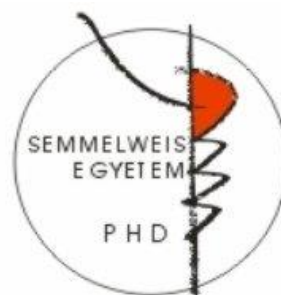


Hatóanyagleadó rendszerek HLB-értékének vizsgálata

Doktori tézisek

Niczinger Noémi Anna

Semmelweis Egyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Antal István, Ph.D., egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Bácskay Ildikó Ph.D., egyetemi docens
Dr. Alberti-Dér Ágnes, Ph.D., egyetemi adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Tekes Kornélia, D.Sc., egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Újhelyi Gabriella, Ph.D., c. egyetemi docens
Dr. Tóthfalusi László, Ph.D., egyetemi docens

Budapest
2017

BEVEZETÉS

A legtöbb hatóanyag rossz vízoldékonysággal, ezáltal kedvezőtlen biohasznosíthatósági tulajdonságokkal rendelkezik. A gyógyszertechnológia számára, így kihívást jelent e hatóanyagoknak a megfelelő gyógyszerhordozó rendszer formulálása. Manapság egyre nagyobb figyelmet kapnak a lipid alapú gyógyszerhordozók (LBDDS), és más korszerűbb gyógyszerformák, mint a hatóanyag - ciklodextrin komplexek vagy a nanorészecskéket hordozó, fagyasztva szárított emulziók.

A módosított hatóanyagleadású rendszerek kutatásával és a biohasznosíthatósági vizsgálatok elterjedésével párhuzamosan megfigyelhető a hagyományos gyógyszerhordozó formák iránti érdeklődés növekedése is. Köszönhetően a homogenizációs technikák és eszközök fejlődésének, lehetőség nyílt például a hagyományos ún. makroemulziók helyett nagyobb diszperzitásfokú emulziók, mint mikro- és nanoemulziók előállítására is. Ezek az emulziók kedvezőbb tulajdonságokkal rendelkeznek, mint a hagyományos változatuk. Nem utolsósorban a formulálás során felhasznált segédanyagok választéka is egyre bővebb.

A felületaktív anyagok gyakran alkalmazott összetevői a diszperz rendszereknek. Kettős szerkezeti tulajdonságukat jellemző számérték a hidrofil-lipofil egyensúly (HLB-érték). A HLB-érték a felületaktív anyag molekuláján belül a hidrofil és a lipofil csoportok arányát kifejező számérték. A fogalomrendszert közel 70 éve vezette be *William C. Griffin*, amerikai vegyészmérnök. A HLB-érték ismerete előnyös, mivel további információkat hordoz a segédanyagokról, így például az emulziós rendszer elkészítéséhez a legmegfelelőbb tulajdonságú emulgenst tudjuk kiválasztani. A *Griffin*-féle HLB-rendszert ma is sokan használják, annak ellenére, hogy számos formulálási paramétert, úgymint a felületaktív anyagok koncentrációját, emulzióknál a megfelelő olaj víz arányt és optimális készítési hőmérsékletet figyelmen kívül hagyja. A HLB-rendszerre vonatkozóan még mindig számos kérdés nyitott, különösen az anyagok HLB-értékének kísérletes meghatározása. Emellett vitákra ad okot, hogy egyes emulziós rendszerekben nem található összefüggés a HLB-érték és az emulzió típusa, illetve stabilitása között.

CÉLKITŰZÉS

Doktori munkám során az alábbi célokat tűztem ki:

1. A HLB-érték vizsgálata emulziós rendszerekben

- A standardként választott paraffinolaj irodalomból ismert szükséges HLB-értékének meghatározása olaj a vízben (O/V) típusú emulzióban Tween[®] 80 vagy Gelucire[®] 44/14 hidrofil és Span[®] 80 lipofil emulgensekkel.
- Paraffinolaj O/V emulziók emulgeálási folyamatának vizsgálata nagynyomású homogenizátorral és Gelucire[®] 44/14 - Span[®] 80 emulgensekkel, valamint laboratóriumi és nagynyomású homogenizátorok szükséges HLB-értékre gyakorolt hatásának összehasonlítása.
- Citromolaj szükséges HLB-értékének meghatározása O/V emulziós rendszerekben cseppméreteloszlás és turbiditás vizsgálatok alapján.
- Olívaolaj szükséges HLB-értékének meghatározása.

2. Száraz emulziós tabletták formulálása

- Olívaolaj száraz emulziós tabletták formulálása liofilizálással és préseléssel, különböző segédanyagok jelenlétében.
- Emulziós rendszer rekonstitúciója száraz emulziós tablettákból cseppméretvizsgálat, turbiditás és a tabletták fizikai vizsgálatai révén.

MÓDSZEREK

A paraffin-, citrom- vagy olívaolaj felhasználásával készült O/V típusú emulziók előállítása egyrészt laboratóriumi homogenizátorral (Micra D-8, ART Labortechnik, Németország), másrészt nagynyomású homogenizátorral (EmulsiFlex[®]-B15, Avestin Inc., Kanada) történt. Száraz emulziós tablettákat liofilizálással, illetve préseléssel állítottam elő. A megfelelő segédanyagok kiválasztásakor viszkozitás (Kinexus pro reométer, Malvern Instruments Ltd, Egyesült Királyság), valamint nedvesedési peremszög méréseket végeztem.

A fagyasztva szárítás során a szuszpenziós emulzió mintákat ScanVac CoolSafe™ (100-9 PRO, LaboGene™, Dánia) típusú fagyasztva szárító berendezésben 2 óra alatt -40 °C-on fagyasztottam meg, majd a tálcák hőmérsékletét fokozatosan (1 óra: +15 °C, 1 óra: +20 °C, 10 óra: +30 °C, 10 óra: +40 °C) +40 °C-ig emelve, 24 óra alatt liofilizáltam.

Préselés során a segédanyagok megfelelő homogenizálását követően kézi töltéssel 1 g-os tablettákat préseltem egy excenteres tablettázógéppel (Diaf, TM 20 típus, Dánia). A préserőt úgy állítottam be, hogy kb. 30 N törési szilárdsággal jellemezhető 12 mm átmérőjű, sima felszínű, felezővonal nélküli, bikonvex tablettákat állítsak elő.

A szükséges HLB-érték meghatározásokat *Orafidiya* és *Oladimeji* nyomán, cseppméreteloszlás és turbidimetriás vizsgálatok révén végeztem.

Cseppméreteloszlás vizsgálatok

Az emulziós rendszerek cseppméret eloszlását közvetlenül a készítés után, a rekonstituált emulziókat pedig a tabletták feloldását követő, 10 perc elteltével mértem. A vizsgálatot Mastersizer 2000™ (Malvern Instruments Ltd, Egyesült Királyság) típusú készülékkel végeztem. A kapott eredményeket Mastersizer 2000 E v. 5.60 szoftverrel értékeltem ki. A teljes eloszlási függvényeken kívül (eloszlási sűrűség és kumulatív eloszlási függvények) a d_{10} , d_{50} és d_{90} értékeket is felhasználtam, melyek azt mutatják meg, hogy egy adott rendszeren belül a részecskék 10, 50, valamint 90%-a a megadott méretnél kisebb. Az eloszlás szélességére jellemző ún. span-értéket is alkalmaztam, amelyet a:

$$\text{span-érték} = \frac{d_{90} - d_{10}}{d_{50}} \quad (1)$$

képlettel számoltam ki.

Turbidimetriás vizsgálatok

A turbidimetriás vizsgálatok kiértékeléséhez a következő képletet használtam:

$$\text{Turbiditás} = 100 - T(\%) \quad (2)$$

Az emulziók 1 hetes tárolást követően jól megkülönböztethető alsó és felső részre váltak szét. Az alsó részből vett minták, valamint rekonstituált emulziók esetén szintén

különlváló (24 óra) alsó rész zavarosodását (T(%)) UV spektrofotometriás módszerrel (UV2, Unicam Ltd, Egyesült Királyság) 600 nm-en mértem meg.

Száraz emulziós tabletták rekonstitúciója

Egy-egy liofilizált és préselt száraz emulziós tablettát 30 ml 37 ± 2 °C hőmérsékletű ioncserélt vízben, üvegbot segítségével folyamatos keveréssel oldottam fel, illetve diszpergáltam. A rekonstitúció tulajdonképpen az a folyamat, amely során a tabletták közvetlenül alkalmazás előtt vízben szétesnek és ennek során emulziós diszperz rendszer képződik, illetve újraképződik. Nyilvánvalóan préselt tabletták esetében nem beszélhetünk kiindulási emulzióról, mint liofilizált rendszer esetében. A rekonstituált emulziókat mindkét esetben a liofilizálás előtti olívaolaj emulzióval hasonlítottam össze.

Tabletták fizikai ellenőrző vizsgálatai

A tabletták tömeg- (Sartorius LA 230S, Sartorius AG, Németország) és szétesésvizsgálata (Pharma Test PTZ 3H típusú szétesésvizsgáló készülék, Németország) mellett a préselt tabletták esetében kopási veszteség (Erweka TAP egydobos készülék) és törési szilárdság (Erweka TBH 200, Erweka GmbH, Németország), míg a liofilizált tabletták esetében nedvességtartalom (Scaltec SMO 01, Scaltec Instruments GmbH, Németország) és állományelemzés (Brookfield CT3-4500 típusú állományelemző készülék, Texture Analyser, Brookfield Eng. Labs., Inc., USA) vizsgálatokat végeztem.

A száraz emulziós tabletták morfológiai analízise pásztázó elektronmikroszkópiás (InspectTM S50, FEITM, USA) módszerrel történt.

EREDMÉNYEK

1. A HLB-érték vizsgálata emulziós rendszerekben

- Az O/V típusú paraffinolaj emulziókat Tween[®] 80 - Span[®] 80, valamint Gelucire[®] 44/14 - Span[®] 80 emulgenspárokkal állítottam elő, melyek

cseppméreteloszlását és turbiditását vizsgáltam. Annak ismeretében, hogy a legstabilabb emulzió jellemezhető a legkisebb cseppmérettel és a legnagyobb zavarosodással, az általam kapott eredmények alapján megállapítottam, hogy a paraffinolaj szükséges HLB-értéke O/V emulzióban $HLB=10$.

- Cseppméreteloszlás és turbiditás mérésekkel igazoltam, hogy a paraffinolaj szükséges HLB-értéke a megadott irodalmi határértéken ($HLB=11 \pm 1$) belül maradt, az általam vizsgált emulgens koncentrációk mellett.
- Különböző készülékekkel (laboratóriumi és nagynyomású homogenizátor) előállított paraffinolaj O/V emulziók esetén azt tapasztaltam, hogy a szükséges HLB-érték megfigyelésére leginkább a laboratóriumi homogenizátorral készült emulziósorozatok alkalmasak. Eredményeim alapján megállapítottam, hogy az alkalmazott készülék típusa, vagyis a befektetett energia mellett az emulziók stabilitását az olaj szükséges HLB-értéke is jelentősen befolyásolja.
- Cseppméreteloszlás *versus* HLB-érték görbék alapján megállapítottam, hogy O/V típusú emulzióban a citromolaj szükséges HLB-értéke $HLB=12 \pm 1$, valamint az olívaolaj szükséges HLB-értéke $HLB=6 \pm 1$.
- A segédanyagok előzetes vizsgálatának megfelelően liofilizált száraz emulziós tabletták emulziójának készítésére a legalkalmasabbnak a 0,5%-os XG és az 1,5%-os emulgens koncentrációkat, valamint a $HLB=6$ -os értéket találtam. A viszkozitásmérések nyomán a 0,5%-os XG nyák mellett a 22,5%-os gumiarábikum, a 0,7%-os hidroxietil-cellulóz és a 12%-os hidroxipropil-cellulóz segédanyagokat választottam ki.

2. Száraz emulziós tabletták formulálása

- Olívaolaj tartalmú száraz emulziós gyógyszerhordozó rendszereket O/V emulziók liofilizálásával és a segédanyagok keverékének préselésével állítottam elő. Megállapítottam, hogy a préselés a fagyasztva szárítás mellett jó alternatívája lehet a száraz emulziós tabletták formulálásának. A préselés hatására ugyanis az olajcseppek mérete lecsökkent.
- Összehasonlítva a vizsgált vázképző segédanyagokat (mannit, eritrit, laktóz), mindkét esetben a mannittal készült tabletták rendelkeztek a legjobb fizikai tulajdonságokkal.

- A tabletták vizes diszpergálását követően közel azonos cseppméreteloszlást mértem a kiindulási emulzióhoz képest, így megállapítottam, hogy a két különböző módszerrel előállított tablettából, a rekonstitúció során az emulzió újraképződött, illetve képződött.
- A rekonstitúciós vizsgálatok azt mutatták, hogy a mannittal liofilizált tabletta a megfelelőbb, mint olívaolaj hordozó rendszer.

KÖVETKEZTETÉSEK

A gyógyszer technológiai alkalmazás során a hatóanyagok jelentős része rossz vízoldhatóságú tulajdonságokkal rendelkezik. Napjainkban a vízben oldhatatlan hatóanyagok biohasznosíthatóságának növelése érdekében fontos szerepet kapnak az emulziós hatóanyag hordozó rendszerek.

Doktori munkám során először O/V típusú emulziós rendszerek formulálásával foglalkoztam, annak érdekében, hogy a felületaktív anyagok HLB-értékét és a különböző olajok szükséges HLB-értékét megvizsgáljam. Megállapítottam, hogy a HLB-fogalomrendszer megfelelő ismeretével és helyes alkalmazásával előnyös tulajdonságokat építhetünk a gyógyszer hordozó rendszerekbe. Korábbi kutatások során megállapították, hogy egy olaj szükséges HLB-értéke azzal az emulgensek által meghatározott eredő HLB-értékkel esik egybe, mely minimuma a cseppméret *versus* HLB-érték görbének és maximuma a turbiditás *versus* HLB-érték görbének. O/V típusú emulziós rendszerek esetében meghatároztam, hogy a citromolaj szükséges HLB-értéke 12 ± 1 és az olívaolaj szükséges HLB-értéke 6 ± 1 .

Az emulziók instabilitásából eredendően olyan, ún. száraz emulziós rendszerek formulálásával foglalkoztam, amellyel a stabilitásproblémák elkerülhetők. Ezeknek a száraz hordozóknak az előnye ugyanis, hogy maga az emulzió csak a felhasználás előtt, illetve az alkalmazás helyén képződik. A liofilizálás jól ismert és bevált módszer ezeknek a tablettáknak az elkészítésére. Munkám során egy másik módszerrel, a préseléssel is előállítottam száraz emulziókat. Mindkét esetben a mannit segédanyagot találtam megfelelően hatékonyan olívaolaj tartalmú tabletták formulálására. Az emulzió rekonstitúciója során - vagyis a tabletták vizes diszpergálását követően - az

újraképződött, illetve képződött emulzió jellemző cseppméreteloszlásával igazoltam, hogy az olívaolaj cseppméretét a fagyasztva szárítás során megőrizte, a préselés pedig lecsökkentette. A préselés, tehát a liofilizálás mellett alkalmas módszer lehet száraz emulziós rendszerek előállítására.

SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

1. **Niczinger NA**, Hajdú M, Budai L, Dredán J, Antal I. (2011) A HLB-érték jelentősége a gyógyszer technológiában. *Acta Pharm Hung*, 81: 151-163.
2. **Niczinger NA**, Kállai-Szabó N, Dredán J, Budai L, Hajdú M, Antal I. (2015) Application of droplet size analysis for the determination of the required HLB of lemon oil in O/W emulsion. *Curr Pharm Anal*, 11:11-15.
3. **Niczinger NA**, Kállai-Szabó B, Lengyel M, Gordon P, Klebovich I, Antal I. (2017) Physicochemical analysis in the evaluation of reconstituted dry emulsion tablets. *J Pharm Biomed Anal*, 134:86-93.