

# Polimer mátrixok hatóanyag-leadásának stabilitása

Doktori tézisek

**Szente Virág**

Semmelweis Egyetem  
Gyógyszertudományok Doktori Iskola



Konzulens: Dr. Zelkó Romána egyetemi tanár, az MTA doktora

Hivatalos bírálók: Dr. Bácskay Ildikó egyetemi adjunktus, Ph.D.  
Dr. Budai Lívía egyetemi adjunktus, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Török Tamás professor emeritus, az  
orvostudományok doktora

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Révész Piroska egyetemi tanár, D.Sc.  
Dr. Ludányi Krisztina egyetemi docens, Ph.D.

Budapest  
2015

## Bevezetés

A gyógyszerkészítmények hatóanyag-felszabadulásának módját, valamint sebességét egyrészt a fiziológiás környezet, másrészt a készítmény fizikai és kémiai paramétereai határozzák meg. A hordozó hatóanyag-leadása a megfelelő segédanyagok, a gyógyszerforma szerkezeti felépítése és a gyógyszer technológiai eljárás megválasztásával tervezhető, így a hatóanyag tulajdonságainak és a terápiás célnak megfelelő gyógyszert állíthatunk elő.

Napjaink modern gyógyszer technológiájában széles körben alkalmaznak különböző típusú polimereket gyógyszerkészítmények segéd-, hordozó- valamint csomagolóanyagaként. A gyógyszerkészítményekben történő alkalmazás hosszú időtartamú stabilitást követel meg, azonban a leggyakrabban használt polimerek nincsenek egyensúlyi állapotban, környezeti hatásra átalakuláson mennek keresztül, ami az anyagban jelentős szerkezeti változással járhat együtt. A segédanyag stabilitásának változása a gyógyszerforma stabilitását is befolyásolja, amely a hatóanyag-felszabadulás mértékét és profilját, következésképpen a készítmény biohasznosíthatóságát jelentősen módosíthatja.

E segédanyagok funkcióval összefüggő sajátosságainak ellenőrzése hosszú időtartamú tárolás, ill. a különböző fizikai-kémiai módszerek kombinációjával lehetséges. Ilyen típusú vizsgálatokra jelenleg a gyógyszerkönyvek (Ph. Eur., Ph. Hg. VIII., USP), hasonlóan a gyógyszerellenőrzés szabályozórendszeréhez, a szükségesnél kisebb figyelmet fordítanak. A stabilitásvizsgálatok során hagyományosan a gyógyszerformában végbemenő kémiai stabilitást vizsgáljuk, valamint a gyógyszerforma fizikai változásait követjük. Polimer típusú gyógyszerhordozó rendszerek esetében azonban szükséges lehet a polimer, valamint a polimer-hatóanyag közötti fizikai-kémiai változások követése is. Már a preformuláció során érdemes feltárni nemcsak az elsődleges kémiai kötéseket, hanem az ún. „gyenge kötőerőket” érintő interakciókat, mert ezek a készítmény hatóanyag-leadásának stabilitását módosíthatják.

# Célkitűzés

Munkám során célul tűztem ki:

- polimer típusú segédanyagok szűrését szabályozott hatóanyag-leadású gyógyszerforma előállításához,
- a segédanyagok előzetes szűrővizsgálatának eredménye alapján szabályozott hatóanyag-leadást biztosító tabletták formulálását,
- a gyógyszerforma fizikai öregedésének vizsgálatát stressz tárolási körülmények (relatív nedvességtartalom, hőmérséklet, tárolási idő) között,
- a tárolt tabletták kioldódás-vizsgálatát, valamint a hatóanyag-felszabadulás kinetikájának elemzését a segédanyag fizikai öregedésének szempontjából,
- a polimer segédanyag szerkezetváltozása és a hatóanyag-felszabadulás közötti kapcsolat feltárását.

A kísérletes munkám során az alábbi kérdésekre kerestem a választ:

- Hogyan alakul a hatóanyag-polimer rendszer fizikai stabilitása a terhelés hatására?
- Hogyan függ a változás a hatóanyag, ill. a polimer segédanyag fizikai és kémiai tulajdonságaitól?
- Hogyan függ a változás a hatóanyag és segédanyag között létrejövő másodlagos kötésektől?
- Mennyire befolyásolja a mikroszerkezetben végbemenő változás a hatóanyag-felszabadulás stabilitását?

# Módszerek

A modellkísérlet során metronidazol és famotidin hatóanyagot alkalmaztam. Hatóanyagoként 3-3 különböző összetételű tablettát készítettem. A formulált tabletták 30 mg hatóanyagot, 30 mg hidrofil mátrixképzőt: povidont vagy Kollidon SR-t vagy Carbopol 71G-t és 119,2 mg mikrokristályos cellulóz és 1,8 mg magnézium-sztearát lubrikánst tartalmaztak.

Homogenizálást követően 8 mm átmérőjű kerek, lapos, metszett élű tablettákat állítottam elő közvetlen préseléssel, kézi üzemmódban Diaf típusú excenteres tablettázógéppel (Diaf TM20, Dánia).

A porvizsgálatokhoz a hatóanyag és az alkalmazott mátrixképző segédanyag 1:1 arányú homogenizált keverékeit használtam.

Az elkészített tablettákat és porkeverékeket gumidugós, jól záró üvegben tároltam 40°C-on 75%-os relatív páratartalomban 1, 2 és 4 hétig.

A formulák kioldódási vizsgálatait SR8 Plus (Hanson Research, USA) típusú készülékben végeztem  $37 \pm 0,5$  °C-ra temperált, 900 ml térfogatú pH= 1,2 és pH= 6,8 kioldóközegekben. A keverőlapátok forgatási sebessége 75 rpm volt.

A hatóanyag mennyiségét előzetes szűrést (10 mikron) követően UV-spektrofotometriás módszert alkalmazva, online kapcsolt Agilent 8453 típusú spektrofotométeren mértem. A kiértékelés famotidin hatóanyag esetén 266 nm (pH= 1,2) és 274 nm (pH= 6,8) hullámhosszon, metronidazol esetén pedig 277 nm (pH= 1,2) és 320 nm (pH= 6,8) hullámhosszon végeztem.

A kioldódási görbék kiértékelésénél lineáris regresszió, valamint a Microsoft Excel Solver funkciója segítségével a 3 párhuzamos mérés eredményeiből kapott átlag görbékre négy különböző, a hatóanyag-leadási profilra jellemző függvényt illesztettem, és meghatároztam az illesztések korrelációs együtthatóit. Az alkalmazott modellek az alábbiak voltak:

a) Nulladrendű modell

A hatóanyag-leadás sebessége állandó:

$$M_t/M_\infty = kt \quad (1)$$

$M_t$ : a t időpontig leadott hatóanyag-mennyiség

$M_\infty$ : a maximálisan leadható hatóanyag-mennyiség

$k$ : a hatóanyag-leadás sebességi állandója

b) Elsőrendű modell

A gyógyszerformában lévő hatóanyag mennyisége időben exponenciálisan csökken, a hatóanyag-leadás sebessége a még ki nem oldódott hatóanyag mennyiségével arányos.

$$M_t/M_\infty = 1 - \exp(-kt) \quad (2)$$

c) Higuchi-modell

Elsősorban planáris mátrixokra alkalmazott modell, de más alakú rendszerekre is használható ( $K$ =állandó).

$$M_t/M_\infty = K t^{1/2} \quad (3)$$

d) Ritger és Peppas szemempirikus modellje

$$M_t/M_\infty = K t^n \quad (4)$$

Az egyenletben a  $K$  állandó,  $n$  pedig a hatóanyag-leadás típusára jellemző kitevő. Ha  $n$  értéke 0,5, a mechanizmus a Fick-transzportot közelíti, míg  $n \approx 1$  esetén nulladrendű kinetikával jellemezhető a hatóanyag-leadás.

A kioldódási görbék modell-független összehasonlítását az illeszkedési faktorok alapján végeztem.

Különbözőségi faktor:

$$f_1 = \{[\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|] / [\sum_{t=1}^n R_t]\} \times 100 \quad (5)$$

Hasonlósági faktor:

$$f_2 = 50 \times \log \{[1 + (1/n) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2]^{-0,5} \times 100\} \quad (6)$$

ahol  $n$  a mintavételi időpontok száma,  $R_t$  az eredeti,  $T_t$  a módosított készítményből adott időpontig kioldódott hatóanyag százalékos mennyisége. A hasonlóknak mondott görbék esetében  $f_1$  értéke 0-hoz közeli,  $f_2$  pedig 50 és 100 közötti érték.

Az FT-IR vizsgálatokhoz 1:200 arányú KBr-pasztyillákat készítettem a vizsgált porkeverékekből. A spektrumokat 400 - 4000  $\text{cm}^{-1}$  tartományban vettem fel 4  $\text{cm}^{-1}$ -es felbontásban JASCO FT/IR-4200 (JASCO, Japán) spektrométerrel, a végső görbék 16 felvétel átlagából tevődnek össze. A spektrumok értékelésénél a mért karakterisztikus sávok alapján azonosítottam a molekulában lévő kötések, csoportokat és azok változásait.

Az elméleti számítások során a hosszú polimer láncokkal történő vizsgálatra, ezért az elemzéshez dimer egységeket használtam. A Kollidon SR esetén a szerkezet miatt vinil-pirrolidon dimert és vinil-acetát dimert is vizsgáltam. Minden *ab initio* számolást a Gaussian programmal végeztem, DFT számítási módszert, B3LYP funkcionált és 3-21G\*, valamint 6-31G++ bázist alkalmaztam.

Az összetettebb szerkezetű famotidin hatóanyag esetén a mikroszerkezeti változásokat is mutató, pozitron élettartam spektroszkópiás vizsgálatokat is végeztem. A szabadtérfogat üregméreteinek és az üregméret-eloszlások változásának nyomon követésére pozitronélettartam-spektroszkópiát alkalmaztam. A mérésekhez  $10^5$ Bq aktivitású  $^{22}\text{Na}$ -sugárforrást használtam. A fotondetektorok  $\text{BaF}_2$  szcintillátor-kristályokból és XP2020Q gyors fotoelektron-sokszorozókból épültek fel. Az elektronika standard ORTEC egységekből állt. Az élettartam-spektrumokat egy Nucleus sokcsatornás analízátor-kártya gyűjtötte 4096 csatornába 9.6 ps-os csatornaidővel. A berendezés időfelbontása 200 ps volt. Mintánként öt spektrumot vettem fel.

A felvett élettartam-spektrumokat kétféle módszerrel értékeltem ki: a RESOLUTION programmal meghatároztam a pozitron állapotok átlagos élettartamait, a MELT programmal folytonos élettartam-eloszlásokat is számoltam.

A szupramolekuláris szerkezetváltozás követésére az annihilációs sugárzás energia-eloszlását Doppler-spektroszkópiával mértem. A Doppler-spektrométer egy nagytisztaságú germánium-detektorból (Detector Systems GmbH, PGC1517), egy spektroszkópiai erősítőből (Canberra 2026) és egy Nucleus sokcsatornás analízátor-kártyából állt. A Doppler-spektrumokat 1024 csatornában regisztráltam, az annihilációs csúcs teljes területe kb. 256 csatorna volt. A berendezés energiefelbontása 510 keV-nál 1,1 keV volt.

## Eredmények

- Neminvazív mikroszerkezet vizsgáló (FTIR és PALS) és *in silico* módszerek kombinációjával értékeltem a famotidin és metronidazol hatóanyagú hidrofil polimer mátrixtabletták hatóanyag-felszabadulásának stabilitását.
- A hatóanyag-felszabadulás profiljának tárolás során bekövetkező változását a szupramolekuláris szerkezetváltozással követtem.
- A számítások alapján a metronidazol nagyon erős hidrogénhidas kapcsolatokat képes kialakítani a Carbopol-láncokkal. A tárolás során kialakuló kölcsönhatás miatt a polimerben jelenlévő hatóanyag-részecskék akadályozzák a polimer expanszióját, duzzadását, amelynek hatására fokozódnak az eróziós folyamatok,

így gyorsabb hatóanyag-leadást eredményeznek. Savas közegben a Carbopol duzzadása nem teljes, nagyon gyors, szinte pillanatszerű kioldódás tapasztalható. A povidon és származéka esetében a metronidazol és a polimer között sokkal gyengébbek a kapcsolatok. Ezért a kioldódás sebessége nem változik tárolás során, az adszorbeált vízmolekulák nem változtatják meg jelentősen a hatóanyag-polimer kapcsolatokat.

- A famotidin tartalmú tabletták vizsgálatai alapján a Carbopolos formula hatóanyag-felszabadulása stabilnak tekinthető, amelyet mind a PALS és FT IR vizsgálatok, mind pedig a molekulaszervezeti számítások is alátámasztanak. Ez utóbbi magyarázható azzal, hogy a famotidin-Carbopol közötti kötés energiája kicsi, így a vízfelvétel nem okoz másodlagos kötésfelbomlással járó szerkezetváltozást. A famotidin a molekulaszervezeti számítások alapján erős másodlagos kötést tud kialakítani a Kollidon SR hordozóval. A kialakult kötés azonban nem befolyásolja a polimer duzzadását, így a késleltetett hatóanyag-leadás érvényesül, valószínűsíthetően a komplex kialakulása miatt tovább lassul.

## Következtetések

1. A polimer hordozó rendszerből történő hatóanyag-felszabadulás stabilitásának előrejelzéséhez vizsgálni kell mind a hatóanyag, mind a polimer hidratációja során létrejövő H-hidas kapcsolatok energia-viszonyait.
2. A hatóanyag-víz, segédanyag-víz, valamint hatóanyag-segédanyag között kialakuló másodlagos kötések *ab initio* meghatározása információt ad arról, hogy hogyan alakul a hatóanyag-polimer mátrixból a hatóanyag felszabadulása a vizes kioldó közegbe.
3. A polimer hordozó rendszerek tárolás során bekövetkező szupramolekuláris szerkezetváltozása a polimer szabadtérfogat- és térfogateloszlás-változásának vizsgálatával jól követhető pozitron annihilációs spektroszkópiával a minta destruktív előkészítése nélkül.

4. A polimer mátrix és a hatóanyag rendszer preformulációja során végzett szupramolekuláris szerkezetvizsgálat és az *in vitro* kioldódás és *in silico* vizsgálatok kombinációja már rövid időtartamú stabilitásvizsgálat során is információt nyújt a gyógyszerforma várható, hatóanyag-diffúziót befolyásoló, másodlagos kémiai kötéseket érintő stabilitásáról.

Az eredmények gyakorlati alkalmazhatósága:

- A hatóanyagot tartalmazó hordozórendszer szupramolekuláris szerkezetváltozásának követésével a diffúzió jelenségére visszavezethető folyamatok (oldódás, kristályosodás, nedvesedés, duzzadás) kinetikájának változása előre jelezhető, amelyek a szabályozott hatóanyag-leadó rendszerek működése szempontjából meghatározók.
- Hidrofil polimer tartalmú hordozó rendszerek fejlesztésekor a stabilitásvizsgálatok során nemcsak a tervezett készítmény-specifikációban meghatározott, egy mintavételi pontra vonatkozó kioldódott hatóanyag-mennyiség értéke informatív, hanem szükséges lehet a teljes kioldódási profil felvétele is, amely a rendszer lehetséges szupramolekuláris szerkezetváltozásának megértéséhez hozzájárul. Amennyiben kizárólag az adott mintavételi pontra vonatkozó hatóanyag-mennyiségek képezik a különböző körülmények között tárolt minták összehasonlításának alapját, akkor kisebb polimer tartalmú rendszerekben nem észlelünk jelentős változást, míg a teljes kioldódási profil felvételével a kinetika megváltozása jelentkezhet.
- Az anomális szerkezetváltozást mutató segédanyag kiszűrhető a formulából, amellyel az összetétel optimalizálható.



## Saját publikációk jegyzéke

### *Az értekezés témaköréhez kapcsolódó közlemények:*

1. **Szente V**, Süvegh K, Marek T, Zelkó R. (2009) Prediction of the stability of polymeric matrix tablets containing famotidine from the positron annihilation lifetime distributions of their physical mixtures. *J Pharm Biomed Anal*, 49: 711–714.

IF=2,453

2. **Szente V**, Baska F, Zelkó R, Süvegh K. (2011) Prediction of the drug release stability of polymeric matrix tablets containing metronidazole. *J Pharm Biomed Anal*, 54: 730-734.

IF=2,967

### *Az értekezés témaköréhez nem kapcsolódó közlemények:*

1. **Szente V**, Zelkó R. (2007) Helyspecifikus hatóanyag-leadást biztosító rendszerek I. Vastagbélben történő célzott hatóanyag-leadás. *Acta Pharm Hung*, 77: 185-189.
2. **Szente V**, Zelkó R. (2007) Helyspecifikus hatóanyagleadást biztosító rendszerek II. Bukkális gyógyszerformák. *Acta Pharm Hung*, 77: 217-222.
3. **Szente V**, Zelkó R. (2008) Helyspecifikus hatóanyagleadást biztosító rendszerek III. Nazális gyógyszerformák. *Acta Pharm Hung*, 78: 87-90.
4. **Szente V**, Zelkó R. (2008) Vastagbélbe célzott hatóanyag-leadást biztosító készítmények. *Gyógyszerész Továbbképzés*, 2: 182-184.
5. Horgos J, Bartus G, **Szente V**, Hankó B, Zelkó R (2009) A gyógyszerhamisítás, mint egészséget veszélyeztető világjelenség. *Acta Pharm Hung*, 79: 88-91.

6. Télessy IG, Balogh J, Csempez F, **Szente V**, Dredán J, Zelkó R. (2009) Comparison of the physicochemical properties of MCT-containing fat emulsions in total nutrient admixtures. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 72:75–79.

IF=2,600

7. Papp J, **Szente V**, Süvegh K, Zelkó R. (2010) Correlation between the free volume and the metoprolol tartrate release of metolose patches. *J Pharm Biomed Anal*, 51: 244–247.

IF=2,733

8. Papp J, Horgos J, **Szente V**, Zelkó R. (2010) Correlation between the FT-IR characteristics and metoprolol tartrate release of methylcellulose-based patches. *Int J Pharm*, 392: 189-191.

IF=3,607

9. Patai K, **Szente V**, Süvegh K, Zelkó R. (2010) Tracking of the micro-structural changes of levonorgestrel-releasing intrauterine system by positron annihilation lifetime spectroscopy. *J Pharm Biomed Anal*, 53:902-905.

IF=2,733

***Teljes terjedelemben (in extenso) megjelent kongresszusi előadások:***

10. Zelkó R, **Szente V**. Characterization of novel polymeric materials from the point of their physical ageing. In: Hincal A, Çelebi N, Yüksel N. (Ed.) *New Progresses and Challenges in Pharmaceutical Sciences. Part 4: Biotechnology, Delivery of Biologics and Vaccination. 3rd BBBB International Conference on Pharmaceutical Sciences, Antalya, 2009: 208-216. ISBN 978-975-01193-1-6*

***Nemzetközi folyóiratban megjelent absztrakt:***

11. Zelkó R, **Szente V**. (2009) Characterization of novel polymeric materials from the point of their physical ageing. *Eur. J. Pharm. Sci.* 38: 38.