzávetőleges méretét a szerszám kialakítása határozza meg. Ennek megfelelően a szerszám alakja, méretei és műszaki megoldása rendkívül változatos lehet.



3. ábra A csigás extrúder felépítése

Az alkalmazott polimer sokféle szerepet tölthet be az így kialakított rendszerben azon felül, hogy hőre lágyuló kötőanyag. Az alkalmazott mátrixpolimer tulajdonságaitól függően az extrudált készítmény hatóanyag-leadása lehet pillanatszerű, vagy elnyújtott⁵⁷. Ismert, hogy bizonyos polimerek szolubilizáló hatásuk révén javítják a hatóanyagok vizes közegbeli oldhatóságát³⁹. Az előállított extrudátum darabolás, majd őrlés után tablettázható vagy kapszulátöltetként használható.

Napjainkban az ömledékextrúzió a gyógyszeripari kutatás szerves részévé vált előnyös tulajdonságainak köszönhetően, melyek közül a legfontosabbak a következők:

- fokozott biohasznosulás elérése rosszul oldódó vegyületek esetén
- oldószermentesség
 - költségigényes oldószerkezelési eljárások, valamint
 - idő- és energiaigényes szárítási lépések elhagyhatósága
 - környezeti terhelés csökkentése
- kevesebb feldolgozási lépés, rövidebb gyártási idő
- kiváló hatóanyagtartalom-egységesség

- szabályozott hatóanyag-felszabadulás

A gyógyszerhatóanyagok ömledékextrúziós feldolgozásának gyógyszeripari létjogosultságát jelzi, hogy számos, ezen eljárással gyártott készítmény megtalálható a gyógyszerpiacon. Ilyenek többek között a lopinavir és ritonavir hatóanyagokat tartalmazó, HIV orvoslásban használt Kaletra[®] (Abbott Laboratories)⁵⁸, a verapamil-hidroklorid tartalmú, vérnyomáscsökkentő Isoptin SR-E[®] (Abbott Laboratories)⁵⁹, valamint az etinilösztadiol és etonogesztrel tartalmú fogamzásgátló NuvaRing[®] (N. V. Organon) gyógyszerkészítmények.

1.4.2.1. Az ömledékextrúzió gyógyszeripari hasznosíthatóságának korlátai

A feldolgozandó vegyület, valamint az alkalmazni kívánt mátrixpolimer fizikai vagy kémiai tulajdonságai gyakran határt szabnak egy készítmény előállítási és formálási lehetőségeinek. Több hatóanyag/mátrixpolimer rendszer extrúziós vizsgálatánál bizonyították, hogy a farmakon⁶⁰, és bizonyos esetekben a hordozó segédanyag is jelentős bomlást szenved a feldolgozási folyamat során^{61, 62}. Ezek az extrúzió alatt lejátszódó bomlási folyamatok igen sokfélék lehetnek, jellemzően hidrolízis, szolvólízis és oxidáció⁶⁰. Ezek hatására az előállított végtermék bomlástermék-tartalma túllépheti a hatóságok által meghatározott határértékeket, valamint feltételezhető, hogy a mátrixpolimer degradációjával a készítmény eltarthatósága is romolhat. Egyes esetekben a mátrixpolimer degradációjából származó melléktermékek a farmakon bomlási folyamataiért is felelősek lehetnek^{63, 64}.

Bár az extrúzió során a betáplált anyagkeveréket érő stresszhatásoknak köszönhetően alakul ki a szilárd diszperzió, számos esetben szükséges e terhelések mérséklése. Az extrúzió során a feldolgozandó anyagkeverékre ható stresszforrások:

- *nyomás*, melyet a feltorlódó ömledék alakít ki (jellemzően kisebb, mint 200–300 bar)
- *nyírás*, melyet a csigák forgása okoz
- *hőhatás*, ami a betáplált anyagkeverék megömlesztéséhez szükséges (jellemzően kisebb, mint 200 °C)
- *kémiai hatások*, amennyiben a hatóanyag kölcsönhat valamely segédanyaggal vagy mátrixalkotóval

Az extrúziós feldolgozásoknál a homogenitás és amorfizáció szempontjából rendkívül előnyös a hatóanyag (készülékbeli nyomáshoz tartozó) olvadási hőmérséklete felett végzett extrúzió, ekkor ugyanis rövid tartózkodási idő mellett nagy hatékonysággal diszpergálhatjuk a

hatóanyagot a mátrixban. Ha a bomlás valószínűsége kellően kicsi olvadt állapotban, akkor a degradáció mértéke a megengedett szint alatt maradhat⁶⁵. Számos hatóanyag olvadáspont feletti extrúziós feldolgozásánál mutattak ki azonban jelentős bomlást^{66, 67, 68}. Ilyen esetekben mindenképpen olyan hőmérsékleten kell végezni az ömledékextrúziós feldolgozást, amely az alkalmazott mátrixpolimer üvegesedési hőmérsékleténél min. 20-30 °C-kal magasabb, de a hatóanyag olvadáspontjánál alacsonyabb.

Olvadáspont alatti feldolgozás a hatóanyag degradációja nélkül, akár teljes amorfizáció mellett is megvalósítható⁶⁹. Több tudományos közlemény is beszámol azonban a farmakon bomlásáról a kristályos forma degradációs hőmérséklete alatt végzett ömledékextrúziós feldolgozása során^{70, 71}. A hatóanyagok ilyen körülmények között kimutatott bomlása arra enged következtetni, hogy vélhetően a mátrixban molekulárisan elosztatott vagy amorf fázisként jelen lévő hatóanyag hajlamosabb a degradációra, mint az energetikailag stabilabb kristályos anyag⁶³. A degradációt különösen nehéz elkerülni, ha teljes amorfizáció a cél, mert az olvadáspont alatt dolgozva a hatóanyag teljes beoldásához/amorfizálásához hosszú tartózkodási idő és intenzív nyírás lehet szükséges.

1.4.2.2. Az ömledékextrúzió gyógyszeripari hasznosíthatóságának kiterjesztése

Az előző pontban leírtak alapján kijelenthető, hogy az ömledékextrúziós eljárások felhasználásának határt szab, hogy intenzív hőterheléssel és nyírási igénybevétellel járnak. Ez igen nagy mértékben korlátozza a feldolgozható farmakonok és mátrixpolimerek számát.

Az egyik legegyszerűbb lehetőség a farmakon feldolgozás közben bekövetkező degradációjának visszaszorítására az olyan extrúziós hőmérsékletek biztosítása, amelyen a nemkívánt reakciók csak igen lassan mennek végbe. Ilyen módon nemcsak a termikus bomlások, hanem a polimer komponenssel végbemenő esetleges reakciók is mérsékelhetőek.

A gyártási hőmérséklet megfelelő minőségű és kellő mennyiségű lágyítószer alkalmazásával egy bizonyos szintig csökkenthető, ekkor azonban számolni kell a termékben megjelenő lágyító hatásával is. A lágyítószert tartalmazó termék komponenseinek csökkentett üvegesedési hőmérséklete nagyobb molekuláris mobilitást eredményez a készítményben, így a hatóanyagok kikristályosodása, valamint egyes kémiai átalakulásai is könnyebben mehetnek végbe (1.3.4.3.). Fontos kiemelni, hogy meglehetősen limitált a viszonylag alacsony hőmérsékleten feldolgozható, vízben jól oldódó, hatóságok által gyógyszeripari alkalmazásokban engedélyezett polimerek és lágyítók száma⁶⁰. Emellett a feldolgozási hőmérséklet csökkentése a hatóanyag amorfizációját is negatívan befolyásolhatja, illetve sok

esetben a lágyítószer sem elegendik megfelelően a hatóanyaggal, ami a maximálisan ömledékbe oldható hatóanyag-mennyiséget csökkenti.

Egy viszonylag újabb technológiai megoldással, a szuperkritikus szén-dioxiddal segített extrúzió alkalmazásával hatékony, időszakos lágyítás érhető el. Ennek során a lágyító a folyamat végén teljes mértékben távozik a végtermékből⁷². Ezáltal a termék nem marad lágy a feldolgozás után, és tovább alakítható őrléssel.

Az extrúzió során bekövetkező degradációs folyamatok tovább redukálhatóak a feldolgozandó anyagkeverék készülékben töltött tartózkodási idejének minimalizálásával^{63, 73}. Ez elérhető egy megfelelően nagy csigafordulatszám alkalmazásával, valamint úgy, hogy a hatóanyagot a szerszámhoz minél közelebb adagoljuk a megömlött mátrixba.

A szakirodalom számos további lehetőséget említ egyes hatóanyagok extrúzió közben bekövetkező degradációs folyamatainak visszaszorítására, melyek során a feldolgozás a hatóanyag egy stabilabb vagy stabilizált formájával valósul meg:

- Mivel a degradáció mértéke valószínűleg nagyobb amorf, illetve molekulárisan elosztatott hatóanyag esetében, a bomlás mérsékelhető lehet egy olyan extrúziós mátrix választásával, amely elenyésző mértékben elegendik a hatóanyaggal, így az végig kristályos formában marad.
- Egyes esetekben az extrúziót megelőzően egy bevezető művelettel biztosítják a farmakon termikus stabilitását. Amennyiben amorf szilárd diszperzók előállítása a cél, előnyös az amorfizációt valamilyen oldószeres eljárással (pl. porlasztva szárítással, elektrosztatikus szálképzéssel) végezni, és ezt követően az extrúziót már csak az így előállított termékek elosztatására használni, ami kisebb hőmérséklet, illetve rövidebb tartózkodási idő alkalmazását teszi lehetővé.
- Stressz ellen megoldást jelenthet a komplexképzés is, például ciklodextrinnekkel⁷⁴. A komplexképzés oxidáció és hőhatások ellen is védelmet nyújthat⁷⁵.
- A hatóanyag extrúzió közben bekövetkező bomlási folyamatainak visszaszorítására előnyös megoldás lehet az alkalmazott polimer mátrix és a hatóanyag között kialakuló kölcsönhatások felhasználása is⁷⁶.
- Oxidációs folyamatok elkerülésére antioxidánsokat használhatunk. Az extrúziós segédanyagként alkalmazott E-vitamin antioxidáns hatásával a hatóanyag bomlásán kívül⁷⁷ a mátrixpolimer degradációját is jelentősen képes visszaszorítani⁶².

1.5. Gyógyszerkészítmények tisztaságvizsgálata

A megfelelő gyógyszerminőség kialakításának és fenntartásának elsődleges célja a gyógyszer terápiás hasznosságának, azaz hatékonyságának és biztonságosságának maximalizálása a gyógyszer valamennyi gyártási tételére és a felhasználhatóság teljes időtartamára kiterjedően. A gyártó az általa rögzített és hatóságok által jóváhagyott minőségi reprodukciót – valamennyi gyártási tétel esetén – a Helyes Gyártási Gyakorlat (*Good Manufacturing Practice*, GMP) szabályainak következetes betartásával biztosítja⁷⁸.

A gyógyszerkészítmények tisztaságával és biztonságosságával szemben különösen nagyok a fogyasztók elvárásai, hiszen azokat azért juttatják a szervezetbe, hogy ezáltal közérzetük javuljon, és panaszai enyhüljenek. Mint minden ipari gyártmány, a gyógyszerek is tartalmazhatnak szennyezőket, amelyek többféle forrásból származhatnak. E források egyike a hatóanyaggyártás, mely során pl. katalizátorok, reagensek vagy oldószermaradványok maradhatnak a hatóanyag-részecskékben. A segédanyagok is tartalmazhatnak pl. fémes eredetű szennyezéseket. A végső kristályosítási lépéssel e szennyezők mennyisége minimálisra csökkenthető. A gyógyszerforma kialakítása során bevitt kontamináció származhat a készülék belsejéről, ha az anyagok kölcsönhatásba kerülnek a készülékek falával vagy alkatrészeivel. Lehetséges szennyező a hatóanyag egy vagy több bomlásterméke, amely oxidatív vagy hidrolitikus bomlásban, ill. segédanyagokkal történő reakciók révén képződhet. Szennyezést jelenthetnek a termék izomerei is⁷⁹, ezért el kell kerülni, hogy ezekből a megengedett mennyiségnél több képződjön/maradjon a készítményben, mert egyes esetekben bioaktív hatásuk lehet, gátolhatják a hatás kifejlődését. Intermedier vagy késztermék tárolása során is csökkenhet a tisztaság. Anyagtól függően érzékeny lehet a nedvességtartalomra, a levegő oxigénjére, a tárolási hőmérsékletre és fényhatásokra.

A szennyezések megengedett értékeit specifikációkba gyűjtik össze, amelyeket a gyártó készít el a gyógyszerkönyvek, hatósági szabályozások és nemzetközi ajánlások figyelembe vételével⁸⁰. A szerves szennyezők mennyiségétől, illetve a maximális napi dózistól függ, hogy a gyártónak milyen információt kell az egyes szennyezőkkel kapcsolatban megadnia⁸¹ termékének engedélyeztetési eljárása során. A határértékeket a 2. táblázat foglalja össze. A 2. táblázat azt is mutatja, hogy milyen határérték felett kell a szennyezők szerkezetét felderíteni, illetve mikor szükséges a szennyező toxikológiai kvalifikálása.

2. táblázat Az ICH Q3B által felállított határértékek a szerves szennyezők megadására, azonosítására, illetve toxikológiai kvalifikására az új gyógyszerkészítmények engedélyeztetésekor

Megadási határérték	
Maximális napi dózis	Határérték
≤ 1 g	0,10%
> 1 g	0,05%
Azonosítási határérték	
Maximális napi dózis	Határérték
< 1 mg	1,0% vagy 5 µg/nap (az alacsonyabb érték)
1 mg – 10 mg	0,5% vagy 20 µg/nap (az alacsonyabb érték)
> 10 mg – 2 g	0,2% vagy 2 mg (az alacsonyabb érték)
> 2 g	0,10%
Toxikológiai kvalifikálás határértéke	
Maximális napi dózis	Határérték
< 10 mg	1,0% vagy 50 µg/nap (az alacsonyabb érték)
10 mg – 100 mg	0,5% vagy 200 µg/nap (az alacsonyabb érték)
> 100 mg – 2 g	0,2% 3 mg/nap (az alacsonyabb érték)
> 2 g	0,15%

Oldószer⁵⁰– és fémszennyezésekre⁸² három kategóriát határoztak meg veszélyességük alapján. Az első osztályba a nagy toxicitásuk miatt nem javasolt oldószerek és fémek tartoznak (pl. a benzol és palládium). A második osztályba soroltak használatához határértékeket kötnek; ezekkel szemben már toleránsabb a szervezet (pl. az acetonitril és a réz). A harmadik csoportba az alacsony toxicitású vagy veszélytelen anyagok tartoznak (pl. a butanol és a vas).

1.5.1. Tisztaságvizsgálati analitikai módszerek

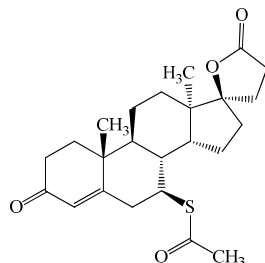
A készítmények tisztaságvizsgálatára alkalmazott analitikai módszerrel szemben természetes igény, hogy választ tudjon adni azokra a kérdésekre, amik megválaszolására használni kívánjuk. A GMP előírja, hogy a forgalomban lévő gyógyszerkészítmények vizsgálatának módszereit validálni kell. Egy analitikai módszer validálása alatt annak dokumentált bizonyítását értjük, hogy az adott módszer alkalmas arra a célra, amire szánták²¹. A validálás a gyógyszerengedélyeztetési eljárásnak meglehetősen terjedelmes része. A minimálisan megkövetelt validálási paramétereket analitikai vizsgálat típusonként szabályrendszer adja meg⁸³.

A vékonyréteg kromatográfia (VRK, TLC) nagyon egyszerű és olcsó módszer, nem igényel költséges berendezést, és sok szerves vegyületnél alkalmazható, viszont a mérés felbontása nagyon alacsony⁸⁰. Általában hatóanyaggyártás közbeni ellenőrzéskor használják. A gázkromatográfiával (GC) nagy felbontás és szelektivitás érhető el, de csak illékony szennyeződések vizsgálatára alkalmas⁸⁰. A kapilláris elektroforézissel (CE) nagyon jó felbontás érhető el és kis anyagmennyiségeknél is alkalmazható. Ugyanakkor csak ionizálható anyagok vizsgálhatóak, pl. antibiotikumok⁸⁴. Az infravörös spektroszkópia (IR) funkciócsoportokról nyújt pontos képet, ezért nagyon jó a szelektivitása, továbbá mennyiségi meghatározásra is alkalmas, de tisztaságvizsgálatra ritkábban használják⁸⁰. A tömegspektrometria (MS) általánosan használt szerkezetfelderítő módszer nagy felbontással; sok módszerrel (GC, LC) kapcsolható. A nagy teljesítményű folyadékkromatográfia (HPLC) a legszélesebb körben használt kromatográfiás módszer. Nagy tudásbázis áll a rendelkezésünkre sokféle anyag elválasztásához, könnyen kapcsolható analizátorokkal. Normál fázisú kromatográfia (NP-HPLC) esetén polárisabb állófázist és apolárisabb mozgófázist használunk poláris anyagok elválasztására. Mivel azonban a gyógyszervegyületek nagyrészt lipofil molekulák, célszerű a fordított fázisú kromatográfiát használni (RP-HPLC), melyben az állófázis apolárisabb, a mozgó fázis pedig polárisabb. Mivel a HPLC képes különbséget tenni a hasonló szerkezetű lipofil vegyületek között, így bomlástermékek kimutatására előnyös. A szennyeződések kimutatásának határa 0,1%⁸⁵. Az oldószeres szennyezések meghatározására alkalmas a Headspace GC, mely szilárd és folyékony mintáknál is alkalmazható. A készítményből felszabaduló gázokat vizsgálják a kolonna felső részében, általában GC-MS segítségével. A módszer elméleti alapja, hogy a minta (folyadék vagy szilárd) és a gázfázis között zárt rendszerben állandó hőmérsékleten egyensúly alakul ki.

2. Anyagok és módszerek

2.1. Felhasznált hatóanyag

Spironolakton (SPIR)



4. ábra A spironolakton szerkezeti képlete

Összegképlet: $C_{24}H_{32}O_4S$

Móltömeg: 416,6 g/mol

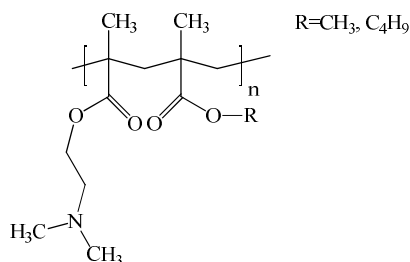
Olvadáspont: 210 °C

Gyártó: Richter Gedeon Nyrt.

A spironolakton (4. ábra) egy szintetikus szteroid, amely aldosteron-antagonista hatása révén felfüggeszti az aldosteron által katalizált nátriumion-reszorpciót és a káliumionok kiválasztását. Diuretikus hatásából következően vérnyomáscsökkentő hatása van. Előnyös, hogy – számos diuretikummal ellentétben – nem okoz káliumvesztést. Ödémás állapotok, krónikus szívelégtelenség, magas vérnyomás kezelésére használják. Hiperaldoszteronizmus operáció előtti kezelésére is alkalmazzák⁸⁶. A BCS osztályozási rendszer osztályai közül a másodikba sorolható, tehát rossz vízdékonysággal (28 mg/l⁸⁷), de jó permeabilitással rendelkezik.

2.2. Mátrixanyagok és segédanyagok az extrúzióhoz és a szálképzéshez

2.2.1. Eudragit® E PO (EudE)



5. ábra Az Eudragit E PO szerkezete

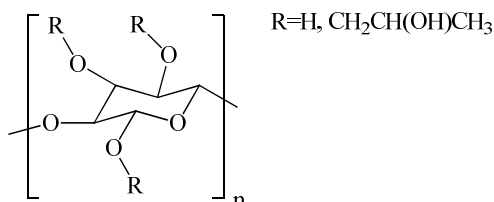
Átlagos molekulatömeg: 47 kDa

Üvegesedési hőmérséklet: $45\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$

Gyártó: Evonik Industries Ltd.

Dimetilaminoetil-metakrilát (50%), butil-metakrilát (25%) és metil-metakrilát (25%) terpolimere (5. ábra). pH 5 alatt vízzoldható, így a gyomor savas közegében jól oldódik. Hidrofób jellegéből adódóan elsősorban páratartalomra érzékeny hatóanyagot tartalmazó tabletták bevonására használják, de ezen kívül nagyon jó szag- és ízfedő⁸⁸ tulajdonságokkal is rendelkezik. Kiváló extrúziós és szálképző mátrixanyag⁸⁹.

2.2.2. Klucel™ EXF Pharm (HPC)



6. ábra A hidroxipropil-cellulóz szerkezete

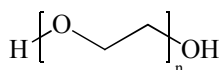
Átlagos molekulatömeg: 80 kDa

Lágyulási hőmérséklet: $100\text{--}110\text{ °C}$

Gyártó: Ashland Ltd.

Cellulózból mesterséges úton előállított vegyület (6. ábra). Vízen és egyes szerves oldószerekben nagymértékben oldódik. A gyógyszeriparban igen széles körben alkalmazzák dezintegránsként, kötőanyagként valamint tabletták filmbevonásához egyaránt⁹⁰. Extrúziós alkalmazása általában lágyítószeres használatával történik⁵⁷.

2.2.3. Polietilénlikol 20000 Da (PEG20K)



7. ábra A polietilénlikol szerkezete

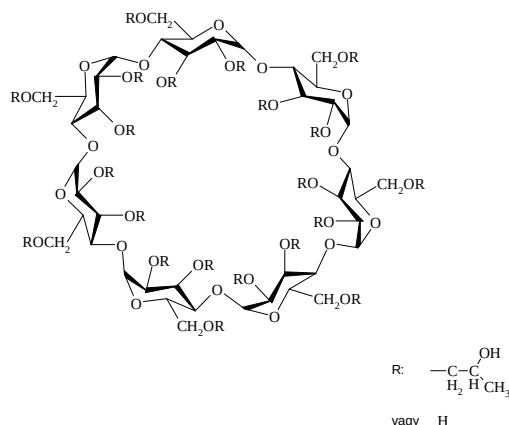
Átlagos molekulatömeg: 20 kDa

Olvasási hőmérséklet: $58\text{--}63\text{ °C}$

Gyártó: Sigma-Aldrich Kft.

Nemionos poliéter (7. ábra). A PEG 20000 fehér pelyhes anyag. Számos gyógyszeripari termékben alkalmazzák segédanyagként. Elsősorban filmbevonatokhoz, lubrikánsként és tabletták kötőanyagaként használják. Ömledékextrúziónál lágyítóként is felhasználható⁹¹.

2.2.4. Hidroxipropil- β -ciklodextrin (HP β CD)



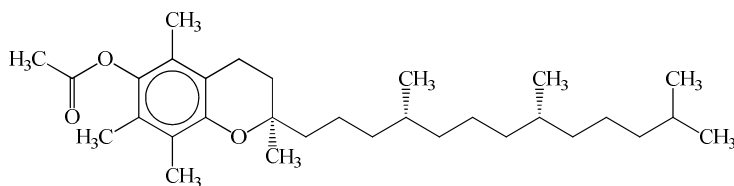
8. ábra A hidroxipropil- β -ciklodextrin szerkezete

Átlagos molekulatömeg: 1400 Da

Gyártó: Cyclolab Kft.

Héttagú, α -D-glükopiranoz egységekből álló ciklikus, nem redukáló oligoszacharid (8. ábra). Henger alakú belső üreggel rendelkező molekula, mely szerkezetéből adódóan a henger belseje hidrofób, apoláros karakterű, míg külső felülete és pereme poláros hidrofil tulajdonságú. Gyógyszeripari alkalmazhatósága igen széleskörű. Leginkább molekuláris komplexképzőként használják hatóanyagok szolubilizálására, valamint alacsony kémiai stabilitással rendelkező, labilis farmakonok stabilitásának növelésére⁹². (Apoláris belső ürege segítségével lipofil hatóanyagok komplexálására képes, míg poláris felületi sajátságai miatt ezek a komplexek jól oldódnak vízben.)

2.2.5. α -tokoferol (TOK)



9. ábra Az α -tokoferol szerkezete

Összegképlet: $C_{29}H_{50}O_2$

Móltömeg: 430,7 g/mol

Olvadáspont: 2,5–3,5 °C

Gyártó: BASF Ltd.

Az α -tokoferolt, vagy ismertebb nevén az E-vitamint (9. ábra) az emberi szervezet egyik legaktívabb antioxidánsaként tartják számon. Halványsárga viszkózus olaj. Gyógyszeripari alkalmazásokban – főképp lipofil gyógyszerkészítmények stabilizálásában – előnyben részesítik, mivel az élő szervezetnek természetes alkotóeleme¹⁰. Extrúziós eljárásokban kémiai stabilizálószerként, valamint lágyítóként egyszerre is alkalmazható.

2.2.6. Aerosil 200 (SIL)

Olvadáspont: 1610 °C

Gyártó: Evonik Industries Ltd.

Kolloid szilícium-dioxid, mely a részecskék kis mérete miatt igen nagy fajlagos felülettel (175–225 m²/g) rendelkezik. Olvadékextrúzió során megfelelő mennyiségben alkalmazva biztosítja a megömlött anyag optimális viszkozitását, valamint elősegíti a hatóanyag diszpergálását⁹³. Üvegesedési hőmérsékletet növelő hatása következtében csökkenhet az amorfizált hatóanyagok kristályosodásának valószínűsége, tehát alkalmazása stabilabb, hosszabb ideig eltartható készítményeket eredményez.

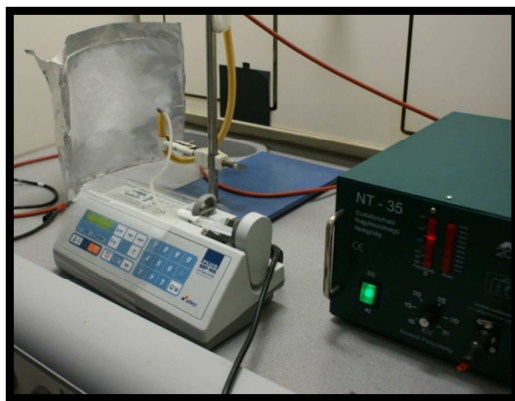
2.3. Gyártási, kezelési és analitikai módszerek

2.3.1. Ömladékextrúzió (HME)

Az extrúziós kísérleteket MiniLab HAAKE Rheomex CTW5 ikercsigás minieextrúderen végeztem (Thermo-Haake, Karlsruhe, Németország). A spironolakton tartalmú készítmények előállításánál alapesetben 10 g porhomogenizátumot használtam fel, a csigafordulatszám 20, 100, illetve 200 fordulat/perc volt (ezt a kísérletek leírásánál külön jeleztem). Az extrúder egyetlen fűtési zónájának hőmérséklete alapesetben 130 °C volt, de egyes lágyított rendszereknél alacsonyabb hőmérsékleteket is alkalmaztam. A legkisebb extrúziós hőmérséklet 90 °C volt.

2.3.2. Oldat alapú elektrosztatikus szálképzés (SES)

Az oldat alapú elektrosztatikus szálképzésekhez egy NT-35 típusú, nagyfeszültségű egyenáramú tápegységet (MA2000, Nagykanizsa, Magyarország), valamint egy SEP-10S Plus típusú adagolópumpát (Aetics, Vilnius, Litvánia) használtam. Az elektrosztatikus szálképző berendezést vegyifülkében helyeztem el (10. ábra). Az eljárások során folytonos légelszívást alkalmaztam.



10. ábra Az elektrosztatikus szálképző berendezés

A szálképzéshez használt oldatok elkészítésénél az Eudragit E mátrixpolimert tartalmazó minták esetén 1800 mg Eudragit E polimert oldottam fel 8 ml etanolban, a hidroxipropil-cellulóz tartalmú minták készítésekor pedig szintén 1800 mg mennyiségű hidroxipropil-cellulózt oldottam fel 12 ml etanolban mágneses keverő segítségével (600 rpm, 25 °C). A polimer teljes mennyiségének feloldódása után az oldatokhoz 200-200 mg spironolakton hatóanyagot adagoltam és tovább kevertettem mágneses keverőn (600 rpm, 25 °C) a rendszereket. A hatóanyag feloldódása után állandó sebességgel adagoltam az elkészített oldatokat egy digitálisan programozható pumpával, amelynek segítségével 0,1 ml/h pontossággal beállítható az áramlási sebesség. Az adagoló fecskendőből szilikonszöveten át jutottak a tápoldatok a nagyfeszültségre kötött fém porlasztófejbe. A fejet a gyűjtőként használt, földelt alumíniumfólia felé fordítva indult meg a szálképzés a potenciálkülönbség hatására. A porlasztófej és a kollektor távolsága minden esetben 15 cm volt. A tápegység egyenáramú, feszültsége szabályozható. A szálképző kísérletek során mindkét esetben 25 kV feszültséget, az Eudragit E polimer tartalmú rendszernél 10,0 ml/h, a hidroxipropil-cellulózt tartalmazó rendszereknél pedig 3,0 ml/h adagolási sebességet alkalmaztam.

2.3.3. Termogravimetria (TG)

A spironolakton tartalmú szálképzett termékek hőstresszelését egy TA Q5000IR típusú termogravimetriás készülékben végeztem (TA Instruments, New Castle, DE, USA), állandó áramú nitrogén atmoszférában. A vizsgálatokhoz 25-25 mg készítményt platinatégelyekbe mértem be, melyeket azután a TG készülék kiégetett és tárazott alumínium tégelyeibe helyeztem. A berendezés maximális felfűtési sebessége 500 °C/min. A hőstresszelési programok során ezzel a felfűtési sebességgel érte el a készülék mintatér-hőmérséklete az adott izoterma-hőmérsékleteket (T_{Stressz}). Az izotermák idejét (t_{Stressz}) 4, 11 és 25 min-re választottam. A hőprogramok végeztével a mintatérből rögtön, automatikusan ki lettek emelve szobahőmérsékletre a tégelyek.

Az alkalmazott programok a következők voltak:

1. 25 °C-tól T_{Stressz} -re fűtés 500 °C/min sebességgel
2. t_{Stressz} ideig T_{Stressz} -en tartás
3. T_{Stressz} -ről 25 °C-ra hűtés a mintatérből történő kiemeléssel

2.3.4. Por-röntgendiffrakció (XRPD)

A por-röntgendiffraktogramokat PANalytical (Amelo, Hollandia) X'pert Pro MDP röntgendiffraktométerrel vettem fel a porrá őrölt mintákról, Cu-K α besugárzás mellett (1,542 Å), Ni szűrővel. 40 kV feszültséget és 30 mA-es áramerősséget alkalmaztam. A mintákat 4,4° és 42,0° 2θ közötti besugárzás mellett vizsgáltam.

2.3.5. Raman térképezés

A Raman-térképeket egy külső, 785 nm hullámhosszú monokromatikus fényt emittáló lézerrel és egy Olympus BX-40 optikai mikroszkóppal felszerelt Horiba Jobin-Yvon LabRAM rendszerrel készítettem el. Tízszeres nagyítású objektívet használtam. Az öröletlen extrudátumból lapos felületű korongot préseltem (Camilla OL95, Manfredi, Torino, Olaszország), majd ennek a felületéről vettem fel spektrumokat egymástól 50 μm -re egy 800 $\mu\text{m} \times 1200 \mu\text{m}$ nagyságú területen. A spektrumfelvételt, -feldolgozást és a térképek vizualizációját a LabSpec 5.41 (Horiba Jobin-Yvon) szoftverrel végeztem. A spektrumokat alapvonal-korrigáltam, a 400–1800 cm^{-1} régióban normáltam, majd a klasszikus négyzetek módszerével modellezést hajtottam végre. A modellezés során az Eudragit E, az amorfizált spironolakton és az amorfizált kanrenon spektrumából indultam ki.

2.3.6. In vitro kioldódásmérés

A kioldódási tesztek egy PTWS 600 típusú kioldódásvizsgáló berendezéssel hajtottam végre, a lapátos keverési elrendezés (USP II) használatával (Pharma Test Apparatebau AG, Hainburg, Németország). Az 5 mg spironolaktonnal ekvivalens mennyiségű őrlött extrudátumot ($0.4 \text{ mm} < d_p < 0.8 \text{ mm}$), illetve a mikrokristályos spironolaktont 700 ml ($37.0 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ -os) 0,1 mólos sósavat tartalmazó edénybe szórtam, majd 100 rpm fordulatszámmal kevertettem. A beadagolást követően további 200 ml 0,1 M sósavat öntöttem a kioldóedénybe, amellyel az őrleményt, ill. a kristályokat nedvesítettem. Meghatározott időközönként mintákat vettem, amelyeket on-line analizáltam egy Hewlett-Packard HP 8453G UV-VIS spektrofotométerrel (Palo Alto, USA) 242 nm hullámhosszon. Ezt követően a mintát visszaengedtem a kioldóközegbe.

2.3.7. Fordított fázisú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás vizsgálatok (RP-HPLC)

Az előállított készítmények tisztaságvizsgálatait egy Agilent 1200-as (Santa Clara, California, USA), bináris pumpával és diódasoros detektorral (DAD) ellátott HPLC készüléken és a hozzá tartozó Chemstation B.04.02. szoftverrel végeztem. Az egyes vizsgálatoknál igénybe vett eszközök és vegyszerek, alkalmazott mintaelőkészítési eljárások és mérési módszerek az alábbiak voltak:

2.3.7.1. Spironolakton tartalmú készítmények tisztaságvizsgálata RP-HPLC módszerrel

- *Az alkalmazott kromatográfiás körülmények:*
 - o Kolonna: Alltech[®] Inertsil ODS-2; 250 mm * 4,6 mm; 5 μm
 - o Áramlási sebesség: 1,0 ml/min
 - o Detektálás: 254 nm és 283 nm
 - o Injektálási térfogat: 20 μl
 - o Kolonnatér hőmérséklete: 25 $^{\circ}\text{C}$
 - o Mintatér hőmérséklete: 20 $^{\circ}\text{C}$
 - o Izokratikus elúció
 - o Eluens összetétele: 0,1 M foszforsav / acetonitril/ tetrahidrofurán = 500 / 54 / 125
Gáztalanítás 10 perc ultrahangfürdő segítségével.
 - o A kanrenon mol%-os tartalmának (Can%) kiszámítására használt képlet:

$$\text{Can\%} = \frac{\text{Can}(283 \text{ nm})}{2,27 * \text{Spir}(254 \text{ nm}) + \text{Can}(283 \text{ nm})} * 100\%,$$

ahol:

Can (283 nm): 283 nm-en felvett kromatogramon a kanrenon csúcsterülete (mAU·s)

Spir (254 nm): 254 nm-en felvett kromatogramon a spironolakton csúcsterülete (mAU·s)

2,27: korrekciós faktor (ismert koncentrációban spironolaktont és kanrenont tartalmazó tesztoldat segítségével végzett kalibráció alapján)

- *A spironolakton tartalmú extrudátumok mintaelőkészítése:*
 - Nagyjából 4-4 g extrudátumot finomra elporítottam dörzsmozsárban.
 - 10 ml-es barna üvegből készült mérőlombikokba bemértem nagyjából 25-25 mg elporított extrudátum-homogenizátumot, majd hozzáadtam kb. 6-6 ml eluenst.
 - 20 percig ultrahangfürdőbe helyeztem a lombikokat. Amennyiben ez idő alatt nem oldódott fel a bemért anyagmennyiség, további 10 perc ultrahangfürdőt alkalmaztam.
 - Jelre állítottam a lombikokat eluenssel.
 - A kapott oldatokat 0,45 µm-es fecskendőszűrőn átszűrtem, úgy, hogy a szűrletek első 2-3 ml-ét elengedtem és az azt követő részt tekintettem mintaoldatnak.
 - A szűrt oldatokat szeptumos mintatartó üvegcsékbe mértem, majd behelyeztem a HPLC készülék automata mintaadagoló egységébe.
- *A hőstresszelt spironolaktont tartalmazó szálképzett készítmények mintaelőkészítése:*
 - 10 ml-es barna üvegből készült mérőlombikokba behelyeztem a 2.3.3-as pontban említett, hőstresszelt mintákat tartalmazó platinatégelyeket, majd hozzáadtam kb. 6-6 ml eluenst.
 - A mérőlombikokba egy-egy mágneses keverőmagot helyeztem, melynek segítségével mágneses keverőn 10 percig kevertettem az oldatokat. Amennyiben ez idő alatt a platinatégelyek tartalma nem oldódott ki, további 10 percig folytattam a kevertetést.
 - Jelre állítottam a lombikokat eluenssel.

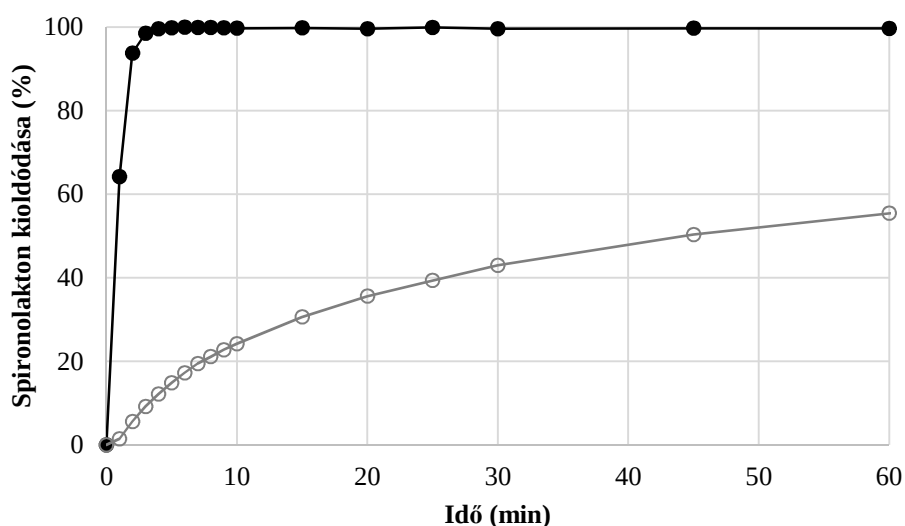
- A kapott oldatokat 0,45 μm -es fecskendőszűrőn átszűrtem, úgy, hogy a szűrletek első 2-3 ml-ét elengedtem és az azt követő részt tekintettem mintaoldatnak.
- A szűrt oldatokat szeptumos mintatartó üvegcsékbe mértem, majd behelyeztem a HPLC készülék automata mintaadagoló egységébe.

3. Kísérleti eredmények és értékelésük

3.1. Célkitűzések és az előkísérletek összefoglalása

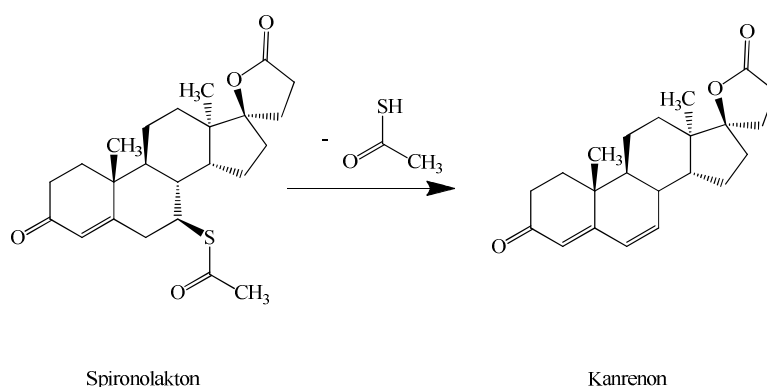
A szakirodalmi áttekintés alapján megállapítható, hogy az olvadék alapú folyamatos gyártástechnológiák (pl. extrúzió) számos készítményfejlesztési problémára hatékony megoldást jelentenek. Ezek közül az egyik legfontosabb, hogy segítségükkel gyorsítható a rossz vízoldhatóságú farmakonok kioldódása, s ezáltal biohasznosulása. Munkámban egy vízben rosszul oldódó modellhatóanyag, a spironolakton olvadékextrúziós készítményfejlesztését végeztem, amelynek során többek között az elérhető készítménytisztaságot vizsgáltam. A spironolakton, szteránvázás szerkezetének köszönhetően, megfelelően modellezi a lipofil hatóanyagok (pl. hormonok) extrúziós viselkedését. Egy lehetséges formulációs cél e vegyületcsalád esetében az oldhatóság és kioldódás javítása szilárd diszperziók képzése által. Kísérleteim során mátrixnak az Eudragit E kationos terpolimert választottam, ugyanis a szintén BCS II osztályba sorolható carvedilol esetében már sikeresen alkalmazták ezt az anyagot kioldódás javítására⁶⁵.

A (TDK dolgozatomban nem részletezett) előkísérleteim során bizonyítottam, hogy a teljesen amorf spironolakton-Eudragit E szilárd diszperzió előállítása és a polimer szolubilizáló hatása révén lehetséges a hatóanyag kioldódásának nagymértékű gyorsítása (11. ábra). A szilárd diszperzió alkalmazásával már 3 perc alatt közel teljes kioldódást lehetett elérni, míg a kristályos hatóanyag esetében még 1 óra elteltével is csak 55% oldódott fel.



11. ábra A kristályos spironolakton oldódási görbéje (szürke) és az amorf 10% spironolakton–90% Eudragit E extrudátum kioldódási görbéje (fekete). A kioldódást a tesztelt minták hatóanyagtartalmához viszonyítottam. Az extrudátum előállítási körülményei: 20 rpm fordulatszám, 130 °C hőmérséklet és 25 min tartózkodási idő recirkulációval

Az olvadékeextrúzió felhasználásának általában határt szab, hogy a folyamat intenzív hőterheléssel, valamint nyírási igénybevétellel jár. A farmakonok termikus degradációjakor a készítmény hatóanyagtartalma lényegesen a szavatolt dózis alá csökkenhet; rosszabb esetben toxikus bomlástermékek keletkezhetnek. A spironolakton esetében például előkísérleteim azt mutatták, hogy (130 °C körül végzett) ömledékeextrúziós feldolgozás során a hatóanyag jelentős mértékben degradálódik. A Raman-spektrometriás vizsgálatok alapján a legnagyobb mennyiségben jelen lévő bomlástermék feltételezhetően a hatóanyag aktív metabolitja, a kanrenon (12. ábra). A nagy mennyiségű kanrenon képződése a készítmény tisztaságát és terápiás alkalmazhatóságát egyaránt negatívan befolyásolja. Céлом ezért a farmakon olvadékeextrúzió közben bekövetkező degradációs folyamatainak csökkentése volt, szem előtt tartva az V. Európai Gyógyszerkönyv megfelelő cikkelyében⁹⁴ szereplő, tisztasági követelményekre vonatkozó határértékeket, ami a spironolakton kanrenontól különböző összesszenyező-tartalmát 1,0%-ra, kanrenon-tartalmát pedig szintén 1,0%-ra határozza meg. *Kizárólag spironolakton-kanrenon konverzióval számolva ez 1,22 mol%-nak felel meg.*



12. ábra A spironolakton fő bomlástermékét, a kanrenont eredményező reakció bruttó egyenlete

Az extrudált spironolakton-Eudragit E rendszerek tisztaságának javulását az alábbi módokon kíséreltem meg elérni:

- **segédanyagokkal stabilizált készítmények** előállításával
- a **feldolgozási hőmérséklet csökkentésével**, amely során lágyított rendszerből indultam ki
- az extrúderbeli **tartózkodási idő csökkentésével**, mely által a hőterhelés időtartama is redukálódik

Az extrúziós kísérletekhez szorosan kapcsolódó másik kísérletsorozatban célul tűztam ki (elektrosztatikus szálképzéssel előállított) spironolakton-Eudragit E szilárd oldatok termikus viselkedésének vizsgálatát. Arra voltam kíváncsi, hogy a hatóanyag az amorf

készítményekben milyen mértékben képes a termikus igénybevételeknek ellenállni, illetve a bomlás kinetikája milyen egyenletekkel írható le.

Ezen kísérletsorozat mellett, elméleti megfontolások alapján, egy feltételezett polimer-hatóanyag interakció kialakulásának lehetőségét is megvizsgáltam, mely által a termék termikus stabilitásának növekedése várható. Vizsgálataim során ezért spironolakton-hidroxipropil-cellulóz (elektrosztatikus szálképzéssel előállított) szilárd oldatok termikus viselkedését tanulmányoztam.

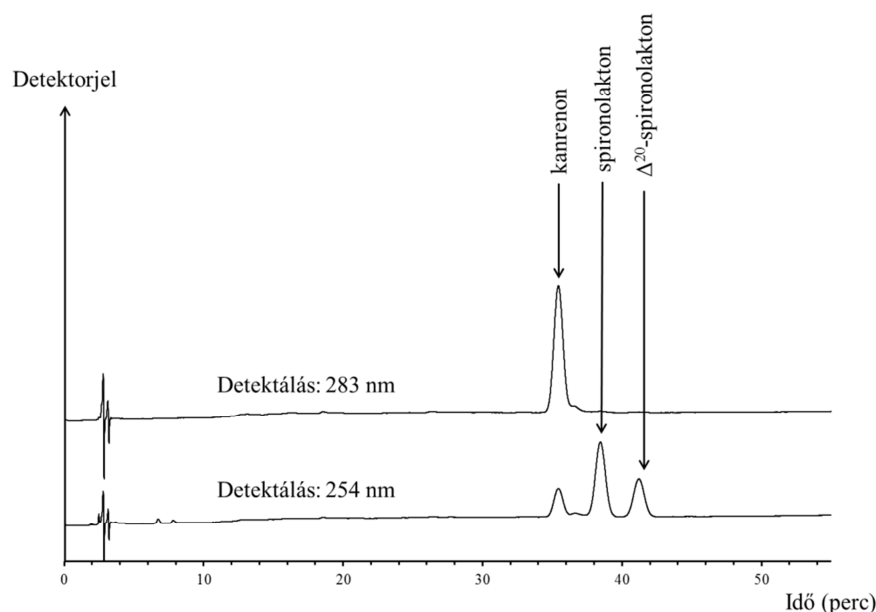
Munkámban olyan összefüggéseket kerestem, amelyek – extrúziós kísérleteket kiegészítve – megkönnyíthetik a megfelelő tisztaságú terméket szolgáltató eljárás fejlesztését.

3.2. Spironolakton tartalmú extrudátumok bomlástermék-tartalmának csökkentése

3.2.1. A megfelelő RP-HPLC módszer kidolgozása az extrudátumok tisztaság-vizsgálatára

Előzetes spektroszkópai vizsgálatokkal a tanszéki munkacsoport korábban meggyőződött arról, hogy 130 °C-on előállított spironolaktonextrudátumok fő szennyezője nagy valószínűséggel a kanrenon. Ezért amikor a kísérleteim során előállítandó spironolakton-Eudragit E rendszer vizsgálatára alkalmazható HPLC módszert kidolgoztam, elsődleges célom a hatóanyag és a kanrenon (12. ábra) szimultán minőségi és mennyiségi analízisének biztosítása volt. Törekedtem arra, hogy a kifejlesztett módszer minél inkább megfeleljen egy gyógyszerkönyvi nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás tisztaságvizsgálatnak.

A módszer kidolgozásának alapjául ezért az V. Európai Gyógyszerkönyv spironolaktonra vonatkozó cikkelyében⁹⁴ a rokon vegyületek vizsgálatára vonatkozó pontban leírt kromatográfiás körülmények szolgáltak. Először ezt az eljárást próbáltam meg a tanszéki HPLC készüléken a rendelkezésemre álló kolonnákkal (Supelco Inertsil ODS-2, Thermo BDS Hypersil C18, Merck LiChrospher C18 és Alltech Inertsil ODS-2), illetve egy spironolaktont (0,02 mg/ml), kanrenont (0,01 mg/ml) és Δ^{20} -spironolaktont (0,02 mg/ml) tartalmazó tesztoldattal reprodukálni. A gyógyszerkönyvi cikkelyben közölt eluensösszetétel alkalmazásával csak az Alltech Inertsil ODS-2 típusú kolonna adott elfogadható elválasztást a három standardhoz tartozó csúcs között (13. ábra).



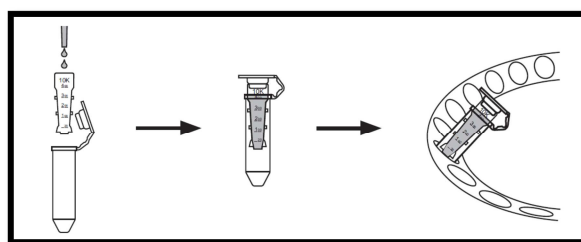
13. ábra A tesztoldat kromatogramja a gyógyszerkönyvi cikkelyben közölt folyadékkromatográfiai módszer és az Alltech Inertsil ODS-2 típusú kolonna használatával

A továbbiakban azt vizsgáltam, milyen módszerekkel lehet farmakont tartalmazó polimer mátrixú szilárd diszperziókat előkészíteni folyadékkromatográfiai vizsgálatokhoz, a HPLC készülék alkatrészeinek és az alkalmazott kolonna védelmének biztosítása mellett. A szakirodalmi áttekintés során kevés e témával részletesebben foglalkozó közleményt találtam^{95, 96}, így az alábbiakban készítménytechnológiai fejlesztésekben és kromatográfiai elválasztásokban jártas szakemberek által leginkább alkalmazott eljárásokat mutatom be:

- Egyes bioanalitikai vizsgálatokhoz hasonlóan a terméket egy alkalmas oldószerben oldják, majd a mátrixpolimer kicsapására koszolvenst adagolnak az oldathoz. Az ezt követő elválasztás (pl. szűrés, centrifugálás) után folyadékkromatográfiai vizsgálatra alkalmas, a zavaró polimertől mentes oldatot lehet kapni. A kicsapódott segédanyag azonban zárványként tartalmazhatja az analizálni kívánt komponenseket, ezért a módszer alkalmazásához megfelelő belső standard alkalmazása elengedhetetlen.
- A számos élelmiszer- és környezetanalitikában használt extrakciós eljárás közül, a nagyobb üvegesedési hőmérséklettel rendelkező szilárd diszperziók előkészítésére a mikrohullámú extrakciók bizonyulnak a leghatékonyabb mintaelőkészítési eljárásnak ezen a területen. A módszer legnagyobb előnye a konvencionális extrakciós eljárásokkal szemben, hogy a hő- illetve tömeggradiens iránya megegyezik, ezáltal az extrakció hatásfoka magasabb. Hőre érzékeny hatóanyagokat tartalmazó készítményeknél,

valamint gyúlékony, nagyobb gőztenzióval rendelkező extrahálószer (pl. tetrahidrofurán) igénylő rendszereknél azonban ez a technika nem használható.

- A leginkább fehérjeanalitikában használt, a kívánt „cut-off” értékkel ($\approx <10000$ Da) rendelkező membránszűrő eszközök (pl. Eppendorf-csövek) rendkívül hatékonyak lehetnek ilyen típusú vizsgálatokban. A mintaelőkészítés mindössze egy oldási és egy centrifugálási lépésből áll (14. ábra). Ezek a laboratóriumi eszközök viszonylag drágák (2000-6000 Ft/db), így alkalmazásukkal egy esetlegesen piacra kerülő készítmény engedélyeztetéséhez és forgalmazásához szükséges nagyszámú analitikai mérés költségei jelentős mértékben emelkedhetnek.



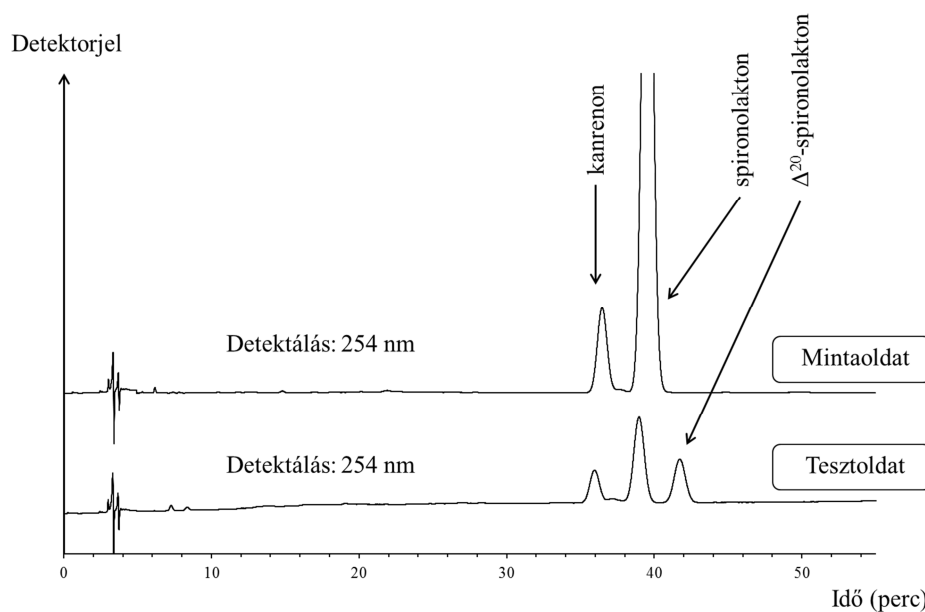
14. ábra Az Amicon® Ultra-0,5 típusú centrifuga-szűrő alkalmazása

- A legegyszerűbb megoldás egy olyan kolonna és eluensösszetétel alkalmazása, mellyel a vizsgálni kívánt komponensek analízise, valamint a mátrixpolimer oldatban tartása egyszerre megoldható. A legtöbb szilárd diszperziókkal foglalkozó publikációban, melyben közlik a diszpergált hatóanyag mennyiségi és minőségi folyadékkromatográfiás analízisét ezt az eljárást alkalmazzák.

A vizsgálandó készítmények előállításához alkalmazott Eudragit E – bázikus amincsoportjainak protonálódása miatt – pH 5 alatti savas közegben rendkívül jól oldódik. Ionizált állapotában – kellőképpen savas eluens áramoltatása mellett – gyorsan eluálódhat egy fordított fázisú kolonnáról. Kézenfekvőnek tűnt tehát a gyógyszerkönyvi eluensösszetétel víztartalmának 0,1 N foszforsavra váltása.

A foszforsavas és a gyógyszerkönyvi eluenssel kapott kromatogramok összehasonlításakor a csúcsok retenciós ideje nem változott. A foszforsavas eluensösszetétellel mért csúcs alatti területek értékei, valamint az elválasztás hatékonyságát jelző mérőszámok (csúcsszimmetria, elméleti tányérszám) a gyógyszerkönyvi módszerrel mért adatoktól kétmintás *t*-próba szerint szignifikánsan (5%-os szignifikancia szint mellett) nem tértek el. A kifejlesztett kromatográfiás körülmények, valamint az alkalmazott mintaelőkészítési eljárás a **2.3.7.1.** pontban találhatóak. A 15. ábra a foszforsavas

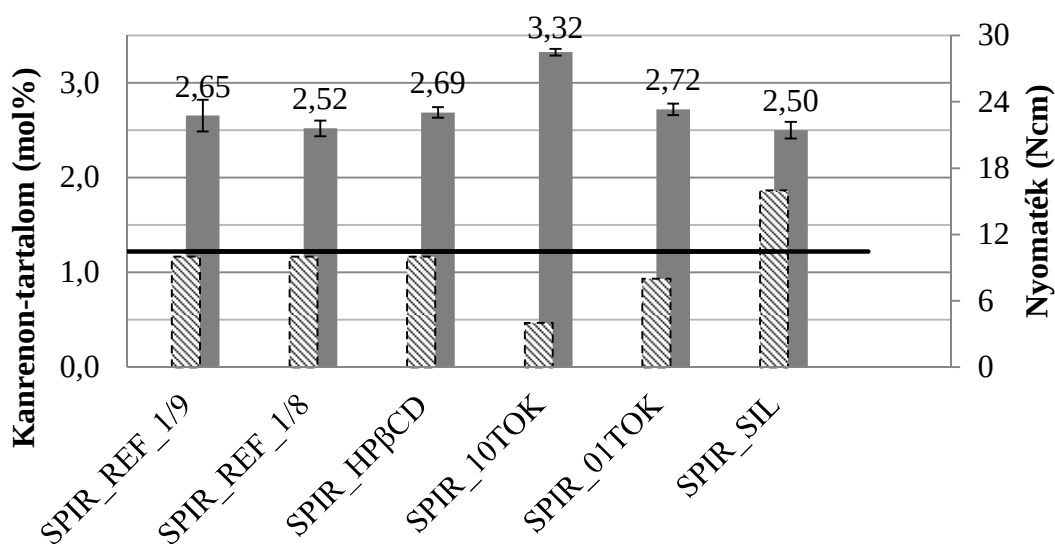
eluensöszsetétellel mért tesztoldat, valamint egy mintaoldat (SPIR_REF_1/9_1.bemérés) kromatogramját mutatja be. A mintaelőkészítés során oldószerként is a savas közegű eluent alkalmaztam, a hatóanyag oldatban történő bomlásának vizsgálatára, ezért oldatstabilitási vizsgálatot végeztem. A vizsgálat ideje (5 óra) alatt a hatóanyag bomlása mindössze 0,08% volt.



15. ábra A foszforsavas eluensöszsetétellel mért kromatogramok a tesztoldatról és egy mintaoldatról (SPIR_REF_1/9_1.bemérés)

3.2.2. Segédanyagok hatása az extrudátumok tisztaságára

Kísérleteim első lépéseként stabilizátort nem tartalmazó referenciamintákat extrudáltam, 10,0, ill. 12,5% mennyiségű spironolakton felhasználásával 130 °C-on és 20 min⁻¹ csigafordulattal (**SPIR_REF_1/9**, **SPIR_REF_1/8**, 3. táblázat). A készítmények tisztaságvizsgálata (16. ábra) alapján megállapítható, hogy bármiféle technológiai fejlesztés nélkül csaknem 2,50 mol% kanrenon keletkezett a feldolgozás során, mely több mint kétszerese a megengedett gyógyszerkönyvi határértéknek. A kromatogramok alapján szintén kijelenthető, hogy a Raman-spektrometriás adatok alapján meghozott alapfeltevésünk helyes volt, miszerint a spironolakton uralkodó bomlásterméke a kanrenon, míg egyéb szennyezők nem vagy csak nagyon kis mértékben vannak jelen.



16. ábra A referencia és a segédenyagokat tartalmazó, 130 °C hőmérsékleten és 20 rpm csigafordulatszámmal gyártott extrudátumok kanrenontartalom-vizsgálatának átlagolt eredményei. Szürke teli oszlopok: kanrenon-tartalom. Vastag, folytonos vonal: 1,22 mol%-os limit kanrenon-tartalomra (V. Ph. Eur.). Sraffozott oszlopok: a fordulatszám fenntartásához szükséges extrúziós nyomatékok.

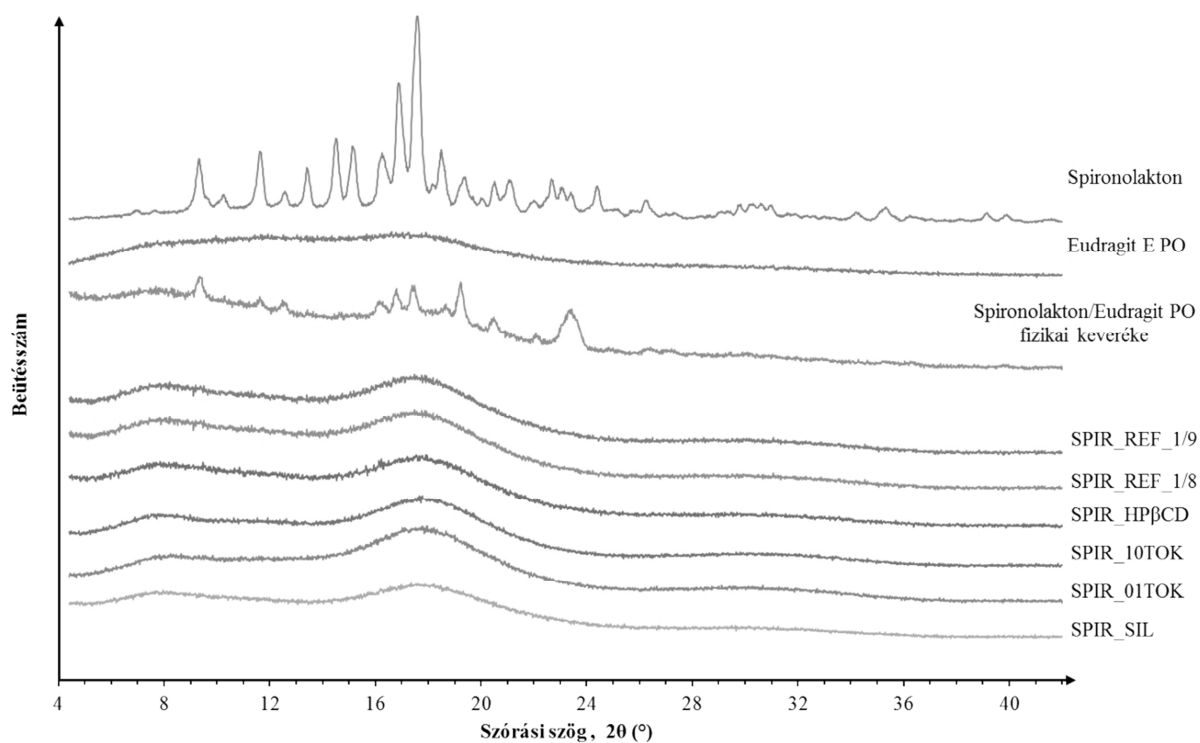
A hatóanyag bomlásának visszaszorítását célzó kísérleteim első körében ezért a szakirodalomban hivatkozott fizikai-kémiai és kémiai stabilitást növelő anyagokkal állítottam elő extrúziós termékeket (3. táblázat). A hidroxipropil-β-ciklodextrin alkalmazásától (**SPIR_HPβCD**) a hatóanyag megnövekedett termikus stabilitását vártam az extrúzió során esetlegesen végbemenő molekuláris komplexképzés miatt⁹⁷. Szintén kipróbáltam, hogy az α-tokoferol segítségével (**SPIR_10TOK**, **SPIR_01TOK**) az oxidatív, szabadgyökös folyamatok mennyire szoríthatóak vissza^{62, 77}. Ugyanakkor vizsgáltam az Aerosil 200 hatását (**SPIR_SIL**) is az extrúzió közben lejátszódó degradációs folyamatra. Feltételezéseink szerint ugyanis a

kolloid szilícium-dioxid nagy fajlagos felületének köszönhetően szintén a rendszerben jelenlévő esetleges szabadgyököktől védheti a molekulát.

3. táblázat 20 fordulat/perc fordulatszámra és 130 °C-on extrudált minták összetétele

Minta neve	Összetétel (m/m%)		
	Spironolakton	Eudragit E PO	Adalékanyag
SPIR_REF_1/9	10,0	90,0	-
SPIR_REF_1/8	10,0	80,0	-
SPIR_HPbCD	10,0	80,0	hidroxipropil-β-ciklodextrin 10,0
SPIR_10TOK	10,0	80,0	α- tokoferol 10,0 +1,0
SPIR_01TOK	10,0	90,0	
SPIR_SIL	10,0	80,0	Aerosil 200 10,0

A minták kristályosságát XRPD-vel vizsgáltam. E szerint az extrudátumok nem tartalmaztak maradék kristályos hányadot a hatóanyagból a detektálási határ felett (17. ábra), vagyis a spironolakton nagy része amorfizálódott vagy molekulárisan oszlott el az Eudragit E-ben. Ez különösen előnyös, mivel azonnali kioldódás biztosítása a formulációs cél.



17. ábra A segédanyagokkal, állandó hőmérsékleten, azonos csigafordulatszámmal gyártott extrudátumok röntgendiffraktogramjai

A RP-HPLC alkalmazásával végzett tisztaságvizsgálatokat minden esetben két-két párhuzamos beméréssel végeztem, majd a két eredményt átlagoltam. Az eredményeket összefoglaló 16. ábra alapján látható, hogy a választott segédanyagok alkalmazásával lényeges csökkenést nem sikerült elérnem a hatóanyag extrúzió közben végbemenő degradációjában. Az eredmények kétmintás *t*-próba szerinti értékelésénél egyedül a **SPIR_10TOK** kódú minta bomlástermék-tartalma mutatott szignifikáns eltérést – 5%-os szignifikanciaszint mellett – a megfelelő referencia mintához képest (**SPIR_REF_1/8**).

Az eredmények szerint a HPβCD alkalmazásával (**SPIR_HPβCD**) várt extrúziós komplexképzés valószínűleg nem, vagy már csak későn, a hatóanyag bomlásának lejátszódása után ment végbe a folyamat során. A 10,0 m/m%-ban α-tokoferolt tartalmazó extrudátum (**SPIR_10TOK**) bomlástermék-tartalmának növekedése a referenciához képest szignifikáns. A 16. ábra nyomaték adatai alapján nyilvánvaló, hogy az ilyen magas arányban alkalmazott viszkózus folyadék nagymértékben lágyította a rendszert, tehát az α-tokoferol jól elegyedett a mátrixpolimerrel. Az intenzívebb bomlást magyarázhatja, hogy az egyenletesen eloszló E-vitaminban nagyobb lehetett a spironolakton oldhatósága, mint az Eudragit E mátrixpolimerben. Mivel valószínűleg a spironolakton nagyobb hányada gyorsabban került molekulárisan elosztatott állapotba (amelyben a hatóanyag sokkal nagyobb mértékben van kitéve a környezeti hatásoknak), a bomlott hatóanyag mennyisége is megnövekedett. Az előző

gondolatmenetet igazolja, hogy a kisebb arányban, 1,0 m/m%-ban α -tokoferolt tartalmazó porkeverék (**SPIR_01TOK**) extrúziójakor a spironolakton beoldódásának mértéke is kisebb lehetett, ezáltal a degradációs folyamat is korlátozottabban ment végbe. Az Aerosil 200 alkalmazásának esetében (**SPIR_SIL**), a kolloid szilícium-dioxidnak szignifikáns hatása nem volt a degradációs folyamatra.

Az eredmények alapján megállapítható, hogy az amorf termékekben (17. ábra) a spironolakton gyengébb kémiai stabilitással rendelkező amorf vagy molekulárisan diszpergált állapotban érzékenyen reagál a termikus igénybevételekre, amelyek hatását segédanyagokkal nem sikerült csökkenteni. A következő vizsgálataimban ezért az extrúzió során áramló anyagkeveréket érő hőterhelések csökkentésének hatását vizsgáltam a készítmények bomlástermék-tartalmának alakulására.

3.2.3. A feldolgozási hőmérséklet csökkentésének hatása az extrudátumok tisztaságára

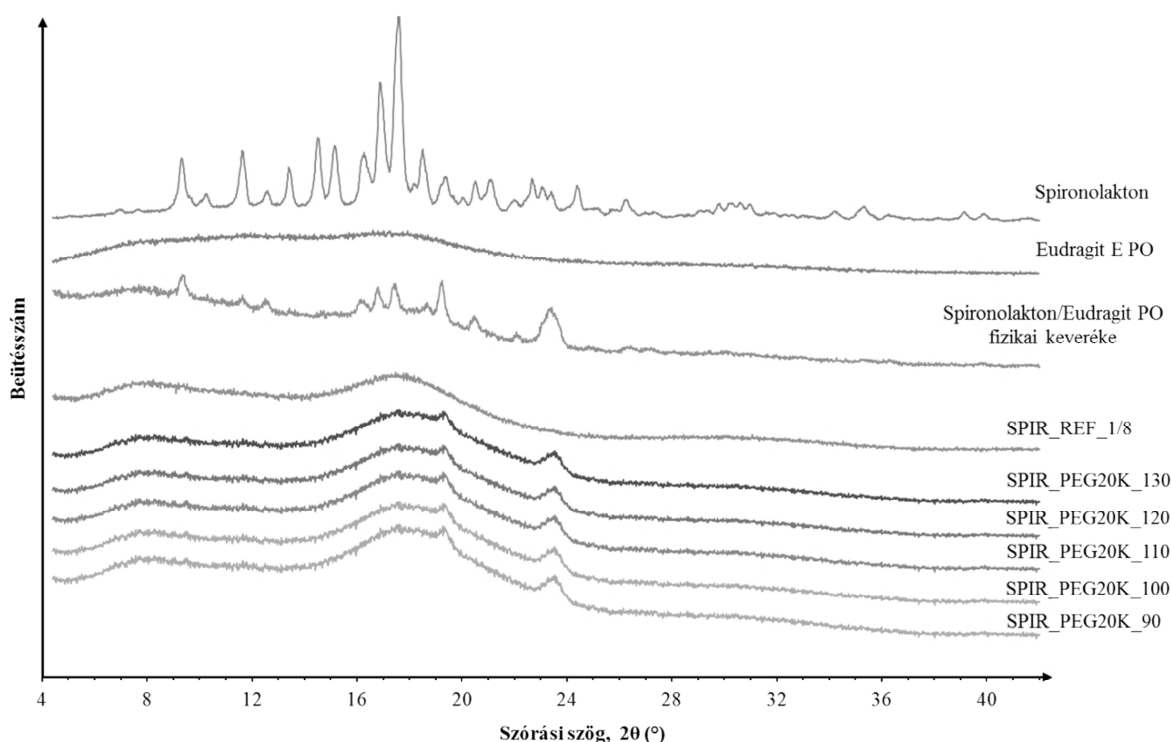
Mivel segédanyagokkal nem sikerült szignifikáns tisztaságjavulást elérnem, a technológiai hőmérséklet csökkentésével (130 °C – 90 °C) próbáltam mérsékelni a betáplált anyagra ható termikus igénybevételeket. Az extrúziós hőmérséklet csökkentése csak az alkalmazott polimer lágyításával volt megvalósítható. A lágyítószer alkalmazásával a polimerláncok közötti kölcsönhatások mérséklődnek, ezáltal azok egymáshoz viszonyított elmozdulásai már alacsonyabb hőmérsékleten végbemehetnek. A lágyító adagolása azt is eredményezi, hogy a feldolgozás alacsonyabb hőmérsékleteken is kivitelezhető, mint lágyító nélkül.

E kísérletek elvégzéséhez egy 80,0 m/m%-ban Eudragit E PO-t, 10,0 m/m%-ban spironolaktont és 10,0 m/m%-ban PEG 20000 lágyítószeret tartalmazó porkeverékből indultam ki. Az egyes gyártások során alakuló folyamatparamétereket a 4. táblázat tartalmazza.

4. táblázat Az extrúziós folyamatparaméterek a 10 m/m%-ban PEG 20000-et tartalmazó lágyított rendszer különböző hőmérsékleteken végzett extrúziójakor

Minta neve	Extrúziós hőmérséklet (°C)	Csigafordulatszám (fordulat/perc)	Nyomaték (Ncm)
SPIR_PEG20K_130	130	20	8
SPIR_PEG20K_120	120	20	10
SPIR_PEG20K_110	110	20	15
SPIR_PEG20K_100	100	20	50
SPIR_PEG20K_90	90	20	70

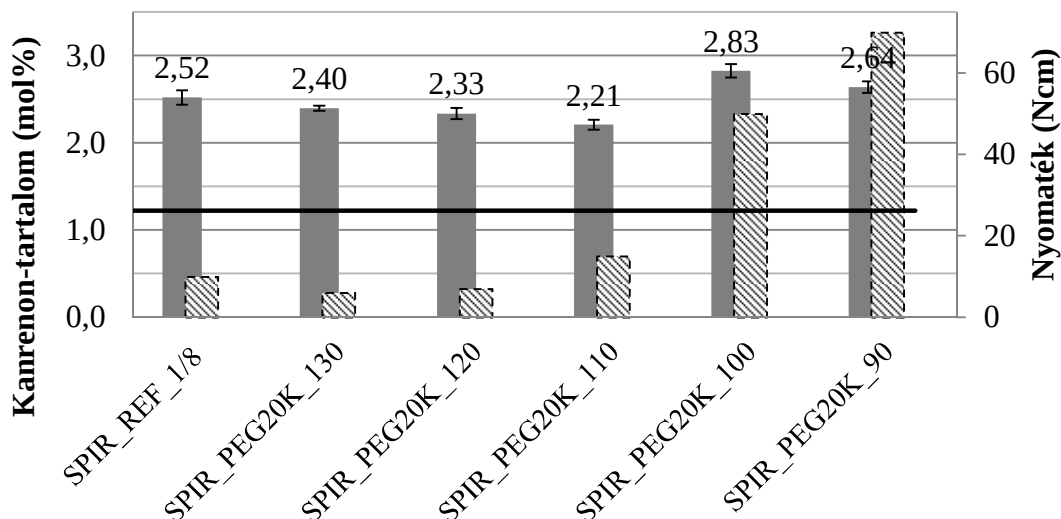
Az extrúziós termékekről készült XRPD vizsgálatok (18. ábra) eredményei alapján megállapítható, hogy – az előző kísérletsorozathoz (3.2.2-es alfejezet) hasonlóan – a feldolgozott hatóanyag nem tartalmaz maradék kristályos hányadot a detektálási határ felett az egyes készítményekben. A lágyított rendszerek diffraktogramjain látható két szignifikáns csúcs 19,3 és 23,5 2θ -nál a PEG 20000-re jellemző.



18. ábra A lágyítószerrel, különböző hőmérsékleteken, azonos csigafordulatszámmal gyártott extrudátumok röntgendiffraktogramjai

A lágyítószer alkalmazásával sikerült jelentősen csökkentenem az extrúzió hőmérsékletét (130–90 °C), ezáltal a degradációs folyamatok is mérséklődtek bizonyos mértékben. A 19. ábraán megfigyelhető, hogy az alkalmazott hőmérséklet hatással volt az extrudátum tisztaságára. A 130–110 °C tartományban csökkentve a hőmérsékletet (**SPIR_PEG20K_130**, **SPIR_PEG20K_120**, **SPIR_PEG20K_110**) a kanrenon termékbeli mennyisége egyre csökkent. Kétmintás *t*-próba alapján a 110 °C-on extrudált minta esetében a csökkenés már szignifikánsnak mondható 5%-os szignifikanciaszint mellett a **SPIR_PEG20K_130** kódú mintához viszonyítva. Amikor a hőmérsékletet tovább csökkentettem (**SPIR_PEG20K_100**), a nyomaték jelentősen megnövekedett, és lényegesen nagyobb degradáció következett be az alacsonyabb hőfokokon végzett extrúziók esetében (19. ábra). Valószínűleg a lágyító az alkalmazott mennyiségben nem tette kellően képlékennyé az anyagkeveréket ezen a hőmérsékleten, következésképpen az ömledék viszkozitása 100 °C-on drasztikusan megemelkedett. A kedvezőtlenebb reológiai tulajdonsággal rendelkező anyagkeverék – extrúziós áramlása során – az extrúder kompressziós szakaszában valószínűleg nagyobb mértékben feltorlódott, ezáltal a készülékben töltött tartózkodási ideje is megnőhetett. Ez a megnövekedett termikus igénybevétel indokolhatja, hogy nagyobb volt a bomlás mértéke. A 90 °C-on (**SPIR_PEG20K_90**) bekövetkező bomlás mértéke mindezek után azzal magyarázható, hogy bár a degradációs folyamat reakciósebességi együtthatója az Arrhenius-összefüggésnek megfelelően tovább csökkent a hőmérséklettel, az anyagkeverék tartózkodási ideje ekkor is nagyobb volt, mint a magasabb hőmérsékleteken végzett extrúziók esetében.

A 3.2.3-as alfejezet kísérleteinek eredményeit összefoglalva elmondható, hogy az extrúziós folyamatok során a készítmény amorfizációjával kialakuló molekulárisan diszpergált hatóanyaghányad tartózkodási ideje – gyengébb kémiai stabilitásának köszönhetően – meghatározó tényező a kapott termékek bomlástermék-tartalmának alakulásában. Kísérleteim következő részében ezért az extrúderbe betáplált anyagkeverék tartózkodási idejének hatását vizsgáltam a kapott készítmények tisztaságára vonatkozóan.



19. ábra A lágyított, különböző hőmérsékleten, állandó csiga fordulatszámmal gyártott extrudátumok kanrenon-tartalom vizsgálatának átlagolt eredményei. Szürke teli oszlopok: kanrenon-tartalom. Vastag, folytonos vonal: 1,22 mol%-os limit kanrenon-tartalomra (V. Ph. Eur.). Sraffozott oszlopok: a 20 fordulat/perces fordulatszám fenntartásához szükséges extrúziós nyomatékok.

3.2.4. A tartózkodási idő hatása az extrudátumok tisztaságára

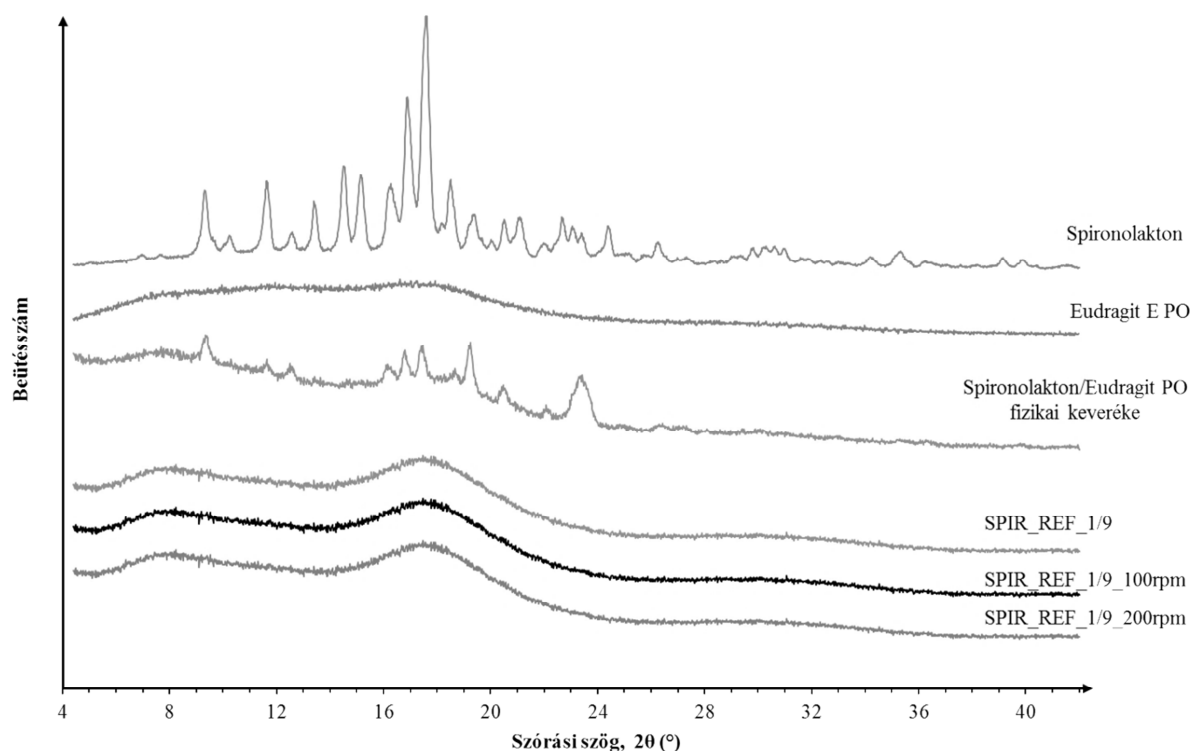
Kísérleteim következő részében két megnövelt csiga fordulatszám (100 és 200 fordulat/perc) alkalmazásával vizsgáltam a **SPIR_REF_1/9** mintával megegyező összetételű anyagkeverék extrúderben töltött idejének hatását a bomlási folyamatokra (5. táblázat). A megnövelt csiga fordulatszámmal járó növekedést az extrúziós nyomatékértékekben az 5. táblázat tartalmazza.

5. táblázat Az extrúziós folyamatparaméterek a csökkentett tartózkodási idő vizsgálatokor

Minta neve	Extrúziós hőmérséklet (°C)	Csiga fordulatszám (fordulat/perc)	Nyomaték (Ncm)
SPIR_REF_1/9	130	20	10
SPIR_REF_1/9_100rpm	130	100	84
SPIR_REF_1/9_200rpm	130	200	110

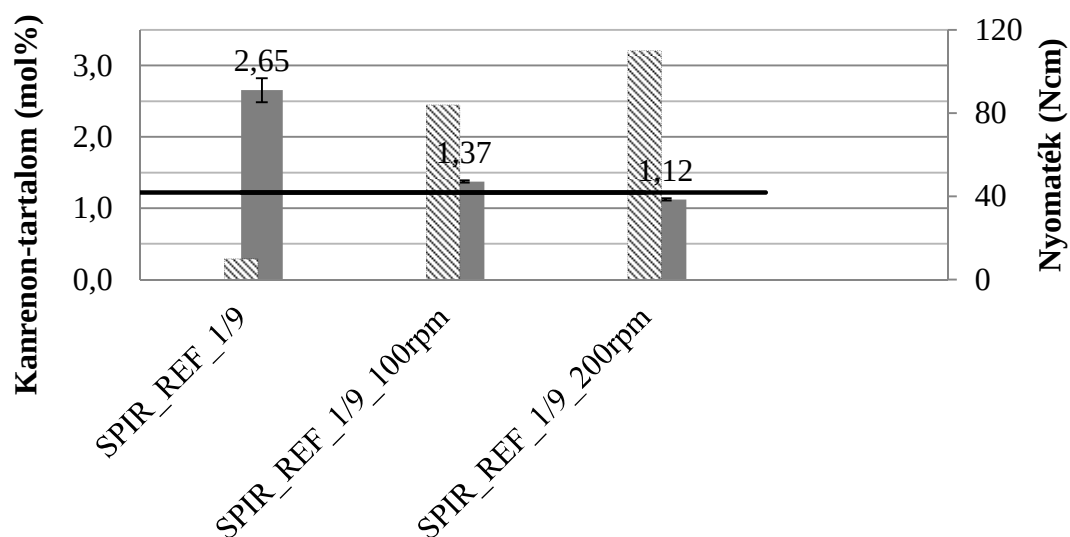
A minták kristályosságát jellemző 20. ábra alapján látható, hogy még lényegesen csökkentett tartózkodási idők mellett is amorf készítményt sikerült előállítanom az extrúzió

során. Ez valószínűleg a csigafordulatszám növelésével járó nyírási igénybevételek erősödésével magyarázható.



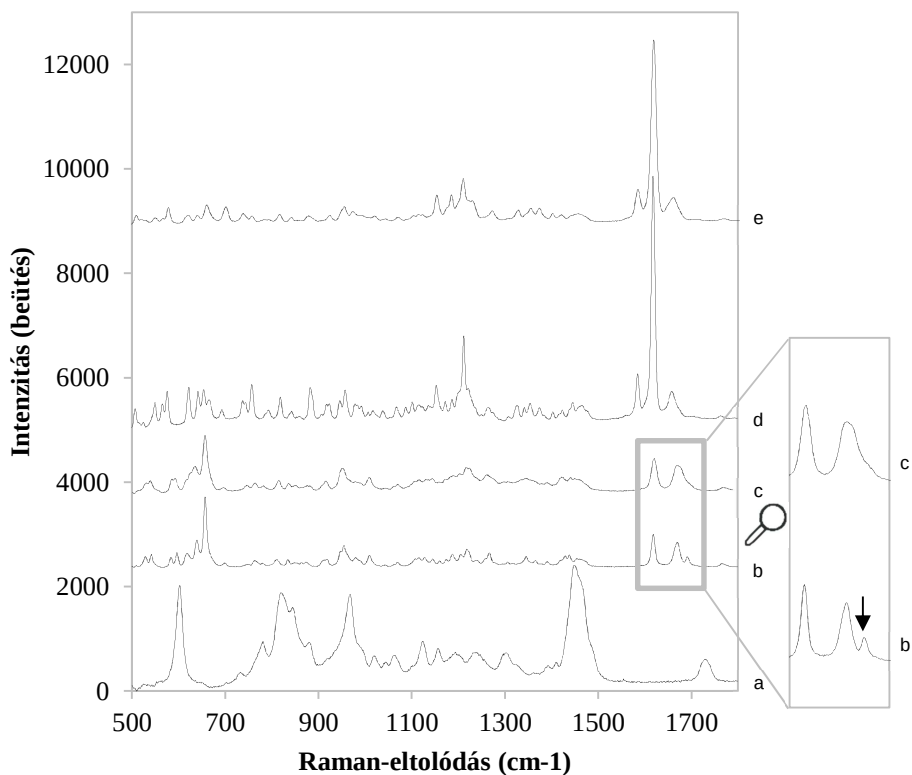
20. ábra Állandó hőmérsékleten, különböző csigafordulatszámmal gyártott extrudátumok röntgendiffraktogramjai

A csigafordulatszám növelésével, ezáltal a betáplált anyagkeverék tartózkodási idejének csökkenésével lényegesen kisebb termikus igénybevételnek volt kitéve a feldolgozandó hatóanyag. Az ilyen módon redukált termikus hatásoknak köszönhetően szignifikáns javulást lehetett elérni a kanrenon termékbeli koncentrációjának alakulásában (21. ábra). Az is látható, hogy bár a megnövekedett nyíró igénybevételek hatására teljesen amorf készítményeket kaptam, a bomlás mégsem növekedett számottevően. Ez valószínűleg annak köszönhető, hogy a betáplált anyagkeverék extrém rövid ideig volt kitéve termikus hatásoknak, a nyíró igénybevételek pedig nem eredményeztek intenzívebb bomlást. Egyik esetben (**SPIR_REF_1/9_200rpm**) a gyógyszerkönyvi követelménynek – kanrenon/spironolakton arányt tekintve – megfelelő terméket sikerült gyártanom.



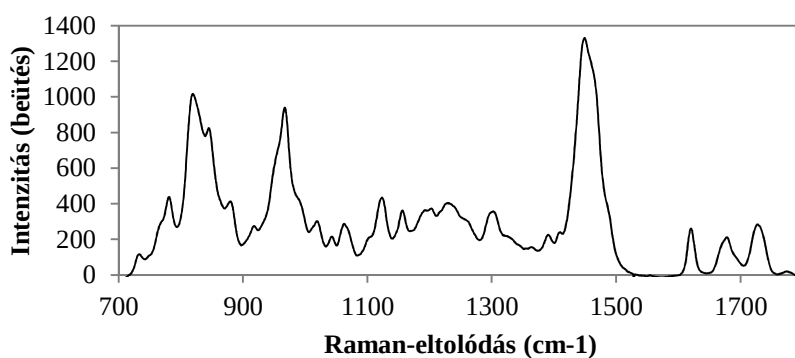
21. ábra Az állandó hőmérsékleteken, különböző csiga fordulatszámmal gyártott extrudátumok kanrenon-tartalom vizsgálatának átlagolt eredményei. Szürke teli oszlopok: kanrenon-tartalom. Vastag, folytonos vonal: 1,22 mol%-os limit kanrenon-tartalomra (V. Ph. Eur.) Sraffozott oszlopok: a csiga fordulatszám fenntartásához szükséges extrúziós nyomatok

A legjobb tisztaságú készítménynek (**SPIR_REF_1/9_200rpm**) a homogenitását is jellemeztem Raman-térképezés segítségével. Mivel a spironolakton, kanrenon és Eudragit E Raman-spektrumai különbözőek (22. ábra), ez az analitikai technika lehetővé tette, hogy kemometriás analízis segítségével kiszámoljam, majd pedig vizualizáljam az egyes komponensek spektrális koncentrációját az extrudátum felületén. Ehhez első lépésben kiválasztottam azokat a tiszta összetevőket, amelyek spektrumait a modellezés során célszerű volt felhasználnom.



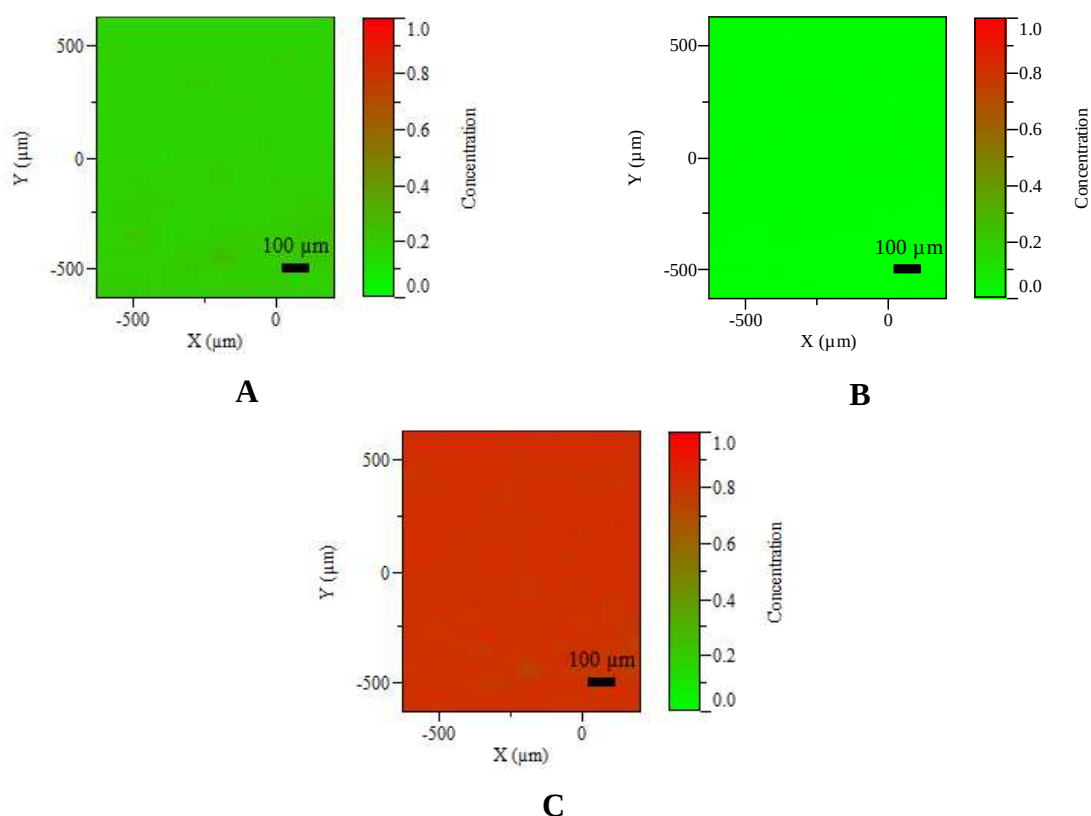
22. ábra Tiszta komponensek Raman-spektrumai. a) Eudragit E, b) kristályos spirinolakton, c) amorf spirinolakton, d) kristályos kanrenon, e) amorf kanrenon

A térkép átlagspektrumából (23. ábra) azt a tanulságot vontam le, hogy a spirinolakton főként amorf formában van jelen a készítményben, ugyanis a tioacetyl csoport karbonilcsoportjának 1690 cm^{-1} -nél detektált jele teljes egészében a mellette lévő (1679 cm^{-1}) csúcsba olvadva jelent meg. Irodalmi források alapján feltételezhető, hogy e kiszélesedés oka az amorfizált hatóanyag-molekulák változatossá vált környezete, s az ez által okozott energiaperturbáció⁹⁸.



23. ábra A SPIR_REF_1/9_200rpm készítményről készült Raman-térkép átlagspektruma

A kemometriás modellezés során a fent leírtakból kiindulva az Eudragit E, az amorf spironolakton és az amorf kanrenon spektrumát használtam komponensként. A 24. ábra tanúsága szerint a spironolakton egyenletesen oszlott el az extrudátumban, ami arra utal, hogy nagymértékű molekuláris eloszlás ment végbe. Ha a hatóanyag kristályos formában maradt volna a szilárd diszperzióban, jelentős szórás tapasztaltam volna a spektrális koncentrációban, hiszen a kristályok gócban helyezkednének el, míg a molekulárisan diszpergált spironolaktont gyakorlatilag oldott formában tartalmazza a mátrix.



24. ábra A komponensek eloszlása a SPIR_REF_1/9_200rpm készítményekben. A) spironolakton, B) kanrenon, C) Eudragit E. A térképek a spektrális koncentrációkat mutatják a térképezett felületen

3.2.5. Spironolakton tartalmú molekuláris diszperziók termikus viselkedésének vizsgálata

További kísérleteimben azt vizsgáltam, hogy a spironolakton az amorf készítményekben milyen mértékben képes a termikus igénybevételeknek ellenállni, ezáltal egy újabb technológiai fejlesztési útvonalat próbáltam kijelölni.

Az eddig ismertetett kísérletsorozataim eredményei alapján látható, hogy a spironolakton ömledékextrúziós feldolgozása során, a kialakuló amorf vagy – az alkalmazott mátrixpolimerbe – beoldódott hatóanyag-hányadoknak milyen fontos szerepe van az

előállított készítmények bomlástermék-tartalmának alakulásában. Az ömledékextrúzió során a hőmérséklet, valamint a tartózkodási idő hatását kontrolláltan vizsgálni az amorf vagy molekulárisan diszpergált állapotú hatóanyag termikus degradációjában igen nehéz feladat, hiszen ezen állapotok kialakulása az extrúziós folyamat során nem pillanatszerű (a beadagolt hatóanyag egészét tekintve). Az amorfizációs folyamat valós idejű, „in-line” vizsgálatára az alkalmazott extrúziós berendezésnél pedig egyelőre nincs lehetőség.

Célom ezért egy olyan – **SPIR_REF_1/9** extrúziós (10 m/m% hatóanyagot tartalmazó) összetételnek megfelelő (3. táblázat) – spironolakton/mátrixpolimer rendszerek vizsgálata volt, melyben a hatóanyag teljes mértékben molekulárisan diszpergált állapotban van jelen, valamint előállításuknál hőhatás okozta degradációk nem mehetnek végbe. Erre a legkézenfekvőbb megoldás a tanszéken nagy hagyományokkal rendelkező oldatalapú elektrosztatikus szálképzés alkalmazása volt. A folyamat során a hatóanyagot tartalmazó polimeroldatból nagyfeszültségű erőter hatására az oldószer ultragyors elpárolgása megy végbe, ekkor nagy fajlagos felülettel rendelkező mikro- vagy nanométer átmérőjű szálak keletkeznek, melyben a hatóanyag – nagy valószínűség szerint – molekulárisan diszpergált állapotban van jelen (**1.4.1.**). Az így gyártott random szövedékek hőterhelésével spironolaktontartalmú *szilárd oldatok* termikus viselkedésének vizsgálatára nyílik lehetőség.

A vizsgálathoz szükséges mintamennyiséget a **2.3.2.** pontnak megfelelően gyártottam. A hőterhelési programokat a **2.3.3.**-es pontban leírtak szerint végeztem, valamint az így kapott minták folyadékkromatográfiás mintaelőkészítése és vizsgálata a **2.3.7.1.**-es pont alapján történt.

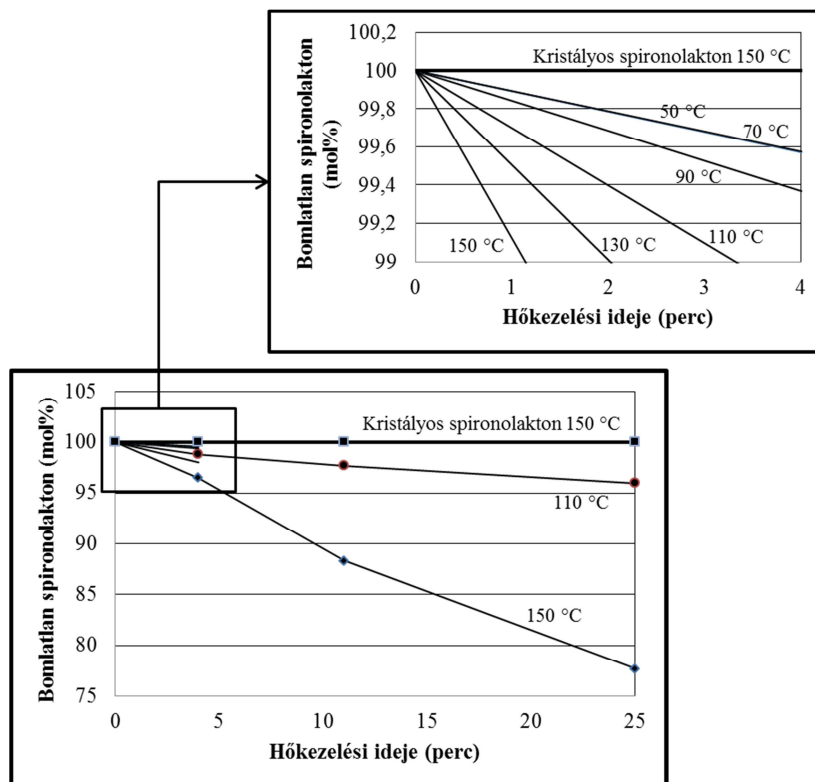
Első esetben az extrúziós kísérleteimnél alkalmazott Eudragit E mátrixpolimert tartalmazó minták termikus viselkedését vizsgáltam. A különböző hőkezelések hatására mért maradék spironolakton-koncentrációk (6. táblázat és 25. ábra) alapján jelentős eltérés tapasztalható a vegyület kristályos és molekulárisan diszpergált állapotának termikus stabilitásában. A kristályos szerkezetű hatóanyag a vizsgálat során alkalmazott legnagyobb mértékű hőterhelés (150 °C; 25 perc) hatására sem adott bomlásterméket, míg az Eudragit E mátrixpolimerben molekulárisan diszpergált változatnál már 50 °C-on, 4 percig tartó terhelés hatására csaknem 0,5 mol%-os hatóanyag-bomlás mutatható ki (6. táblázat). Látható továbbá, hogy a hőmérséklet a bomlási reakció sebességét számottevően megváltoztatja. Alacsonyabb hőmérsékletű terhelések (50 °C és 70 °C) esetén a bomlási folyamat sebessége azonban csaknem megegyezik.

6. táblázat A spironolakton bomlásának függése a morfológiától, a hőkezelés hőmérsékletétől és idejétől
Eudragit E mátrixpolimer alkalmazásakor

Farmakon állapota	Hőkezelés hőmérséklete	Hőkezelés ideje	Bomlatlan spironolakton-tartalom (mol%)
Molekulárisan diszpergált (Eudragit E mátrix-polimerben)	50 °C	4 perc	99,57%
	70 °C	4 perc	99,57%
	90 °C	4 perc	99,37%
	110 °C	4 perc	98,80%
		11 perc	97,69%
		25 perc	95,96%
	130 °C	4 perc	98,02%
	150 °C	4 perc	96,49%
		11 perc	88,29%
		25 perc	77,67%
Kristályos	150 °C	4 perc	100,00%
		11 perc	100,00%
		25 perc	100,00%

Mindezen eredmények gyakorlati alkalmazhatósága számottevő. A 25. ábra alapján kellő biztonsággal feltételezhető, hogy amennyiben egy **SPIR_REF_1/9** összetételű rendszer ömledékextrúziós feldolgozásánál a csigafordulatszámot úgy választjuk meg, hogy a betáplált anyagkeverék extrúderben töltött tartózkodási ideje nem haladja meg a 4 percet, akkor egy megfelelő minőségű és kellő mennyiségű lágyítószer alkalmazásával biztosított 90 – 100 °C-os (vagy ennél kisebb) technológiai hőmérséklet mellett, a folyamat során nagy valószínűséggel nem keletkezik 1,22 mol%-nál nagyobb mennyiségben extrúziós bomlástermék.

Az előző bekezdésekben leírtak alapján további számos hatóanyag/mátrixpolimer rendszer hasonló diagramja szerkeszthető meg, amennyiben azokban előállítható a hatóanyag teljes mértékben molekulárisan diszpergált állapota valamilyen hőhatást nem igénylő, egyszerű, kis anyagigényű technológiával (pl. szobahőmérsékleten végzett porlasztva szárítás, elektrosztatikus szálképzés vagy együttes bepárlás). Az ilyen típusú laboratóriumi elővizsgálatok elvégzésével az adott ömledékextrúziós feldolgozás kifejlesztésekor a nagy gép-, munka- és anyagigényű kísérleti gyártások jelentős hányada megspórolható.



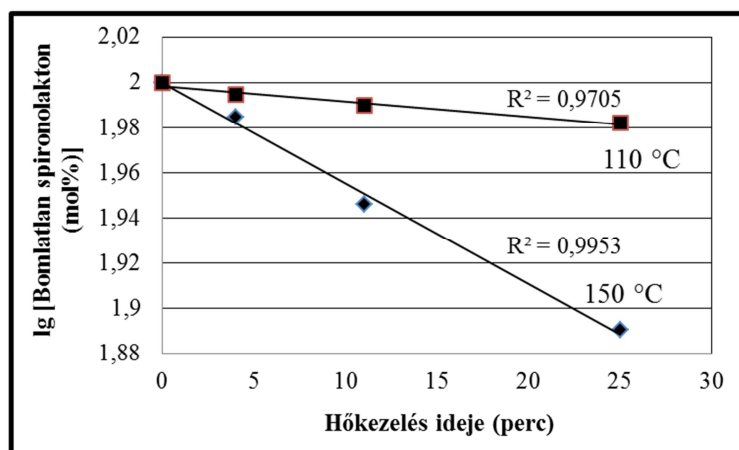
25. ábra A farmakonkoncentráció változása a hőterhelés alatt az idő függvényében Eudragit E mátrixpolimer alkalmazásakor

Elméleti megfontolások alapján ki kívántam számolni a spironolakton bomlásának reakciósebességi együtthatóját 110 és 150 °C-on, amely hőmérsékleteken meghosszabbított idejű hőterhelést végeztem. Azt feltételeztem, hogy a reakció elsőrendű, ezért a 4. egyenletben leírt összefüggés alapján egyenest illesztettem a különböző időpontokban mért tisztaságértékekre. A 150 és 110 °C-hoz tartozó pontokra illesztett egyenesek R^2 értékei 0,9705 és 0,9953 voltak (26. ábra), vagyis megfelelő volt az illeszkedés. A k reakciósebességi együttható 150 °C-on $0,010133 \text{ min}^{-1}$ -nek, míg 110 °C-on csak $0,001612 \text{ min}^{-1}$ -nek adódott. Ez a különbség összhangban áll azokkal az extrúziós eredményekkel, amelyek szerint a feldolgozási hőmérséklet csökkentésével tisztaságjavulás volt elérhető.

$$\lg(100 * C_t / C_0) = -k * \frac{t}{2,303} + 2 \quad \text{ahol}$$

4. egyenlet Az elsőrendű reakciókinetikát követő linearizált koncentrációfüggvény

- C_0 a kiindulási farmakonkoncentráció (mol%)
- C_t a t időpillanatban mért farmakonkoncentráció (mol%)
- k a bomlás reakciósebességi együtthatója
- t az idő

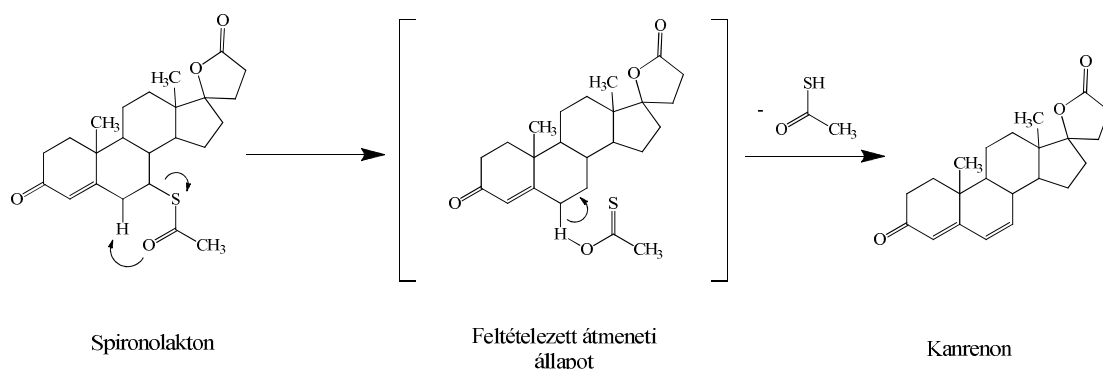


26. ábra A bomlatlan farmakon százalékos mennyiségének logaritmusa a hőkezelés idejének függvényében, elsőrendű reakciókinetikát feltételezve Eudragit E mátrixpolimer alkalmazásakor.

Mindazonáltal meg kell említeni, hogy a vizsgált időintervallumon belül nem érvényesült a spironolakton olvadáskbéli koncentrációjának hatása, ugyanis a bomlás sebessége közel állandó volt (25. ábra). Ha a bomlás az elsőrendű kinetika helyett akár nulladrendű egyenletekkel is leírható e kezdeti szakaszban (vagyis 100-hoz közeli $100 \cdot C_t/C_0$ értékek esetén), a degradáció mértéke még könnyebben jósolhatóvá válik.

A kapott eredmények alapján megállapítható, hogy az Eudragit E mátrixpolimerben feltehetően molekulárisan diszpergált állapotban lévő spironolakton termikus stabilitása lényegesen kisebb, mint a termodinamikailag sokkal stabilabb kristályos formáé. A molekulárisan diszpergált állapotú spironolakton már enyhe hőhatásra (50 °C-on tartás 4 percig) is számottevő bomlást szenvedett (0,5 mol%), mely során fő bomlásterméke, a kanrenon keletkezett. A reakciókinetikai vizsgálataim alapján a spironolakton-kanrenon átalakulásra (12. ábra) megfelelően illeszthető volt az elsőrendű kinetika. A kiszámolt reakciósebességi együtthatók alátámasztották az extrúziós kísérletek értékelésekor megfogalmazott feltevésemet, mely szerint a hőmérséklet csökkentésével jelentősen csökken a bomlási átalakulás valószínűsége.

A továbbiakban azt vizsgáltam, hogy a spironolakton bomlási folyamata visszaszorítható-e egy alkalmas mátrixpolimer és a hatóanyag között feltételezhetően kialakuló másodlagos kölcsönhatásokkal. Ehhez a 12. ábraábrán látható, a vizsgált modellhatóanyag fő szennyezőjét eredményező bruttó reakció 27. ábraábrán bemutatott reakciómechanizmusát feltételeztem.



27. ábra A spironolakton fő bomlástermékét, a kanrenont eredményező reakció lehetséges monomolekuláris mechanizmusa

Elméleti megfontolások alapján abból indultam ki, hogy a modellhatóanyag kanrenont eredményező monomolekuláris bomlását elősegítheti a szteránvázas molekula 7-es helyzetű tioacetil csoportján lévő oxigénatom magányos nemkötő elektronpárjainak nukleofil jellege, mely a szteránváz 6-os helyzetű hidrogénatomján érvényesül.

Amennyiben a 27. ábra szerint megy végbe a bomlási reakció, a spironolakton tioacetil funkciójának oxo-csoportja és egy megfelelő, hidroxil-csoportokban gazdag mátrixpolimer között kialakuló másodlagos hidrogénkötések csökkenthetik a hatóanyag hőhatásra bekövetkező monomolekuláris bomlási folyamatának sebességét. Ennek igazolására hidrogénkötés-donorcsoportokat tartalmazó hidroxipropil-cellulózzal állítottam elő elektrosztatikusan szálképzett amorf spironolaktonterméket, amely az Eudragit E polimer alkalmazásával készült rendszerrel megegyező összetételben (10 m/m%) tartalmazta a hatóanyagot. Ennek a formulációnak is megvizsgáltam a termikus viselkedését. A különböző hőkezelések után mért maradékspironolakton-koncentrációk (7. táblázat és 28. ábra) alapján belátható, hogy a bomlási folyamat lényegesen kisebb mértékben ment végbe a hidroxipropil-cellulózt tartalmazó minták esetében, mint az Eudragit E mátrixpolimert alkalmazó változatokban (6. táblázat és 25. ábra).

7. táblázat A spironolakton bomlásának függése a morfológiától, a hőkezelés hőmérsékletétől és idejétől
hidroxipropil-cellulóz mátrixpolimer alkalmazásakor

Farmakon állapota	Hőkezelés hőmérséklete	Hőkezelés ideje	Bomlatlan spironolakton-tartalom
Molekulárisan diszpergált (hidroxipropil-cellulóz mátrix-polimerben)	90 °C	4 perc	99,90%
	110 °C	4 perc	99,81%
	130 °C	4 perc	99,73%
	150 °C	4 perc	98,66%
		11 perc	95,68%
		25 perc	92,63%
Kristályos	150 °C	4 perc	100,00%
		11 perc	100,00%
		25 perc	100,00%

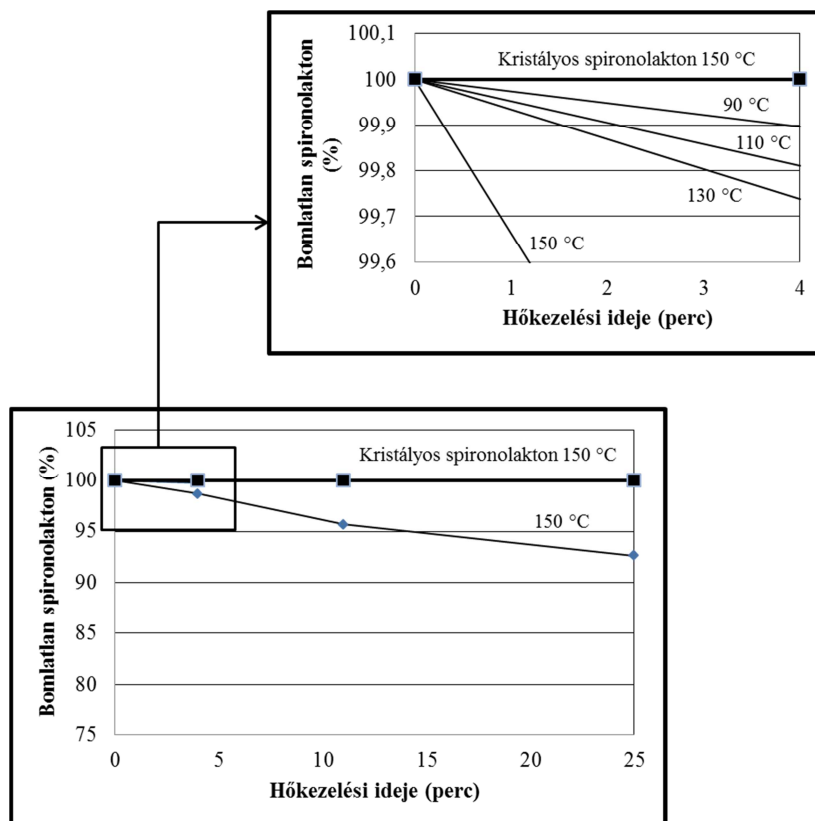
A hidroxipropil-cellulózban molekulárisan diszpergált hatóanyag ugyan ez esetben sem érte el kristályos szerkezetére jellemző termikus stabilitását, de szignifikánsan előnyösebb termikus viselkedést mutatott az Eudragit E mátrixpolimerben molekulárisan diszpergált változatával szemben. Amíg az Eudragit E-t tartalmazó rendszerben a legnagyobb mértékű hőterhelés (150 °C; 25 perc) hatására a hatóanyagtartalom csaknem 25%-a bomlást szenvedett, addig a cellulózszármazékot alkalmazó rendszer azonos mértékű hőterhelésére a hatóanyag mindössze 8%-a alakult termikus bomlástermékké. Ugyanakkor a most tárgyalt rendszerben is megfigyelhető, hogy a hőmérséklet csökkentésével a bomlási átalakulás valószínűsége is csökken.

Az eredmények alapján feltételezhető, hogy a hidroxipropil-cellulóz szabad hidroxil-csoportjai és hatóanyag tioacetyl funkciójának oxo-csoportja között kialakult másodlagos hidrogénkötések stabilizálták a bomlásra hajlamos spironolakton molekulát. Ugyanakkor a 90 és 110 °C-on kapott eredmények a hidroxipropil-cellulóz lágyulási jellemzőivel is összefüggésbe hozhatóak, hiszen e cellulózszármazék lágyulása 100-110 °C-on következik be⁷⁷. A molekuláris mozgások lehetősége csak e hőmérséklet-intervallum felett alakul ki.

Az alkalmazott mátrixpolimer és a hatóanyag között feltételezhetően kialakult hidrogénkötések fennállásának bizonyítására a szálcépzett termékek további IR-spektroszkópiai vizsgálatát fogom elvégezni.

A kapott eredmények alapján megállapítható, hogy a hatóanyag ömledékextrúziós feldolgozásakor nagyobb eséllyel állítható elő gyógyszerkönyvi tisztaságkövetelményeknek megfelelő spironolakton tartalmú készítmény, amennyiben a technológia során:

- a hidroxipropil-cellulózt, mint egyedüli mátrixképzőt alkalmazzuk; ekkor azonban számolnunk kell annak lehetőségével, hogy a hatóanyag kioldódásának gyorsítása nem lesz olyan nagymértékű, mint az Eudragit E polimert, mint önálló hordozót alkalmazó rendszerek esetén (11. ábra).
- a modellhatóanyagot először egy lágyított hidroxipropil-cellulóz rendszerben (pl. E-vitamin vagy PEG alkalmazásával) extrudáljuk, majd a kapott extrudátum megfelelő szemcseméretűre aprított formáját állítjuk elő, melyet – egyfajta mesterkeverékként – további extrúzióba viszünk, ahol az Eudragit E polimer alkotja a fő polimerhányadot. Ekkor az Eudragit E a szolubilizáló hatásával gyorsítani tudja a hatóanyag kioldódását.
- először a modellhatóanyag egy optimált elektrosztatikus szálképzéses formálását hajtjuk végre hidroxipropil-cellulózzal, majd a szálképzett terméket visszük extrúzióba Eudragit E mátrixpolimerrel.



28. ábra A farmakonkoncentráció változása a hőterhelés alatt az idő függvényében hidroxipropil-cellulóz mátrixpolimer alkalmazásakor

Összefoglalás

Munkámban egy vízben rosszul oldódó modellhatóanyag, a spironolakton olvadékextrúziós készítményfejlesztését végeztem Eudragit E terpolimerrel, amelynek során vizsgáltam a termék kristályosságát, homogenitását, de mindenek előtt az elérhető készítménytisztaságot. Egyik célom a farmakon olvadékextrúzió közben bekövetkező degradációs folyamatainak mérséklése volt.

A 3.2.3. pontban bemutatott eredményeim alapján megállapítható, hogy az extrúzió hőmérsékletének csökkentésével bizonyos mértékben visszaszoríthatóak a hatóanyag degradációs folyamatai a feldolgozás során, amit a 3.2.5 pontban elvégzett reakciókinetikai vizsgálataim is igazoltak. Továbbá szignifikáns javulás érhető el a terméktisztaságban a tartózkodási idő csökkentésével, s így a gyógyszerkönyvi határérték (1,0 tömeg%, azaz 1,22 mol%) alá került a kanrenon bomlástermék mennyisége (3.2.4. alfejezet). A módszer további előnye, hogy (feltehetőleg az intenzívebb nyírásnak köszönhetően) teljesen amorf termékeket lehet előállítani. E szilárd diszperzók felhasználásával drámai kioldódásgyorsulás érhető el, ami a biohasznosulásra is kedvező hatással lehet.

Mindezen eredmények alapján az eljárás hatékonysága valószínűleg tovább növelhető megfelelő minőségű és kellő mennyiségű lágyítószer alkalmazásával, melynek segítségével az extrúzió hőmérséklete egy alkalmas szintre – 100 vagy 90 °C-ra – csökkenthető. Amennyiben ezt a lágyított rendszert egy elfogadhatóan nagy csigafordulatszám mellett extrudáljuk, az így előállított (feltehetően) teljes mértékben amorf készítmények kanrenon-tartalma jóval a gyógyszerkönyvi adatokból számolt 1,22 mol%-os határérték alá csökkenthető.

A kapott eredményekből az is látható, hogy az előállított készítmények bomlástermék-tartalmának alakulásában meghatározó szerepe van a farmakon termikusan instabil amorf vagy molekulárisan elosztatott állapotának. Feltehetően egy kedvezőbb farmakon/mátrixpolimer arány esetében a készítmény amorfizációja is beállítható a technológia során olyan mértékűre, ahol a hatóanyag amorf vagy molekulárisan diszpergált állapotának előnyös, kioldódást növelő hatása még kellőképpen érvényesül, ugyanakkor termikus instabilitása nem okoz nagymértékű bomlástermék-tartalom növekedést a készítményben.

Irodalomjegyzék

-
- ¹ Lechleiter, J. (2012. 12. 11): Beyond the fiscal cliff, pharmaceutical innovation is the key to long term fiscal health, Forbes magazin, URL: <http://www.forbes.com/sites/johnlechleiter/2012/12/11/beyond-the-fiscal-cliff-pharmaceutical-innovation-is-the-key-to-long-term-fiscal-health/> Lementve: 2014. 05. 25.
- ² Kaló, Z. (2007): Versenyképes gyógyszerpolitika, IME, 6.10. 25-31
- ³ Pataki, B. (2005): A technológia menedzselése, Typotex, Budapest
- ⁴ Poechlauer, P. et. al. (2012): Continuous processing in the manufacture of active pharmaceutical ingredients and finished dosage forms: An industry perspective, Org. Process Res. Dev. 16, 1586-1590
- ⁵ Jimenez-González, C. et. al. (2011): Key green engineering research areas for sustainable manufacturing: A perspective from pharmaceutical and fine chemicals manufacturers, Org. Process Res. Dev. 15, 900-911
- ⁶ Winkle, H. N.: Implementing quality by design (előadás), PDA/FDA Joint Regulatory Conference, 2007. 09. 24. Washington DC, USA
- ⁷ Repka, M.A. et. al. (2012): Melt extrusion: process to product, Expert Opin. Drug. Del. 9, 105-125
- ⁸ Liu, J. et. al. (2013): Use of polymer combination in the preparation of solid dispersion of a thermally unstable drug by hot-melt extrusion, Acta Pharma. Sinica B. 4, 263-272
- ⁹ Munjal, M. et. al. (2006): Polymeric systems for amorphous Δ^9 -tetrahydrocannabinol produced by hot-melt method. Part I. Chemical and thermal stability during processing, J. Pharma. Sci. 95, 1841-1853
- ¹⁰ Rácz, I. (2001): Gyógyszertechnológia I., Gyógyszerformulálás, Medicina, Budapest
- ¹¹ Govedarica, B. et al. (2011) Formulation and evaluation of immediate release tablets with different types of paracetamol powders, Afr. J. Pharm. Pharmacol. 5(1), 31-41
- ¹² Chaturvedi, K. et al. (2012): Polymeric hydrogels for oral insulin delivery, J. Control Release 165(2), 129-138
- ¹³ Qiao, M. et al. (2010): Sustained release coating of tablets with Eudragit® RS/RL using a novel electrostatic dry powder coating process, Int. J. Pharm. 399(1-2), 37-43
- ¹⁴ Ahmed, I.S., Ayres, J. W. (2011): Comparison of in-vitro and in-vivo performance of colonic delivery systems, Int. J. Pharm. 409(1-2), 169-177
- ¹⁵ Selmeczi, B. (2001): Gyógyszertechnológia III. Gyógyszerformatan, Medicina, Budapest
- ¹⁶ Amidon, G. L. et al. (1995): A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of in-vitro drug product dissolution and in-vivo bioavailability, Pharm. Res. 12(3), 413-420
- ¹⁷ Dokoumetzidis, A. et al. (2006): A century of dissolution research: From Noyes and Whitney to the Biopharmaceutical Classification System, Int. J. Pharm. 321, 1-11
- ¹⁸ Chaumeil, J. C. (1998): Micronization: A method of improving the bioavailability of poorly soluble drugs, Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol. 20(3), 211-215
- ¹⁹ Keserű Gy. M., Makara Gy.M. (2009): The influence of lead discovery strategies on the properties of drug candidates, Nat. Rev. Drug. Discov. 8, 203-212
- ²⁰ Lipinski C.A. (2000): Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability, J. Pharmacol. Toxicol 44, 235-249
- ²¹ Keserű Gy. M. (2011): A gyógyszerkutatás kémiája, Akadémia Kiadó, Budapest
- ²² Morris, K. R. et. al. (2001): Theoretical approaches to physical transformations of active pharmaceutical ingredients during manufacturing processes, Adv. Drug. Deliv. 48(1), 91-114

-
- ²³ Jarho, P., Velde, D. V., Stella, V. J. (2000): Cyclodextrine-catalyzed deacetylation of spironolactone is pH and Cyclodextrine dependent, J. Pharm. Sci. 89(2), 241-249
- ²⁴ Rangel-Yau, C. O., Pessoa, A., Tavares, L. C. (2005): A micellar solubilization of drugs, J. Pharm. Pharm. Sci., 8(2), 147-165
- ²⁵ Chaudhuri, K. R. (2008): Crystallisation within transdermal rotigotine patch: Is there cause for concern?, Expert Opin. Drug Deliv. 5(11), 1169-1171
- ²⁶ Hancock, B., Parks, M. (2000): What is the true solubility advantage for amorphous pharmaceuticals?, Pharm. Res. 17(4), 397-404
- ²⁷ Nagapudi, K., Jona, J. (2008): Amorphous pharmaceutical ingredients in preclinical studies: Preparation, characterization, and formulation, Current Biactive Compound 4, 213-224
- ²⁸ Yu, L. (2001): Amorphous pharmaceutical solids: Preparation, characterization and stabilization, Adv. Drug Deliv. 48(1), 27-42.
- ²⁹ Kaul, D. et al. (1992): Crystal habit modifications and altered tableting characteristic, Int. J. Pharm. 88, 345-350
- ³⁰ Kaur, J. et al. (2012): Improvement of drug solubility using solid dispersion, Int. J. Pharm. Sci. 4(2), 47-53
- ³¹ Lucas, J., Burgess, P. (2004): When form equals substance: the value of form screening in product life-cycle management, Pharma Voice, 54-57
- ³² Oberholtzer, E. R., Brenner, G. S. (1979): Cefoxitin sodium: Solution and solid-state chemical stability studies, J. Pharm. Sci. 68(7), 863-866
- ³³ Airaksinen, S. et al. (2005): Role of water in the physical stability of solid dosage formulations, J. Pharm. Sci. 94(10), 2147-2165
- ³⁴ Sekiguchi, K., Obi, N. (1961): Studies on absorption of eutectic mixtures I. A comparison of the behavior of eutectic mixtures of sulphathiazole and that of ordinary sulphathiazole in man, Chem. Pharm. Bull., 9, 866-872
- ³⁵ Goldberg, A. H., Gibaldi, Kanig, J. L. (1966): Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutions and eutectic mixtures II. Experimental evaluation of eutectic mixture: urea-acetaminophen system, J. Pharm. Sci. 55, 482-487
- ³⁶ Goldberg, A. H., Gibaldi, Kanig, J. L. (1966): Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutions and eutectic mixtures III. Experimental evaluation of griseofulvin-succinic acid solution, J. Pharm. Sci. 55, 487-492
- ³⁷ Chiou, W. L., Riegelman, S. (1971): Pharmaceutical applications of solid dispersion systems, J. Pharm. Sci. 60(9), 1281-1302
- ³⁸ Dannenfelser, R. M. et al. (2004): Development of clinical dosage forms for poorly water soluble drug I: Application of polyethylene glycol-polysorbate 80 solid dispersion carrier system, J. Pharm. Sci. 93(5), 1165-1175
- ³⁹ Linn, M. et al. (2012): Soluplus[®] as an effective absorption enhancer of poorly soluble drugs *in-vitro* and *in-vivo*, Eur. J. Pharm. Sci. 45, 336-343
- ⁴⁰ Li, Y., Han, J., Suryanarayanan, R. (2000): In situ dehydration of carbamazepine dihydrate: a novel technique to prepare amorphous anhydrous carbamazepine, Pharm. Dev. Technol. 5, 257-266
- ⁴¹ Tang, X., Pikal, J. M. (2004): Design of freeze-drying processes for pharmaceuticals: Practical advice, Pharm. Res. 21(2), 191-200

-
- ⁴² Santos, J. L., Cordeiro, P., Temtem, M. (2013): Scale-up of spray dried amorphous solid dispersion, *Eur. Indust. Pharm.* 19, 4-8
- ⁴³ Ignatious, F., Sun, L., Lee, C. P. (2010): Electrospun nanofibers in oral drug delivery, *Pharm Res.* 27(4), 576-588
- ⁴⁴ Aso, Y., Yoshioka, S., Kojima, S. (2000): Relationship between the crystallization of amorphous nifedipine, phenobarbital, and flopropione, and their molecular mobility as measured by their enthalpy relaxation and ¹H NMR relaxation times, *J. Pharm. Sci.* 89(3), 408-416
- ⁴⁵ Nagy, Z. K. et. al. (2013): Solvent-free melt electrospinning for preparation of fast dissolving drug delivery system and comparison with solvent-based electrospun and melt extruded systems, *J. Pharm. Sci.* 102(2), 508-517
- ⁴⁶ Balogh, A. et. al. (2014): Plasticized drug-loaded melt electrospun polymer mats: Characterization, thermal degradation, and release kinetics, *J. Pharm. Sci.* 103(4), 1278-1287
- ⁴⁷ Keen, M. J., McGinity, J. W., Williams, O. R. (2012): Enhancing bioavailability through thermal processing, *Int. J.* 450, 185-196
- ⁴⁸ Elamin, A. A. et al. (1994): Increased metastable solubility of milled griseofulvin. depending on the formation of disordered surface structure, *Int. J. Pharm.* 111, 159-170
- ⁴⁹ Rajinikanth, P. S., Balasubramaniam, J., Kumar, T. M., Rajesh, Y. V. (2012): Spray drying as an approach for enhancement of dissolution and bioavailability of Raloxifene hydrochloride, *Int. J. Drug. Deliv.* 4, 246-256
- ⁵⁰ ICH Topic Q3C (R4), Impurities: Guideline for residual solvents, http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3C/Step4/Q3C_R5_Step4.pdf, lementve: 2014.05.29.
- ⁵¹ Plumb, K. (2005): Continuous processing in the pharmaceutical industry, Changing the mind set, *Chemical Engineering Research and Design*, 83(A6), 730-738
- ⁵² U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration: Guidance for Industry, PAT, <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm070305.pdf>, lementve: 2014.05.29.
- ⁵³ Pestieau, A., Krier, F., Thoorens, G., Dupont, A., Chavez, P. F., Ziemons, E., Philippe, H., Evrard, B. (2014): Towards a real time release approach for manufacturing tablets using NIR spectroscopy, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 98, 60-67
- ⁵⁴ Wu, H. et al. (2011): Quality-by-Design (QbD): An integrated process analytical technology (PAT) approach for a dynamic pharmaceutical co-precipitation process characterization and process design space development, *Int. J. Pharm.* 405(1-2), 63-78
- ⁵⁵ Nam, J. et al. (2008): Materials selection and residual solvent retention in biodegradable electrospun fibers, *J. Appl. Polym. Sci.* 107, 1547-1554
- ⁵⁶ Huang, Y., Dai, W. G. (2013): Fundamental aspects of solid dispersion technology for poorly soluble drugs, *Acta Pharma Sinica B* 4(1), 18-25
- ⁵⁷ Repka, M. A. (2007): Pharmaceutical applications of hot-melt extrusion: Part II, *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 33, 1043-1057

-
- ⁵⁸ Klein, C. E., Chiu, Y. L., Awni, W. et al. (2007): The tablet formulation of lopinavir/ritonavir provides similar bioavailability to the soft-gelatin capsule formulation with less pharmacokinetic variability and diminished food effect, *J. Acquir. Immune. Defic. Synd.* 44(4), 401-410
- ⁵⁹ Maniruzzaman, M., Boateng, J. S., Douroumis, D. (2012): A review of hot-melt extrusion: Process technology to pharmaceutical products, *ISRN Pharm.* Cikk ID: 436763
- ⁶⁰ Crowley, M. M. (2007): Pharmaceutical applications of hot-melt extrusion: Part I, *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 33, 909-926
- ⁶¹ Capone, C. et al. (2007): Thermal and mechanical degradation during polymer extrusion processing, *Polym. Eng. Sci.* 47, 1813-1819
- ⁶² Crowley, M. M. et al. (2002): Stability of polyethylene oxide in matrix tablets prepared by hot melt extrusion, *Biomaterials* 23, 4241-4248
- ⁶³ Hughey, J. R. et al. (2011): Thermal processing of poorly water-soluble drug substance exhibiting a high melting point: The utility of KinetiSol[®], *Int. J. Pharm.* 419, 222-230
- ⁶⁴ DiNunzio, J. C. et al. (2010): Fusion production of solid dispersions containing a heat-sensitive active ingredient by hot melt extrusion and KinetiSol[®] dispersing, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 74, 340-351
- ⁶⁵ Nagy, Z. K. et al. (2012): Use of supercritical CO₂ aided and conventional melt extrusion for enhancing the dissolution rate of an active pharmaceutical ingredient, *Polym. Adv. Technol.* 23, 909-918
- ⁶⁶ Petritz, E., Tritthart, T., Wintersteiger, R. (2006): Determination of phylloquinone and cholecalciferol encapsulated in granulates formed by melt extrusion, *J. Biochem. Biophys. Methods* 69, 101-112
- ⁶⁷ Follonier, N., Doelker, E., Cole, E. T. (1994): Evaluation of hot-melt extrusion as a new technique for the production of polymer-based pellets for sustained release capsules containing high loadings of freely soluble drugs, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 20, 1323-1339
- ⁶⁸ Patterson, J. E. et al. (2007): Preparation of glass solutions of three poorly water soluble drugs by spray drying, melt extrusion and ball milling, *Int. J. Pharm.* 336, 22-34
- ⁶⁹ Trey, S. M. et al. (2007): Delivery of itraconazole from extruded hydroxypropylcellulose films, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 33, 727-735
- ⁷⁰ Hughey, J. et al. (2010): Dissolution enhancement of a drug exhibiting thermal and acidic decomposition characteristic by fusion processing: A comparative study of hot melt extrusion and Kinetisol[®] dispersing, *AAPS PharmSciTech* 11, 760-774
- ⁷¹ Aitken-Nichol, C., Zhanf, F., McGinity, J. (1996): Hot melt extrusion of acrylic films, *Pharm. Res.* 13, 804-808
- ⁷² Sauceau, M. et al. (2011): New challenges in polymer foaming: A review of extrusion processes assisted by supercritical carbon dioxide, *Prog. Polym. Sci.* 36, 749-766
- ⁷³ Repka, M. A. et al. (1999): Influence of plasticizers and drugs on the physical-mechanical properties of hydroxypropylcellulose films prepared by hot melt extrusion, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 25, 625-633
- ⁷⁴ Kayaci, F., Ertas, Y., Uyar, T. (2013): Enhanced thermal stability of eugenol by cyclodextrine inclusion complex encapsulated in electrospun polymeric nanofiber, *J. Agric, Food Chem.* 61, 8156-8165
- ⁷⁵ Del Valle, E. M. M. (2004): Cyclodextrins and their uses: a review, *Process Biochem.* 39, 1033-1046
- ⁷⁶ Maniruzzaman M. et al. (2013): Drug polymer interactions in hot-melt extruded solid dispersions, *Int. J. Pharm.* 443, 199-208

-
- ⁷⁷ Munjal, M., ElSohly, M. A., Repka, M. A. (2006): Chemical stabilization of a Δ^9 -tetrahydrocannabinol prodrug in polymeric matrix systems produced by hot-melt method: Role of microenvironment pH, *AAPS PharmSciTech* 7,71
- ⁷⁸ Fülöp, F., Noszál, B., Szász, Gy., Novák, K. (2010): *Gyógyszerészi kémia*, Semmelweis Kiadó, Budapest
- ⁷⁹ Argentine, M. ; Owens, P. (2007): Strategies for the investigation and control of process-related impurities in drug substance, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 59(1), 12-28
- ⁸⁰ Basak, K. A. et al. (2007): Pharmaceutical impurities: Regulatory perspective for Abbreviated New Drug Applications, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 59, 64-72
- ⁸¹ ICH Topic Q3B (R2), Impurities in new drug products, http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3B_R2/Step4/Q3B_R2_Guideline.pdf, lementve: 2014.05.29.
- ⁸² ICH Topic Q3D, Guideline for elemental impurities, http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3D/Q3D_Step2b.pdf, lementve: 2014.05.29.
- ⁸³ ICH Topic Q2 (R1), Validation of analytical procedures: Text and methodology http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf, lementve: 2014.05.29.
- ⁸⁴ Mallampati, S. et al. (2008): CE in impurity profiling of drugs, *Sep. Sci. Tech.* 9, 259-315
- ⁸⁵ Nageswara, R., Nagaraju, V. (2003): An overview of the recent trend in development of HPLC methods for determination of impurities in drugs, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 33, 335-377
- ⁸⁶ Pitt; B. et al. (1999): The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure, *N. Engl. J. Med.* 341(10), 709-717
- ⁸⁷ Peterson; G. et. al. (1989): Stability of extemporaneously prepared mixtures of metoprolol and spironolactone, *Aust. J. Hosp. Pharm.* 19, 344-346.
- ⁸⁸ Yan, Y. D., Woo J. S., Kang J. H., Yong C. S. (2010): Preparation and evaluation of taste-masked donepezyl hydrochloride orally disintegrating tablets, *Biol. Pharm. Bull.* 38(8),1364-1370
- ⁸⁹ Douroumis, D. (2012): Hot-melt extrusion: Pharmaceutical applications, *Advances in pharmaceutical technology*, Wiley
- ⁹⁰ Lachman, L., Lieberman, H. (1990): *Pharmaceutical dosage forms-Tablets*, Marcel Dekker Inc., New York
- ⁹¹ Campbell, K. et. al. (2008): Poly(ethylene glycol) layered silicate nanocomposites for retarded drug release prepared by hot-melt extrusion, *Int. J. Pharm.* 363, 126-131
- ⁹² Loftsson, T., Brewster, M. (1996): Pharmaceutical applications of cyclodextrins: 1. Drug solubilization and stabilization, *J. Pharm. Sci.* 85(10), 1017-1025
- ⁹³ Albertini, B. et. al. (2004): Effect of Aerosil on the properties of lipid controlled release microparticles, *J. Control Release* 100(2), 233-246
- ⁹⁴ Council of Europe: *European Pharmacopeia* 5th ed. (2005), Spironolactone, 2482-2483. European Directorate for the Quality of Medicines, Strasbourg
- ⁹⁵ Moorthi, C., et al. (2013): Application of validated RP-HPLC-PDA method for the simultaneous estimation of curcumin and piperine in Eudragit E 100 nanoparticles, *J. Pharm. Res.* 7, 224-229
- ⁹⁶ Sarode, A. L., et al. (2013): Hot melt extrusion for amorphous solid dispersions: Temperature and moisture activated drug-polymer interactions for enhanced stability, *Mol. Pharmaceutics*. 10, 3665-3675

⁹⁷ Cwiertnia, B., Hiladon, T, Stobiecki, M. (1999): Stability of diclofenac sodium in the inclusion complex with β -cyclodextrin in the solid state, J. Pharm. Pharmacol. 51, 1213-1218

⁹⁸ Nagy, Zs. K. et. al. (2012): Comparison of electrospun and extruded Soluplus[®]-based solid dosage forms of improved dissolution, J. Pharm. Sci. 101(1), 322-332