



M Ű E G Y E T E M 1 7 8 2

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem

Szerves Kémia és Technológia Tanszék

OTDK dolgozat

Gyógyszerhatóanyagok morfológia módosítása újszerű kristályosítási eljárásokkal

2014.

Készítette: Baranyi Bernadett

Gyógyszervegyész-mérnök MSc
hallgató

Témavezető: Dr. Marosi György

Egyetemi tanár

Konzulens: Dr. Pataki Hajnalka

Tudományos segédmunkatárs

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	3
2. Szakirodalmi áttekintés	4
2.1. Kristályosítás a gyógyszeriparban	4
2.1.1. Kristályosítás művelete, alapfogalmak	4
2.1.2. Kristályosítás segédanyagok jelenlétében.....	6
2.1.3. Szonokristályosítás	12
2.2. Kristályosítások nyomon követése valós idejű Raman spektrometriával	15
2.3. Famotidin és gabapentin polimorf módosulatainak előállítása	17
3. Kísérleti anyagok és módszerek	18
3.1. Felhasznált anyagok	18
3.2. A reaktor felépítése.....	19
3.3. A kristályosítás folyamata	20
3.3.1. Famotidin hűtéses kristályosítása segédanyagok jelenlétében	20
3.3.2. Gabapentin hűtéses kristályosítása.....	21
3.3.3. Famotidin és gabapentin szonokristályosítása	21
3.4. Vizsgálati módszerek.....	23
4. Kísérleti eredmények és értékelésük	26
4.1. Hűtéses kristályosítás segédanyagok nélkül.....	26
4.1.1. Famotidin hűtéses kristályosításának valós idejű Raman spektrometriás detektálása	26
4.1.2. Gabapentin hűtéses kristályosítása.....	28
4.1.3. Hűtéses kristályosítással előállított famotidin végtermék jellemzése.....	29
4.1.4. Hűtéses kristályosítással előállított gabapentin végtermék jellemzése.....	29
4.2. Hűtéses kristályosítás segédanyagok jelenlétében.....	31
4.2.1. Famotidin segédanyagos kristályosításának valós idejű Raman spektrometriás detektálása.....	31
4.2.2. Gabapentin segédanyagos kristályosítása	33
4.2.3. Polivinil-pirrolidonnal kristályosított famotidin termékek morfológiai jellemzése	33
4.2.4. Segédanyagok jelenlétében kristályosított gabapentin termékek morfológiai jellemzése.....	37
4.2.5. Polivinil-pirrolidonnal kristályosított famotidin végtermékek polimer tartalmának meghatározása.....	38
4.2.6. Polivinil-pirrolidonnal kristályosított famotidin készítménytechnológiai jellemzése	39

4.2.7. Gabapentin végtermékek készítménytechnológiai jellemzése.....	43
4.3. Famotidin és gabapentin szonokristályosítása.....	44
4.3.1. Szonokristályosítással előállított famotidin morfológiai jellemzése	44
4.3.2. Szonokristályosítással előállított gabapentin morfológiai jellemzése	49
4.3.3. Szonokristályosítással előállított famotidin készítménytechnológiai jellemzése ...	51
4.3.4. Szonokristályosítással előállított gabapentin készítménytechnológiai jellemzése .	54
4.3.5. Szonokristályosított végtermékek polimer tartalmának meghatározása	55
5. Összefoglalás.....	56
6. Irodalomjegyzék.....	58

1. Bevezetés

A kereskedelmi forgalomban lévő gyógyszerkészítmények legnagyobb része szilárd formában, általában orális adagolásra kisserelve kerül felhasználásra. A szilárd hatóanyagok több mint 80%-át oldatból történő szilárd anyag kiválasztással, a legtöbb esetben kristályosítással állítják elő. A kristályosítás, mint gyógyszeripari eljárás a hatóanyaggyártás utolsó lépése, elválasztási és tisztítási művelet. A kristályosítás körülményeinek megválasztásával befolyásolható a végtermék valamennyi fizikai (polimorfia, szemcseméret, szemcseméret eloszlás, kristályalak) és kémiai (tisztaság) tulajdonsága. Ezek a tulajdonságok alapvetően meghatározzák a kristályos hatóanyag élettani hatását, biológiai hasznosulását, valamint a további feldolgozási és formulálási lépéseket. A fizikai és kémiai jellemzők célirányos módosításával lehetővé válik az igényeknek megfelelő kristályos hatóanyag előállítása a jobb terápiás hatás és egyszerűbb formulálás érdekében. A kristályosításnak jelentős szerepe van az originális gyógyszerkutatásban és a generikus gyógyszerkészítmények fejlesztésében is. Ugyanannak a kémiai szerkezetű hatóanyagnak a különböző kristálmódosulatai önálló hatóanyagnak minősülhetnek és szabadalommal védhetők. Szabadalmaztatásukkal a védettségi idő évekkel meghosszabbítható, mely komoly üzleti jelentőséggel bír. A gyógyszeriparban az elmúlt időszakban az idő-, és költségigényes originális gyógyszerkutatások mellett a generikus készítmények fejlesztése mind inkább előtérbe került. A generikus gyártók közötti kielezett verseny, valamint az originálistól olcsóbb generikus termékek hatékony és gazdaságos eljárások kifejlesztését követelik meg. A kristályosítási technológiák fejlesztése tehát nem csak a végtermék megfelelő fizikai és kémiai tulajdonságainak kialakításában, hanem a jövedelmező gyártásban is fontos szerepet játszik.

Az analitikai módszerek folyamatos fejlődésének köszönhetően a különböző spektroszkópiai vizsgálatok (Raman spektrometria, UV/Vis spektroszkópia, FTIR spektrometria, stb.) mind inkább teret hódítanak a gyógyszeripari folyamatok valós idejű nyomon követésében, feltérképezésében és megértésében. A gyártási technológiák monitorozásán alapuló folyamatszabályozásokkal pedig folyamatosan fenntartható az állandó termékminőség.

A fentiekre alapozva munkám célja két kiválasztott hatóanyag morfológiájának tervszerű változtatása volt készítménytechnológiai segédanyagok jelenlétében végzett hűtési kristályosítással, illetve szonokristályosítással; továbbá a kristályosítási folyamatok nyomon követése és feltérképezése valós idejű Raman spektrometria segítségével.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. Kristályosítás a gyógyszeriparban

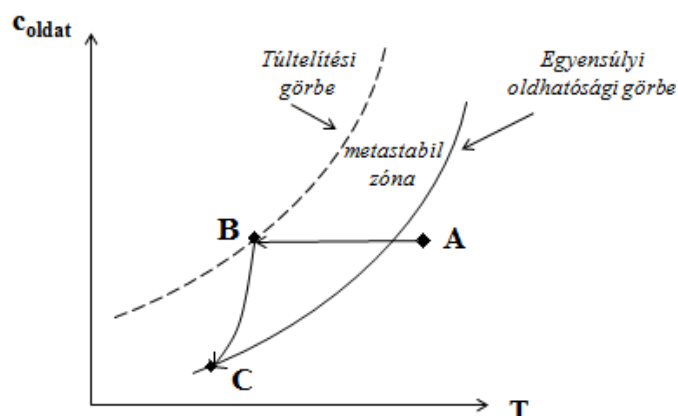
2.1.1. Kristályosítás művelete, alapfogalmak

A kristályosítás a vegyipar szinte legrégebb óta ismert, széles körben alkalmazott egyensúlyi anyagátadási művelete, mely során folyadék halmazállapotú komponenseleget szilárd halmazállapotú anyagot választunk ki, választunk el [1]. A gyógyszeriparban a hatóanyaggyártás meghatározó lépése, hiszen olyan elválasztási és tisztítási művelet, mellyel a végső feldolgozás és felhasználás szempontjából megfelelő tulajdonságú részecskéket állítanak elő. Rendkívül fontos a kristályosítás körülményeinek helyes megválasztása, ehhez pedig nélkülözhetetlen a kristályosítandó rendszer tulajdonságainak ismerete.

A kristályosodási folyamat két elemi lépésre bontható: gócképződésre és kristálynövekedésre. Gócképződés során az egyensúlyi telítési pontot átlépve kritikus méretet elérve szilárd szemcsék jelennek meg, míg a kristálynövekedés az oldatban lévő molekulák szilárd fázishoz történő hozzákapcsolódását jelenti. Megkülönböztethetünk elsődleges és másodlagos, valamint határfelülettel rendelkező idegen anyag jelenléte szerint homogén és heterogén gócképződést [2]. Homogén gócképződésről akkor beszélünk, amikor a kristálygócok nagytisztaságú rendszerekben igen nagy túltelítésnél spontán keletkeznek. Heterogén gócképződés során a részecskék keletkezését valamilyen szennyező komponens katalizálja [3]. Laboratóriumi illetve ipari körülmények között szinte lehetetlen teljesen tiszta oldatokat biztosítani, így mindig valamilyen szennyező (többnyire por) hatására bekövetkező heterogén elsődleges gócképződés megy végbe. A másodlagos gócképződést a kristályosítandó komponens már kivált kristályai indukálják. Ez valósul meg például oltókristály hatására.

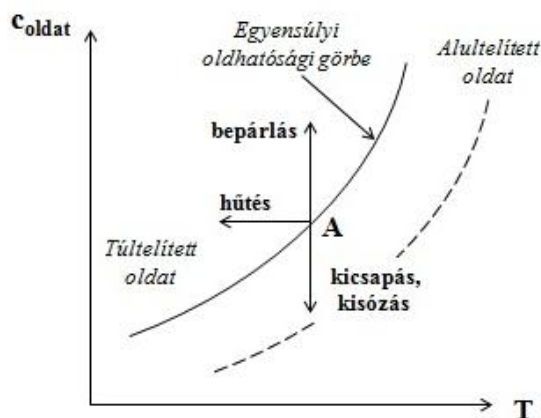
A kristályosítás során rendkívül fontosak az oldhatósági jellemzők. Az egyensúlyi oldhatósági görbe pontjai a különböző hőmérsékleten éppen telített oldatok összetételét jelentik (1. ábra). A kristályosítás kinetikai hajtóereje a túltelítés mértéke (S). A túltelítés az aktuális és az adott hőmérsékletre tartozó egyensúlyi koncentráció különbsége, mértéke befolyásolja a gócképződés és kristálynövekedés sebességét. Az oldhatósági görbe és a túltelítési görbe közötti tartomány a metastabil zóna (1. ábra), melyben a kristályosodás csak oltás vagy egyéb technikák pl. ultrahang hatására következhet be. A többi esetben a kristályosodás a túltelítési görbén indul meg (1. ábra, B pont), majd a szilárd fázis kiválásával

az oldat koncentrációja az egyensúlyi oldhatósági érték eléréséig csökken (1. ábra, C pont). Ezt követően az oldatkonzentráció változása az egyensúlyi oldhatósági görbén követhető.



1. ábra Egyensúlyi oldhatósági görbe a hőmérséklet függvényében

A gyógyszeriparban alkalmazott kristályosítási módszerek jól szemléltethetők az oldhatósági diagramon (2. ábra). Az egyensúlyi oldhatósági görbén való elmozdulás alapján beszélhetünk hűtéses, kicsapásos (precipitációs), kisózásos (reaktív) és bepárlásos kristályosításról [3].



2. ábra Kristályosítási technikák ábrázolása az oldhatósági diagramon

A felsorolt technikák közül a továbbiakban a hűtéses kristályosítás kerül részletesebb bemutatásra, mely nem csak a gyógyszeriparban, hanem a vegyipar egyéb területein is a leggyakrabban alkalmazott kristályosítási eljárás.

Ekkor az oldat túltelítését a hőmérséklet csökkentésével érik el. Bármely hatóanyag-oldószer pár esetén a módszer alkalmazása csak akkor indokolt, ha a hőmérséklet függvényében a hatóanyag oldhatósága jelentős mértékben változik. A végtermék tulajdonságait (szemcseméret, szemcseméret eloszlás, habitus) a gócképződés és

kristálynövekedés sebessége határozza meg, melyek a kristályosítás körülményeivel befolyásolhatók. A végtermék tulajdonságaiban jelentős szerepe van a hűtési profilnak és sebességnek. Ha az oldat nagyon gyorsan hűl, a kezdeti nagy túltelítési érték következtében robbanásszerű gócképződés megy végbe. A folyamat ellenőrizhetetlen, apró szemcsés, heterogén szemcseméret eloszlású terméket kapunk. Lassabb hűtés mellett a kristályosítási folyamat könnyebben reprodukálható, kevesebb, nagyobb átmérőjű kristály kiválását eredményezi. A gócképződés és kristálynövekedés sebességére hatással van a keverő fordulatszáma és geometriája is. A túl nagy keverési intenzitás a részecskék ütközése következtében a kivált kristályok töréséhez vezet, aprózódást, szemcseméret csökkenést eredményez. Ezzel ellentétben, a szemcseméret növekedésével járó jelenség az aggregáció és agglomeráció. *Agglomerátum: laza szemcsehalmaz, melynek fajlagos felülete közel azonos az egyedi szemcsék fajlagos felületének összegével. Aggregátum: kötöttebb szemcsehalmaz, melynek fajlagos felülete jóval kisebb, mint az egyedi, őt felépítő részecskék együttes fajlagos felülete* [4].

A gyógyszerhatóanyagok kristályosítása során fellépő további jelenség a *polimorfia*. A polimorf módosulatok azonos kémiai összetételű anyagok, de fizikai, kémiai és farmakokinetikai tulajdonságaik eltérhetnek. A polimorfíának jelentős szerepe van a készítmény felszívódásában és biológiai hatásában. A kristályok felületét határoló kristálylapok meghatározzák a kristály alakját, amit *habitusnak* nevezünk. A kristályok *morfológiája* alatt pedig a kristályszerkezet, azaz a polimorfia illetve a szemcsehabitus és méret együttesét értjük.

2.1.2. Kristályosítás segédanyagok jelenlétében

A kristályosítás alapvető paramétereinek változtatásán túl (hűtési profil, keverés intenzitás, koncentráció) a kialakult kristályok fizikai és kémiai sajátosságait különböző segédanyagok alkalmazásával is befolyásolni lehet. *A kristályosítás során koncentrációtól függetlenül segédanyag minden olyan anyag, ami a kristályosítandó rendszerbe szándékosan kerül bele, és általa valamilyen változást akarunk előidézni a kristályosodás folyamatában, vagy a végtermék tulajdonságaiban* [5]. Azokat a segédanyagokat, melyek a kristályosodás folyamatát lassítják, *inhibitoroknak*, míg a folyamatot gyorsító idegen komponenseket *promotereknek* nevezzük.

A megfelelő segédanyagok jelenlétében végzett kristályosításkor módosítható a kristályos végtermék szemcsemérete, szemcseméret eloszlása, habitusa, illetve néhány esetben polimorfia változás is tapasztalható. Így a formulálási szempontból kedvezőtlen

tulajdonságok jelentős mértékben javíthatók. Amennyiben az anyag préselhetősége és gördülékenysége jó, a hatóanyag közvetlen préselésre, direkt tablettázásra alkalmas. Ha azonban legalább az egyik tulajdonság nem megfelelő, a hatóanyagot aprítással, granulálással kell feldolgozni. A gazdasági megfontolásokon túl fennáll a veszélye annak, hogy az aprítás során elszenvedett hőhatások következtében az anyag károsodik, degradálódik, esetleg átkristályosodik. A degradációs folyamatok a hatóanyag szennyezésprofilját is befolyásolják. Ezen kockázati tényezők kiküszöbölésére jelenthet megoldást a segédanyagos kristályosítás.

A gyógyszerhatóanyagok kristályosításánál leggyakrabban alkalmazott segédanyagok a kristályosítandó anyaggal hasonló szerkezetű anyagok [6], [7], különböző polimerek, úgy mint polivinil-pirrolidon (PVP) [8], [9], polietilén-glikol (PEG) [10], polipropilén-glikol [11], polietilén-polipropilén-glikol [12], cellulózszármazékok: hidroxipropil-metil-cellulóz (HPMC) [13], hidroxipropil-cellulóz (HPC) [14], metil-cellulóz (MC) [15], felületaktív anyagok: Tween 80 (poliszorbát) [16], valamint kis molekulatömegű szerves és szervetlen komponensek. Bár segédanyagok jelenlétében elvégzett speciális kristályosításokra találhatók példák a szakirodalomban, ez a terület a mai napig kevésbé feltárt, és az egyes kölcsönhatások értelmezésére javasolt mechanizmusok vitathatók. A segédanyagok kristályos hatóanyagok tulajdonságaira gyakorolt sokféle és változatos hatását a következő szakirodalmi példák szemléltetik.

Paracetamol kristályosítását végezték különböző segédanyagokat tartalmazó vizes oldatban [17]. Agar-agar, zselatint, HPMC-t és PVP-t használtak különböző koncentrációkban. A referencia poligonális kristályokhoz képest jelentős mértékben megváltozott a kristályhabitus. A zselatin tömörszerű, az agar-agar háromszög alakú, míg a PVP szférikus kristályok megjelenését eredményezte. Mind a PVP, mind a HPMC jelentős mértékben gátolta a kristálynövekedést.

Hidrokortizon-acetát segédanyagos kristályosítása során arról számoltak be, hogy adott túltelítés mellett a növekvő polimerkoncentráció nukleációt késleltető hatással bírt. HPMC jelenlétében megváltozott a hatóanyag morfológiája, „bumeráng” alakú kristályok váltak ki, míg PVP és PEG 400 jelenlétében nem tapasztaltak jelentős változást [15].

Az *aszpirin* nem szteroid típusú gyulladásgátló metanolból történő bepárlásos kristályosítását vizsgálták különböző mennyiségű kationos (cetrimide), anionos (nátrium-lauril-szulfát: SLS) és nemionos (poliszorbát) felületaktív anyag jelenlétében. Az alkalmazott segédanyagok mellett a végtermék oldhatóság javulását, valamint kismértékű habitus változását tapasztalták [18].

Az idegen anyagok jelenlétében történő kristályosítás tehát leggyakrabban a hatóanyag külső megjelenésében okoz változást, ám előfordulhat, hogy módosul az adott anyag kristályszerkezete is, pl. új polimorf jelenik meg. Erre példa a *celecoxib* nevű, nem szteroid alapú gyulladáscsökkentő, amely esetében egy felületaktív anyag (poliszorbát) és egy polimer (HPMC) addig még ismeretlen polimorf módosulat (Form IV) kialakulását eredményezte. Az új polimorf oldódási sebessége a termodinamikailag stabil kristálmódosulathoz (Form III) képest kétszer nagyobbak adódott. Az új polimorf képződése a kristályosításban alkalmazott segédanyagok arányától függően változott [19].

Az 1. táblázatban a szakirodalomban fellelhető, néhány további segédanyagok kristályosítás eredménye látható.

1. táblázat Segédanyagok kristályosítások eredményei

Hatóanyag	Felhasznált segédanyagok	Tapasztalt hatás	Irodalmi hivatkozás
diflunisal	PEG 4000	változó polimorfia, mely a hatóanyag:polimer aránytól függ	[20]
dipiridamol	PVP-K30 Tween 80 PEG 4000	kismértékű habitus és szemcseméret változás, oldhatóság javulás	[21]
carbamazepine	Tween 80 PVP K30 PEG 4000	többszerű, hat- ill. többoldalú kristályok, oldhatóság javulás	[22]
mebendazol	SLS	apró, tűs kristályok helyett tányér és rúd alak	[23]
RS-8359 (MAO-A inhibitor)	HPMC HPC PVP	késleltetett kristálykiválás, oldódási sebességnövekedés	[24]

Számos közleményben olvashatunk arról, hogy a polivinil-pirrolidon, mint kristályosítási segédanyag sok esetben igen kedvező morfológiaváltozást idéz elő. Ennek fényében a segédanyagok kristályosítások további ismertetése során a polimerek, azon belül is a különböző polimerizációs fokú polivinil-pirrolidonok jelenlétében elvégzett kristályosításokra fókuszálunk.

Ezen kristályosítások pontos mechanizmusa máig nem tisztázott, sok esetben vitatott. A polimerek (és segédanyagok) alapvetően a kristályosítás három főbb lépése során fejthetik ki hatásukat: befolyásolhatják a túltelített oldat kialakulását, a gócképződést és a kristálynövekedést [15]. A mechanizmusok feltárásának érdekében elengedhetetlen ezen lépések kinetikájának ismerete. A túltelített kristályosítandó oldatban a hatóanyag molekulák

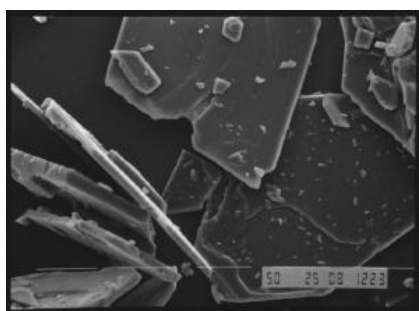
diffúzióval közelednek egymáshoz, ütköznek, gócpontot képeznek, majd egy kritikus méret elérését követően beindul a kristálynövekedés. Ha a diffúzió lassú, a nukleáció diffúziókontrollált. Ellentétes esetben nagy túltelítettségénél, amikor a diffúzió nagyon gyors, nem diffúziókontrollált nukleáció valósul meg. A túltelítés mértéke és a **kristálygócképződés sebessége** közötti kapcsolatot az ún. háromdimenziós gócképződési modell írja le [5].

$$J = A \cdot S \cdot \exp\left(\frac{-\Delta G_{3D}^*}{k_B T}\right),$$

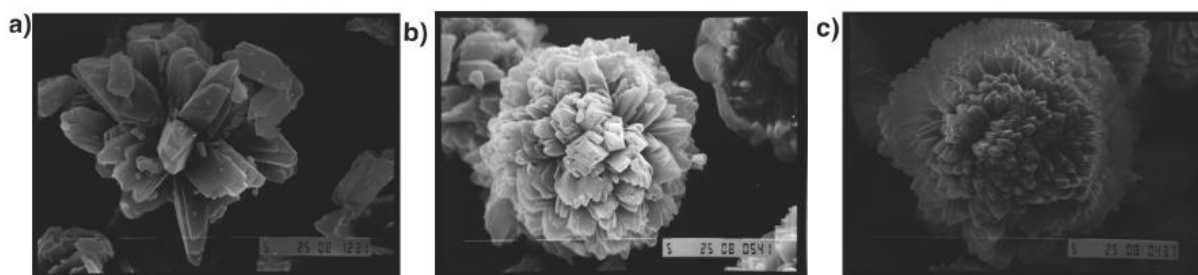
ahol A: kinetikai paraméter, k_B : Boltzmann állandó, T: abszolút hőmérséklet, S:túltelítés, ΔG_{3D}^* : szabadenergia változás 3D kristálygóc növekedés esetén. A gócképződés sebessége annál nagyobb, minél magasabb a hőmérséklet és minél nagyobb a túltelítés mértéke. A PVP (és más segédanyagok) gócképződésben mutatott hatása az oldott hatóanyaggal kialakított kötés erősségétől függ. Ha a polimer erősebb kötést tud kialakítani az oldószerrel vagy önmagával, mint a kristályosítandó molekulákkal, akkor a gócképződésben betöltött szerepe minimális. Ellenkező esetben a gócképződésben mutatott hatása nagymértékben függ a szerkezetétől és molekulatömegétől (polimerizációs fokától). A kristályosítandó anyagtól eltérő szerkezetű nagy molekulatömegű polimerek, úgy mint a PVP, a létrejövő molekula-asszociátumok felületén adszorbeálódhatnak s ezáltal gátolhatják a gócképződést, akadályozhatják a stabil kristálygócok megjelenését. A segédanyagokkal végzett kristályosítás során a polimerek hatása a hatóanyag oldhatóságának növelésével az oldat túltelítettség csökkentésében is jelentkezhet [25]. Hatásukat kifejthetik a kristálynövekedés folyamatában is. A kristályfelszínen történő reverzibilis ill. irreverzibilis adszorpciójuk révén mechanikai gátként akadályozzák további hatóanyag molekulák kristályrácsba történő beépülését [26].

A *paracetamol* hatóanyagkristályok tulajdonságainak megváltoztatására rossz praelmentősége miatt az elmúlt években több kísérlet irányult. A termodinamikailag stabil (Form I) módosulatának tablettázásakor a gyártást megnehezítő tablettakalaposodást figyeltek meg, mely nem megfelelő minőségű termék előállítását eredményezte. Bár a kinetikailag preferált (Form II) módosulata tablettázhatóság szempontjából jóval kedvezőbb, állás közben átalakulhat a másik, termodinamikailag stabil módosulattá. A paracetamol különböző molekulatömegű és különböző koncentrációjú PVP jelenlétében végzett hűtéses kicsapásos kristályosítása során késleltetett kristálykiválást, valamint erőteljes habitusváltozást figyeltek meg [27]. Mind a PVP molekulatömegének, mind koncentrációjának növekedésével az indukciós idő – az egyensúlyi telítési pontot átlépve a detektálható méretű kristálygócok kialakulásáig eltelt idő – nőtt. PVP nélkül 15-20 sec, míg PVP jelenlétében 115 sec telt el az első szabad szemmel is látható részecskék megjelenéséig. A termelés a polimer

molekulatömegének és koncentrációjának növekedésével jelentős mértékben csökkent. A segédanyag nélkül végzett kristályosítás vékony, lapszerű kristályok megjelenését eredményezte. 0,5 m/V%-os PVP koncentráció mellett közel szférikus aggregátumok keletkeztek, az egyénileg hosszúkas kristályok összetapadtak. Ezáltal a hatóanyag préselhetősége javult. A hatást a paracetamol kristályok felületén hidrogén hidas kölcsönhatásokkal adszorbeálódott PVP-nek tulajdonították, differenciális pásztázó kalorimetriás és röntgendiffrakciós vizsgálatokkal igazolták, hogy strukturális változás nem történt, a PVP hatása kizárólag a habitus módosításában jelentkezett.



3. ábra Paracetamol kristályok SEM felvétele PVP nélküli kristályosítással; 200x nagyítás



4. ábra Paracetamol kristályok SEM felvételei 0,5 m/V%-os segédanyagos kristályosítással a) PVP 2000, b) PVP 10000, c) PVP 50000 jelenlétében; 1500x nagyítás [27] (átszerkesztve)

Egy másik hatóanyag, a *hidrokortizon-acetát* kicsapásos kristályosítását végezték HPMC, PEG 400 és PVP jelenlétében [15]. Ebben a közleményben értelmezik és megmagyarázzák a polimerek gócképződés és kristálynövekedés sebességére gyakorolt hatását. PVP jelenlétében a polimer koncentrációjának növekedésével az indukciós idő nőtt, tehát a gócképződés diffúziókontrollált folyamattá vált, s a teljes kristálykiváláshoz szükséges idő is jelentős mértékben megnövekedett. A polimer és a hatóanyag között kialakult hidrogén hidas kölcsönhatás következtében az oldatban PVP-hatóanyag asszociátumok jönnek létre, melyek erőssége meghatározza a gócképződéshez szükséges időt. A PVP **kristálynövekedés sebességére** gyakorolt hatását kinetikai oldalról közelítik meg, azaz kristálytani oldalról tekintik az idegen molekulák felületen történő adszorpcióját. A PVP a kristályfelszínen

hidrogénhidas kölcsönhatásokkal adszorbeálódik, így mechanikailag gátolja további gyógyszermolekula beépülését a kristályrácsba. A kristályfelület és a PVP molekulák között kialakult hidrodinamikai határfelületi rétegben a gyógyszerhatóanyag és a PVP molekulák a szabad kötőhelyekért versengenek egymással, amely lassítja a kristálynövekedés folyamatát. Ha a segédanyag molekulák adszorpciója hajlama illetve adszorpciójának mértéke a kristály eltérő irányú részein hasonló, a polimer hatása csak a kristálynövekedés gátlásában mutatkozik meg, morfológiaváltozást nem okoz. Ha azonban a segédanyag a kristály egyes részeihez eltérő mértékben kapcsolódik, morfológiaváltozást eredményezhet. Mindez a hidrogénakceptor -és donor funkciók számától függ. A hidrokortizon-acetát PVP jelenlétében végzett kicsapásos kristályosítása során nem tapasztaltak habitus és morfológiaváltozást, csupán a kristálynövekedést gátló hatásáról számoltak be.

A polimerek növekedésgátló hatására más elméletek is születtek. A *szulfatiazol* gyógyszerhatóanyag vizes, 30°C-os túltelített oldatból történő izoterm oltásos kristályosítása során a PVP hatását tanulmányozták [28]. Polimer jelenlétében az eredetileg tűs habitusú kristályok csillagszerű képződményeket hoztak létre. A habitusváltozást és a növekedésgátló hatást azzal magyarázták, hogy a PVP a kristálygócok felületét hálószerűen vonja be, s így a lehetséges növekedési irányok korlátozottságától függő egyenetlen felszín kialakulását teszi lehetővé.

A 2. táblázatban néhány további, a szakirodalomban található PVP-s kristályosítás eredményét ismertetem.

2. táblázat PVP-s kristályosítások eredményei

Hatóanyag	Felhasznált segédanyagok	Tapasztalt hatás	Irodalmi hivatkozás
salbutamol	PVP K25	a tűszerű kristályhabitus megváltozott, zömökebb tömbszerű kristályok keletkeztek 10µm alatti átlagos szemcsemérettel	[29]
mebendazol	PVP K30 PVP K90	nagyon apró kristályok	[23]
piroxicam	PVP K30	oldhatóság javulás kocka alakú kristályok	[30]
famotidin	PVP K30	oldhatóság javulás	[31]

2.1.3. Szonokristályosítás

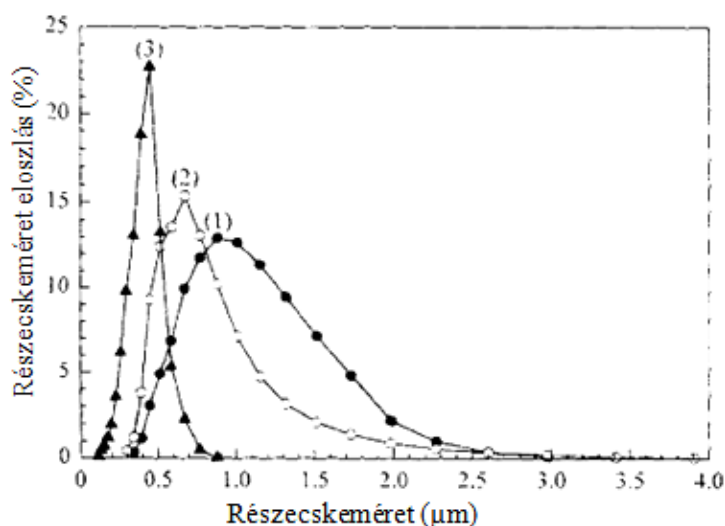
A hagyományos kristályosítási technikákkal nem minden esetben lehetséges megfelelő morfológiájú vagy szemcseméret eloszlású végterméket előállítani. Ekkor speciális kristályosítási eljárások vagy utólagos formulálási lépések válnak szükségessé.

A speciális kristályosítások másik fajtája a szonokristályosítás, mely során a hagyományos kristályosítási eljárást ultrahangos besugárzással kombinálva valósítják meg. A technika nem új, először 1927-ben alkalmazták [32], de a gyógyszeripari kristályosításban még kevésbé terjedt el. Szonokristályosítás során szonotródokat helyeznek az oldatba, melyek meghatározott frekvenciájú (jellemzően 20-200 kHz) ultrahang kibocsátására alkalmasak. Az akusztikus hullámok terjedése és az inszonáció hatására fellépő kavitáció [33] elsősorban a gócképződés folyamatát módosítja. A módszer az elsődleges gócképződést indukálja, az indukciós időt csökkenti [34], így segítségével kisebb túltelítési szinten indulhat el a kristálykiválás. A metastabil zóna szélessége tehát ultrahang hatására csökken. A kavitáció és a nukleáció közötti kapcsolat azonban a mai napig nem tisztázott [35]. Az ultrahangos besugárzás szerepet játszik a kristálynövekedés folyamatában is, bár hatása nem olyan nagymértékű, mint nukleáció esetén. Egy tanulmány szerint a szonikálás kristálynövekedésre gyakorolt hatása a túltelítettség mértékétől függ. Kis túltelítésnél a kristálylapok növekedési sebessége ultrahangos kezelés hatására megduplázódik, míg nagyobb túltelítés esetén az inszonációnak nincs hatása [36].

Az ultrahangos besugárzás nem csak a gócképződés és kristálynövekedés folyamatában játszik szerepet, hanem a már kivált kristályok mechanikai töréséhez is vezethet. Ezzel megszüntetheti az esetlegesen kialakult agglomerátumokat, aprózódást és szemcseméret csökkenést eredményez. *Laktóz* kicsapásos kristályosítását vizsgálták ultrahang jelenlétében illetve ultrahang alkalmazása nélkül. Szonikálás hatására az eredetileg hosszúkás kristályok összetapadásával létrejött csillagszerű képződmények helyett apró, egyedi, egyforma kristályok keletkeztek [37].

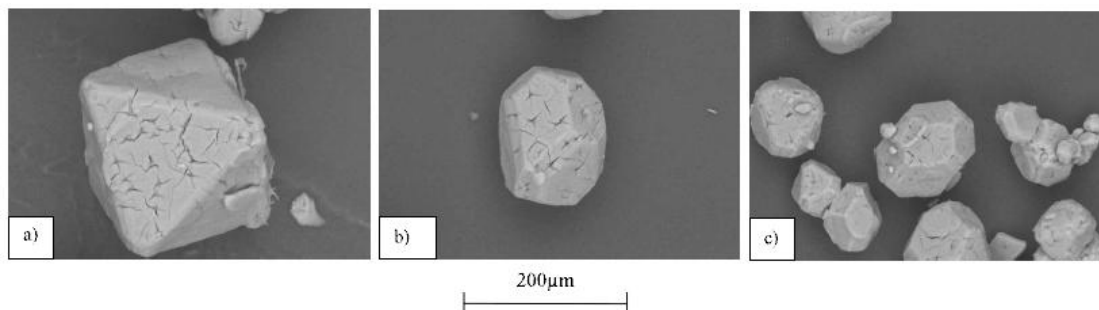
A szonokristályosítás paramétereinek (frekvencia, szonotród teljesítménye és geometriai adatai, inszonáció időtartama) megfelelő megválasztásával módosítható a kristályos végtermék szemcsemérete, szemcseméret eloszlása, habitusa és morfológiája. Szakirodalmi adatok alapján a kis frekvenciájú (15-30 kHz) [34] ultrahangos besugárzás nem okoz számottevő változást az előállított kristályok alakjában, méretében és méreteloszlásában. Ettől nagyobb frekvenciák alkalmazása esetén azonban a frekvencia növekedésével az előállított kristályok mérete csökken, melyre példa a *cink-alumínium-hidrotalcit*

szonokristályosítása [38]. Az 59 kHz frekvencián történő besugárzás hatására $0,37\ \mu\text{m}$, míg 40 kHz frekvencián történő besugárzás hatására ettől nagyobb, $0,50\ \mu\text{m}$ átmérőjű részecskék keletkeztek. Emellett vizsgálták a szonotród teljesítményének hatását is, mely során növekvő teljesítmény mellett egyre kisebb átmérőjű és egyre szűkebb részecskeméret eloszlású kristályos termék keletkezése várható.



5. ábra Szonokristályosítással előállított cink-alumínium-hidrotalcit szemcseméret eloszlása (1) 88W, (2) 175W, (3) 250W szonotród teljesítmény mellett [38] (kép átszerkesztve)

A *kálium-alumínium-szulfát* (timsó) szonokristályosítása során jóval kisebb átmérőjű kristályokat állítottak elő, mint ultrahangos besugárzás nélkül, s a besugárzás intenzitásának növelésével az átlagos szemcseméret tovább csökkent, valamint a szemcseméret eloszlás is szűkebb lett. Inszonáció hatására a kristályos végtermék habitusa is megváltozott. Ultrahang távollétében nyolcoldalú oktaéderes, míg szonokristályosítással tízoldalú, poliéderes kristályok keletkeztek [39].



6. ábra Kálium-alumínium-szulfát kristályok a) ultrahang nélkül, b) 30W, c) 100W szonotród teljesítmény mellett [39] (kép átszerkesztve)

A nemzetközi szakirodalomban számos publikációt találhatunk arra vonatkozóan, hogy az ultrahang besugárzásának időtartama hogyan befolyásolja a végtermék tulajdonságait. *Adipinsav* vizes oldatának hűtéses kristályosítását először rövid ideig tartó besugárzás, majd egy újabb kísérletben folyamatos inszonáció során vizsgálták [40]. A referencia, hagyományos hűtéses kristályosítással előállított végtermékhez képest eltérést tapasztaltak mind a szemcseméretben, mind a szemcseméret eloszlásban. Mindkét esetben kisebb méretű és keskenyebb részecskeméret eloszlású kristályos termék vált ki a referenciához képest, de a folyamatos inszonáció jelentősebb szemcseméret csökkenést eredményezett, mint a rövid ideig tartó besugárzás. Hasonló jelenséget figyeltek meg *szorbit-hexaacetát* esetében is [40].

Szonokristályosítások során a szonotród geometriai adatai, dőlésszöge, a szonotród hegyének átmérője, valamint, hogy a kristályosítandó oldatba milyen mélyen merül be, szintén befolyásolják a kristályos végtermék fizikai tulajdonságait [41]. A szonokristályosítások reprodukciójánál tehát rendkívül fontos ezen paraméterek optimalizálása és rögzítése.

A 3. táblázatban néhány további, a szakirodalomban fellelhető ultrahangos kristályosítás eredménye látható.

3. táblázat Szonokristályosítások eredményei

Kristályosítandó anyag	Tapasztalt hatás ultrahangos kezelés során	Irodalmi hivatkozás
paroxetine HCl IPA szolvát (antidepresszáns)	a kristályhabitus megváltozott, monoklin kristályok jelentek meg => könnyebb szűrhetőség	[42]
aszpartám	szűkebb szemcseméret eloszlás	[43]
nátrium-klorid (inhalációs por)	kisebb, mint 5µm átmérőjű szemcsék	[44]
isotretinoin	az átlagos szemcseméret ötödére csökkent	[45]
α, β, L, D aminosavak	átlagos szemcseméret csökkenés, szűkebb részecskeméret eloszlás	[46]

Mind a szonokristályosítás, mind a segédanyagok kristályosítás a speciális kristályosítási technikák közé tartozik, melyeket akkor célszerű alkalmazni, ha a hagyományos kristályosítási eljárásokkal (hűtéses, bepárlásos, kicsapásos, kisózásos) nem lehetséges megfelelő morfológiájú, szemcseméretű és habitusú terméket előállítani. A két módszer kombinációjára, azaz segédanyagok jelenlétében végzett szonokristályosítás gyógyszeripari alkalmazására a szabadon elérhető szakirodalomban nem találtam példát.

2.2. Kristályosítások nyomon követése valós idejű Raman spektrometriával

A gyógyszeriparban a technológiák kontrollálása, a folyamatok szabályozása így a megfelelő minőségű termék biztosítása kiemelkedően fontos szerepet játszik. Napjainkban a megfelelő minőséget külön laboratóriumban elvégzett gyártásközi (IPC, In Process Control) és végellenőrzésekkel biztosítják. A termékminőség gazdaságosabban fenntartható lenne, ha az esetleges negatív hatásokat már a folyamat közben, valós időben észlelnék és kiküszöbölnék. Ennek megfelelően az utóbbi évtized egyik legjelentősebb törekvése a gyógyszeriparban az ún. folyamatfelügyelő, -analizáló technológiák (Process Analytical Technology PAT) megvalósításának szorgalmazása. Céljuk a folyamatparaméterek közben tartásával az állandó termékminőség biztosítása. A gyógyszeripari kristályosítások valós idejű detektálása révén azonnal kimutatható egy esetlegesen rossz polimorf kiválása, s gyors visszacsatolást alkalmazva biztosítható a minőség anélkül, hogy a legyártott termék kárba veszne.

A kristályosítások valós idejű nyomon követésére lehetőséget teremt a Raman spektrometria. Ekkor a detektálás során egy monokromatikus fénynyalábot (ν_0) bocsátanak a mintára, ahol fényforrásként lézert alkalmaznak. A fény nagy része változatlanul továbbhalad, míg egy kis része szóródik. A szóródott fényt egy spektrométerbe vezetve nagy intenzitású, ún. Rayleigh-vonal (rugalmasan visszaszórt foton) észlelhető a beeső fény frekvenciájának megfelelő frekvenciánál. Emellett frekvencia eltolódás is megfigyelhető, ezek a Raman-sávok (rugalmatlanul visszaszórt foton). A Rayleigh-frekvenciánál kisebb frekvenciájúak az ún. Stokes-vonalak, míg a magasabb frekvenciájúak az anti-Stokes-vonalak. A vizsgált mintáról információt hordozó Raman-sávok nagyon kis intenzitásúak, kimutatásuk és észlelésük nehéz [3]. A Raman spektrometria előnye számos analitikai módszerrel szemben in-line alkalmazhatósága, mely során lehetőség nyílik a kristályosítások valós idejű megfigyelésére, kinetikai valamint termodinamikai hátterének feltérképezésére. Segítségével mind a szuszpenzióban lévő szilárd, mind az oldatfázis összetétele meghatározható. Üvegedény falán keresztül is lehetővé válik a vizsgálat, így az in-line, nem invazív Raman spektrometriás detektálás során a vizsgálandó minta érintetlen marad, a rendszerbe nem avatkozunk be. A valós időben felvett Raman spektrumok kiértékelésében azonban még számos kérdés megválaszolatlan (többváltozós kalibrációs modellek nehézsége) [47].

In-line Raman spektrometriával több esetben elemezték oldószerben végbemenő polimorf átalakulásokat. A *progesteron* nemi hormon két polimorfjának egymásba történő átalakulási sebességét és annak hőmérsékletfüggését előzetes kalibráció alapján in-line Raman

spektrumok segítségével állapították meg [48]. *O-amino-benzo*sav esetén oldószer közvetítéses átalakulási folyamat vizsgálatával határozták meg a Form I, II és III polimorfok kapcsolatát [49]. *Citrom*sav anhidrát-monohidrát fázisátalakulása során a túltelítettség mértékét in situ Raman spektrumokból meghatározott koncentráció értékekkel követték nyomon [50]. Az in-line Raman spektrometriát sikeresen alkalmazták *L-glutam*insav hűtéses kristályosítása során a különböző polimorfok szuszpenzióban történő azonosítására [51], valamint *kortizon-acetát* kicsapásos kristályosítása során az oldószer, az antiszolvens és az oldott hatóanyag relatív koncentrációjának meghatározására [52].

Segédanyagok jelenlétében végzett kristályosítás in-line Raman monitorozására csak kevés publikáció található a szakirodalomban. Erre példa a *kalcium-karbonát* különböző polimorfjainak (kalcit és vaterit) kristályosítása polimerek (poli-maleimid, poliaszparaginsav, poliakrilsav) jelenlétében [53]. Segédanyagok hatására a kivált kristályok habitusa jelentős mértékben megváltozott, s poliakrilsav jelenlétében kizárólag vaterit vált ki. A két polimorf relatív mennyiségét a valós idejű Raman spektrumok csúcsintenzitásainak arányából valamint röntgendiffrakciós analízissel határozták meg. A kétféle technikával kapott végeredmények legfeljebb 2%-ban tértek el egymástól, tehát a valós idejű Raman spektrometria alkalmas módszernek bizonyult kalcium-karbonát kristályosításának tanulmányozására.

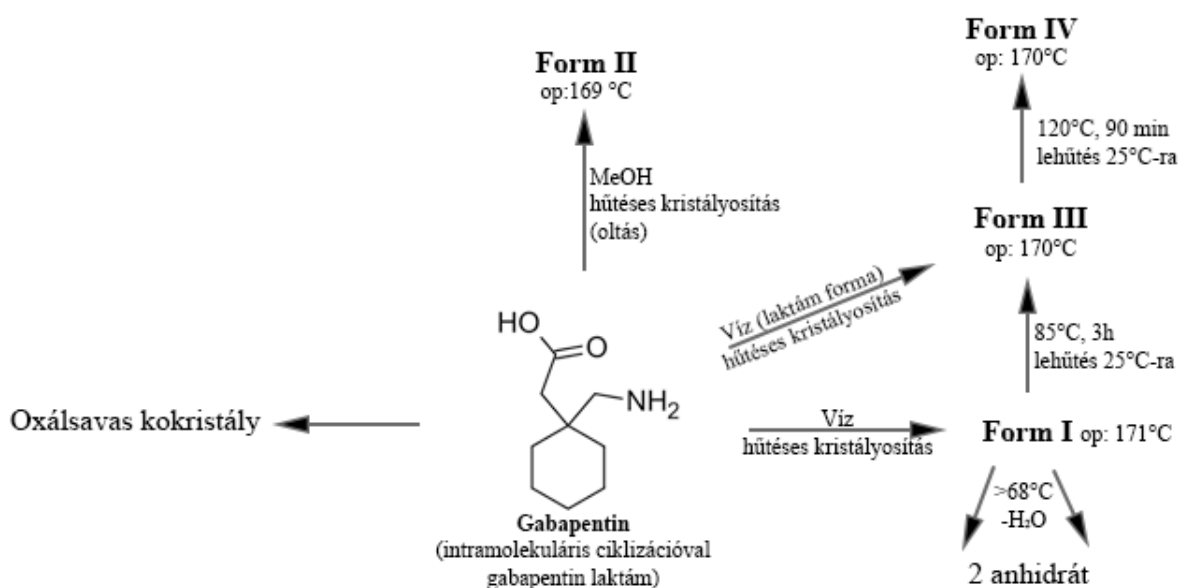
A valós idejű Raman spektrometria a gyógyszeriparban nem csak a hatóanyaggyártás során biztosíthatja a megfelelő minőséget a folyamat közbeni gyors analízisnek köszönhetően, de a kristályosítási folyamatok kinetikai és termodinamikai hátterének, illetve a segédanyagok esetleges hatásmechanizmusának feltárására is lehetőséget teremt.

A fentiek alapján megállapítható, hogy a hatóanyagok speciális kristályosítása (segédanyagos kristályosítás, szonokristályosítás) rendkívül intenzíven fejlődő, ugyanakkor részben még feltáratlan terület a gyógyszeriparban. A hatóanyagok fizikai és kémiai tulajdonságainak javítására szolgáló módszerekkel tervszerűen módosítható a kristályszerkezet, a kristályok átlagos mérete, szemcseméret eloszlása és habitusa. Így a készítménytechnológiai szempontból sok esetben kedvezőtlen kristálytulajdonságok módosításával a formulálást leegyszerűsítő termék állítható elő. A szakirodalomban ultrahangos besugárzással kombinált segédanyagos kristályosítást ez idáig nem publikáltak. A kristályosítási folyamatok nyomon követésére és kinetikai hátterének feltérképezésére hatékony analitikai módszer a valós idejű Raman spektrometria, melynek segédanyagos kristályosításokban történő alkalmazására csak elvétve találunk példát a szakirodalomban.

2.3. Famotidin és gabapentin polimorf módosulatainak előállítása

Az általam kristályosított egyik modellhatóanyag a refluxbetegség kezelésére szolgáló famotidin volt. Két polimorf módosulata ismert, a termodinamikailag stabil Form A, valamint a kinetikailag kedvezményezett Form B [54], [55], [56], [57]. Oldószerből történő hűtéses kristályosítással mindkét polimorf előállítható, ám a szabadalmi irodalom alapján nincs olyan oldószer, amely bármely körülmények között vagy az egyik, vagy a másik módosulat kristályosodását eredményezné. Vízből, illetve víz és alkohol (metanol, etanol, 2-propanol) elegyből lassú hűtéssel oltókristály alkalmazása mellett a famotidin termodinamikailag stabilabb Form A módosulata kristályosodik. Szintén vizes oldatból nagyon gyors hűtés és oltás mellett a kinetikailag preferált Form B módosulat válik ki. A hirtelen tútelítés és sokkszerű hűtés jeges fürdővel illetve jégre öntéssel érhető el. Szintén a hatóanyag Form B módosulata állítható elő, ha a szabad bázist ecetsavas sójából ammónium-hidroxid gyors hozzáadásával szabadítják fel [54].

A másik modellhatóanyag, az epilepszia kezelésére szolgáló gabapentin egy hidrát (Form I) és három polimorf (Form II, III, IV) módosulatban fordul elő. Kereskedelmi forgalomban a termodinamikailag stabil Form II polimorf fordul elő. Az egyes formák stabilitása eltérő, oldószerből történő kristályosítással csupán a Form I, Form II és Form III szerkezet állítható elő, a Form IV módosulat magasabb hőmérsékleten alakítható ki. Az egyes formák előállítási lehetőségeinek pontos körülményeit és egymásba alakíthatóságukat a 7. ábra szemlélteti.



7. ábra Gabapentin polimorfok előállítása oldószerből és olvadékból történő kristályosítással [58], [59], [60], [61], [62], [63], [64], [65], [66]

A termodinamikailag stabil Form II módosulat hűtéses kristályosítással metanolban oltással állítható elő, míg vizes oldat hűtésével a hatóanyag hidrát módosulata válik ki. A további formák (Form III, Form IV) magasabb hőmérsékleten néhány óra elteltével érhetők el közvetlenül a hidrát formából.

3. Kísérleti anyagok és módszerek

3.1. Felhasznált anyagok

3.1.1. Hatóanyagok

Famotidin: A famotidin H₂-hisztamin-receptorokat gátló guaniltiazol-származék, amely csökkenti a gyomorsav elválasztásának mennyiségét. Peptikus fekély betegség és a gastro-oesophagealis refluxbetegség kezelésére szolgáló hatóanyag. Két polimorf módosulata ismert, a metastabil Form B (Form II) és a termodinamikailag stabil Form A (Form I) módosulat.

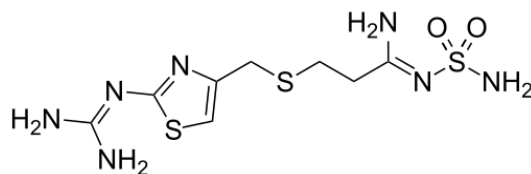
IUPAC név: 3-([2-(diaminometilénamino)-tiazol-

4-il]metiltio)-N'-szulfamoylpropan-imidamid

Összegképlet: C₈H₁₅N₇O₂S₃

Molekulatömeg: 337,45 g/mol

Megjelenés: fehér por



8. ábra Famotidin molekulaképlete

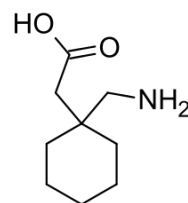
Gabapentin: A gabapentin epilepszia és perifériás neuropátiás fájdalom kezelésében használatos gyógyszer, melynek egy hidrát (Form I) és három polimorf (Form II, III, IV) módosulata ismert. Kereskedelmi forgalomban a termodinamikailag stabil Form II polimorf fordul elő.

IUPAC név: 2-[1-(aminometil)ciklohexil]ecetsav

Összegképlet: C₉H₁₇NO₂

Molekulatömeg: 171,24 g/mol

Megjelenés: fehér por



9. ábra Gabapentin molekulaképlete

3.1.2. Segédanyagok

Polivinil-pirrolidon (Plasdone, PVP)

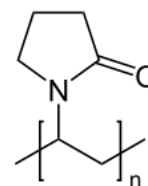
Gyártó: International Speciality Products, Németország

Molekulatömeg: PVP-K12→2,5 kDa

PVP-K30→45 kDa

PVP-K90→1250 kDa

Megjelenés: fehér por



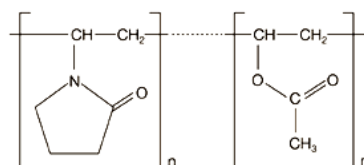
10. ábra PVP molekulaképlete

Poli(vinil-pirrolidon)-vinil-acetát kopolimer

Gyártó: BASF, Németország

Molekulatömeg: 45-70 kDa

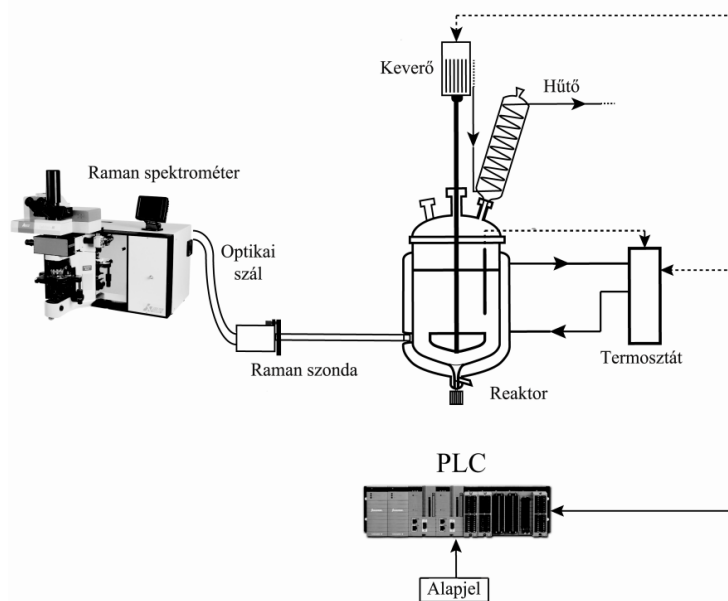
Megjelenés: fehér por



11. ábra PVP/VA-64 kopolimer molekulaképlete

3.2. A reaktor felépítése

A segédanyagos és szonokristályosításokat a tanszéken kifejlesztett és kiépített, számítógép által szabályozott, 150 ml-es laboratóriumi üvegreaktorban végeztem, mely in-line nem invazív Raman detektálásra alkalmas. A laborreaktor-rendszer folyamatirányítása a Yokogawa cég által gyártott Stardom nevű programozható logikai szabályozóval (PLC) történt. A PLC-vel a rendszerben szabályozható a hőmérséklet, keverési fordulatszám és az adagolási sebesség. A rendszer további egysége a monofluidos termosztát. A megfelelő hőmérsékletprofil beállítása hőcserélővel összekapcsolt hűtött etilén-glikol és a reaktor köpenyterében áramló szilikonolaj segítségével történik. A rendszer Pt-100 ellenálláshőmérőkkel méri a reaktor belsejében valamint a köpeny be-és kivezető csonkjánál az aktuális hőmérsékletet. A famotidin segédanyagos kristályosításait valós idejű Raman spektrometriával követtem nyomon. A spektrumokat a spektrométerhez optikai szállal kapcsolódó Raman szonda segítségével rögzítettem. A szonokristályosításokat és gabapentin jelenlétében elvégzett segédanyagos kristályosításokat valós idejű Raman spektrométerrel nem detektáltam. A laborreaktor-rendszer felépítése a 12. ábrán látható.



12. ábra Folyamatirányított laborreaktor-rendszer sematikus ábrája

3.3. A kristályosítás folyamata

3.3.1. Famotidin hűtéses kristályosítása segédanyagok jelenlétében

Famotidin hűtéses kristályosítása során 3,1 g famotidint (Form II) és 70 ml desztillált vizet mértem be a reaktorba. Hozzáadtam meghatározott hatóanyag:segédanyag tömegarányban (100:1, 100:5, 10:1) adott molekulatömegű (PVP-K12, PVP-K30, PVP-K90) polivinil-pirrolidont, majd 300 rpm fordulatszámú állandó kevertetés mellett, előzetesen rögzített hőmérsékletprofil szerint kristályosítottam. Az elegyet 5 percig 25°C-on kevertettem, majd maximális sebességgel 90°C-ig melegítettem és ezen a hőmérsékleten 10 perces izoterm szakaszt alkalmaztam a szilárd fázis teljes beoldódása érdekében. Ezt követően 4 óra alatt lineáris hűtéssel 0,27 °C/min sebességgel 25°C-ra hűtöttem vissza, miközben teljes kristálykiválás ment végbe. Lehűtés után a kristályos végterméket G2-es üvegszűrőn membránszivattyú segítségével szűrtem, majd szobahőmérsékleten szárítottam.

Famotidin segédanyagos kristályosítása során az in-line nem invazív Raman vizsgálatokat egy 300 mW-os dióda lézerrel (785 nm) és száloptikával csatolt szonda segítségével valósítottam meg. A szonda fókuszpontját a reaktor nem duplikált részén a belső üvegfalhoz közel rögzítettem. Az expozíciós idő minden esetben 90 sec, az akkumulációk száma 3 volt. A spektrumokat NGS IndSpec 5.46.06 programmal vettem fel, a kiértékelést a LabSpec 5.42.18 programban a legkisebb négyzetek módszerével (CLS) végeztem. A módszer elve, hogy minden időpontban a felvett anyagkeverék spektrumát az előre megadott referencia spektrumok lineáris kombinációjával állítja elő. Így a kísérlet előrehaladtával

minden pillanatban megállapítható, hogy mennyi az oldatfázis és a szilárd hatóanyag spektrális koncentrációja. Referenciaspektrumként a 90°C-os oldott hatóanyagot tartalmazó tiszta oldat, továbbá az adott koncentrációjú, 25°C-os, tiszta Form B és tiszta Form A szuszpenzió spektrumait alkalmaztam.

3.3.2. Gabapentin hűtéses kristályosítása

Gabapentin hűtéses kristályosítása során 4,0 g gabapentin és 60 ml metanol szuszpenzióját állandó, 200 rpm keverő fordulatszám mellett 25°C-ról 60°C-ig melegítettem, majd a teljes beoldódás érdekében ezen a hőmérsékleten további 10 percet kevertettem. Segédanyag alkalmazása esetén a polimert a kristályosítás elején, 25°C-on adtam hozzá a rendszerhez. Az oldatot 1 óra alatt lineáris hűtési profillal 60°C-ról 0°C-ig hűtöttem vissza, valamint 33°C-on 0,04 g Form II oltókristállyal oltottam be. Lehűtés után a szuszpenziót további 2 órán át 0°C-on kevertettem. A kristályos végterméket G2-es üvegszűrőn membránszivattyú segítségével szűrtem, majd szobahőmérsékleten szárítottam. Az alkalmazott hatóanyag-segédanyag arányokat valamint a kísérleti paramétereket a 4. táblázat tartalmazza.

4. táblázat Gabapentin hűtéses kristályosítások kísérleti körülményei

Gabapentin mennyisége (g)	Alkalmazott polimer	Gabapentin:polimer tömegarány	Oltás hőmérséklete (°C)
4,00	-	-	nincs oltás
4,00	-	-	33
4,00	-	-	0
4,00	PVP-K12	10:2	33
4,00	PVP-K90	100:5	33
		10:5	
4,00	PVP/VA-64	100:5	33

3.3.3. Famotidin és gabapentin szonokristályosítása

A kutatómunka további részében gabapentin segédanyag nélküli, illetve 100:1 famotidin:polivinil-pirrolidon tömegarányú rendszerek hűtéses szonokristályosítását vizsgáltam. A keverő fordulatszámát és az előzőekben ismertetett, előre beállított hőmérsékletprofilot egyik esetben sem változtattam. Az ultrahangos besugárzáshoz MS 73 fejjel felszerelt, Bandelin Sonopuls HD 2200 típusú szonikáló berendezést alkalmaztam, melynek maximális teljesítménye 200 W. A szonotródot kb. 10°-ban megdőntve helyeztem el

az alufóliával letakart reaktorban és különböző teljesítményű valamint időtartamú inszonációt alkalmaztam. A kristályosításokat valós idejű Raman spektrométerrel nem detektáltam. A lehűtést követően a végtermékeket G4-es üvegszűrőn membránszivattyú segítségével szűrtem, majd szobahőmérsékleten szárítottam.

5. táblázat Famotidin szonokristályosítások kísérleti körülményei

	Kísérlet elnevezése*	Polimer	Famotidin:PVP tömegarány	Szonotród teljesítmény (W)	Inszonáció alkalmazása
<i>Segédanyag nélkül</i>	SN	-	100:0	120	86-79°C 67-63°C
<i>Inszonáció körülményeinek hatásvizsgálata</i>	120_2IA_K30	PVP-K30	100:1	120	86-80°C 67-58°C
	20_2IB_K30			20	86-70°C 68-66°C
	20_1A_K30			20	86-74°C
<i>Polimer hatásvizsgálata I.</i>	120_IB_K12	PVP-K12	100:1	120	86-63°C
	120_IB_K90	PVP-K90			
<i>Polimer hatásvizsgálata II.</i>	120_2IA_K12	PVP-K12	100:1	120	86-80°C 67-58°C
	120_2IA_K30	PVP-K30	100:1		
	120_2IA_K90	PVP-K90	100:1		

*Szonotród teljesítmény(W)_inszonációs periódusok száma és megkülönböztetése (A, B)_alkalmazott polimer molekulatömege

6. táblázat Gabapentin szonokristályosítások kísérleti körülményei

Gabapentin mennyisége (g)	Szonotród teljesítmény (W)	Inszonáció alkalmazása	Oltás hőmérséklete (°C)
4,00	20	50-0°C	nincs oltás
4,00	100	50-0°C	nincs oltás

3.4. Vizsgálati módszerek

Raman-spektrometria: A végtermékek karakterizálását off-line Raman vizsgálatokkal a Jobin Yvon cég által gyártott Labram típusú diszperziós Raman spektrométerrel végeztem. A mintákat 10x-es objektívvel 4 különböző pontban vizsgáltam, diódalézerrel 950 cm^{-1} -es optikai rácspozíció mellett analizáltam. Az expozíciós idő és akkumulációk száma a vizsgálati körülmények függvényében változott. Egyes végtermékek homogenitását Raman térképek felvételével igazoltam a következő paraméterekkel: 632 nm He-Ne lézer; 30 pontmérés; 30 sec expozíciós idő; akkumulációk száma 2; 950 cm^{-1} –es optikai rácspozíció.

Röntgen por-diffrakció (XRPD): A röntgen por-diffrakciós vizsgálatokat X'Pert Pro MDP típusú diffraktométer segítségével végeztem el az alábbi paraméterek mellett: $U=30\text{ kV}$; $I=15\text{ mA}$; Sugárzás: $\text{CuK}\alpha\ \lambda=1,5406\text{ \AA}$; detektor: X'Celerator; mérési tartomány $2\theta=2^{\circ}\text{--}44^{\circ}$, lépésköz= $0,0167\text{ mm}$

Polarizációs fénymikroszkóp: A kristályos termék morfológiájának vizsgálatához Amplival Carl Zeiss típusú polarizációs mikroszkópot használtam. A képeket OLYMPUS C4040 Z típusú kamerával készítettem és a DP-Soft nevű program segítségével értékeltem ki.

Optikai mikroszkóp: A kristályos termékek szemcsetulajdonságait Olympus BX 51M típusú optikai mikroszkóppal analizáltam, a mintákról szilikonolajos diszpergálást követően felvételeket készítettem. A termékek szemcseméretének átlagos értékét minden esetben 30 db kristály hosszabb méretének átlagolásával kaptam, a különböző méretű frakciók esetén az eltérő mérettartományba eső szemcsék méretét külön határoztam meg.

Pásztázó elektronmikroszkóp (SEM): A SEM vizsgálatokat JEOL JSM-5500 LV típusú elektronmikroszkóppal végeztem $5\text{--}20\text{ kV}$ gyorsító feszültség, 10 mm -es mintatartó távolság mellett. A mintákról 30 sec -os vákuumgőzöléssel kialakított vékony arany réteg létrehozását követően nagyvákuumban készítettem felvételeket.

Lézerdiffrakciós szemcseméret eloszlás vizsgálat: A termékek egy részénél a szemcseméret eloszlások meghatározása egy HELOS KR típusú, nedves és száraz diszperziós vizsgálatra egyaránt alkalmas készülékkel zajlott (Sympatec GmbH., Clausthal-Zellerfeld, Németország). A vizsgálatok az agglomeráció megszüntetése céljából változó nyomás értékeket beállítva történtek.

Vékonyréteg kromatográfia: A polivinil-pirrolidon jelenlétében végrehajtott famotidin kristályosítások termékeinek polimertartalmát vékonyréteg kromatográfiával azonosítottam. Referenciaként a famotidin és a PVP vizes oldatát használtam. A végtermékek vizes oldatából készített mintákat 10:1 kloroform:metanol elegyben futattam, majd a VRK lapot jódgőzzel telített térbe helyeztem. A jód polivinil-pirrolidonnal alkotott színes komplexével igen érzékenyen és már kis mennyiségben is detektálható a végtermékben jelen lévő polimer.

¹H-NMR vizsgálatok: A famotidin termékek polivinil-pirrolidon tartalmának mennyiségi meghatározását ¹H-NMR spektrometriás vizsgálatokkal végeztem. Az NMR spektrumok rögzítése Bruker Avance-500 típusú spektrométerrel metanol-d₄ oldószerben 25°C-on történt. A kalibrációhoz 0,5; 1; 2; 3; 4% PVP-t tartalmazó fizikai keverékeket alkalmaztam, melyeket nagyobb mennyiségben bemérve, majd bepárolva biztosítottam a minta homogenitását. A vizsgálatok 10 mg-os mintákat 0,75 ml deuterált oldószerben feloldva, 3 sec relaxációs idő és 64 scan beállítások mellett történtek. A spektrumok polimertartalmát a kalibráció alapján a hatóanyagra jellemző csúcsok normálásával és a polimerre jellemző szélesebb csúcsok integrálértékének meghatározásával tömeg %-ban határoztam meg.

Kioldódás vizsgálat: A famotidin termékek kioldódási görbéinek meghatározását ErwekaDT6 típusú kioldó készülékben 900 ml 37°C-on termosztált 4,5 pH-jú acetát pufferben végeztem 50 rpm-es lapátos keverés mellett. A pontos oldatkonzentrációt egy Hewlett-Packard HP 8452A típusú, diódasoros detektorral felszerelt UV/Vis spektrofotométerrel illetve előzetesen készített kalibrációs görbével, kvarc küvettában azonosítottam.

Kifolyás vizsgálat: A kis mintatérfogatok miatt a vizsgálatokhoz egy rögzített pozíciójú, kisméretű üvegtölcsért alkalmaztam, melynek alsó nyílása minden esetben 7 cm magasan volt az asztaltól. A kísérletek során 1 g anyag kifolyását 3 párhuzamos vizsgálattal jellemeztem. A kifolyt halmaz lejtőszögét mindkét oldali szöget felhasználva az elkészített fényképek alapján Adobe Photoshop CS6 program segítségével határoztam meg. Az anyagok gördülékenységének minősítése a 7. táblázatban olvasható gyógyszerkönyvi szabvány szerint történt.

7. táblázat Gördülékenység osztályozása lejtőszög alapján

Lejtőszög (°)	Gördülékenység
25-30	<i>kiváló</i>
31-35	<i>jó</i>
36-40	<i>megfelelő</i>
41-45	<i>elfogadható</i>
46-55	<i>gyenge</i>
56-65	<i>nagyon gyenge</i>
>65	<i>rossz</i>

Tömöríthetőségi vizsgálat: A tömörödés vizsgálatokat Erweka SVM 12 készülékkel, 10 ml-es mérőhengerben végeztem. A 25 sec alatti 100-as leütésszám mellett leolvastam a töltött és a tömörödött oszlopok magasságát, majd a pontos tömegek ismeretében átszámoltam sűrűség értékekké. A minták gördülékenységét a Carr-index és a Hausner-arány segítségével jellemeztem a 8. táblázatban feltüntetett gyógyszerkönyvi határértékek szerint.

8. táblázat Gördülékenység osztályozása Carr-index és Hausner-arány alapján

Carr-index (%)	Gördülékenység	Hausner-arány (-)	Gördülékenység
5-12	<i>kiváló</i>	<1,25	<i>jó</i>
12-16	<i>jó</i>		
18-21	<i>megfelelő</i>	1,25<Hf<1,5	<i>segédanyagokkal javítható</i>
23-35	<i>rossz</i>		
33-38	<i>nagyon rossz</i>	>1,5	<i>rossz</i>
≥40	<i>nem folyik</i>		

4. Kísérleti eredmények és értékelésük

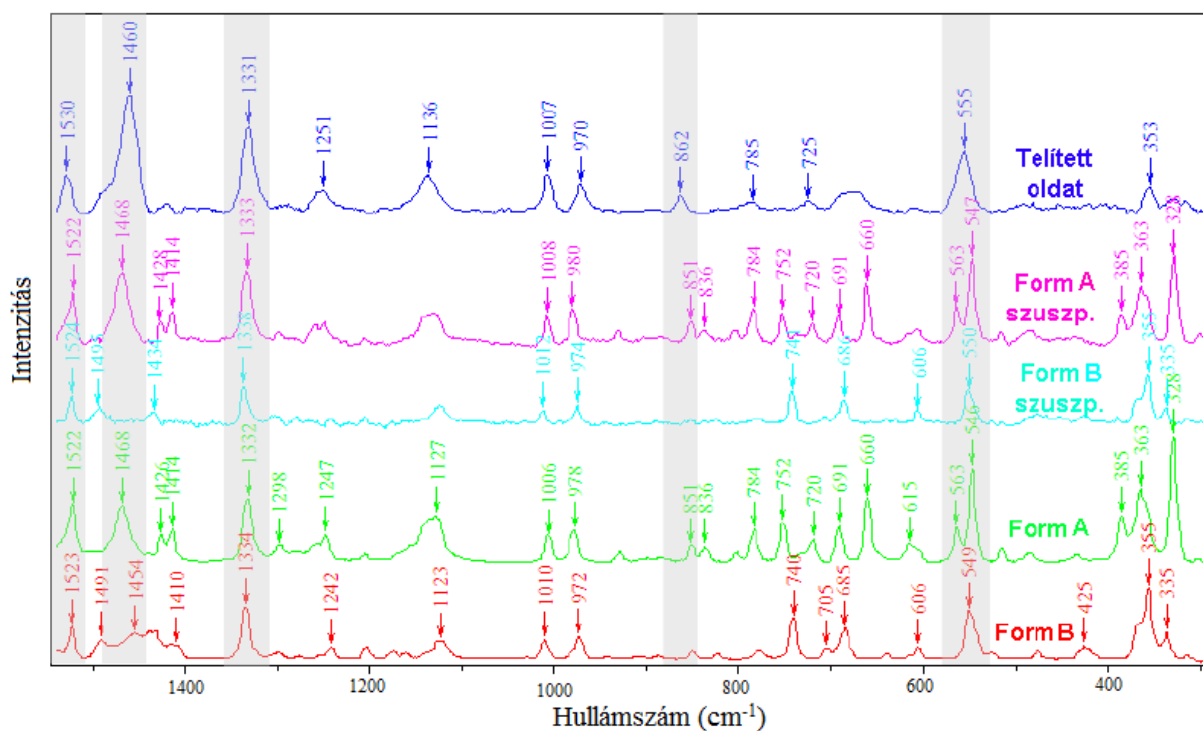
Kísérleti munkám célja a famotidin és gabapentin gyógyszerhatóanyag morfológiájának tervszerű változtatása volt speciális kristályosítási technikákkal annak érdekében, hogy a végtermékek morfológiája a formulálási követelményeknek eleget tegyen. A famotidin és gabapentin segédanyagok jelenlétében elvégzett hűtési kristályosítását, valamint a famotidin-polivinil-pirrolidon, illetve a gabapentin rendszerek szonokristályosítását vizsgáltam. A kristályosítási folyamatokat in-line, nem invazív Raman spektrometria alkalmazásával követtem nyomon.

Először a famotidin és a gabapentin segédanyag nélküli, majd polimer jelenlétében végzett hűtési kristályosításának eredményeit ismertetem. A Raman spektrumokból nyert információk alapján értelmezem a polimer kristályosodás kinetikájában kifejtett hatását, majd a kristályos végtermékek morfológiai és készítménytechnológiai jellemzésével folytatom. Az eredmények bemutatását a famotidin és a gabapentin szonokristályosításának tárgyalása követi. A kristályos termékek morfológiai jellemzése, valamint készítménytechnológiai tulajdonságainak ismertetése során következtetéseket vonok le az ultrahangos besugárzás kristályosodás folyamatában betöltött szerepéről, valamint az inszonáció paramétereinek végtermék tulajdonságára gyakorolt hatásáról.

4.1. Hűtési kristályosítás segédanyagok nélkül

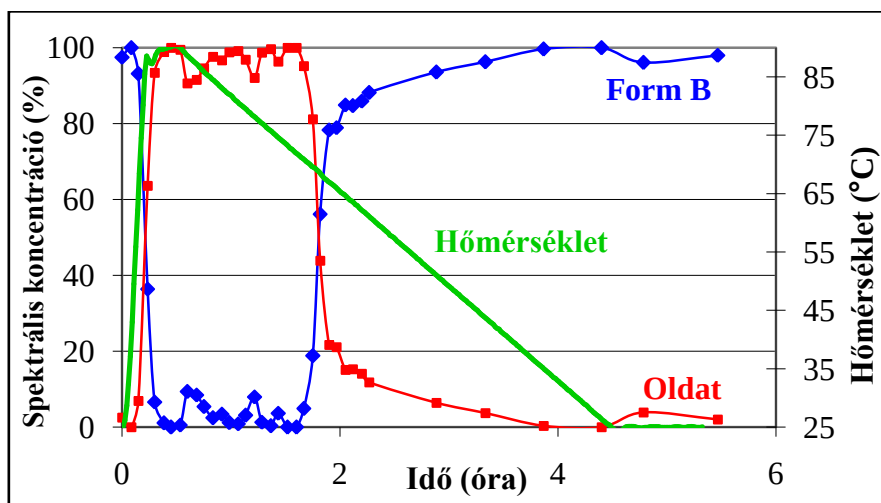
4.1.1. Famotidin hűtési kristályosításának valós idejű Raman spektrometriás detektálása

Az optimális hűtési sebességet előzetes kísérletekkel határoztam meg. Amikor nem 0,27 °C/perces (4h), hanem gyorsabb hűtést alkalmaztam, kisebb méretű kristályok váltak ki. A Raman detektálhatóság a jel/zaj arány csökkenése miatt jelentősen romlott. Emiatt a kristályosításokat a továbbiakban a detektálás szempontjából optimális, 4 órás hűtéssel valósítottam meg. A kísérleteket megelőzően felvettem a famotidin két polimorfjának (Form A, Form B) Raman spektrumát szilárd fázisban, valamint vizes szuszpenzióban, illetve felvételt készítettem a hatóanyag 80°C-os telített oldatáról is. Ezek a spektrumok a valós időben felvett Raman spektrumok kiértékelésében referenciaként szolgáltak. A 13. ábrán feltüntetett spektrumokon jól látható, hogy a famotidin polimorfok jellemző Raman sávjai szuszpenzióban is azonosíthatóak. A hatóanyag telített vizes oldatában az oldott hatóanyag meghatározását a szilárd fázisra jellemző Raman sávok jelentős eltolódása teszi lehetővé, melyeket a spektrumon szürke kiemelt sáv jelez.



13. ábra Famotidin polimorfjainak szilárd és vizes szuszpenzióban, valamint oldatfázisban felvett Raman spektrumai

Famotidin segédanyag nélküli vizes hűtési kristályosításában, mely a segédanyagok kristályosítások értékelésénél referenciaként szolgált számunkra, nem történt polimorfia változás. A kiindulási anyag és a végtermék is a kinetikailag preferált **Form B** módosulat volt. A hűtés során a kristályosodás 71°C-on indult meg, majd a szilárd fázis mennyisége 36 perccel később, 51°C-on érte el a maximumot. A hőmérsékletet, valamint a szilárd és oldat fázis mennyiségének alakulását az idő függvényében a 14. ábra szemlélteti.

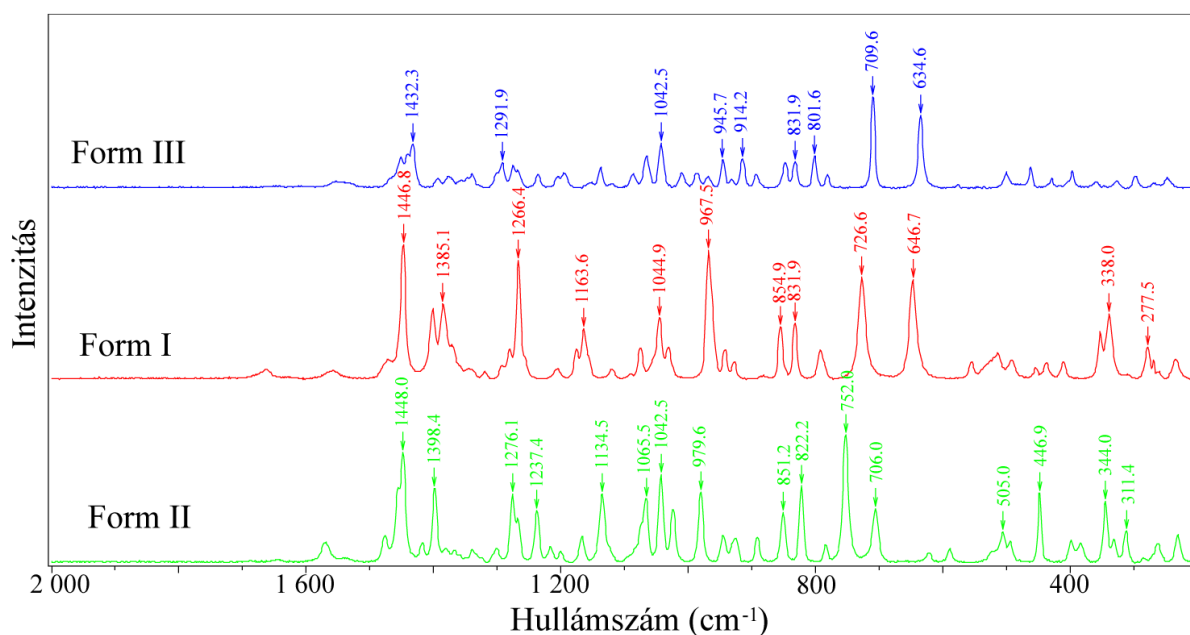


14. ábra Famotidin segédanyag nélküli hűtési kristályosításának mennyiségi diagramja

4.1.2. Gabapentin hűtéses kristályosítása

A gabapentin segédanyag nélküli metanolos hűtéses kristályosítása során csupán oltókristályok jelenlétében tapasztaltam szilárd fázis megjelenést. Oltókristályok alkalmazása nélkül a hatóanyag a 0°C-ra történő hűtés és 2 órás kevertetést követően sem kristályosodott. A 33°C-on és 0°C-on történő beoltás alkalmával a kristályosodás megindult, ám a szilárd-folyadék egyensúly beállása érdekében a terméket csupán 0°C-on történő 2 órás kevertetés után szűrtem ki.

A gabapentin egyes kristálymódosulatainak azonosítására a szakirodalomban röntgen por-diffrakciós (XRPD) és Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópiát (FT-IR) alkalmaztak, az egyes módosulatok olvadáspontjának közelsége miatt a differenciális pásztázó kalorimetria (DSC) megkülönböztetésükre nem alkalmas. Az egyes formák Raman spektrumait ez idáig nem közölték. A kristályosított termékek morfológiai vizsgálatához ezért elsőként a hatóanyag Form I, II és III módosulatait azonosítottam FT-IR spektrométerrel. Szakirodalom alapján a Form I hidrát szerkezetet vizes hűtéses kristályosítással, míg a Form III polimorfot a hidrátból DSC-ben 85°C-on 3 órás izoterm kristályosítással állítottam elő. A Form II polimorf metanolból történő hűtéses kristályosítással, oltókristályok alkalmazása mellett kristályosítható. Az előállított polimorfok azonosítását a szabadalmi irodalomból ismert IR spektrumok alapján végeztem, melyekhez minden esetben felvettem a későbbi termék azonosításhoz alkalmazott referencia Raman spektrumokat (15. ábra).



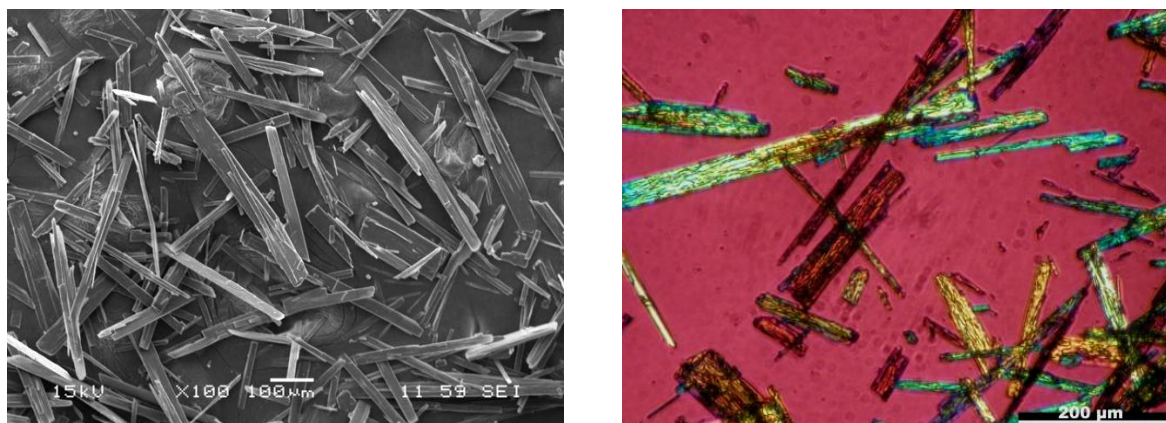
15. ábra Gabapentin polimorfok Raman spektrumai

A Form II polimorf karakterisztikus Raman sávjai 446, 752, 822, 979, 1134, 1237 cm^{-1} -en detektálhatóak, melyekkel a termodinamikailag stabil módosulat egyértelműen meghatározható. A további két szerkezet (Form I, Form III) Raman eltolódásai is jól elkülöníthetők, így a termékekről készített Raman vizsgálatokkal a kristályszerkezet és a homogenitás egyaránt jól meghatározható.

A gabapentin segédanyag nélküli hűtéses kristályosítását követően Raman spektrométerrel a hatóanyag termodinamikailag stabil Form II módosulatát azonosítottam.

4.1.3. Hűtéses kristályosítással előállított famotidin végtermék jellemzése

Polarizációs fénymikroszkóppal és pásztázó elektronmikroszkóppal készített felvételek alapján a famotidin segédanyag nélküli kristályosítása során tűs habitusú (Form B) termék vált ki, a kristályok hossza néhol eléri az 500 μm -t (16. ábra). Meghatároztam a kristályos végtermék görbülékenységét és tömöríthetőségét, mely referenciául szolgált a további, polivinil-pirrolidon jelenlétében végzett kristályosítások során. Ezen eredmények a könnyebb összehasonlíthatóság miatt a segédanyagos kristályosítások termékeinek készítménytechnológiai jellemzésénél kerülnek részletes bemutatásra.

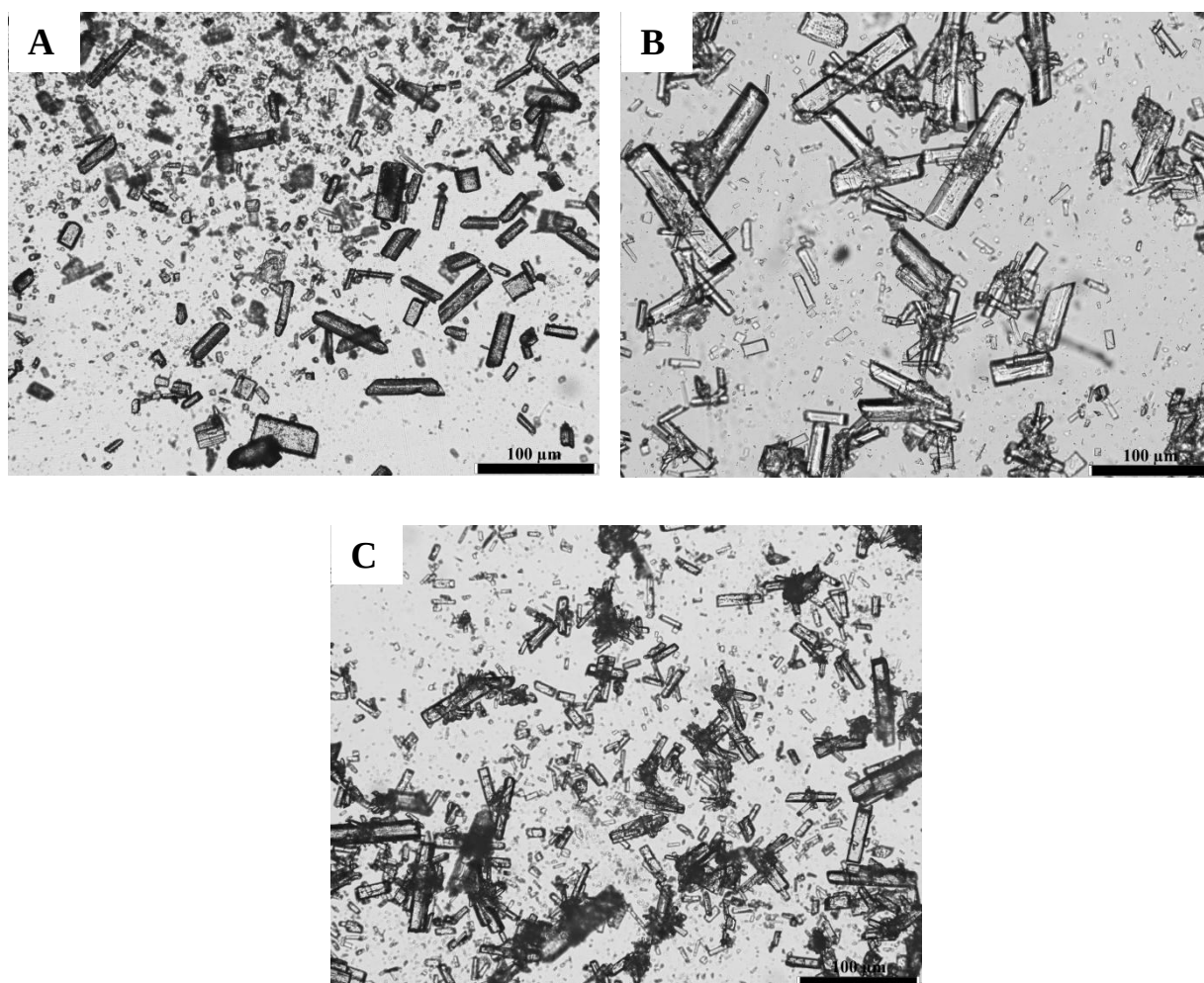


16. ábra Segédanyag nélkül kristályosított famotidin tűs habitusú kristályainak pásztázó elektronmikroszkóppal és polarizációs fénymikroszkóppal készült felvételei

4.1.4. Hűtéses kristályosítással előállított gabapentin végtermék jellemzése

A gabapentin szemcsék fizikai tulajdonságát optikai mikroszkópos vizsgálattal elemeztem (17. ábra). Az őrléssel előállított gyári terméket vizsgálva jellemzően két szemcseméretű frakció fedezhető fel benne, egy átlagosan 1,7 μm méretű törmelékes, illetve egy jellemzően 27 μm hosszúságú kristályokból álló frakció (17. ábra A). A kristályok

többnyire szabályos éllel határolt hasáb alakúak. Az oltást minden esetben ezzel a referenciaként szolgáló 1%-nyi Form II kristállyal végeztem. 33°C-on történő beoltás esetén a végtermék szemcsemérete átlagosan 45 µm, a kristályhabitus nem változott (17. ábra B). Alacsonyabb hőmérsékleten, 0°C-on elvégzett beoltás mellett a kristálykiválás a nagymértékű túltelítés hatására a gyorsabb gócképződés irányába tolódott el, így kisméretű kristályok kiválását eredményezte. A termék nagyobb szemcséit az egyirányú gyors növekedés jellemezte, hosszúság-szélesség arányuk növekedett, a jellemző szemcseméret 22 µm volt (17. ábra C).



17. ábra Kristályosított gabapentin termékek azonos nagyítású (10x) optikai mikroszkópos felvételei: A) referencia Form II; B) Oltás 33°C-on; C) Oltás 0°C-on

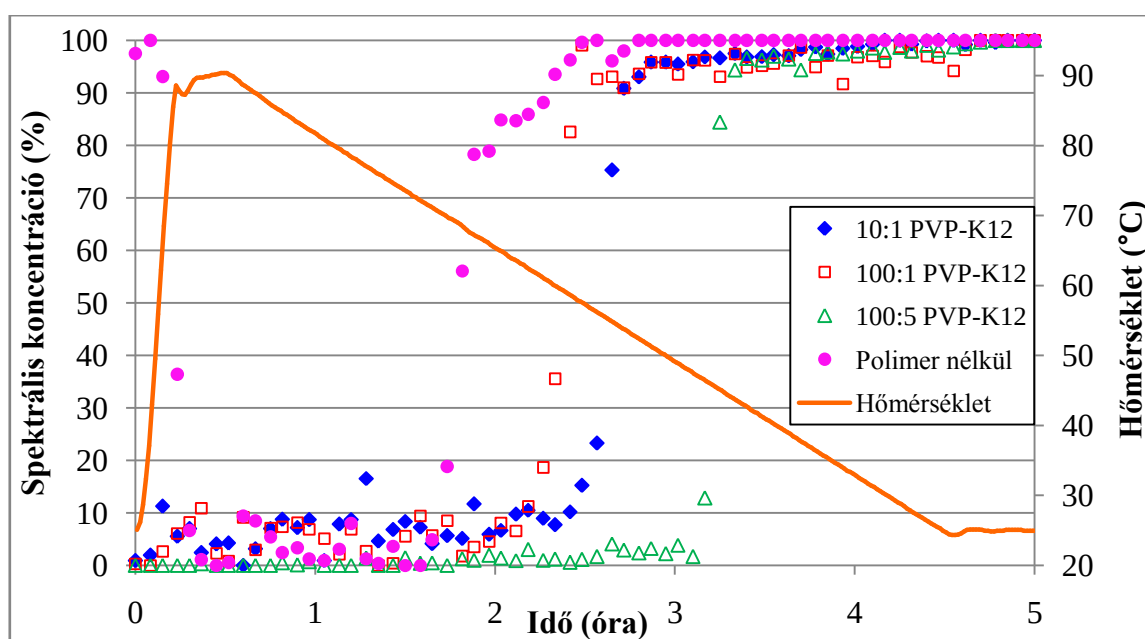
A segédanyagok és ultrahang alkalmazásával végzett speciális kristályosításokban elsődleges célom a két hatóanyag kristálymorfológiájának (kristályhabitus, szemcseméret, szemcseméret eloszlás) módosítása volt a hatóanyagok formulálási tulajdonságainak javítása és a gabapentin esetében alkalmazott, technológiai szempontból kedvezőtlen őrlés felváltása érdekében. A szakirodalomból levont következtetések alapján a továbbiakban a famotidin és

gabapentin segédanyagos kristályosítását vizsgáltam polivinil-pirrolidon és poli(vinil-pirrolidon)-vinil-acetát kopolimer jelenlétében. Tanulmányoztam a polimerek morfológia módosító, valamint a göcképződésben és kristálynövekedésben kifejtett hatását.

4.2. Hűtéses kristályosítás segédanyagok jelenlétében

4.2.1. Famotidin segédanyagos kristályosításának valós idejű Raman spektrometriás detektálása

Famotidin hűtéses kristályosításában a polivinil-pirrolidon hatását három különböző PVP molekulatömeg, valamint három különböző hatóanyag:segédanyag tömegarány (100:1, 100:5, 10:1) mellett vizsgáltam. A kísérletek során a valós idejű Raman detektálással azonosított termék a segédanyag nélküli kristályosítás Form B végtermékével szemben polimer jelenlétében minden esetben a termodinamikailag stabil **Form A** módosulat volt. A Raman spektrumok kiértékelése során megállapítottam, hogy a referencia, segédanyag nélkül végzett kísérlethez képest polimer jelenlétében alacsonyabb hőmérsékleten indult meg a kristálykiválás, 1%, 5% illetve 10% PVP-K12 polimer jelenlétében rendre 59, 48 és 64°C-on. A 18. ábrán a hőmérséklet és a szilárd fázis spektrális koncentrációja látható az idő függvényében segédanyag nélküli és különböző koncentrációjú PVP-K12 jelenlétében végzett kristályosítások során.



18. ábra PVP-K12 jelenlétében kristályosított famotidin mennyiségi diagramja

A további polivinil-pirrolidonnal végzett kísérlet valós idejű Raman spektrometriás detektálásának eredménye a 9. táblázatban összefoglalva található.

9. táblázat Polivinil-pirrolidon szerepe famotidin hűtéses kristályosításában valós idejű Raman spektrumokból kiértékelve

	Famotidin: PVP tömegarány	Kristálykiválás			Kivált termék
		kezdeti hőmérséklet (°C)	vége hőmérséklet (°C)	időtartam (perc)	
Segédanyag nélkül	100:0	71	51	36	Form B
PVP-K12	100:1	59	53	22	Form A
	100:5	48	44	14	
	10:1	64	57	28	
PVP-K30	100:1	51	44	27	Form A
	100:5	54	49	18	
	10:1	45	39	22	
PVP-K90	100:1	64	38	96	Form A
	100:5	58	37	77	
	10:1	58	55	13	

A különböző molekulatömegű polimerek mindhárom koncentrációban időben késleltették a kristálykiválást. 100:1 tömegarányú PVP-K90 jelenlétében a kristályosodás folyamata jóval lassabb (96 perc) volt, mint a többi esetben, mely nagyobb aggregátumok kialakulását jelezheti. A szilárd fázis a referenciához képest minden esetben 71°C-tól alacsonyabb hőmérsékleten, nagyobb tútelítésnél jelent meg. A polivinil-pirrolidon kristályosodásgátló hatása a molekulatömeg növekedésével nőtt. A PVP kristályosodás kinetikájában kifejtett hatásának oka, hogy a polimer a famotidinnal hidrogénhidas kölcsönhatások kialakítására képes, így oldatban stabilizálva a hatóanyag molekulákat gátolja a gócképződést. Emellett a kristályfelszínhez hidrogén-kötésekkel kapcsolódva és annak felületét körülvéő diffúziós határrétegben feldúsulva megakadályozza a további gyógyszer-molekulák kristályrácsba épülését. Ez utóbbi esetben pedig hatással van a kristálynövekedés folyamatára, így a kialakult kristályhabitusra és méretre. Tehát a polimer nem csak a gócképződést, hanem a kristálynövekedés folyamatát is gátolja, melyből előzetesen arra következtethetünk, hogy famotidin esetén a PVP-nek jelentős morfológia módosító hatása van.

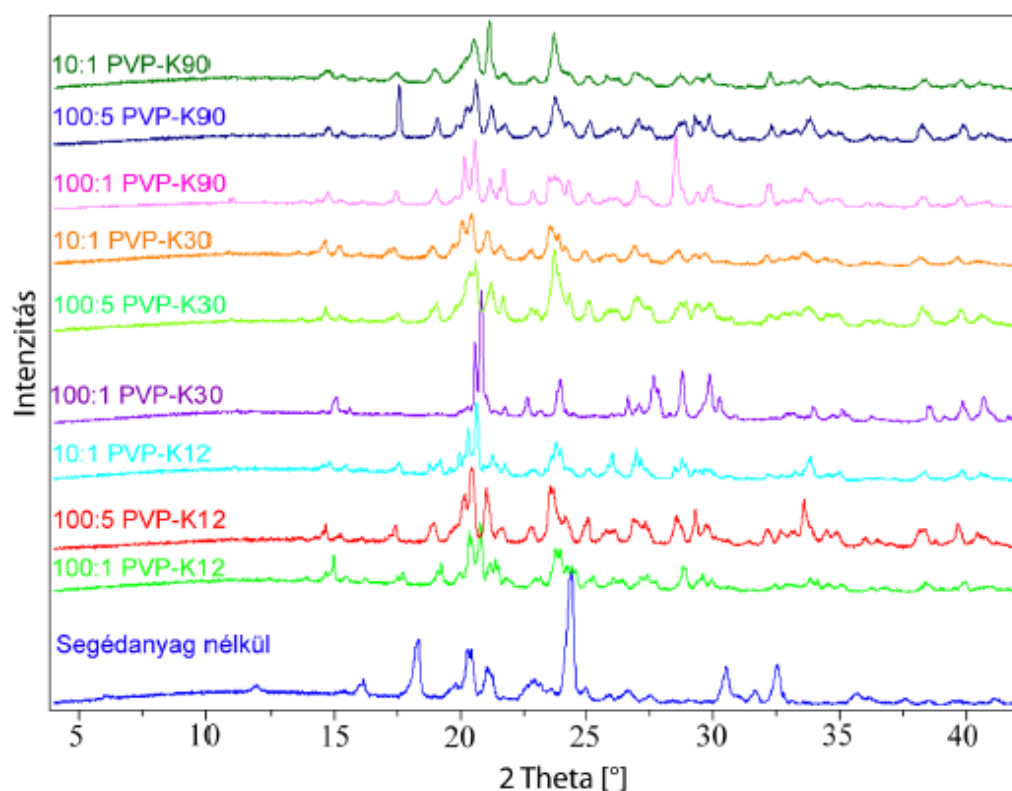
4.2.2. Gabapentin segédanyagok kristályosítása

Gabapentin segédanyagok kristályosítása során egyik esetben sem tapasztaltam késleltetett kristálykiválást. A kiszűrt termék mennyisége minden esetben összemérhető volt a segédanyag nélküli kísérlettel. Nagyobb mennyiségű PVP-K90 (10:5 gabapentin:polimer arány) jelenlétében sem csökkent a termelés, azaz a polimer nem növelte jelentős mértékben a hatóanyag oldhatóságát. A polivinil-pirrolidon és annak vinil-acetáttal alkotott kopolimere a gabapentin hűtéses kristályosítása során nem befolyásolta a göcképződést, kristályosodást gátló hatásuk nem jelentkezett. Ebből előzetesen arra következtethetünk, hogy a PVP-nek gabapentinre nézve nincs olyan jelentős morfológia módosító hatása, mint famotidin esetén.

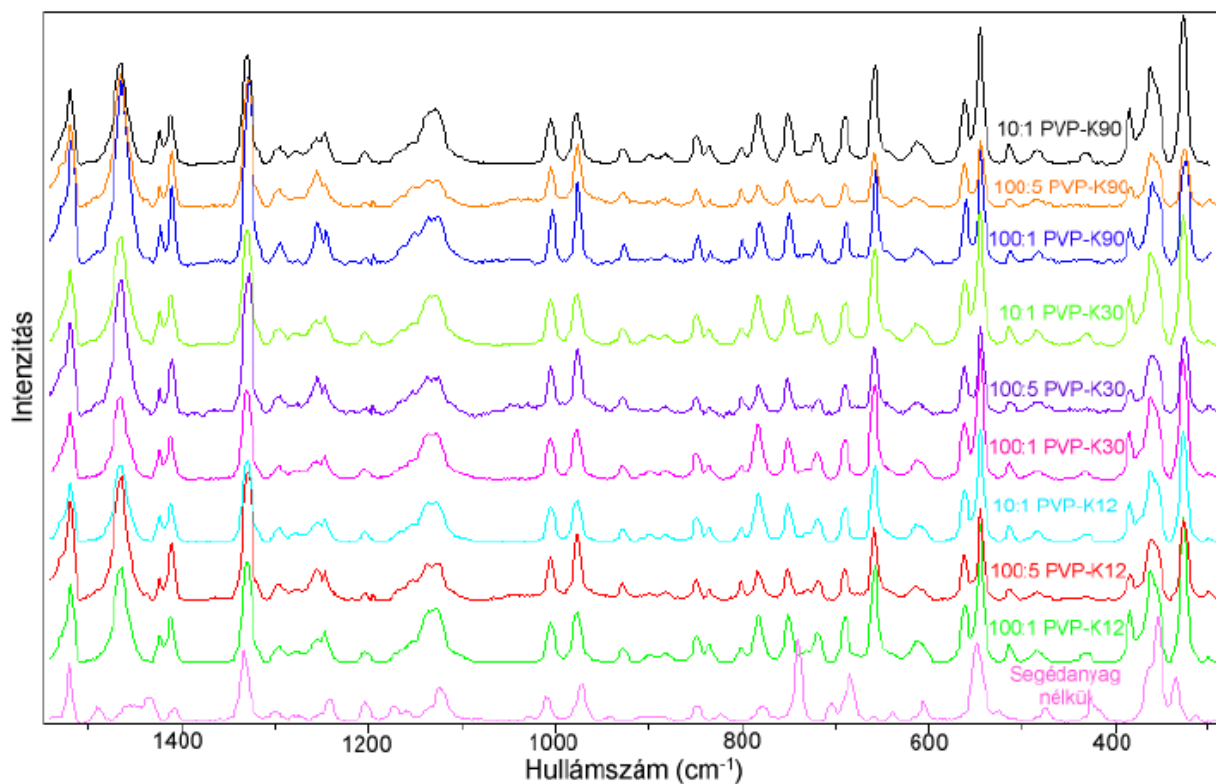
4.2.3. Polivinil-pirrolidonnal kristályosított famotidin termékek morfológiai jellemzése

Polivinil-pirrolidon jelenlétében kristályosított famotidin termékek kristályszerkezetét röntgen por-diffrakciós és off-line Raman spektrometriás vizsgálattal határoztam meg. A segédanyag koncentrációtól függetlenül minden esetben a **Form A** termodinamikailag stabil módosulatot azonosítottam, melyet már a kísérletek során felvett valós idejű Raman spektrumok is alátámasztottak.

A 100:1 arányú PVP-K30-as és 100:5 arányú PVP-K90-es kristályosítások végtermékeinek diffraktogramjában diffrakciós csúcsintenzitás változások figyelhetők meg. A végtermékek Raman spektrumát több pontban is felvettem, azonban csúcseltolódás vagy újabb Raman sáv nem volt azonosítható. A jelenség tehát nem egy új polimorf módosulat megjelenésével, hanem feltehetőleg orientációs hatással magyarázható. A 19. és 20. ábrán a röntgen por-diffrakciós és off-line Raman spektrometriás vizsgálatok végeredményei láthatók.

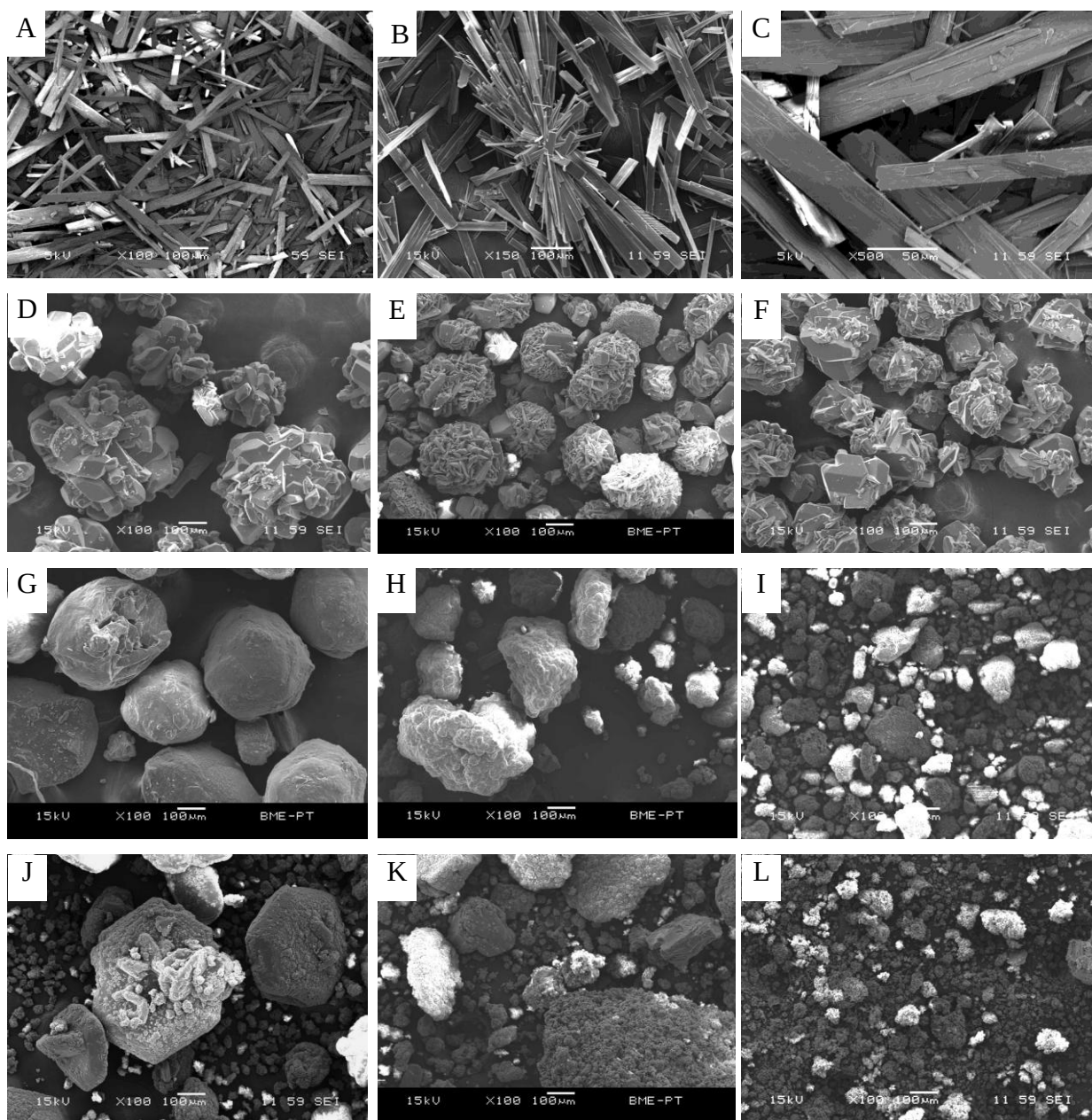


19. ábra Polivinil-pirrolidon jelenlétében kristályosított famotidin röntgen por-diffraktogramjai



20. ábra Polivinil-pirrolidon jelenlétében kristályosított famotidin off-line Raman spektrumai

A pásztázó elektronmikroszkóppal készített felvételeken jól látható, hogy a polivinil-pirrolidon a referenciához képest minden esetben jelentős mértékben megváltoztatta a kristályok habitusát és átlagos szemcseméretét. A famotidin 4.1.3. fejezetben bemutatott segédanyag nélkül kristályosított Form B módosulatra a készítménytechnológiai és formulálási szempontból kedvezőtlen, tűs kristályhabitus jellemző. A polivinil-pirrolidon jelenlétében kristályosodott termodinamikailag stabil Form A módosulat megjelenése és habitusa a polimer molekulatömegének és koncentrációjának függvényében változatos képet mutatott.



21. ábra Famotidin hűtéses kristályosítása során keletkezett termékek SEM felvételei: A-C) segédanyag nélkül; D-F) 100:1, 100:5, 10:1 PVP-K12; G-I) 100:1, 100:5, 10:1 PVP-K30; J-L) 100:1, 100:5, 10:1 PVP-K90 jelenlétében

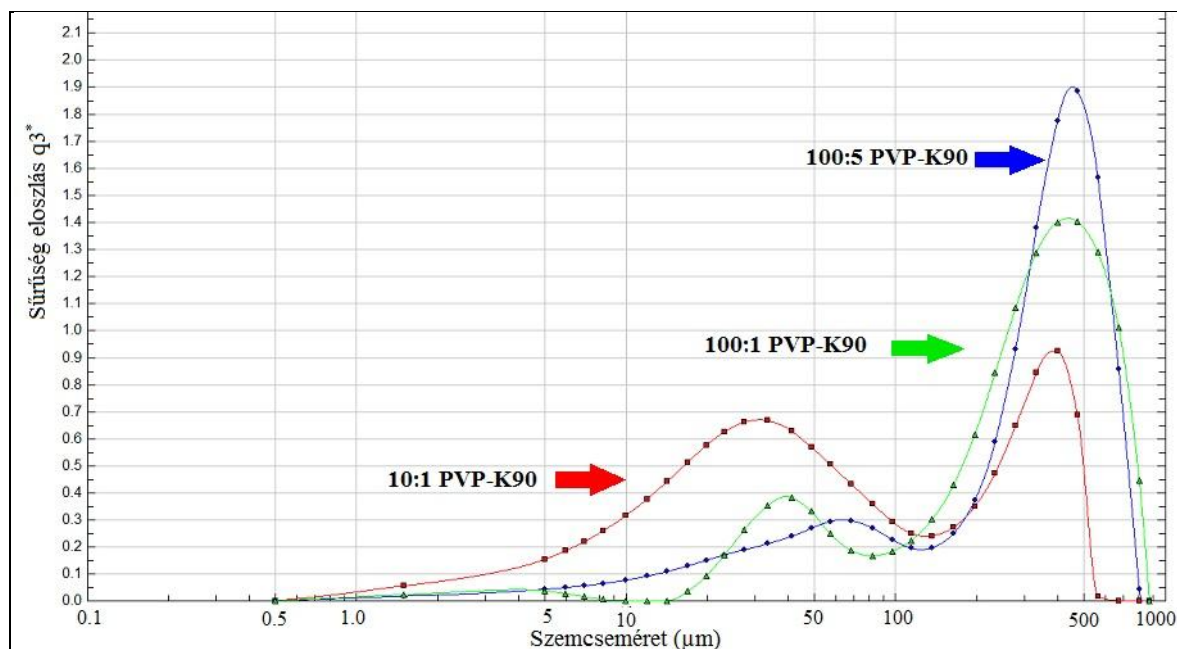
PVP-K12 jelenlétében zömök, oszlopos egyedi kristályokból felépülő szférikus aggregátumok alakultak ki, melyek megjelenése „rózsára” emlékeztet. A kristályok felszíne teljesen sima. Az aggregátumok átmérője 100:1 tömegarány esetén a legnagyobb, átlagosan 400 µm. A 100:5 és 10:1 tömegarányú kristályosításoknál a kivált aggregátumok mérete ettől kisebb, mindkét esetben közelítőleg 300 µm. Az aggregátumok kialakulása a PVP kristálynövekedést szabályozó hatásával magyarázható, mely az oldatban lévő polimerláncok nagyságának függvényében változik. A hatóanyag és segédanyag molekulák közötti erős kölcsönhatás – a hidrogénhidas kötések kialakítására képes donor és akceptor funkciók számától függően – szférikus kristályaggregátumok kialakulásához vezet.

A 100:1 tömegarányú **PVP-K30**-as kristályosításban gömb alakú, tömör, tojásra emlékeztető, sima felületű szemcsék váltak ki, melyek az előzőekben ismertetett röntgen por-diffrakció során tapasztalt intenzitásváltozást okozták. Az aggregátumok mérete 1000-3000 µm. A PVP-K30 koncentrációjának növelésével csökken az aggregátumok mérete, s mellettük egy kisebb szemcseméretű frakció is megjelenik. A kivált kristályok egyenetlen „karfiolos” felszínűek.

Hasonló megállapításokat tehetünk **PVP-K90** esetén is. Ekkor már 100:1 hatóanyag:polimer tömegarány mellett is megfigyelhető a két különböző méretű szemcsefrakció jelenléte. A nagyobb méretű frakció kristályai a SEM felvételek alapján 500 µm nagyságúak, szabályos hatszög alapúak, lekerekített élűek. A kisebb frakció szemcséi ezekre a nagyobb kristályokra ráarakódva érdes, egyenetlen kristályfelszínt eredményeznek. Nagyobb mennyiségű PVP-K90 jelenlétében a nagyobb méretű szemcsefrakció kristályai kevésbé szabályosak, de változatlanul inhomogén felszínűek.

Vizsgáltam a polivinil-pirrolidon jelenlétében kristályosított famotidin termékek szemcseméret eloszlását is. PVP-K12 jelenlétében a polimer koncentrációjától függetlenül monodiszperz rendszer keletkezett, a nagyobb aggregátumok mellett egyik esetben sem tapasztaltam kisebb méretű szemcsefrakció megjelenését. A diffraktogramok alapján 100:1 tömegarányú kristályosításnál 400 µm, míg 100:5 és 10:1 tömegarányúnál ettől kisebb, 300 µm nagyságú szemcsék keletkeztek. A nagyobb molekulatömegű PVP-K30 és PVP-K90 jelenlétében a 100:1 arányú famotidin:PVP-K30 kísérlet kivételével egy kisebb méretű szemcsefrakció is megjelent. A polimer koncentrációjának növekedésével a nagyobb méretű frakció mennyisége csökkent, míg a kisebb méretű szemcsék mennyisége nőtt, méret eloszlása kiszélesedett. 100:1 tömegarányú PVP-K30 jelenlétében nagyméretű, gömb alakú kristályok keletkeztek, melyek nagysága néhol eléri a 3 mm-t is. PVP-K90 jelenlétében

minden koncentrációnál a nagyobb frakciót jellemző 450 μm , illetve a kisebb frakciót jellemző 40 μm nagyságú részecskék keletkeztek (22. ábra). Megállapítható, hogy a szemcseméret eloszlás vizsgálatok végeredményei jó egyezést mutatnak a kristályok pásztázó elektronmikroszkópos felvételek alapján meghatározott méreteivel.



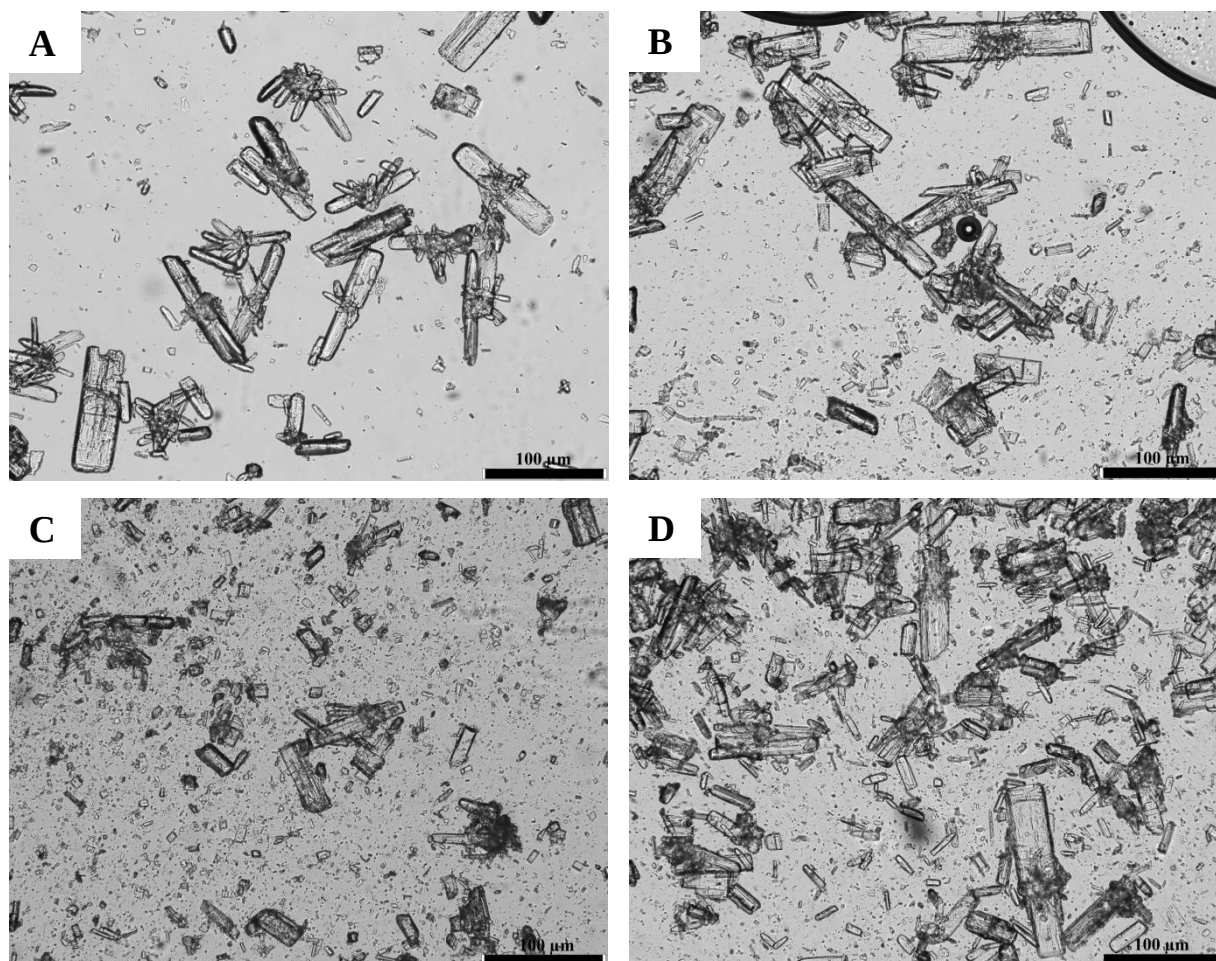
22. ábra PVP-K90 jelenlétében kristályosított famotidin termékek szemcseméret eloszlása

4.2.4. Segédanyagok jelenlétében kristályosított gabapentin termékek morfológiai jellemzése

Gabapentin segédanyagok kristályosítását követően a termékekről készített Raman térképekkel minden esetben a hatóanyag termodinamikailag stabil Form II polimorfját azonosítottam, szennyező módosulatok jelenléte nem volt detektálható. Sem a polivinil-pirrolidon, sem a poli(vinil-pirrolidon)-vinil-acetát kopolimer nem okozott polimorfia változást. Tehát a PVP polimorfia módosító hatása semmiképpen sem általánosítható, a hatóanyag-segédanyag kölcsönhatások minőségének függvényében eredményezheti a PVP nélkül kristályosított terméktől eltérő kristálmódosulat megjelenését.

Az optikai mikroszkóppal készített felvételeken jól látható, hogy PVP-K12-t 10:2 (23. ábra A), illetve PVP-K90-et 100:5 (23. ábra B) hatóanyag:segédanyag arányban alkalmazva a gabapentin kristályok szemcsemérete csupán kis mértékben módosult a segédanyag nélküli, 33°C-on történő oltásos kristályosításhoz képest. 45 μm helyett rendre 38 és 37 μm hosszúságú kristályok keletkeztek. PVP-K90 esetén az optikai felvételeken is jól láthatóan megjelent egy kisebb méretű 6 μm –es frakció, ezért további kristályosítást végeztem

nagyobb PVP-K90 mennyiség mellett. A várakozásoknak megfelelően a gabapentin:PVP-K90 10:5 tömegaránya esetén a kisebb méretű szemcsefrakció (5 μ m) aránya megnőtt, a nagyobb méretű kristályok (23 μ m) aránya lecsökkent (23. ábra C). A kristályok karakterisztikájában leginkább ezzel a kristályosítással lehetett megközelíteni a kiindulási referencia hatóanyagot. A poli(vinil-pirrolidon)-vinil-acetát kopolimer jelenlétében kristályosított gabapentin szemcseméretét leíró Gauss-görbék kiszélesedtek, a kisebb és nagyobb méretű szemcsék mérete is nagyobb diverzitást mutatott (23. ábra D).



23. ábra Kristályosított gabapentin termékek azonos nagyítású (10x) optikai mikroszkópos felvételei A) 10:2 PVP-K12; B) 100:5 PVP-K90; C) 10:5 PVP-K90; D) 100:5 PVP/VA-64 jelenlétében

4.2.5. Polivinil-pirrolidonnal kristályosított famotidin végtermékek polimer tartalmának meghatározása

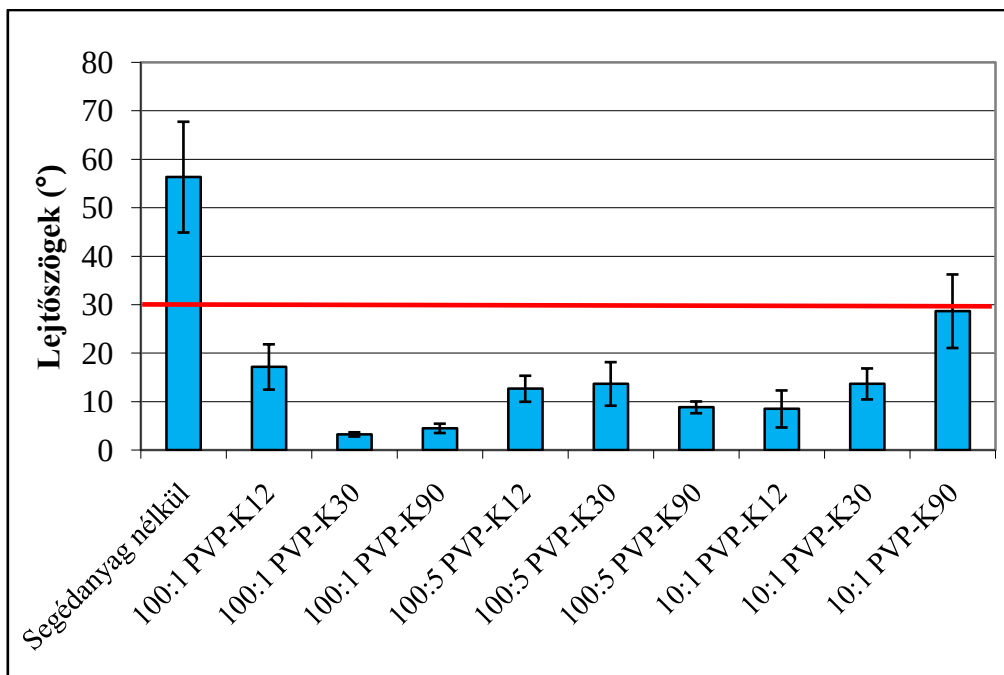
Az általam előállított termékek polimer tartalmának mennyiségi meghatározását csupán a kedvező hatóanyag morfológiával kristályosított famotidin végtermékek esetén végeztem el vékonyréteg kromatográfiás (VRK) és ^1H -NMR vizsgálattal. A VRK-s vizsgálatokkal csak a 10:1

és néhány 100:5 arányú kristályosítás végtermékében találtam polimert, a 100:1 tömegarányú PVP jelenlétében végzett kísérleteknél egyik esetben sem. A 10:1 és 100:5 arányú kristályosítások termékeinek PVP tartalmának meghatározása előzetes kalibráció alapján $^1\text{H-NMR}$ -rel történt. A vizsgált mintákban minden esetben 5% alatti segédanyagtartalmat azonosítottam.

4.2.6. Polivinil-pirrolidonnal kristályosított famotidin készítménytechnológiai jellemzése

A különböző mennyiségű polivinil-pirrolidon jelenlétében előállított kristályos famotidin gördülékenységét kifolyási és tömöríthetőségi vizsgálatokkal jellemeztem. A minősítés a 3.4. fejezetben ismertetett gyógyszerkönyvi szabványok szerint történt. A gördülékenység a gyógyszerhatóanyagok további feldolgozása, formulálása szempontjából fontos tulajdonság.

A segédanyag nélkül és PVP jelenlétében kristályosított famotidin termékek kifolyásakor keletkezett szemcsehalmazok lejtőszögét a 24. ábra szemlélteti. Vízszintes piros vonallal a kiváló gördülékenységre jellemző lejtőszög felső határát jelöltem. A szemcsehalmazok kétoldali lejtőszögének vizsgálata során megállapítottuk, hogy a segédanyag nélkül kristályosított tús habitusú famotidin gördülékenysége a gyógyszerkönyvi szabvány alapján *nagyon gyenge* besorolású. A polivinil-pirrolidon jelenlétében kristályosított termékek kifolyásakor előállt rézsűszöge azonban minden esetben jóval kisebb a referenciához képest, tehát készítménytechnológiai szempontból kedvezőbb tulajdonságúak. Segédanyag jelenlétében szinte minden esetben *kiváló* gördülékenységű terméket sikerült előállítani. A famotidin:PVP-K90 10:1 arányú kristályosítás során a lejtőszögek átlagértéke ugyan 29° -nak adódott ami még éppen a kiváló gördülékenységű kategóriába tartozik, azonban a szórás és az egyedi mérések ingadozásának figyelembe vételével inkább *jó* gördülékenységű halmazként jellemezhető.



24. ábra Segédanyag nélkül és PVP jelenlétében kristályosított famotidin termékek lejtőszögei

A kristályos szemcsehalmaz folyási tulajdonságainak jellemzésére szolgál a tömöríthetőség és az abból számolt *Carr-index* valamint *Hausner-arány* is, melyek becsléséhez az alábbi képleteket alkalmaztam:

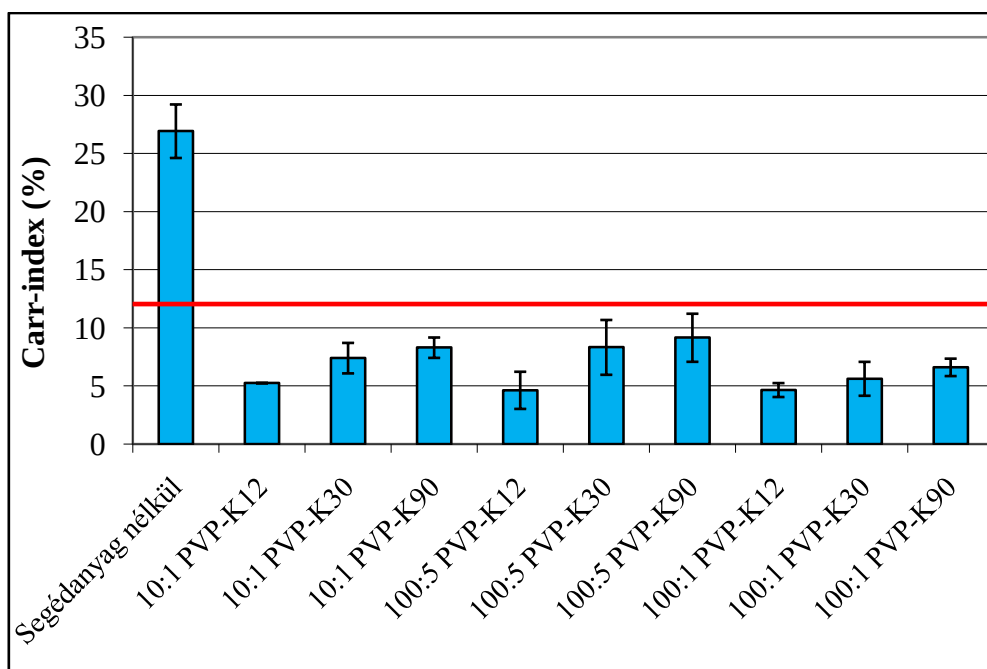
$$\text{Car- index (\%)} = \frac{\rho_T - \rho_t}{\rho_T} \cdot 100$$

$$\text{Hausner-arány} = \frac{\rho_T}{\rho_t},$$

ahol ρ_T : tömörített oszlopsűrűség, ρ_t : töltött oszlopsűrűség. A kristályos termékek Hausner-arányát a 10. táblázatban, Carr-indexét a 25. ábrán ismertetem.

10. táblázat Segédanyag nélkül és PVP jelenlétében kristályosított famotidin termékek Hausner-aránya

	Famotidin:PVP tömegarány	Hausner-arány (-)	Gördülékenység
Segédanyag nélkül	100:0	1,37±0,04	segédanyagokkal javítható
PVP-K12	100:1	1,05±0,01	jó
	100:5	1,05±0,02	jó
	10:1	1,06±0,00	jó
PVP-K30	100:1	1,06±0,02	jó
	100:5	1,09±0,03	jó
	10:1	1,08±0,02	jó
PVP-K90	100:1	1,07±0,01	jó
	100:5	1,10±0,03	jó
	10:1	1,09±0,01	jó

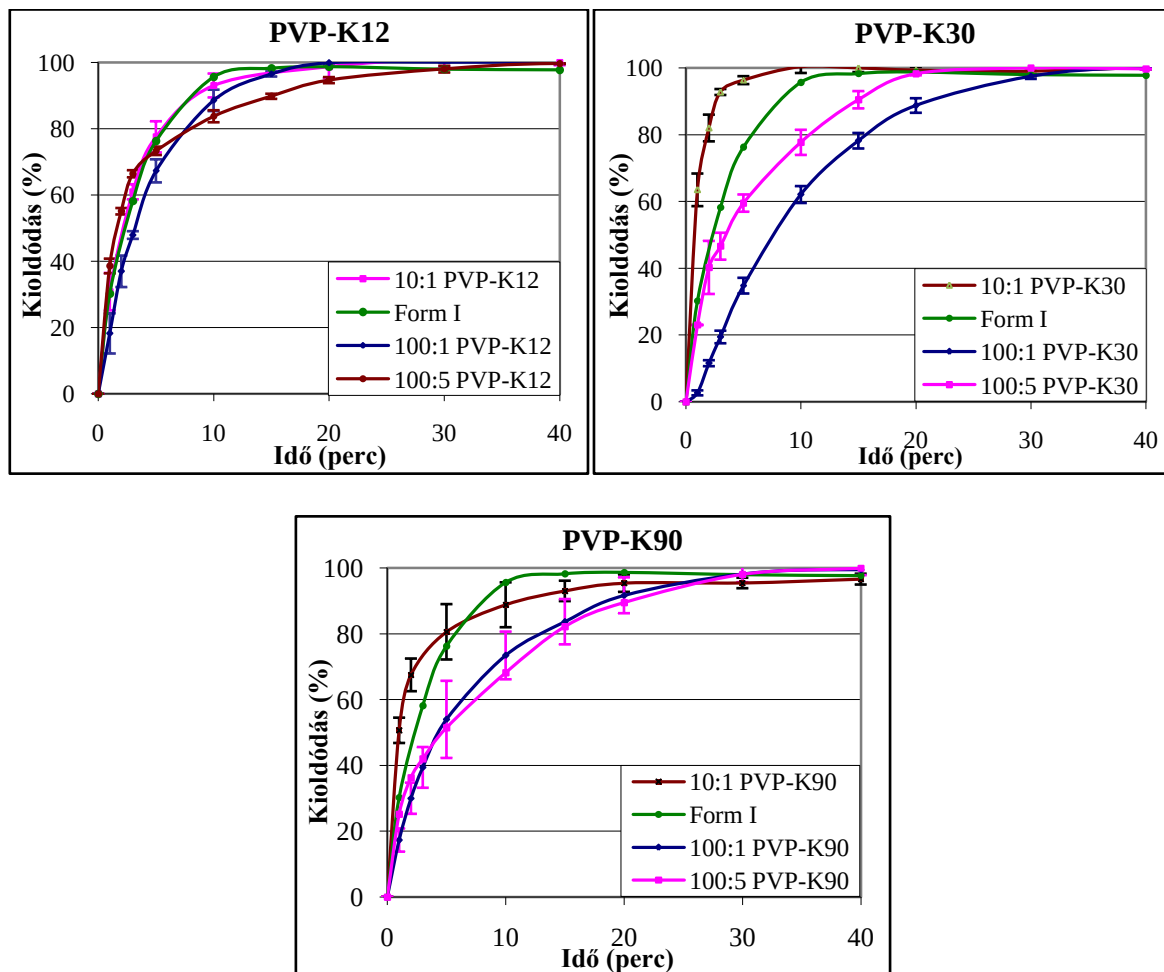


25. ábra Segédanyag nélkül és PVP jelenlétében kristályosított famotidin termékek Carr-indexe

A 25. ábrán ismételten vízszintes piros vonallal jelöltem a kiváló gördülékenységű szemcsehalmozatra jellemző Carr-index felső határát. Ez alapján megállapítható, hogy a famotidin Form B módosulatának rossz gördülékenységét nem csak a lejtőszög értéke, hanem az anyaghalmoz Carr-indexe is mutatja. A tús kristályok Hausner-aránya a tömöríthetőség vizsgálatok alapján 1,37-nek adódott, mely – a gyógyszerkönyvi szabvány alapján – segédanyagokkal javítható. PVP alkalmazásával a Carr-indexek és a Hausner-arányok alapján a lehető legjobb gördülékenységű és folyási tulajdonságú kristályos hatóanyagot állítottam elő, tehát segédanyag alkalmazásával minden esetben sikerült kedvező formulálási tulajdonságot elérni.

A kristályos famotidin végtermékek kioldódását 4,5 pH-jú acetát pufferben vizsgáltam, referenciaként a famotidin Form A módosulatát használtam. A PVP-K12 jelenlétében kristályosított termékek kioldódás profilja közel azonos volt a referenciáéval, a hatóanyag 100%-a már a 20. percre kioldódott. A nagyobb polimerizációs fokú PVP-K30 és PVP-K90 jelenlétében kristályosított famotidin termékek kioldódása azonban kis mértékben eltért a referenciától. 10:1 arányú polimer alkalmazásával mindkét molekulatömeg esetén meredekebb volt a görbe lefutása mint a referenciáé, azaz gyorsabb volt a kioldódás. Ez a szemcseméret eloszlással magyarázható, ugyanis PVP-K30 és PVP-K90 jelenlétében is a polimer koncentrációjának növekedésével nőtt a kisebb méretű kristályos fázis mennyisége. A kisméretű szemcsék gyors beoldódását a nagyobb frakció kristályainak lassabb beoldódása

követte. A hatóanyag teljes mennyisége nagyobb molekulatömegű polivinil-pirrolidon jelenlétében a 30. percre oldódott ki.

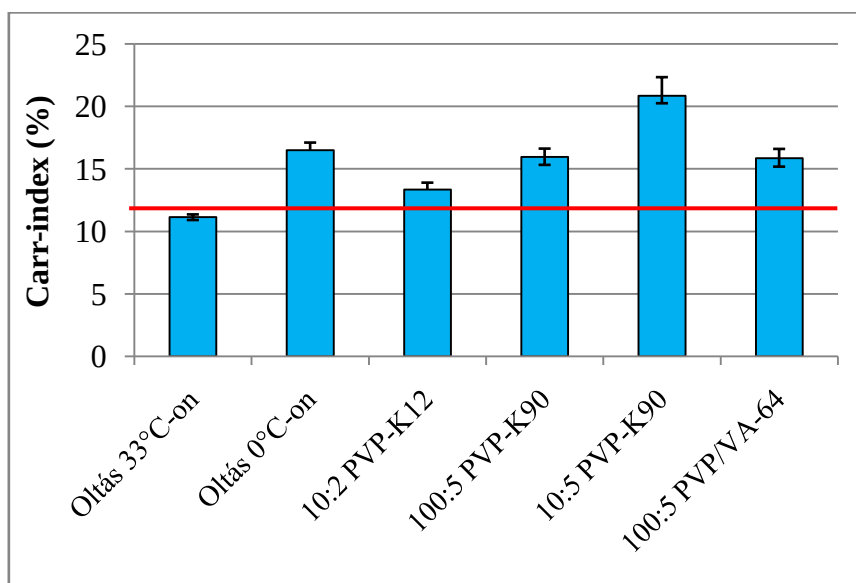


26. ábra Különböző molekulatömegű PVP-vel kristályosított famotidin kioldódás görbéi

Kísérleteim során az alkalmazott polivinil-pirrolidon jelentős mértékben javította a famotidin formulálási tulajdonságait, ám bizonyos esetekben nagyobb méretű aggregátumok kialakulásához vezetett. A 100:1 arányú PVP-K30-as kísérlettel előállított famotidin egyedi morfológiája mellett a kristályos termék sima felületű, gömb alakú szemcséi néhol elérték a 3 mm átmérőt. Mindez befolyásolja a hatóanyag tablettán belüli homogén eloszlását, a kioldódási tulajdonságokat, s a hatóanyagok direkt préselése során a tabletták szilárdsága is növekedhet a szemcsenagyság csökkenésével. Ennek függvényében további célom a polimer előnyös habitus módosító effektusának megtartásával kisebb szemcseméretű famotidin termék előállítása volt. Ehhez a 100:1 tömegarányú PVP jelenlétében végzett hűtési kristályosítások során ultrahangos besugárzást alkalmaztam.

4.2.7. Gabapentin végtermékek készítménytechnológiai jellemzése

Az oltással előállított és a különböző mennyiségű polivinil-pirrolidon valamint poli(vinil-pirrolidon)-vinil-acetát kopolimer jelenlétében kristályosított gabapentin termékek gördülékenységét a famotidinhez hasonló módon kifolyási és tömöríthetőségi vizsgálatokkal jellemeztem. A minősítés a 3.4. fejezetben ismertetett gyógyszerkönyvi szabványok szerint történt.



27. ábra Oltásos kristályosítással és segédanyagok alkalmazásával előállított gabapentin termékek Carr-indexe

A 27. ábrán a kiváló gördülékenység felső határát a korábbiakhoz hasonló módon vízszintes piros vonallal jelöltem. Láthatjuk, hogy a Carr-indexek alapján, a 33°C-on történő oltásos kristályosítást kivéve egyik esetben sem sikerült kiváló gördülékenységgű hatóanyagot előállítanom. A készítménytechnológiai segédanyagok jelenlétében kristályosított termékek *jó*, valamint *megfelelő* gördülékenységgű szemcsehalmazként jellemezhetők.

A tömöríthetőségi vizsgálatokból kiszámított Hausner-arányok alapján is hasonló következtetéseket vonhatunk le. *Jó*, illetve *segédanyagokkal javítható* gördülékenységgű kristályos végtermék keletkezett. A kísérleti eredményeket a 11. táblázat szemlélteti.

Az oszlopos habitusú, hasáb alakú kristályokból álló szemcsehalmazok kifolyási vizsgálata során a kifolyási idő végtelennek adódott, a kristályos végtermék a habitusnak köszönhetően minden esetben beboltozódott.

11. táblázat Segédanyagok nélkül és segédanyagok jelenlétében kristályosított gabapentin végtermékek Hausner-aránya

Kísérlet, alkalmazott polimer	Gabapentin:polimer tömegarány	Hausner-arány (-)	Gördülékenység
Oltás 33°C-on	-	1,13±0,01	jó
Oltás 0°C-on	-	1,19±0,02	jó
PVP-K12	10:2	1,15±0,02	jó
PVP-K90	100:5	1,19±0,02	jó
	10:5	1,26±0,05	segédanyagokkal javítható
PVP/VA-64	100:5	1,18±0,02	jó

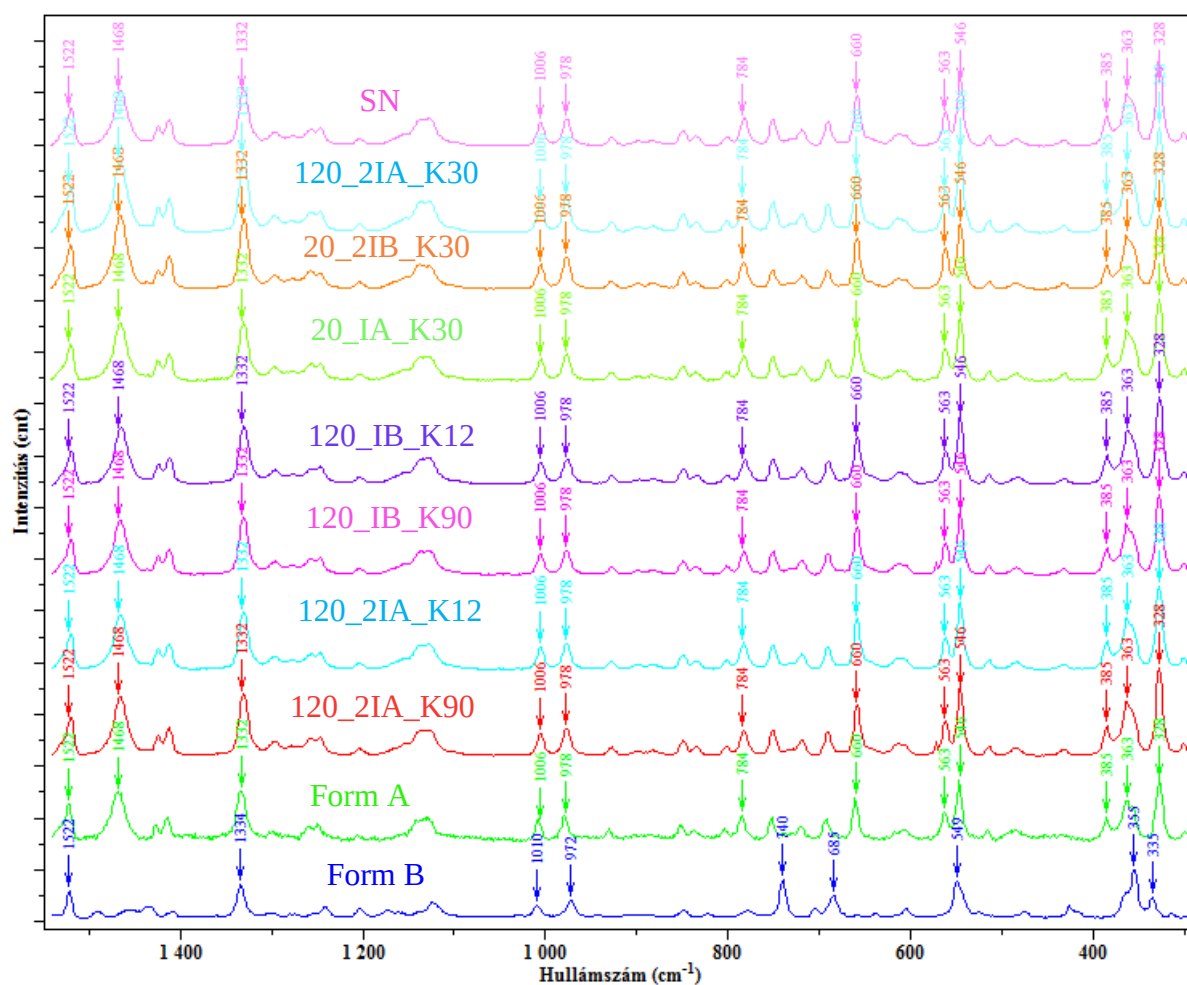
Gabapentin segédanyagos kristályosítása során a PVP-K90-et 10:5 hatóanyag:segédanyag tömegarányban alkalmazva tapasztaltam jelentősebb mértékű szemcseméret csökkentő hatást, azonban a termékre két egymástól elkülönülő méretű szemcsefrakció volt jellemző, mely készítménytechnológiai szempontból (gördülékenység) kedvezőtlen. Így a továbbiakban alternatív módszerként gabapentin hűtéses kristályosítása során ultrahangos besugárzást alkalmaztam, mely a gócképződés sebességének növelésével egységesebb szemcseméret eloszlású és kisebb szemcseméretű terméket eredményezhet.

A famotidin és gabapentin szonokristályosításainak pontos paraméterei a 3.3.3. kísérleti módszerek fejezetben olvashatók.

4.3. Famotidin és gabapentin szonokristályosítása

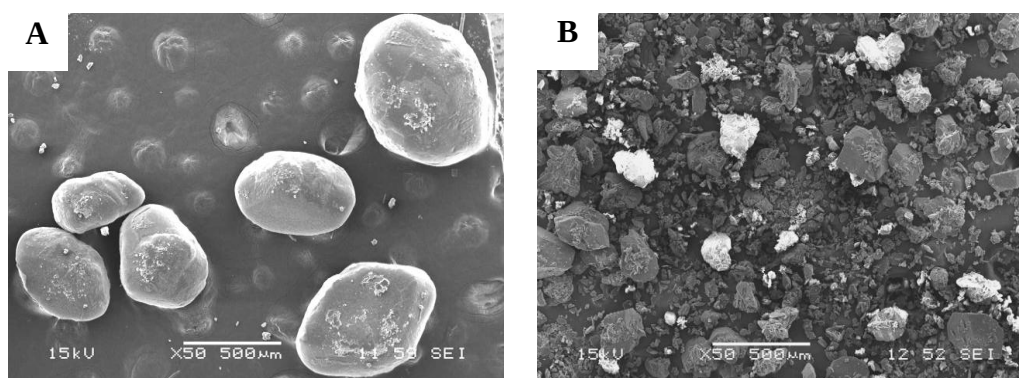
4.3.1. Szonokristályosítással előállított famotidin morfológiai jellemzése

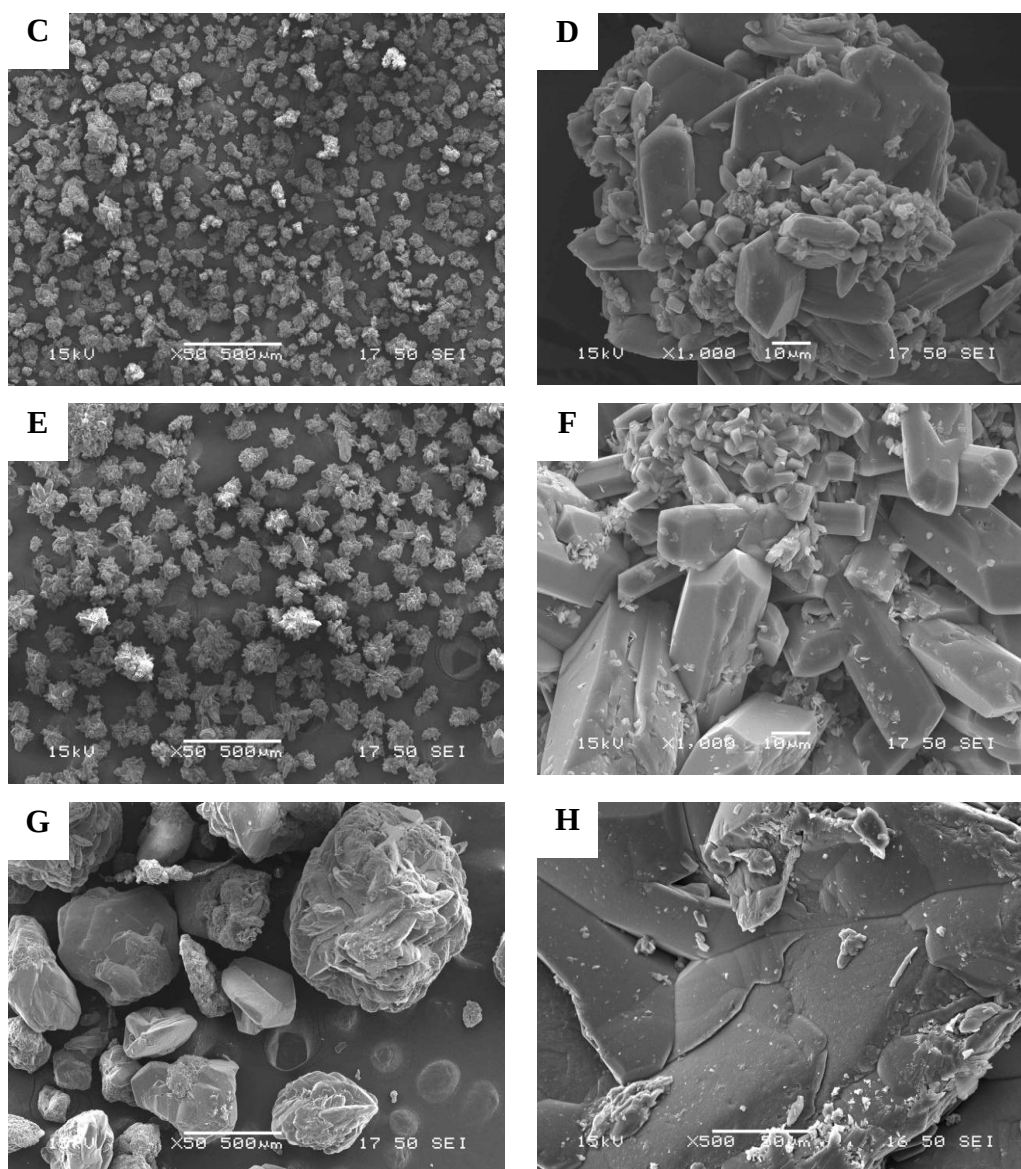
Famotidin segédanyag nélküli és polivinil-pirrolidon jelenlétében elvégzett szonokristályosításakor az inszonáció paramétereitől függetlenül a famotidin Form A termodinamikailag stabil módosulata vált ki. A referencia Form A és Form B spektrumok, valamint az off-line Raman spektrometriás vizsgálatok végeredményei a 28. ábrán láthatók.



28. ábra Ultrahangos besugárzás jelenlétében kristályosított famotidin off-line Raman spektrumai

Az elektronmikroszkópos vizsgálatok eredményét, a polimer, valamint az ultrahangos besugárzás paramétereinek morfológia módosító hatását logikailag három egységre tagolva ismertetem.



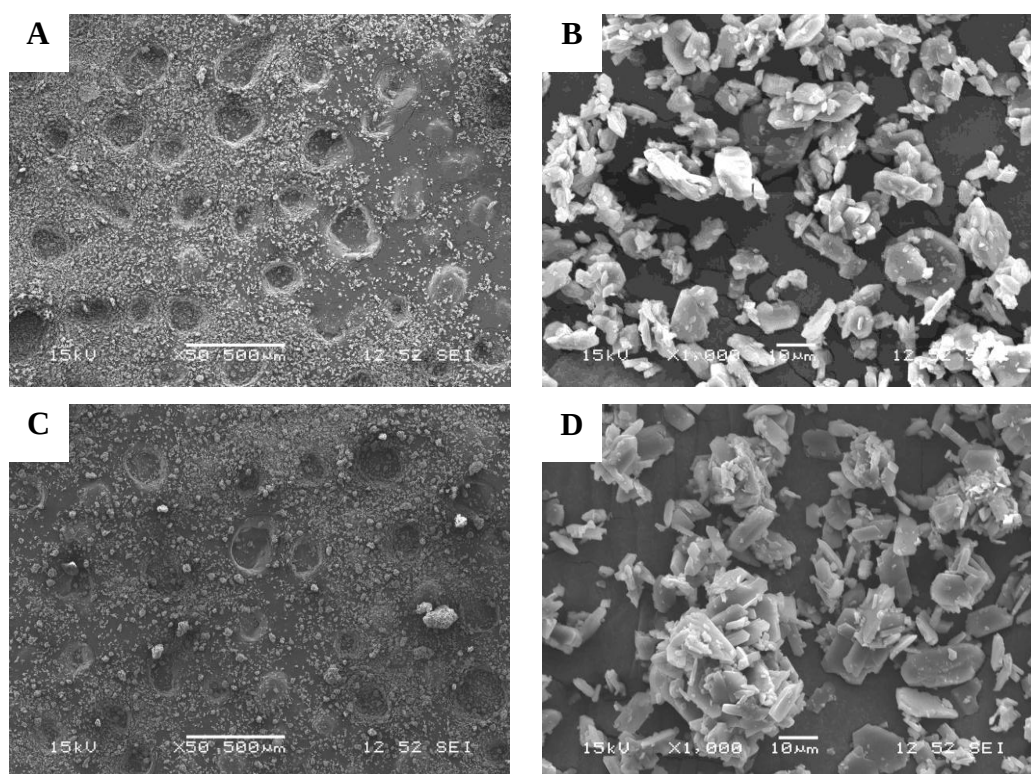


29. ábra 100:1 arányú famotidin:PVP-K30 szonokristályosításában keletkezett ill. referencia termékek SEM felvételei: A) inszonáció nélküli, B) segédanyag nélküli, C-D) 120_2IA_K30-as, E-F) 20_2IB_K30-as, G-H) 20_IA_K30-as kísérlet

A termékekről készített elektronmikroszkópos felvételeken jól látszik, hogy a kristályos termék szemcseméretét jelentős mértékben befolyásolja a szonotród teljesítménye és az inszonációs periódusok száma. Az ultrahangos besugárzás során jóval kisebb méretű részecskéket sikerült előállítani, mint segédanyagos kristályosítással (29. ábra A, B). 60%-os (120 W) szonotród teljesítmény mellett segédanyag nélkül (29. ábra B) polidiszperz rendszer keletkezett. A különböző méretű szemcsefrakciók jelenléte a további feldolgozás során a szemcsehalmaz fajtázódása miatt problémát jelenthet. PVP és ultrahang együttes alkalmazásával két periódusban, a metastabil tartomány teljes szakszán belüli inszonációval azonban sikerült homogén szemcseméret eloszlású rendszereket előállítani. A szonotród

teljesítményének csökkentése nagyobb méretű kristályaggregátumok megjelenését eredményezte (29. ábra C-F). Az aggregátumok átmérője 60%-os (120 W) teljesítmény mellett 100 μm , míg 10%-os (20 W) teljesítmény mellett jellemzően 200 μm volt. Az aggregátumok mindkét esetben különböző méretű, oszlopos habitusú kristályokból épülnek fel. Az inszonációt nem két, hanem egy periódusban a metastabil tartomány kezdeti szakaszában (86-74°C) alkalmazva 10%-os (20 W) szonotród teljesítmény mellett nem tapasztaltam jelentősebb morfológiai változást a referencia, ultrahang alkalmazása nélküli folyamathoz képest (29. ábra A, G-H). Az aggregátumok mérete közel azonos (500 μm -1 mm), felületük azonban kevésbé sima, mint inszonáció nélküli esetben. A 86-74°C közötti ultrahangos besugárzás tehát nem okoz változást sem a gócképződés, sem a kristálynövekedés folyamatában.

Ezt követően egy periódusban alkalmazott folyamatos inszonációval vizsgáltam a PVP molekulatömegének hatását a famotidin kristályok alakjára, méretére és szemcseméret eloszlására.

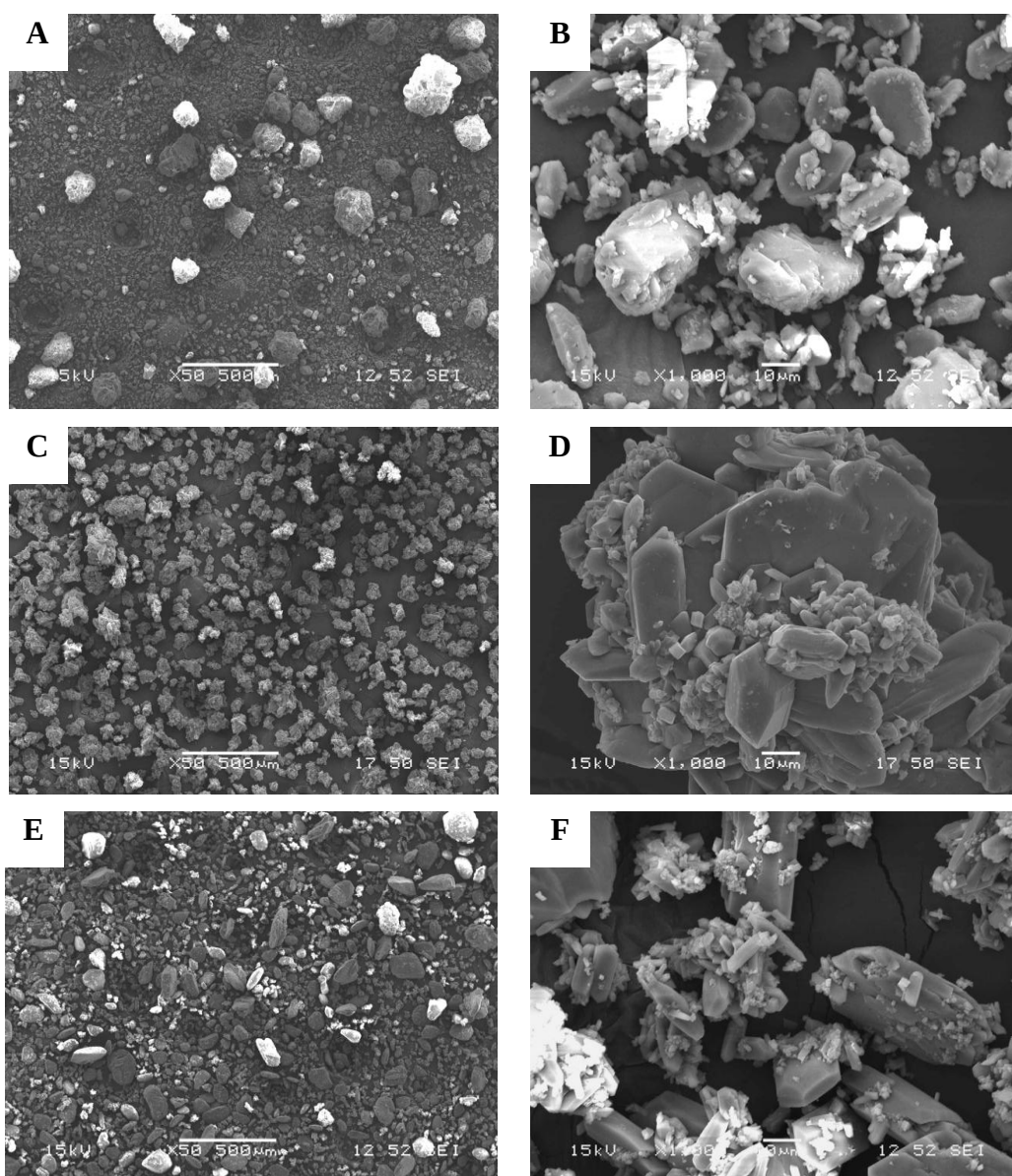


30. ábra 100:1 arányú famotidin:PVP szonokristályosításában keletkezett termékek SEM felvételei: A-B) 120_IB_K12-es, C-D) 120_IB_K90-es kísérlet

60%-os szonotród teljesítmény mellett egyperiódusú, folyamatos inszonációt alkalmazva (86-63°C) a polimer molekulatömege nem befolyásolta a végtermék morfológiáját. PVP-K12 (30. ábra A-B) és a nagyobb molekulatömegű PVP-K90 (30. ábra C-D) jelenlétében is szűk

szemcseméret eloszlású, közelítőleg 10 µm nagyságú kristályokat tartalmazó szemcsehalmoz keletkezett. PVP-K90 jelenlétében néhol laza szerkezetű agglomerátumok képződtek, melyek már kisebb mechanikai hatásra is egyedi kristályokra estek szét. Az ultrahangos besugárzás időtartamának és intenzitásának növelése tehát kisméretű, homogén eloszlású famotidin Form A módosulatot eredményezett.

A továbbiakban a polimer molekulatömegének hatását tanulmányoztam a szonotród teljesítményének maximálása (60%, 120 W) és az inszonáció két periódusban (86-80°C; 67-58°C) történő alkalmazása mellett.

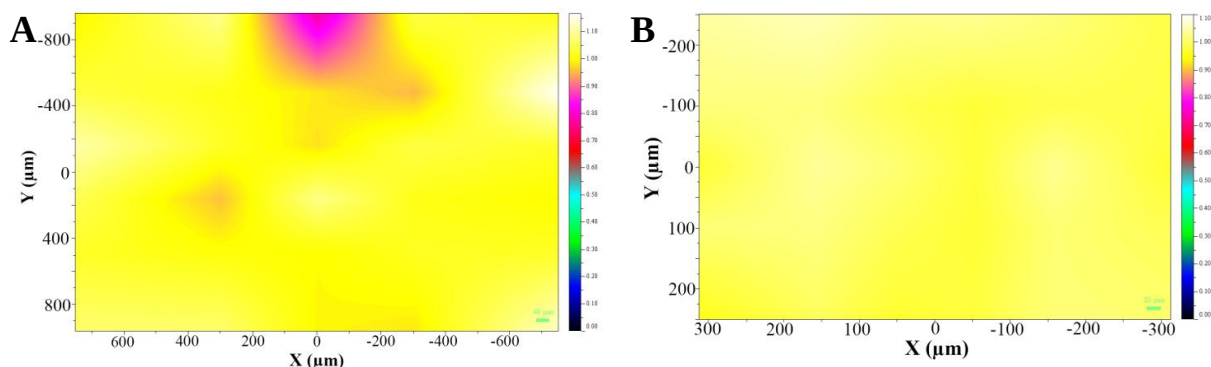


31. ábra 100:1 arányú famotidin:PVP szonokristályosításában keletkezett termékek SEM felvételei: A-B) 120_2IA_K12-es, C-D) 120_2IA_K30-as, E-F) 120_2IA_K90-es kísérlet

Ilyen paraméterek mellett PVP-K30 jelenlétében kisméretű, homogén szemcseméret eloszlású, 100 µm átmérőjű aggregátumok keletkeztek (31. ábra C-D). PVP-K12 (31. ábra A-B) és PVP-K90 (31. ábra E-F) jelenlétében azonban különböző méretű szemcsefrakciók alakultak ki, a felvételek alapján a szemcseméret eloszlás viszonylag széles tartományt fed le. A kristályhabitus mindkét esetben kissé módosult, jellemzőek a lekerített szélű aggregátumok. A szemcseméret eloszlást tekintve ilyen körülmények között a PVP-K30 bizonyult a leghatékonyabbnak.

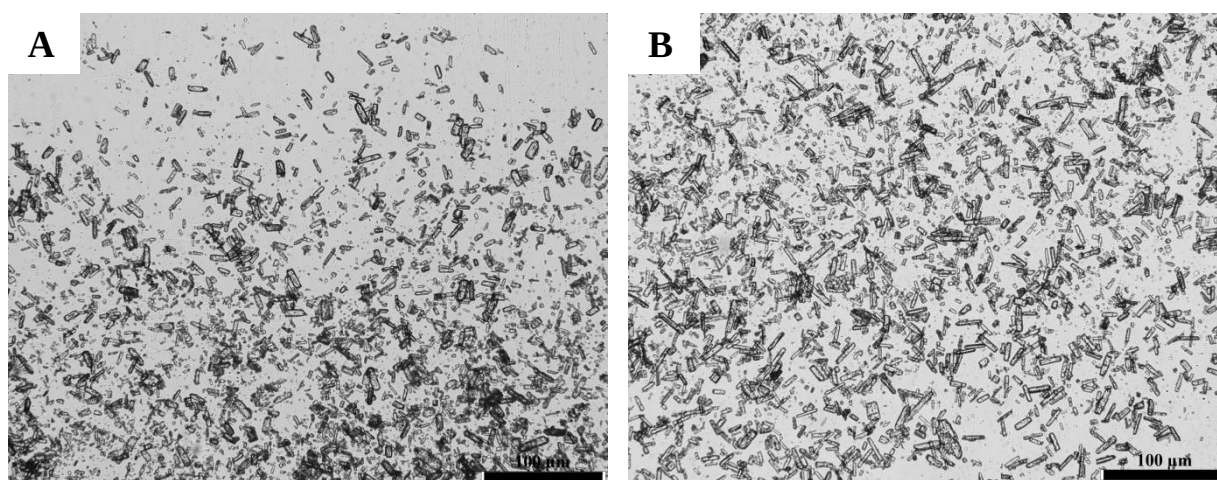
4.3.2. Szonokristályosítással előállított gabapentin morfológiai jellemzése

A szonokristályosított gabapentin termékek homogenitását Raman térképek felvételével igazoltam, s összehasonlítottam az ultrahangos besugárzás nélküli hűtéses és segédanyagok jelenlétében végzett hűtéses kristályosítás végtermékével. Minden esetben a hatóanyag Form II polimorfját azonosítottam. A 32. ábrán segédanyag és inszonáció nélküli nagy szemcseméretben kristályosodott gabapentin, illetve az egyik szonokristályosításban előállított kisebb szemcseméretű termék Raman térképe látható. A térképeket összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy a szemcseméret különbségek miatt a CLS módszerrel történő kiértékelés szerint a termék Form II polimorf eloszlása nem minden esetben volt 100%. A nagyobb szemcseméretű hűtéses kristályosítással előállított termékénél a spektrumok között jelentős relatív intenzitásarány változást tapasztaltam, a termodinamikailag stabil módosulat eloszlása nem mindenhol adódott 100%-nak. A szemcsék orientációjából adódó polarizációs hatások azonban a kisebb szonokristályosított szemcsék esetén kiátlagolódtak. Ennek értelmében a szonokristályosított gabapentin spektrális koncentrációja Form II polimorfra nézve homogénebb képet ad, mint a nagyobb kristályokból álló inszonáció nélküli termék. Más módosulatokra jellemző Raman eltolódásokat egyik termékben sem azonosítottam, tehát az inszonáció nélküli esethez hasonlóan ultrahangos kezelés hatására is a gabapentin termodinamikailag stabil Form II módosulata kristályosodott.



32. ábra Kristályosított gabapentin termékekről készített Raman térkép, a Form II polimorf módosulat eloszlása A) segédanyag nélküli 33°C-on beoltott rendszer; B) 100 W-os inszonáció mellett szonokristályosított rendszer esetén

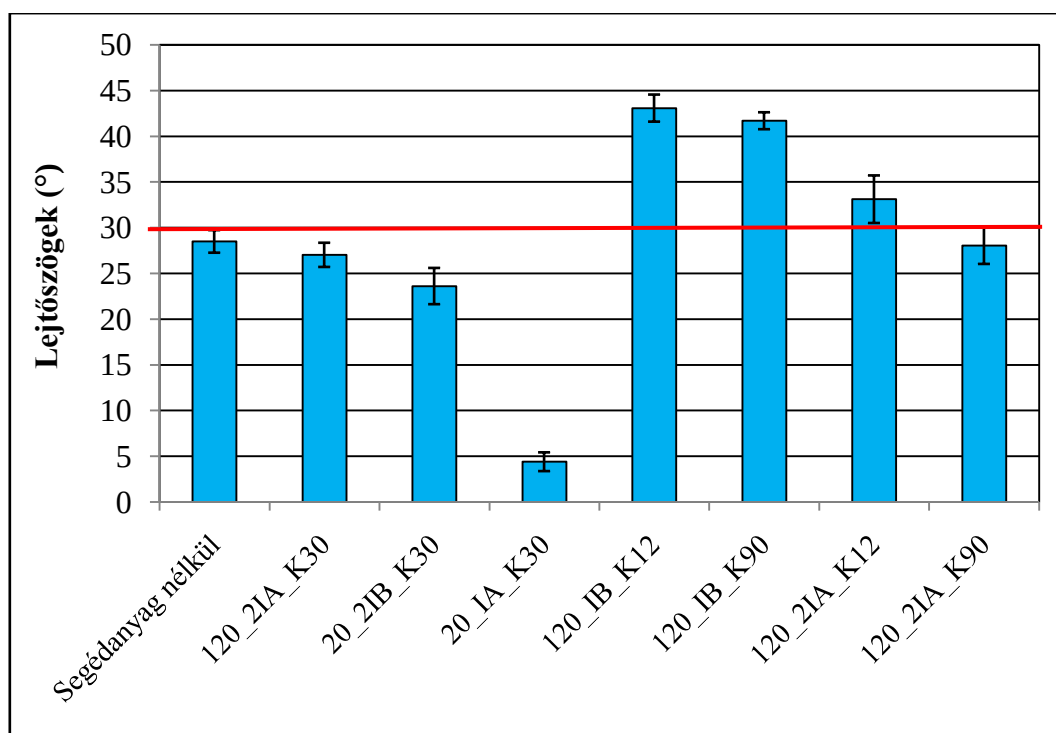
Szonokristályosított gabapentinről készített optikai mikroszkópos felvételek alapján megállapíthatjuk, hogy ultrahangos besugárzással a kristályos végtermék több tulajdonságát is sikerült javítani (33. ábra). Az ultrahang nukleációt gyorsító hatása révén az átlagos szemcseméret jelentősen lecsökkent. Monodiszperz rendszer keletkezett, a szemcseméret eloszlás egyetlen Gauss-görbével jellemezhető. Spontán gócképződés ment végbe, a metastabil zóna szélessége lecsökkent, a kristályhabitus nem változott. Az inszonáció teljesítménye a végtermék szemcseméretét a famotidinhez hasonló módon befolyásolta. Nagyobb, 100 W-os besugárzás esetén 6 μm (33. ábra A), kisebb 20 W-os szonotród teljesítmény mellett 12 μm -es frakció kristályosodott (33. ábra B). A famotidinhez hasonlóan nagyobb szonotród teljesítmény kisebb szemcseméretű termék kiválását eredményezte.



33. ábra Szonokristályosított gabapentin termékek azonos nagyítású (10x) optikai mikroszkópos felvételei: A) 100 W szonotród teljesítmény; B) 20 W szonotród teljesítmény mellett

4.3.3. Szonokristályosítással előállított famotidin készítménytechnológiai jellemzése

A segédanyagos kristályosításokhoz hasonlóan a szonokristályosítások során előállított famotidin gördülékenységet is kifolyási, valamint tömöríthetőségi vizsgálatokkal jellemeztem. A gördülékenységet minden esetben a kiszámolt Carr-indexből, Hausner-arányból, valamint a kétoldali lejtőszögek becsléséből határoztam meg.

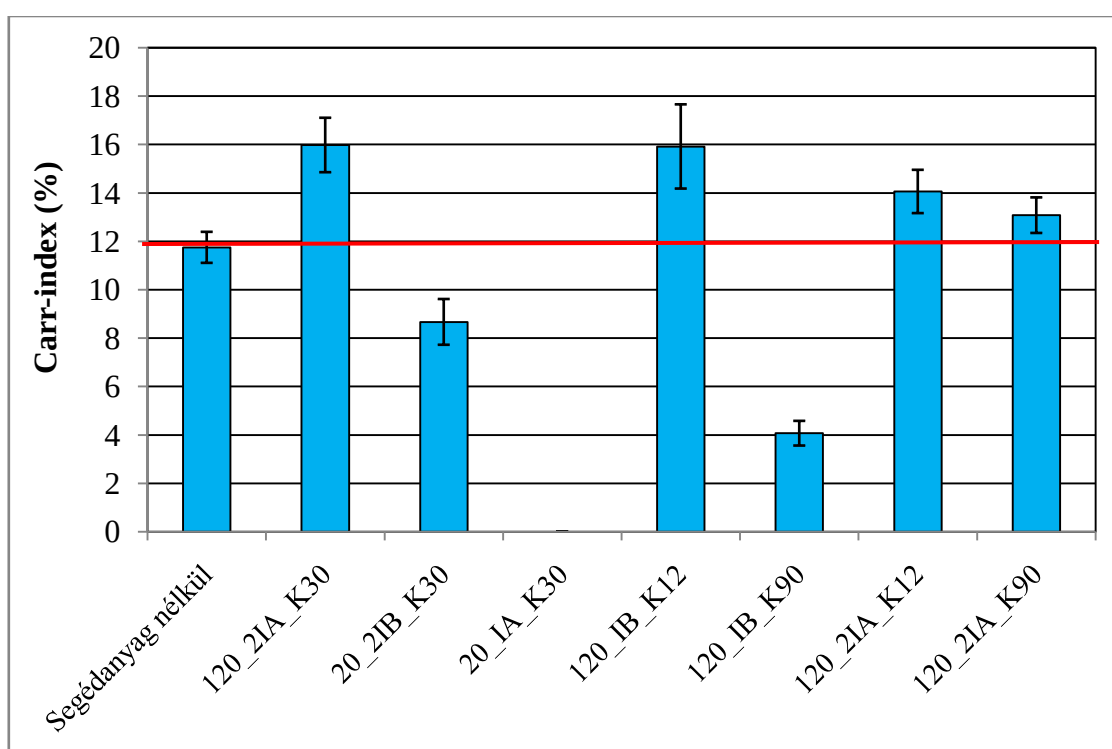


34. ábra Szonokristályosítással előállított famotidin termékek lejtőszögei

A lejtőszögeket ábrázoló fenti diagramról megállapítható, hogy nem minden esetben sikerült *kiváló* folyási tulajdonságú szemcsehalmazt előállítani. A kategória felső határát ez esetben is vízszintes vonal jelzi. Maximális szonotród teljesítmény és egy periódusban történő folyamatos inszonáció mellett (120_IB_K12 és 120_IB_K90 kísérletek) hiába sikerült a szemcseméretet a polimer molekulatömegétől függetlenül 10 μm -re csökkenteni, a famotidin folyási tulajdonságai jelentősen romlottak. Ennek oka a többnyire lapos, anizometrikus kristályokból álló, néhol laza agglomerátumokat alkotó szemcsehalmaz. Azokban az esetekben, amikor különböző méretű szemcsefrakciók keletkeztek, a kristályhalmaz gördülékenysége a *kiváló* és a *jó* kategória határán helyezkedett el (segédanyag nélküli, 120_2IA_K12 és 120_2IA_K90 kísérletek). Tehát ez esetben nem a polimer jelenléte vagy molekulatömege határozta meg a folyási tulajdonságokat, hanem a diszperzitás. A legjobb gördülékenységu terméknek a 10%-os szonotród teljesítmény és egy inszonációs periódus

mellett előállított famotidin bizonyult (20_1A_K30). Azonban a morfológiai vizsgálatok során megállapítottuk, hogy a kristályok szemcsemérete nem változott az inszonáció nélküli esethez képest, mivel a 86-74°C közötti ultrahangos besugárzás nem befolyásolja sem a gócképződés, sem a kristálynövekedés folyamatát. Így készítménytechnológiai szempontból a legmegfelelőbb végterméknek - a részecskeméretet és folyási tulajdonságokat is figyelembe véve- a PVP-K30 jelenlétében, két inszonációs periódussal előállított famotidin bizonyult, az intenzitástól függetlenül (120_2IA_K30, 20_2IB_K30) 100 ill. 200 μm nagyságú és *kiváló* gördülékenyséű famotidin kristályok keletkeztek.

A tömöríthetőségi vizsgálatokkal hasonló eredményre jutottam.



35. ábra Szonokristályosítással előállított famotidin termékek Carr-indexe

12. táblázat Szonokristályosítással előállított famotidin termékek Hausner-aránya

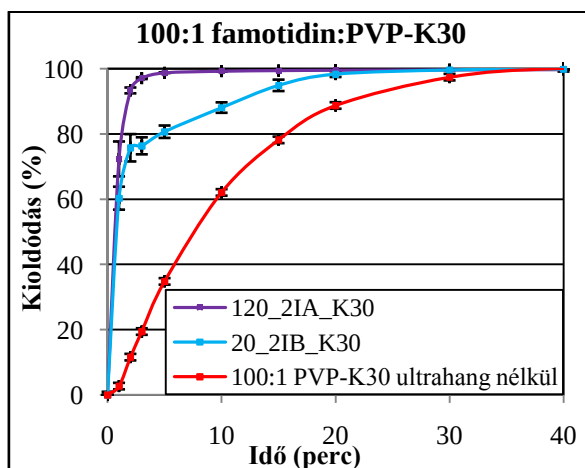
Kísérlet	Famotidin:PVP tömegarány	Hausner-arány (-)	Gördülékenység
Segédanyag nélkül	100:0	1,13±0,02	jó
120_2IA_K30	100:1	1,19±0,04	jó
20_2IB_K30	100:1	1,10±0,03	jó
20_IA_K30	100:1	1,00±0,00	jó
120_IB_K12	100:1	1,19±0,06	jó
120_IB_K90	100:1	1,04±0,01	jó
120_2IA_K12	100:1	1,16±0,03	jó
120_2IA_K90	100:1	1,15±0,02	jó

Szonokristályosítással a Carr-indexek alapján *kiváló* és *jó* gördülékenyséű végtermékek keletkeztek, az eredmények közel azonosak a kifolyási vizsgálat eredményeivel. Szembetűnő, hogy a diagramon a 10%-os szonotród teljesítmény és egy inszonációs periódus mellett végzett kísérlethez (20_IA_K30) nem tartozik oszlop, így szórás érték sem. Több párhuzamos mérés során minden esetben azt tapasztaltam, hogy annyira jó a szemcsehalmoz tömörödése, hogy a tömörített és töltött oszlop térfogata is megegyezik, így a Carr index értéke zérus. A Hausner arányokat tartalmazó táblázat adatai alapján is minden esetben a lehető legjobb minőségű kategóriába (*jó*) tartozó famotidin keletkezett.

A fentieket összegezve megállapítható, hogy a legjobb készítménytechnológiai tulajdonságú végtermék a 100:1 tömegarányú PVP-K30 jelenlétében a metastabil tartomány teljes szakaszában, két periódusban történő inszonációval (20_2IB_K30) előállított famotidin lett. A *kiváló* gördülékenység megtartásával sikerült a szemcseméretet ötödére csökkentenem.

A kifolyás és tömöríthetőségi vizsgálatok eredményei alapján a PVP-K30 jelenlétében két inszonációs periódussal előállított famotidin termékek kioldódását 4,5 pH-jú acetát pufferben vizsgáltam. Referenciaként a 4.2.6. fejezetben ismertetett 100:1 arányú famotidin:PVP-K30-as kísérlet *kiváló* gördülékenységű végtermékét használtam. A szonokristályosított termékek kioldódásprofilja eltért az ultrahangos besugárzás nélkül előállított famotidinhez képest. A hatóanyag 100%-a 20 W szonotród teljesítmény mellett a 20. percre, 120 W szonotród teljesítmény mellett pedig már a 10. percre kioldódott. Ultrahang távollétében a teljes kioldódás lassabban, mintegy fél óra alatt ment végbe. A szonokristályosított termékek kioldódás görbéi jóval nagyobb meredekségűek, mint a referenciáé. Ennek oka a végtermékek különböző szemcsemérete. Ultrahangos besugárzással a referenciára jellemző 1-3 mm átmérőjű szemcseméretet a *kiváló* gördülékenység

megtartásával sikerült 200 µm-re (20 W szonotród teljesítmény) illetve 100 µm-re (120 W szonotród teljesítmény) csökkentenem. Ennek megfelelően a kisebb méretű szemcsék gyorsabb beoldódása nagyobb meredekségű kioldódás görbéket eredményezett.



36. ábra PVP-K30 jelenlétében kristályosított famotidin kioldódás görbéi

4.3.4. Szonokristályosítással előállított gabapentin készítménytechnológiai jellemzése

Az oltásos és segédanyagok kristályosításokhoz hasonlóan a szonokristályosítások során előállított gabapentin gördülékenységét is kifolyási, valamint tömöríthetőségi vizsgálatokkal jellemeztem. A kifolyási vizsgálatok során az ultrahangos besugárzás nélküli esethez hasonlóan a kifolyási idő végtelennek adódott. A tömöríthetőségi vizsgálatokból számított Carr-index és Hausner-arány értékeket a 13. táblázat tartalmazza.

13. táblázat Szonokristályosított gabapentin termékek Carr-indexe és Hausner-aránya

Szonotród teljesítmény (W)	Carr index (%)	Hausner arány (-)
20	22,90	1,30±0,00
100	22,36	1,28±0,03

A Hausner-arányok és Carr-indexek alapján a kisebb (20 W) és nagyobb (100 W) teljesítményű inszonáció mellett kristályosított gabapentin gördülékenysége is *megfelelő* lett. Bár ultrahangos besugárzással nem sikerült kiváló gördülékenységű végterméket előállítani, a kristályok átlagos szemcseméretét sikerült csökkenteni monodiszperz rendszer keletkezése mellett.

4.3.5. Szonokristályosított végtermékek polimer tartalmának meghatározása

A szonokristályosítások során kiszűrt famotidin termékek polimer tartalmát vékonyréteg kromatográfiával vizsgáltam. Egyik esetben sem találtam polivinil-pirrolidont a termékben, így a mintákat ^1H -NMR-rel nem vizsgáltam.

A gabapentin szonokristályosítását segédanyagok nélkül végeztem, így polimer tartalom meghatározására nem volt szükség.

5. Összefoglalás

A gyógyszerhatóanyagok kedvezőtlen formulálási tulajdonságainak javítására szolgáló gyógyszeripari megoldások mellett új irányvonalnak számít speciális kristályosítási eljárásként a segédanyagos kristályosítás, a szonokristályosítás pedig ritkán alkalmazott ipari technológia. A segédanyagok alkalmazásával tervszerűen módosítható a végtermék átlagos szemcsemérete, szemcseméret eloszlása és morfológiája. Mindemellett a gyógyszeriparban rendkívül fontos a technológiák kontrollálása, s a folyamatok szabályozása. Emiatt elengedhetetlen a kristályosítási folyamatok pontosabb megértése, a folyamat-paraméterek és a termékminőség közötti összefüggések megállapítása. A kristályosítási folyamatok tanulmányozására és szabályozására lehetőséget teremt a valós idejű Raman spektrometria, mely összhangban van a legújabb gyógyszeripari fejlesztési törekvésekkel (PAT). A fentiek értelmében munkám célja a famotidin és gabapentin gyógyszerhatóanyag morfológiájának tervszerű változtatása volt speciális kristályosítási technikákkal annak érdekében, hogy a végtermék morfológiája a formulálási követelményeknek eleget tegyen; továbbá a kristályosítási folyamatok nyomon követése és feltérképezése valós idejű Raman spektrometria alkalmazásával.

Famotidin vizes hűtéses kristályosítása során lineáris hűtési profil mellett a hatóanyag rossz gördülékenységgű, tús habitusú, így granulálást mindenképpen igénylő kinetikailag preferált Form B módosulata vált ki. A valós idejű Raman spektrumok kiértékelésével megállapítottam, hogy a kristályosodás 71°C-on indult meg, s a teljes kristálykiválás 36 perc alatt ment végbe. Gabapentin metanolban történő hűtésével oltás mellett a termodinamikailag stabil Form II polimorfot jellemzően oszlopos kristályhabitussú, nagy szemcseméretű termékként kristályosítottam, melyet feldolgozása során az iparban kedvezőtlen technológiai lépésként elsőként örölnék. Következésképpen direkt préseléses tablettázásra egyik hagyományosan kristályosított hatóanyag sem alkalmas.

Az ultrahang nélküli segédanyagos kristályosításokat különböző hatóanyag:polivinil-pirrolidon tömegarányban, három különböző molekulatömegű polimerrel (PVP-K12, PVP-K30, PVP-K90) és poli(vinil-pirrolidon)-vinil-acetát (PVP/VA-64) kopolimerrel végeztem. ***Famotidin esetén segédanyag jelenlétében minden esetben polimorfia változás*** történt. In-line Raman detektálással, off-line Raman spektrometriás és röntgen por-diffrakciós vizsgálatokkal a famotidin termodinamikailag stabilabb Form A módosulatát azonosítottam. A kristálykiválás a polivinil-pirrolidon nélküli esethez képest alacsonyabb hőmérsékleten indult meg, továbbá a polimer molekulatömegének növekedésével a kiválás sebessége

csökkent. A polivinil-pirrolidon tehát mind a gócképződés, mind a kristálynövekedés folyamatát gátolta. Kristályosodást gátló és növekedésorientáló hatásának köszönhetően a molekulatömeg és a koncentráció függvényében változatos habitusú és szemcseméret eloszlású termék kiválását eredményezte. A növekedésorientáló hatás a hatóanyag és a segédanyag között kialakuló másodrendű kölcsönhatásokkal magyarázható. A habitusváltozás eredményeképpen sikerült ***kiváló gördülékenységű, direkt préselésre alkalmas famotidint*** előállítanom.

További célom a PVP előnyös habitusmódosító effektusának megtartásával kisebb szemcseméretű famotidin előállítása volt. Ennek érdekében 100:1 famotidin:PVP tömegarányú rendszerek szonokristályosítását vizsgáltam. Az ultrahangos besugárzást főként az indukciós periódusban alkalmazva kívántam – a gócképződés sebességét gyorsítva – a keletkező kristálygócok számát növelni, majd a kristálynövekedésben az inszonációt megszüntetve a polimer növekedés orientáló hatását megtartani. A végtermékek off-line Raman spektrometriás vizsgálata során ez esetben is a famotidin Form A polimorfját azonosítottam. Kifolyási és tömöríthetőségi vizsgálatok alapján a legjobb készítménytechnológiai tulajdonságú termék 100:1 tömegarányú, PVP-K30-as kristályosításban, 10%-os (20 W) szonotród teljesítmény mellett két periódusban történő inszonációval keletkezett. A ***kiváló gördülékenység megtartásával a famotidin szemcseméretét 200 µm-re sikerült csökkentenem*** a kiindulási 1-3 mm-hez képest.

Gabapentin segédanyagos ***kristályosítása során*** habitus és polimorfia változás egyik esetben sem történt, ám ***PVP-K90-et*** 10:5 hatóanyag:segédanyag tömegarányban ***alkalmazva jelentős szemcseméret csökkenést*** (23 µm) figyeltem meg. Ezt követően ***szonokristályosítással a hatóanyag*** kereskedelmi forgalomban kapható polimorfját az ultrahang jótékony hatásából adódóan ***homogén, szűk szemcseméret eloszlásban*** és a készítménytechnológiai feldolgozhatóságot megkönnyítve ***jelentős szemcseméret csökkentéssel (6 µm) állítottam elő***. Ily módon lehetőség nyílik a technológiai szempontból kedvezőtlen mikronizálás felváltására.

A fentieket összegezve megállapítható, hogy a segédanyagos és szonokristályosításokat, mint speciális kristályosítási eljárásokat sikeresen alkalmaztam a tús habitusú, kedvezőtlen formulálási tulajdonságú famotidin és az őrlést igénylő gabapentin morfológiájának módosítására. Valós idejű Raman spektrometriás detektálással feltártam a kristályosodási folyamatok kinetikai hátterét, illetve a PVP kristályosodás folyamatában kifejtett hatásmechanizmusát.

6. Irodalomjegyzék

- [1] Farkas, T., Vatai, G., Cséfalvay, E., Deák, A., Hanák, L., Mika, L.T., Mizsey, P., Sawinsky, J., Simándi, B., Szánya, T., Székely, E., Vágó, E., Vegyipari műveletek II . Anyagátadó műveletek és kémiai reaktorok, *Typotex*, Budapest, **2012**.
- [2] Hórvölgyi, Z., A nanotechnológia kolloidkémiai alapjai, *Typotex*, Budapest, **2011**.
- [3] Farkas, B., Révész, P., Kristályosítástól a tablettázásig, *Universitas Szeged Kiadó*, Szeged, **2007**.
- [4] BSI, Nanoparticles - Vocabulary PAS 71:2011., (2011).
- [5] Sangwal, K., Additives and Crystallization Processes, *Wiley & Sons, Ltd.*, **2007**.
- [6] Garnier, S., Petit, S., Gerard, C., Influence of supersaturation and structurally related additives on the crystal growth of a -lactose monohydrate, 234 (2002) 207–219.
- [7] Berkovitch-Yellin, Z., Leiserowitz, L., Addadi, L., Idelson, M., Lahav, M., Crystal Morphology Engineering by “Tailor-Made” Inhibitors: A New Probe to Fine Intermolecular Interactions, (1985).
- [8] Suzuki, H., Sunada, H., Influence of water-soluble polymers on the dissolution of nifedipine solid dispersions with combined carriers, *Chem. Pharm. Bull.* 46 (1998) 482.
- [9] Tantishaiyakul, V., Kaewnopparat, N., Ingkatawornwong, S., Properties of solid dispersions of piroxicam in polyvinylpyrrolidone., *Int. J. Pharm.* 181 (1999) 143–51.
- [10] Zhu, Q., Harris, M.T., Taylor, L.S., Modification of Crystallization Behavior in Drug/Polyethylene Glycol Solid Dispersions., *Mol. Pharm.* 9 (2012) 546–553.
- [11] Ma, X., Taw, J., Chiang, C.-M., Control of drug crystallization in transdermal matrix system., *Int. J. Pharm.* 142 (1996) 115–119.
- [12] Mackellar, A., Buckton, G., Newton, J., Chowdhry, B., Orr, C., The controlled crystallisation of a model powder: 1. The effects of altering the stirring rate and the supersaturation profile, and the incorporation of a surfactant (poloxamer 188)., *Int. J. Pharm.* 112 (1994) 65–78.
- [13] Mirza, S., Miroshnyk, I., Heinämäki, J., Rantanen, J., Antikainen, O., Vuorela, P., Vuorela, H., Yliruusi, J., Hydroxypropyl methylcellulose-controlled crystallization of erythromycin A dihydrate crystals with modified morphology., *Cryst. Growth Des.* 8 (2008) 3526–3531.
- [14] Usui, F., Maeda, K., Kusai, A., Ikeda, M., Nishimura, K., Yamamoto, K., Dissolution improvement of RS-8359 by the solid dispersion prepared by the solvent method., *Int. J. Pharm.* 170 (1998) 247–256.

- [15] Raghavan, S.L., Trividic, A., Davis, A., Hadgraft, J., Crystallization of hydrocortisone acetate: influence of polymers., *Int. J. Pharm.* 212 (2001) 213–21.
- [16] Luthala, S., Kinoshita, E., Yliruusi, J., X-Ray-Powder Diffraction study of carbamazepine crystals grown in surfactant solutions., *Acta Pharm. Nord.* (1992) 283–290.
- [17] Femi-Oyewo, M.N., Spring, M.S., Studies on paracetamol crystals produced by growth in aqueous solutions, *Int. J. Pharm.* 112 (1994) 17–28.
- [18] Ahmed, M., Rhgigh, A., Shakeel, F., Effect of Surfactants on the Crystal Properties and Dissolution Behavior of Aspirin, *Asian J. Res. Chem.* 2 (2009) 202–206.
- [19] Lu, G.W., Hawley, M., Smith, M., Geiger, B.M., Pfund, W., Characterization of a novel polymorphic form of celecoxib., *J. Pharm. Sci.* 95 (2006) 305–17.
- [20] Martínez-Ohárriz, M.C., Martín, C., Goñi, M.M., Rodríguez-Espinosa, C., Trosilarduya, M.C., Zornoza, a, Influence of polyethylene glycol 4000 on the polymorphic forms of diflunisal., *Eur. J. Pharm. Sci.* 8 (1999) 127–32.
- [21] Adhiyaman, R., Basu, S.K., Crystal modification of dipyrindamole using different solvents and crystallization conditions., *Int. J. Pharm.* 321 (2006) 27–34.
- [22] Nokhodchi, A., Bolourtchian, N., Dinarvand, R., Dissolution and mechanical behaviors of recrystallized carbamazepine from alcohol solution in the presence of additives, *J. Cryst. Growth.* 274 (2005) 573–584.
- [23] Kumar, S., Chawla, G., Bansal, A.K., Role of additives like polymers and surfactants in the crystallization of mebendazole., *Yakugaku Zasshi.* 128 (2008) 281–9.
- [24] Usui, F., Maeda, K., Kusai, A., Nishimura, K., Inhibitory effects of water-soluble polymers on precipitation of RS-8359, *Int. J. Pharm.* 154 (1997) 59–66.
- [25] Murphy, D., Rodriguez-Hornedo, N., Significance of Controlling Crystallization Mechanisms and Kinetics in Pharmaceutical Systems, *J. Pharm. Sci.* 88 (1999) 651–660.
- [26] Ziller, K., Rupprecht, H., Control of Crystal Growth in Drug Suspensions, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 14 (1988) 2341–2370.
- [27] Garekani, H. a, Ford, J.L., Rubinstein, M.H., Rajabi-Siahboomi, a R., Highly compressible paracetamol: I: crystallization and characterization., *Int. J. Pharm.* 208 (2000) 87–99.
- [28] Simonelli, A.P., Mehta, S.C., Higuchi, W.I., Sulfathiazole Crystal Growth by Polyvinylpyrrolidone, *J. Pharm. Sci.* 59 (1970) 633–638.
- [29] Xie, S., Poornachary, S.K., Chow, P.S., Tan, R.B., Direct precipitation of micron-size salbutamol sulfate: New insights into the action of surfactants and polymeric additives., *Cryst. Growth Des.* 10 (2010) 3363–3371.

- [30] Lyn, L.Y., Sze, H.W., Rajendran, A., Adinarayana, G., Dua, K., Garg, S., Crystal modifications and dissolution rate of piroxicam., *Acta Pharm.* 61 (2011) 391–402.
- [31] Nagaraju, R., Penchala Prathusha, A., Subhash Chandra Bose, P., Kaza, R., Bharathi, K., Preparation and Evaluation of Famotidine Polymorphs., *Curr. Drug Discov. Techn.* 7 (2010) 106–116.
- [32] Richards, W.T., Loomis, A.I., The Chemical Effects of High Frequency Sound Waves I. A Preliminary Survey, *J. Am. Chem. Soc.* 49 (1927) 3086–3100.
- [33] Young, F.R., *Cavitation*, McGraw-Hill, **1989**.
- [34] Luque de Castro, M.D., Priego-Capote, F., Ultrasound-assisted crystallization (sonocrystallization)., *Ultrason. Sonochem.* 14 (2007) 717–24.
- [35] Ruecroft, G., Hipkiss, D., Ly, T., Maxted, N., Cains, P.W., Sonocrystallization : The Use of Ultrasound for Improved Industrial Crystallization, 9 (2005) 923–932.
- [36] Arakelyan, V., Effect of ultrasound on crystal growth from melt and solution, *Acta Phys. Hungarica.* 61 (1987) 185–187.
- [37] Bund, R.K., Pandit, A.B., Sonocrystallization: effect on lactose recovery and crystal habit., *Ultrason. Sonochem.* 14 (2007) 143–52.
- [38] Xie, X., Ren, X., Li, J., Hu, X., Wang, Z., Preparation of Small Particle Sized ZnAl-Hydrotalcite-Like Compounds by Ultrasonic Crystallization, *J. Nat. Gas Chem.* 15 (2006) 100–104.
- [39] Amara, N., Ratsimba, B., Wilhelm, A.-M., Delmas, H., Crystallization of potash alum: effect of power ultrasound., *Ultrason. Sonochem.* 8 (2001) 265–70.
- [40] Anderson, H.W., Carbery, J.B., Staunton, H.F., Sutradhar, B.C., Crystallization of adipic acid, *U.S. Pat.* 5 471 001 (1995).
- [41] Nishida, I., Precipitation of calcium carbonate by ultrasonic irradiation, *Ultrason. Sonochem.* 11 (2004) 423–428.
- [42] Craig, S., Jones, D.A., Process for the production of paroxetine hydrochloride propan-2-ol solvate, *World Pat. WO.* 00/32597 (1999).
- [43] McCausland, L.J., Production of crystalline materials by using high intensity ultrasound, *World Pat. WO.* 03/101577 (2003).
- [44] Abbas, A., Srour, M., Tang, P., Chiou, H., Chan, H.-K., Romagnoli, J. a., Sonocrystallisation of sodium chloride particles for inhalation, *Chem. Eng. Sci.* 62 (2007) 2445–2453.
- [45] Rauls, M., van Gelder, R., Wagner, K., Bernard, H., Crystallisation process using ultrasound, *EP* 1281420 B1, 2005.

- [46] Ruecroft, G., Hipkiss, D., Ly, T., Maxted, N., W: Cains, P., Sonocrystallization: The use of Ultrasound for Improved Industrial Crystallization, *Org. Process Res. Dev.* 9 (2005) 923–932.
- [47] F  votte, G., In situ raman spectroscopy for in-line control of pharmaceutical crystallization and solids elaboration processes: A review, *Chem. Eng. Res. Des.* 85 (2007) 906–920.
- [48] Wang, F., Wachter, J.A., Antosz, F.J., Berglund, K.A., An Investigation of Solvent-Mediated Polymorphic Transformation of Progesterone Using in Situ Raman Spectroscopy, *Org. Process Res. Dev.* 4 (2000) 391–395.
- [49] Jiang, S., H. ter Horst, J., Jansens, P.J., Control over Polymorph Formation of o-Aminobenzoic Acid, *Cryst. Growth Des.* 10 (2010) 2541–2547.
- [50] Caillet, A., Rivoire, A., Galvan, J.-M., Puel, F., F  votte, G., Crystallization of monohydrate citric acid. 1. In situ monitoring through the joint use of Raman spectroscopy and image analysis., *Cryst. Growth Des.* 7 (2007) 2080–2087.
- [51] Ono, T., Ter Horst, J., Jansens, P., Quantitative Measurement of the Polymorphic Transformation of L-Glutamic Acid Using In-Situ Raman Spectroscopy., *Cryst. Growth Des.* 4 (2004) 465–469.
- [52] Falcon, J.A., Berglund, K.A., Monitoring of Antisolvent Addition Crystallization with Raman Spectroscopy., *Cryst. Growth Des.* 3 (2003) 947–952.
- [53] Parminder, A., Kris A., B., In Situ Monitoring of Calcium Carbonate Polymorphs during Batch Crystallization in the Presence of Polymeric Additives Using Raman Spectroscopy, *Cryst. Growth Des.* 3 (2003) 941–946.
- [54] Bod, P., Hars  nyi, K., Heged  s, B., Bogsch, E., Fekecs,   ., P  ter, I., Trischler, A. Zs., Miszori, S., Stiller, M., Process for the preparation of morphologically homogeneous forms of thiazole derivatives, 4,894,459, 1990.
- [55] Hassan, M. A., Salem, M. S., Sueliman, M. S., Najib, N.M., Characterization of famotidine polymorphic forms, *Int. J. Pharm.* 149 (1997) 227–232.
- [56] Heged  s, B., Bod, P., Hars  nyi, K., P  ter, I., K  lm  n, A., P  rk  nyi, L., Comparison of the polymorphic modifications of famotidine, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 7 (1989) 563–569.
- [57] Ferenczy, G. G., P  rk  nyi, L.,   ngy  nd, J.G., K  lm  n, A., Heged  s, B., Crystal and electronic structure of two polymorphic modifications of famotidine. An experimental and theoretical study, *J. Mol. Struct. THEOCHEM.* 503 (2000) 73–79.
- [58] Hsu, C-H. Ke, W-T. Lin, S.-Y., Progressive Steps of Polymorphic Transformation of Gabapentin Polymorphs Studied by Hot-stage FTIR Microspectroscopy, *J. Pharm. Sci.* 13 (2010) 67–77.

- [59] Braga, D. Grepioni, F. Maini, L. Rubini, K. Polito, M. Brescello, R. Cotarca, L. Duarte, M.T. Andre', V. Fatima, M. Piedade, M., Polymorphic gabapentin: thermal behaviour, reactivity and interconversion of forms in solution and solid-state, *New J. Chem.* 32 (2008) 1788–1795.
- [60] Reece, H.A. Levendis, D.C., Polymorphs of gabapentin, *Acta Crystallogr.* 64 (2008).
- [61] Pesachovich, M., Shmuel G., Singer, C., Saba K., Pilarski, G., Preparation of Gabapentin, US 6255526B1, 2001.
- [62] Bercovici, S., Sasson, S., Konstantin, K., Process for preparing gabapentin, US 2004/0034248 A1, 2004.
- [63] Peverali, D., Fornaroli, M., Velardi, F., Process for the production of 1-(aminomethyl)-cyclohexyl-acetic acid in pure form, US 6518456 B1, 2003.
- [64] Chen, L.R., Babu, S.R., Calvitt, C.J., Tobias, B., Anhydrous crystalline forms of gabapentin, US 6,800,782 B2, 2004.
- [65] Montero, M.C.B., Method for preparing polymorph form II of gabapentin, EP 2183211 A1, 2010.
- [66] Kumar, I. V. S., Ramanjaneyulu, G. S., Satyanarayana, C., Novel polymorph of gabapentin and its conversion to gabapentin form-II, WO2004110342 A2, 2004.

Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt köszönetet mondok témavezetőmnek, Dr. Marosi Györgynek és a kutatócsoportban dolgozó doktoránsoknak, munkatársaknak.

A legnagyobb köszönet konzulensemnek, Dr. Pataki Hajnalkát illeti, aki végtelen türelemmel és állandó instrukciókkal, jó tanácsokkal segített és támogatott munkámban.

Továbbá köszönettel tartozom Dr. Csontos Istvánnak és Igricz Tamásnak a kísérletek és műszeres mérések során nyújtott segítségükért.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm szüleimnek, családomnak és barátomnak, hogy tanulmányaim során mindenben támogatnak.