

Gyógyszerhordozó rendszerek fejlesztése folyamatos gyógyszer technológiai eljárásokkal

NAGY Zsombor Kristóf*

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, 1111. Budapest Budafoki út 8.

1. Bevezetés

A gyógyszeripari innováción belül egyre növekszik a készítménytechnológiai fejlesztések jelentősége, ami részben gazdasági tényezőkre vezethető vissza, részben pedig a fejlesztett és piacra vitt hatóanyagok tulajdonságainak változásából adódik. A gazdasági tényezők között megemlítendő a nagy árbevételt generáló originális gyógyszerek csökkenő száma, a kutatás-fejlesztési költségek növekedése, a globalizálódott gyógyszerpiac, az erőteljes állami árkontroll, melyek mind a gyógyszerpiaci verseny kiéleződését eredményezik.¹ Az éleződő verseny következtében a fejlesztések sikeressége és költsége kiemelt jelentőségűvé válik.

Az originális kutatások növekvő költségeivel és csökkenő sikerességével párhuzamosan nő a kisebb kockázatú (alapvetően gyógyszer technológiai természetű) generikus fejlesztések, valamint a gyártástechnológiát optimalizáló fejlesztések jelentősége. A gyártástechnológiai fejlesztések területén kiemelt fontosságú a gyártás idő- és energiaigényének, valamint környezeti terhelésének csökkentése. Ezek a tendenciák, továbbá a hatósági szabályozás megváltozása, abba az irányba hatnak, hogy a gyógyszeripar területén minél több költség hatékony folyamatos technológia és folyamatos üzemű gyártósor kerüljön alkalmazásra, ami szükségessé teszi az ipari megvalósítást megalapozó kutatások végzését.

A gyógyszer technológiai fejlesztések jelentőségének növekedése abból is adódik, hogy a fejlesztett és piacra vitt hatóanyagok között nagymértékben megnövekedett a rossz vízoldhatóságú molekulák, valamint a biotechnológiai eredetű, érzékeny hatóanyagok aránya. Ezek újabb kihívások elé állítják a gyógyszer technológusokat. Vízben rosszul oldódó hatóanyagok esetén a kioldódást hatékonyan kell javítani, hogy a megfelelő biohasznosulás megvalósulhasson. Az egyre nagyobb jelentőségű – de érzékeny – biotechnológiai eredetű hatóanyagok esetében pedig kíméletes eljárások szükségesek a formulálás során, hogy azok biológiai aktivitása megmaradjon.

A kioldódás javítására alkalmazható folyamatos technológiák közül az olvadék extrúzió egyre nagyobb jelentőségűvé válik, ami a témával foglalkozó publikációk számának növekedésében is megmutatkozik.

Az olvadék extrúzió szuperkritikus CO₂ lágyító használatával a gyógyszer technológia egyik ígéretes új iránya, amiről csak

néhány publikáció született, és ezeken belül is csak egy foglalkozott a kioldódás gyorsításával.²

Hasonló a helyzet az elektrosztatikus szálképzés esetében, mely ugyancsak folyamatos technológia, és elméleti megfontolások alapján kiválóan alkalmas lehet hatóanyagok kioldódásának javítására, mégis a doktori munkát megelőzően megjelent egyetlen ilyen témájú cikkben az így előállított szálas mintával csak gyengébb kioldódás javítást tudtak elérni az azonos összetételű öntött filmhez képest.³

A biotechnológiai eredetű hatóanyagok számának növekedése a gyógyszer technológia területén is új kihívásokat hozott, melyek közül az egyik legjelentősebb a biohatóanyagok szilárd formába hozása. Ezt napjainkban elsősorban fagyasztva szárítással oldják meg, mely technológiának számos komoly hátránya van. Biohatóanyagok szilárd formulálása területén az elektrosztatikus szálképzés ígéretes technológia a pillanatszerűen, szobahőmérsékleten megvalósítható szárítási folyamatának köszönhetően, ezért gyógyszer technológiai alkalmazhatóságának vizsgálatát rendkívül időszerű az idő és energiaigényes fagyasztva szárítás kiváltásának elősegítésére.

Célkitűzés

A szakirodalom elemzése során azonosított gyógyszeripari trendeket és kihívásokat figyelembe véve a kísérleti munka fő célkitűzései a következők voltak:

- Szuperkritikus CO₂-dal kombinált extrúzió gyógyszer technológiai alkalmazhatóságának vizsgálata vízben rosszul oldódó hatóanyagok kioldódásának javítására, valamint összehasonlítása az olvadék extrúzió technológiájával.
- Elektrosztatikus szálképzés technológiájának vizsgálata és alkalmazása vízben rosszul oldódó hatóanyagok kioldódásának javítására, szájon pillanatszerűen oldódó készítmények fejlesztésére, valamint összehasonlítása az olvadék extrúzió és filmöntés technológiájával
- Biohatóanyagok szárítására, szilárd formulálására és alkalmazására szolgáló új módszerek kifejlesztése.

Az új technológiák, gyógyszerformák, gyógyszerhordozó rendszerek fejlesztésénél kiemelt cél volt az ipari igények és a megvalósíthatóság szempontjából tartása.

* E-mail: zsknagy@oct.bme.hu, Tel.: +3614631424. Jelen közlemény Nagy Zsombor Kristóf PhD disszertációja és az ahhoz kapcsolódó közlemények alapján készült.

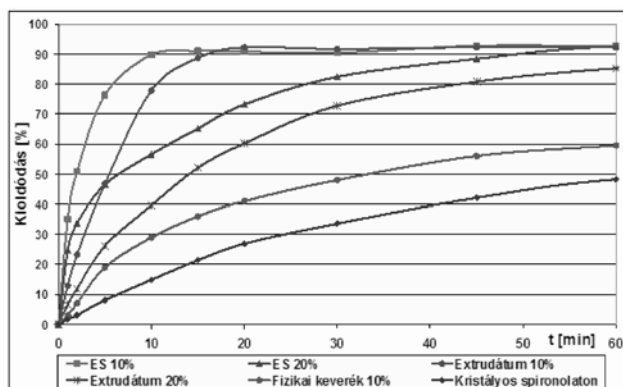
Egy vízben rosszul oldódó, de jól felszívódó hatóanyag – a spironolakton – kioldódásának javítása kapcsán hasonlítjuk össze az elektrosztatikus szálképzés és az olvadék extrúzió hatékonyságát egy új amfifil terpolimer (soluplus) alkalmazásával. Az összehasonlításához tartozik a kialakított szilárd mikrodiszperziók, ill. szilárd oldatok részletes vizsgálata, valamint az alkalmazott analitikai módszerek teljesítőképességének összevetése kristályos spironolakton-nyomok kimutatására.

A szuperkritikus extrúzió, az olvadék extrúzió és az elektrosztatikus szálképzés összehasonlítására egy másik vízben rosszul oldódó, de jól felszívódó hatóanyag – a carvedilol – kioldódásának javítása kapcsán kerül sor, egy páratartalomra nem érzékeny, vízben nem oldódó, viszont (ionizációja révén) savas közegben gyorsan oldódó polimer mátrix (Eudragit E) alkalmazásával.

Carvedilol kioldódásának semleges közegben történő javítása érdekében vízben jól oldódó, hidrofil polivinilpirrolidon alkalmazásával is megkíséreltük az elektrosztatikus szálképzést. Pillanatszerűen oldódó rendszer kialakítása és alkalmazása volt a cél egy új gyógyszerbejuttató rendszer kifejlesztése érdekében.

Új gyógyszerbejuttató rendszer kifejlesztésére volt szükség az – elsősorban idős betegek által szedett – Alzheimer kór elleni hatóanyag (donepezil HCl) esetében is. A tervezett szájjában oldódó rendszer kifejlesztése a hatóanyag amorf állapotának stabilizálását igényelte.

Biohatóanyagok kíméletes szárításának és szilárd formulálásának megvalósítására szintén célszerűnek látszott az elektrosztatikus szálképzés alkalmazhatóságának vizsgálata, amelyhez – a vaginitis kezelésére alkalmas – élő *Lactobacillus acidophilus* tartalmú nanoszálakat kívántunk előállítani és vizsgálni.



1. Ábra. Spironolakton tartalmú formulációk kioldódása (dózis: 25 mg).

Az ipari léptékű gyártás lehetőségeinek és korlátainak feltérképezése érdekében kísérleteket terveztünk porlasztólevegővel kombinált elektrosztatikus szálképzéssel, nanospider technológia alkalmazásával és olvadékból történő szálképzéssel.

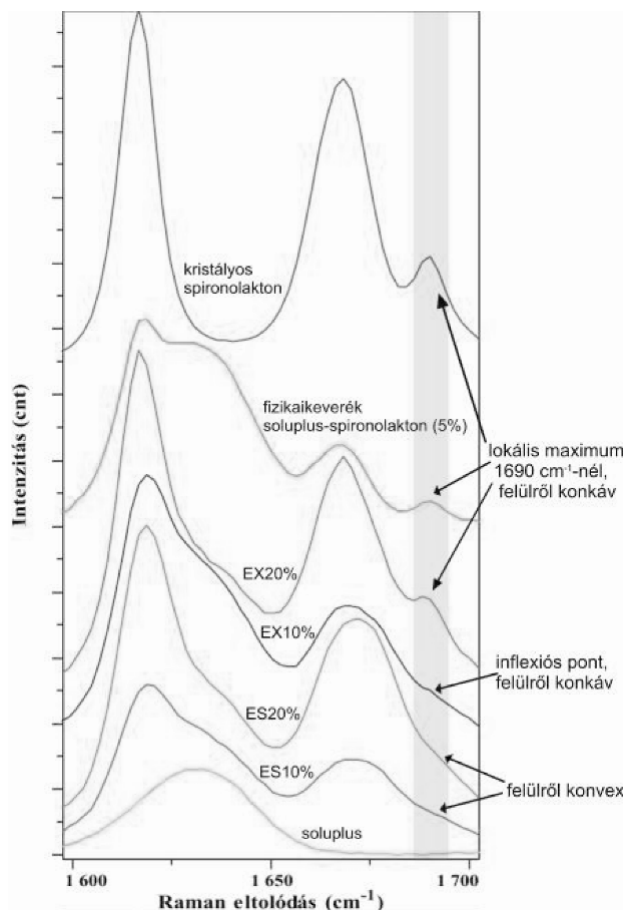
A következő részek e célkitűzések elérése során kapott néhány fontosabb eredményt ismertetik.

2. Spironolakton kioldódásának javítása⁴

Jelentősen sikerült javítani a BCS II. csoportba tartozó spironolakton kioldódását olvadék extrúzióval és elektrosztatikus szálképzéssel micellaképző polivinilkaprolaktám – polietilén-glikol – polivinilacetát ojtott kopolimert használva mátrixként.

Elektrosztatikus szálképzés nagy amorfizációs hatékonyságának köszönhetően a hatóanyag és a polimer molekulárisan diszperz szilárd oldata képződött, míg az extrúziós módszer esetén a hatóanyag inhomogenitását és kristályos fázis jelenlétét tapasztaltuk. A szálas mintákban a maradék oldószer két nap után a HS-GC/MS módszer kimutatási határa alá csökkent (20 ppm), míg az etanol megengedett felső értéke 5000 ppm gyógyszerkészítményekben.

Az alkalmazott öt különböző analitikai módszer közül a Raman spektrometrián alapuló technikák tudták csak kimutatni a 10% spironolakton tartalmú extrudátumban a kristályos fázist.

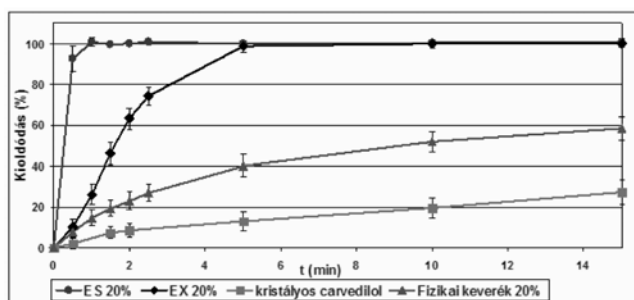


2. Ábra. Transzmissziós Raman spektrumok az 1690 cm⁻¹-nél jelentkező kristályos spironolaktonra jellemző csúcs kiemelésével.

A legérzékenyebbnek a kristályos spironolakton nyomok kimutatására a Raman mikroszkópiás módszer bizonyult. Megállapítottuk, hogy a Raman mikrospektrometria és a pásztázó elektronmikroszkópia Röntgen analízissel kombinálva kiválóan alkalmas spironolakton eloszlásának vizsgálatára soluplus mátrixban.

3. Carvedilol kioldódásának javítása savas közegben^{5,6}

Szuperkritikus CO_2 -dal kombinált extrúzióval és Eudragit E kopolimer mátrixot alkalmazva sikerrel tudtunk előállítani olyan szilárd formulációt, melyből a BCS II. osztályába tartozó carvedilol teljes kioldódása 5 perc alatt végbement. Szuperkritikus CO_2 jelentős lágyító hatásának köszönhetően a termék fajlagos felülete növelhető, az extrúzió hőmérséklete csökkenthető, nagyobb termelékenység és kisebb tartózkodási idő érhető el, így az enyhébb körülményekkel a bomlás esélye csökkenthető. Az extrudátumok hatóanyag-leadását is jelentősen meghaladó sebességű, 1 perc alatti kioldódást tudtunk elérni – azonos összetétel mellett – elektrosztatikus szálképzéssel előállított nanoszálás szövedékkel. A javulás a jelentősen megnövelt fajlagos felületnek köszönhető.

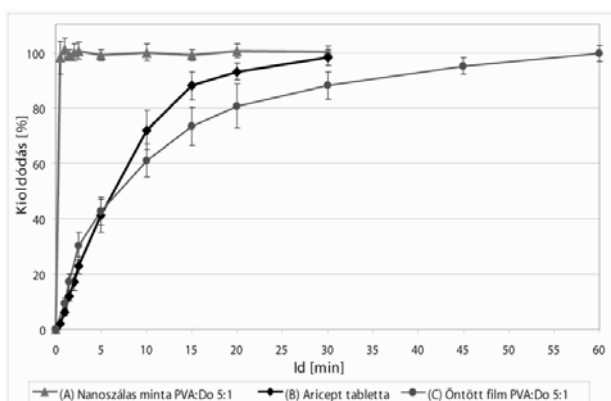


3. Ábra. Carvedilol tartalmú formulációk kioldódása (dózis 12,5mg).

A polimer mátrix a hatóanyagot minden esetben amorf formában tartalmazta, és a kioldódás során a carvedilol oldatba jutásának sebességét a polimer mátrix igen gyors oldódása határozta meg, amit segített az alkalmazott Eudragit E ionizációja (protonálódása) is.

4. Szájban azonnal oldódó donepezil HCl tartalmú gyógyszerhordozó fejlesztése⁷

Donepezil HCl diffúziója hatékonyan gátolható montmorillonit alkalmazásával, mely ionosan a felületéhez tudja kötni a hatóanyagot, valamint a diffúziót fizikailag



4. Ábra. Donepezil HCl tartalmú formulációk kioldódásának vizsgálata (dózis 10 mg).

is gátolja. Ezt kihasználva sikerült stabil amorf donepezil tartalmazó szilárd rendszereket kialakítani. A montmorillonit

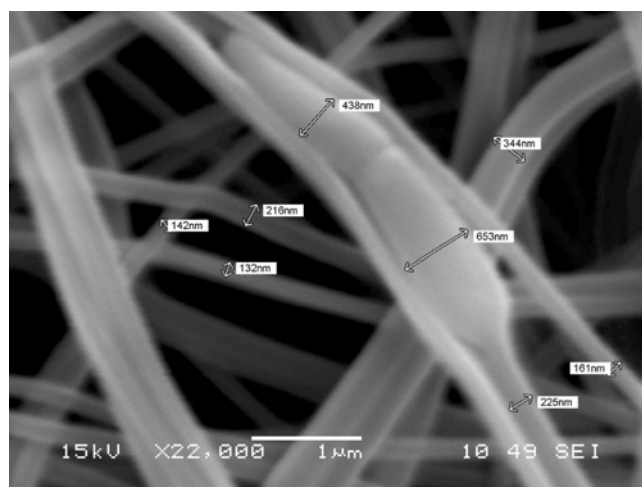
diffúzió gátló hatására alapozva gyors oldódású és jó párazáró hatású PVA-MMT alapú filmbevonó rendszereket is sikerrel állítottunk elő és alkalmaztunk.

Elektrosztatikus szálképzéssel előállított PVA alapú nanoszálás gyógyszerhordozó rendszerrel pillanatszerű kioldódást értünk el, köszönhetően a hatékony amorfizációnak, a nagymértékben megnövelt fajlagos felületnek, és a viszonylag kis molekulatömegű vízdoldható polimer mátrixnak.

A hatóanyag kristályosodását a vizsgált 12 hónapos periódusban sikerült meggátolni, ami szintén bizonyítja a nanoszálak hatékony diffúziógátlását. Ezzel a gyors oldódású nanohálóval sikerült teljesíteni a célul kitűzött 30 s alatti oldódást, ami új lehetőségeket nyit szájban oldódó készítmények fejlesztésében, gyermekek és idősek kezelésében és az Alzheimer kór elleni küzdelemben egyaránt.

5. Élő *Lactobacillus acidophilus* tartalmú nanoszálak

Lactobacillus acidophilus biohatóanyagot tartalmazó polimer oldatokból elektrosztatikus szálképzés alkalmazásával sikeresen állítottunk elő nanoszálás szövedékeket. A nanoszálás termékek minden esetben nagy mennyiségben tartalmaztak szaporodásra képes *Lactobacillus acidophilus*



5. Ábra. PVA nanoszálakba ágyazott *Lactobacillus acidophilus* baktériumok pásztázó elektronmikroszkópos felvétele.

baktériumokat. PVP K30 és PVP K90 esetében 400 milliót és 600 milliót, PVA alkohol esetében pedig az 1 milliárdot is meghaladta az életképes baktériumok grammonkénti száma. A kiindulási csíraszámhoz képest a túlélés minden esetben meghaladta a 30%-ot, ami összevethető a fagyasztva szárításnál elért túlélési százalékokkal.

7°C-on tárolt nanoszálás termékek mindhárom alkalmazott szálképző polimer esetében még 90 nap után is, több mint 10 millió életképes *Lactobacillus acidophilus* csírárt tartalmaztak grammonként, mely rendszer – kapszulába töltve, vagy direkt alkalmazva vagy akár öblítő folyadékban feloldva – hatékony lehet bacterialis vaginosis kezelésében.

6. Méretnövelés és ipari alkalmazhatóság vizsgálata

A korábbiakban bemutatott gyógyszerhordozó rendszerek előállításának méretnövelhetősége kulcsfontosságú a későbbi ipari alkalmazások megvalósításához. Az olvadék extrúzió és a szuperkritikus CO₂-dal kombinált extrúzió esetében – ahogy azt már a szakirodalmi áttekintésben is bemutattuk – a méretnövelt, ipari gyártás már számos esetben megvalósult.

A fejlesztett mikro- és nanoszálak gyógyszerhordozó rendszerek méretnövelt előállítása nagyobb kihívásként jelentkezett, ezért megvalósítására különböző alternatív megoldásokat alkalmaztunk és hasonlítottunk össze.

Az elvégzett méretnövelési kísérleteink és a szakirodalom elemzése alapján nanoszálak gyártásánál a termelési kapacitás elegendően nagy lehet ahhoz, hogy kielégítse gyógyszeripar mennyiségi igényeit. A bemutatott potenciális gyógyszerformák gyártása várhatóan könnyen kivitelezhető, amennyiben a nanoszálképzést a már jelenleg is létező gyártási lépésekkel integráljuk (pl. szájbán oldódó filmek gyártásának és csomagolásának filmképzést követő lépéseivel).

Ily módon nagy mennyiségben és standardizáltan gyártott, a betegeknek beadható/elfogadható gyógyszerforma a nanoszálak alkalmazásában valamint a gyógyszer-technológia területén is nagy áttörést hozhat, ami további új gyógyszerbejuttatási lehetőségek előtt nyitná meg a kaput kismolekulás és biohatóanyagok esetében egyaránt.

Development of Innovative Drug Delivery Systems Using Continuous Pharmaceutical Technologies

Importance of the drug formulation developments in the pharmaceutical industry is rapidly increasing partly due to economic factors and partly to the changing tendencies of drug candidates and marketed drugs (namely most of them are poorly water soluble and the ratio of sensitive biodrugs is increasing). The need for reduction of production costs initiates new research activities to develop pharmaceutical manufacturing technologies with decreased time and energy consumption. Continuous pharmaceutical production is a promising way to achieve these aims.¹

Thus, during the present research work continuous processes, technologies (melt extrusion, supercritical CO₂-assisted melt extrusion, electrostatic spinning) were used and developed to tackle the formulation challenges of the poorly water soluble active pharmaceutical ingredients (APIs) and biotech drugs.

Micro- and nanofibres were prepared the first time by electrospinning of polyvinyl caprolactam/polyethylene glycol/polyvinyl acetate graft copolymer, which could be used as drug delivery system. This way the dissolution of poorly water-soluble spironolactone could be significantly improved (from >8 hours to 10 min), owing to the efficient amorphization and enhanced specific surface area.

Köszönetnyilvánítás

A szerző köszönettel tartozik a következő személyeknek a segítségükért: Marosi György témavezető, Fekete Pál konzulens, Molnár Kolos, Kállai Nikolett, Marosfői Béla Botond, Kovács Klára, Nyúl Katalin, Balogh Attila, Horváth Tímea, Drávavölgyi Gábor, Baán Adrienn, Tobak Teodóra, Mayer Adrienn, Madarász János, Suhajda Ágnes, Molnár Viktor, Ott Péter, Varga Erzsébet, Kramarics Áron, Eva Kostakova, Martial Sauceau, Jacques Fages, Bozsik Erzsébet, Demeter Ádám és a kutatócsoport tagjai. Külön köszönet illeti Szabó Zsuzsát nagylelkű ösztöndíj támogatásáért. A munka kapcsolódik a „Minőség-orientált, összehangolt oktatási és K+F+I stratégia, valamint működési modell kidolgozása a Műegyetemen” c. projekt szakmai célkitűzéseinek megvalósításához (Új Széchenyi Terv TÁMOP-4.2.1/B-09/1/KMR-2010-0002), valamint az OTKA K76346 és NN8246 projektjéhez.

Hivatkozások

1. Nagy, Zs. K. MA thesis, University of West Hungary, 2011.
2. Verreck, G.; Decorte, A.; Heymans, K.; Adriaensen, J.; Cleeren, D.; Jacobs, A.; Liu, D.; Tomasko, D.; Arien, A.; Peeters, J. *Eur. J. of Pharm. Sci.* **2005**, *26*, 349-358
3. Verreck, G.; Chun, I.; Peeters, J.; Rosenblatt, J.; Brewster, M.E. *Pharm. Res.* **2003**, *20*, 810-817.
4. Nagy, Z.K.; Balogh, A.; Vajna, B.; Farkas, A.; Patyi, G.; Kramarics, A.; Marosi, G. *J. of Pharm. Sci.* **2012**, *101*, 322-332.
5. Nagy, Z.K.; Sauceau, M.; Nyul, K.; Rodier, E.; Vajna, B.; Marosi, G.; Fages, J. *Polym. for Adv. Tech.* **2012**, *23*, 909-918.
6. Nagy, Z. K.; Balogh, A.; Drávavölgyi, G.; Ferguson, J.; Pataki, H.; Vajna, B.; Marosi, G. *J. of Pharm. Sci.* **2013**, *102*, 508-517.
7. Nagy, Z.K.; Nyul, K.; Wagner, I.; Molnar, K.; Marosi, G. *Exp. Polym. Lett.* **2010**, *4*, 763-772.

The detection of crystalline drug traces nearby amorphous majority could be performed with higher sensitivity by transmission and micro-Raman spectrometry than by other methods (XRPD, DSC).⁴

Supercritical CO₂-assisted extrusion and Eudragit E matrix was successfully applied for improving the dissolution of carvedilol of poor water solubility from several hours to 5 minutes. The polymer matrix, of good solubility below pH 5 in aqueous medium, promoted the amorphization and homogeneous distribution efficiently. The experiments lead to the conclusion that the temperature of the extrusion can be decreased, the productivity can be increased and residence time can be reduced this way owing to the detected significant plasticizing effect of supercritical CO₂. Additionally the CO₂, released from the product, contributes to the increase the surface area, which accelerates the dissolution.⁵

New fabric-type drug delivery system, consisting of submicron-size fibers, could be produced using Eudragit E matrix, which allowed the reduction of the dissolution time of antihypertensive carvedilol to 1 minute exceeding the performance of extrudates. The result was ascribed to the large surface area of the submicron-size fibres and the stable amorphous structure.⁶

Rapid dissolution of donepezil HCl, used against Alzheimer disease, could be ensured by PVA-based nanofibrous drug carrier system prepared by electrospinning method. The rapid dissolution is explained by the presence of water soluble polymer of relatively low molecular mass, the efficient amorphization and the high surface area, which was verified by several analytical methods (e.g. SEM, XRPD, Raman microspectrometry). The crystallization could be restricted up to min. 12 months, which shows the large diffusion-restricting capability of the nanofibres.⁷

Network of electrospun nanofibres containing *Lactobacillus acidophilus* probiotic bacteria could be prepared from polymer solutions. Large amount of *Lactobacillus acidophilus* bacteria of reproduction capability survived the process. In the cases of PVP K30 and PVP K90 the numbers of viable bacteria per gram are 400 and 600 million respectively, while with PVA this number achieved

1 billion. Each nanofibrous product, kept at 7°C, preserved 10 million viable *Lactobacillus acidophilus* per gram regardless of the type of the applied polymer. (It is comparable with the surviving ratio achievable using the costly freeze drying process.). The pharmaceuticals developed according to this process can be applied efficiently for the treatment of bacterial vaginosis.

Based on the investigation of scale-up possibilities the output of the developed technologies can be high enough to fulfil the quantity requirements of pharmaceutical industry.

Industrial scale production of patient-friendly fibrous dosage forms can result in significant break-through in the field of electrospinning and pharmaceutical technology, which could open up new drug delivery opportunities in case of small molecules and biopharmaceuticals as well.