

LIBERÁCIÓ 3.

A hatóanyag-leadás vizsgálata

Pál Szilárd

Pécsi Tudományegyetem Gyógyszerésztudományi Kar
Gyógyszertechnológiai és Biofarmáciai Intézet

1970

- Az **USP 18** bevezette az első hivatalos kioldódásvizsgálati módszert – az Apparatus 1-et, azaz a **forgókosaras módszert**



U.S. PHARMACOPEIA
*The Standard of Quality*SM

1990

- További módszerek bevezetése (pl. forgóhenger)



1995

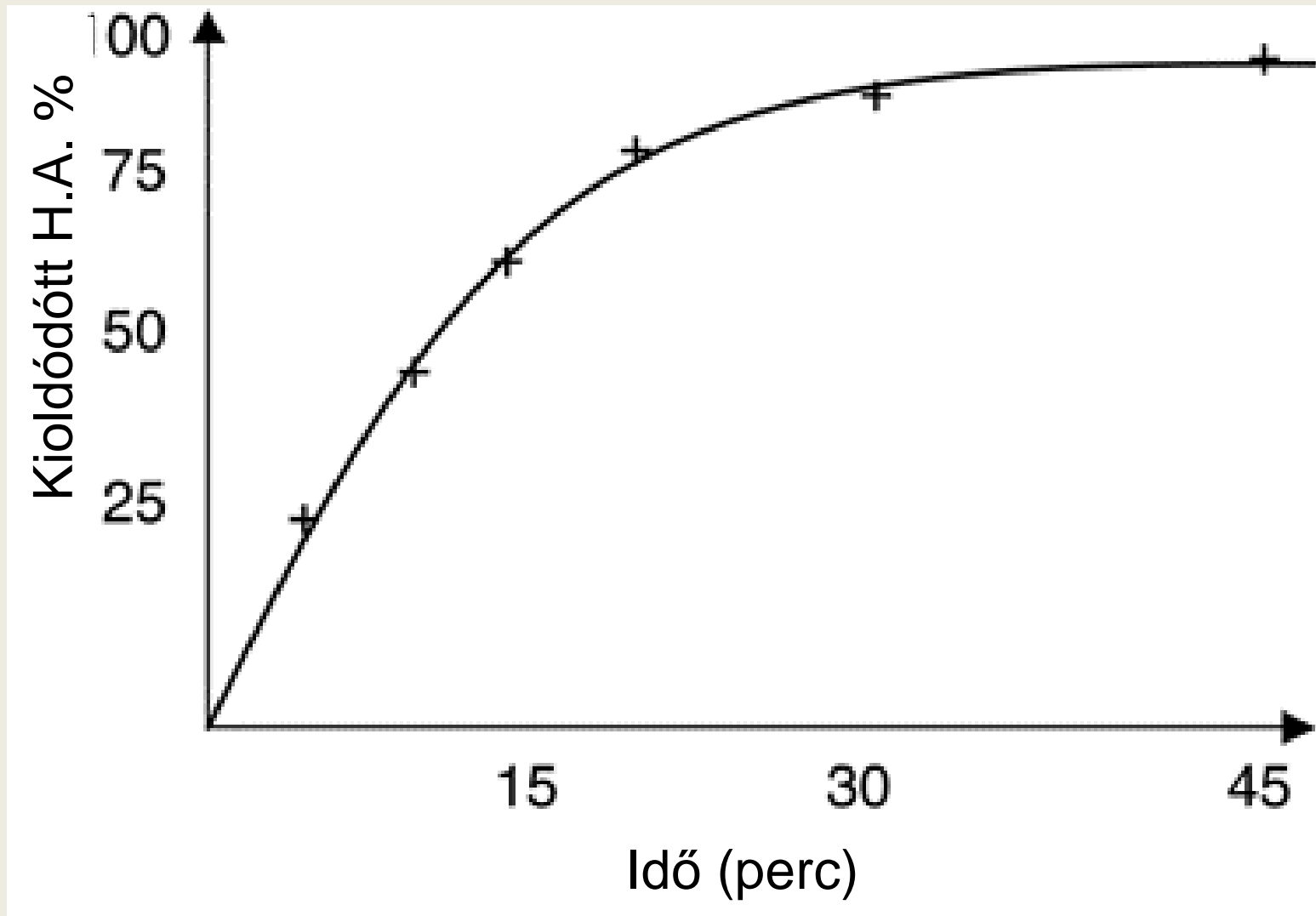
- Átfolyócellás módszer bevezetése



Miért fontos a kioldódás-vizsgálat?

- A **gyógyszerformulálás optimalizálásának** elengedhetetlen vizsgálata
- Originális gyógyszerek **törzskönyvezésének** alapvető tartozéka
- **Generikus gyógyszerek** törzskönyvezésénél az originálishoz történő **hasonlítás** legfőbb alapja
- **In vitro-in vivo korreláció** felállításának alapja

Kioldódási görbe



Módszerek

- **Zárt rendszerű** (zárt tartályos vizsgálatok) – kumulatív típusú
- **Nyílt rendszerű** (átfolyócellás vizsgálatok) – differenciál típusú
- **Diffúziós, dializáló rendszerű** (jellemzően mikro- és nanorendszerek esetében)

A vizsgálat körülményei

- Az alkalmazott **készülék típusa**
- A vizsgálófolyadék (**kioldó közeg**, médium) összetétele, **térfogata**, **hőmérséklete**
 - Aqua purificata
 - HCl
 - Pufferek
 - Mesterséges gyomornedv
 - Mesterséges bélnedv
 - Felületaktív anyagot tartalmazó kioldó közeg
- A keverők, forgó elemek **fordulatszám**a
- A mintavétel **időpontja**, módja, a kivett **minta mennyisége**
- Az **analitikai módszer**

készülék	hivatalos	jelzése	felhasználási lehetőségei
forgókosaras	Ph. Hg. Ph. Eur., USP	1	úszó tabletták, multipartikuláris rendszerek, kúpok
forgólapátos	Ph. Hg. Ph. Eur., USP	2	tabletták, kapszulák, orális szuszpenziók, rágótabletták, kúpok szájban széteső tabletták, kúpok
mozgóhengeres (lengőhengeres)	Ph. Hg., Ph. Eur., USP	3	multipartikuláris gyógyszerformák, lágyzselatin kapszulák, tapaszok
átfolyócellás	Ph. Hg. Ph. Eur., USP	4	módosított hatóanyagleadású készítmények, lágyzselatin kapszulák, lipofil kúpok, porok speciális cellával, implantátumok
szitakorongos	Ph. Hg. Ph. Eur., USP	5	transzdermális tapasz
forgóhengeres	USP	6	tanszdermális tapasz
forgókorongos	USP	7	nem széteső módosított hatóanyagleadású készítmények, transzdermális tapasz

Liberációs vizsgálatok

Gyógyszerkönyv által ajánlott kioldódás vizsgáló módszerek pufferjeinek pH értékei

pH	kioldóközeg
pH 1,0	HCl
pH 1,2	HCl és NaCl
pH 1,5	HCl és NaCl
pH 4,5	foszfát-, vagy acetátpuffer
pH 5,5 és 5,8	foszfát-, vagy acetátpuffer
pH 6,8	foszfátpuffer
pH 7,2 és 7,5	foszfátpuffer

0-1 óra	1-2 óra	2-3 óra	3-4 óra	4-5 óra	5-6 óra	6-7 óra	7 óra
1,0							
1,2	6,8						
1,2	2,5	4,5	7,0		7,5		
1,5	4,5			7,2			

Liberációs vizsgálatok

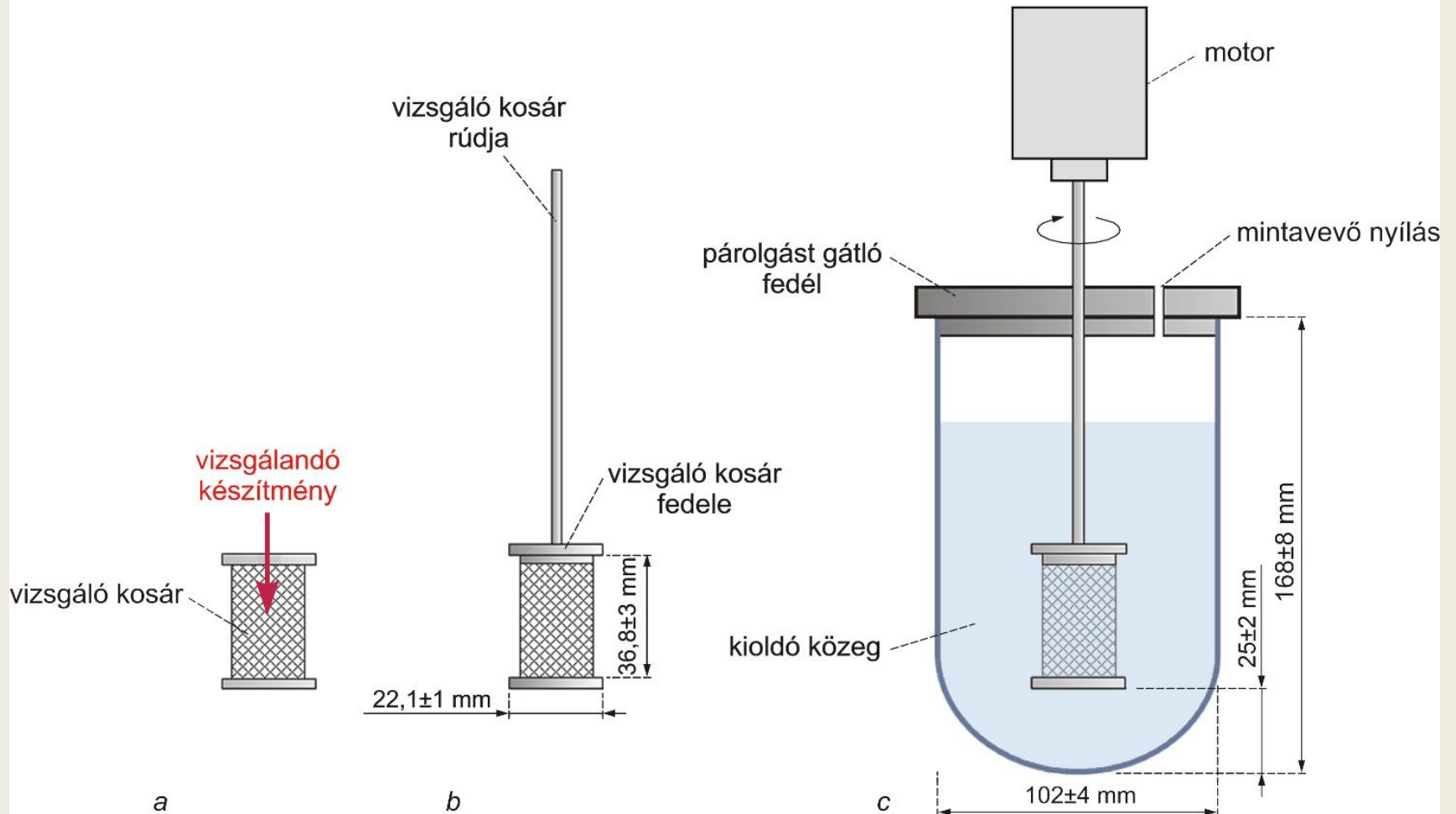
Az in vivo kioldódási körülményeket tükrözni képes in vitro modell

fiziológiás tényezők	in vitro tényező
pH	különböző pH-jú közegek
gasztrointesztinális motilitás, perisztaltika	keverési körülmények
zsír- és fehérjetartalom, ételinterakció	zsírok, tej hozzáadása
enzimek	enzimek alkalmazása
epe	felületaktív anyagok
gasztrointesztinális tranzit ideje	pH-gradienssel történő vizsgálat

Liberációs vizsgálatok

Forgókosaras berendezés

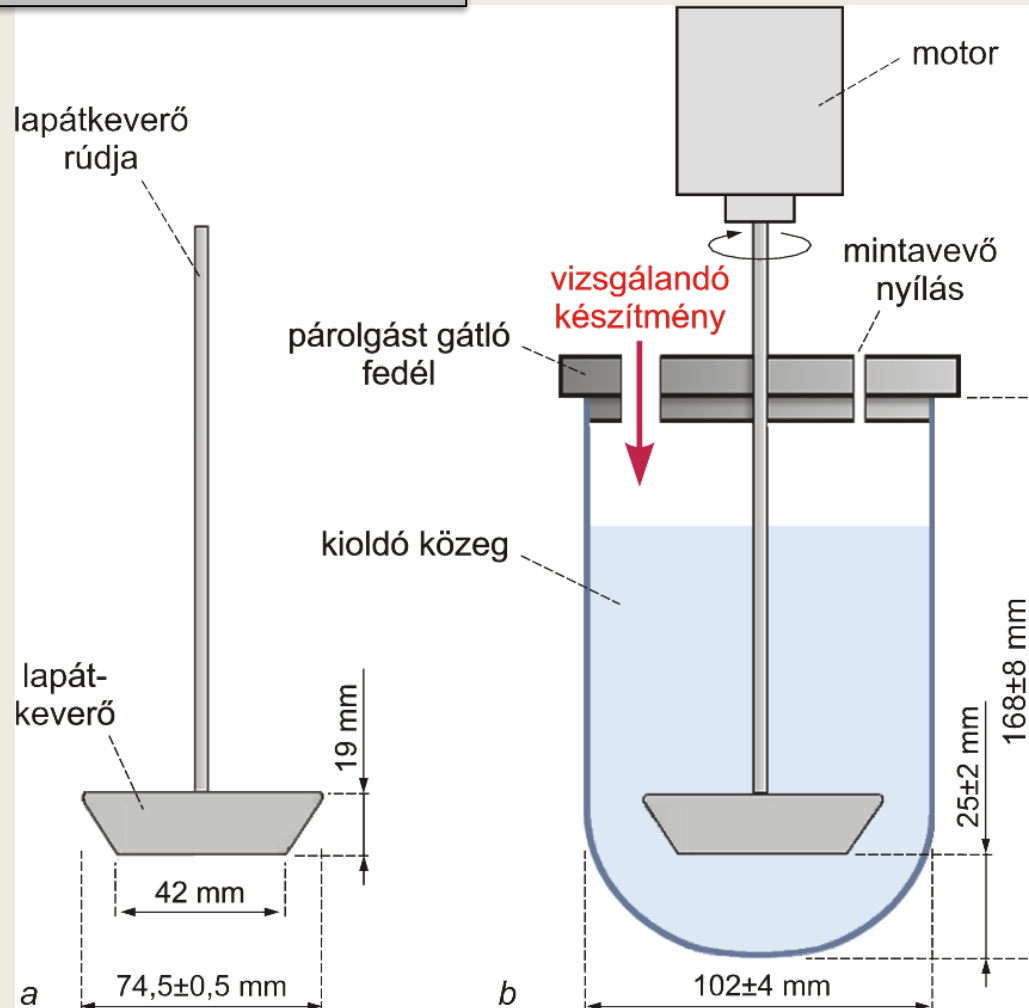
(Apparatus 1)



Liberációs vizsgálatok

Keveőlapátos berendezés

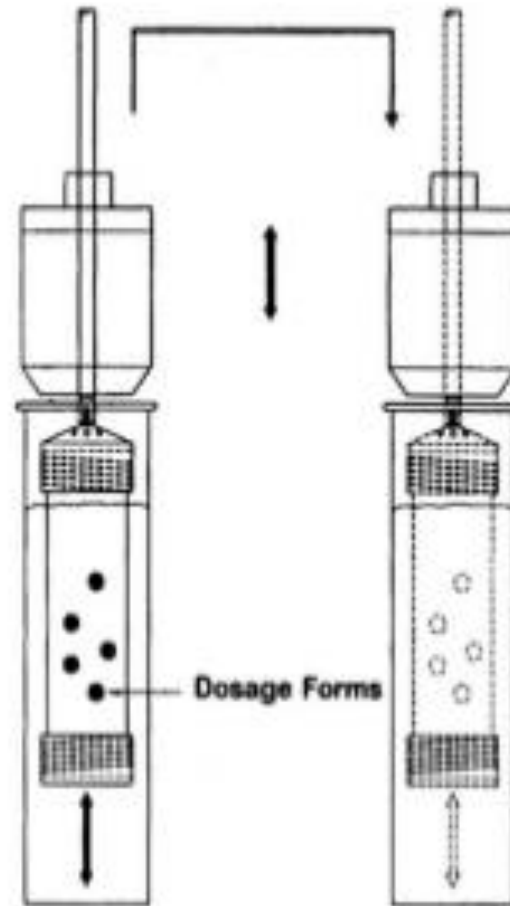
(Apparatus 2)



Liberációs vizsgálatok

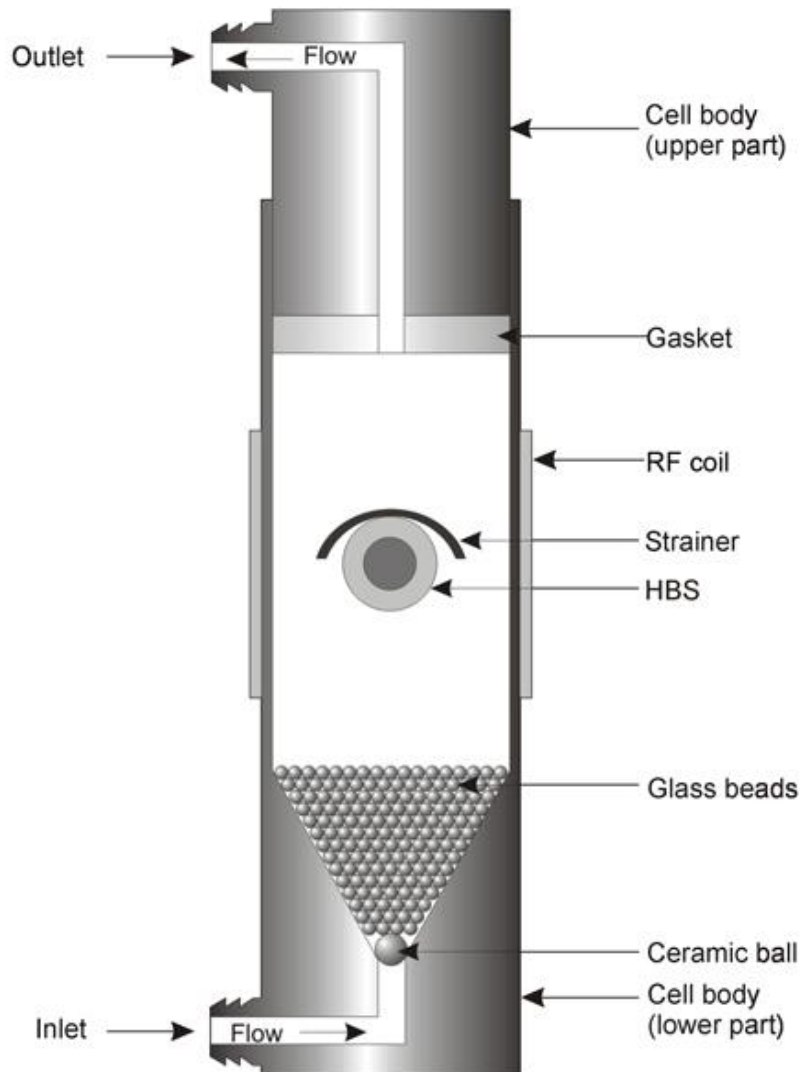
Függőleges mozgású készülék

(Apparatus 3)



Liberációs vizsgálatok

Átfolyócellás készülék (Apparatus 4)



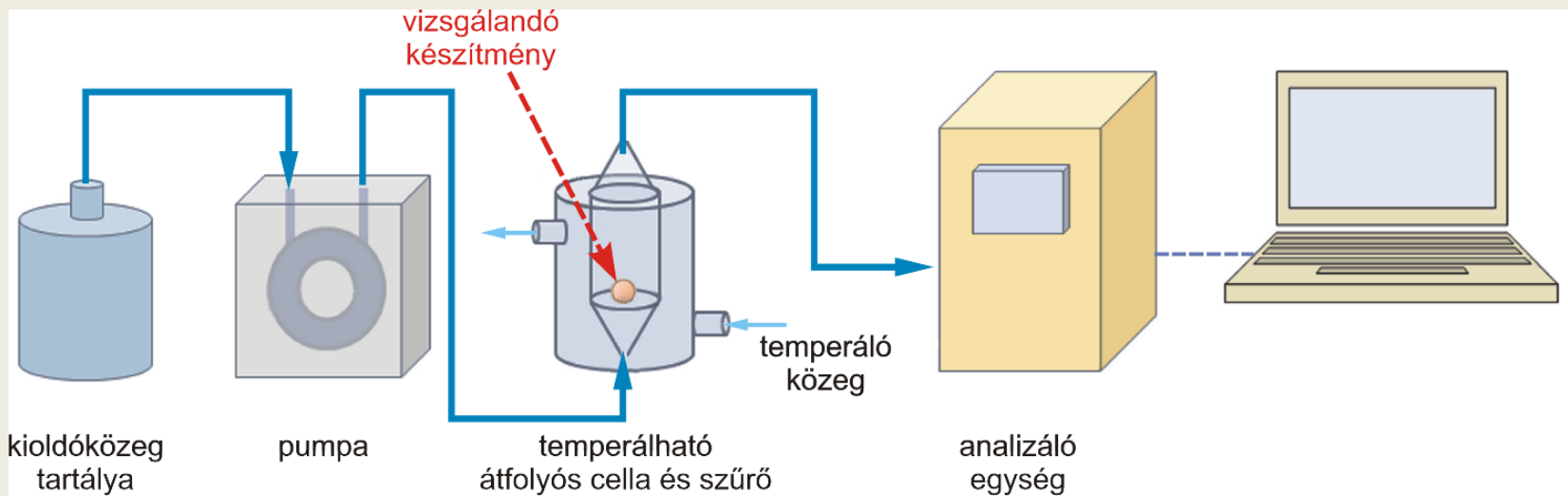
Részei:

- Vizsgálóanyag tartálya
- **Pumpa**, amely a vizsgálóanyagot az árfolyócellán keresztülrámoltatja
- **Átfolyócella** – átlátszó anyagból készült függőleges helyzetű kisméretű tartály, benne beépített szűrőrendszer akadályozza a fel nem oldódott részek eltávozását.
- **Vízfürdő**



Liberációs vizsgálatok

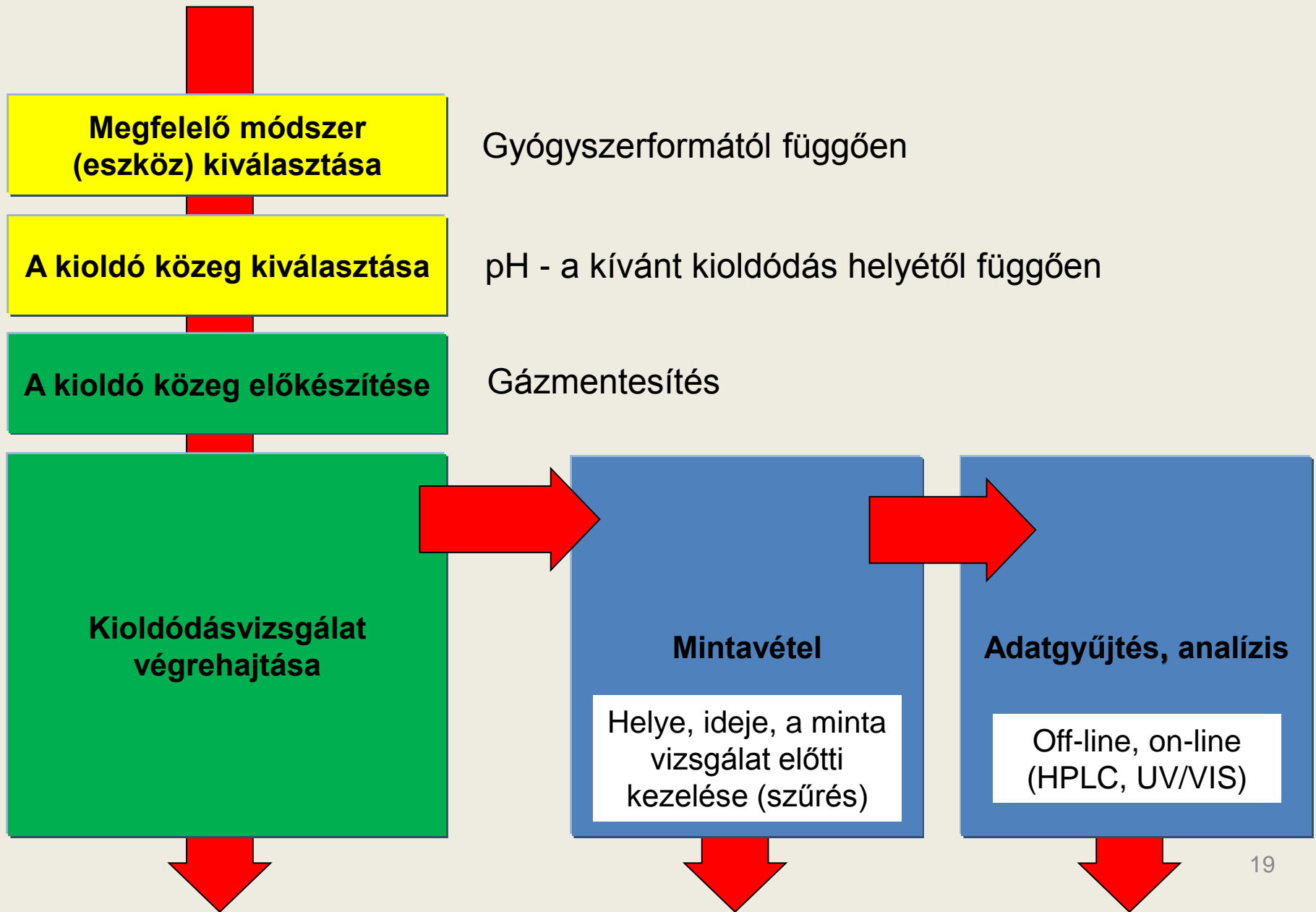
Szilárd gyógyszerformák kioldódásának vizsgálata



International Conference on Harmonisation (ICH)

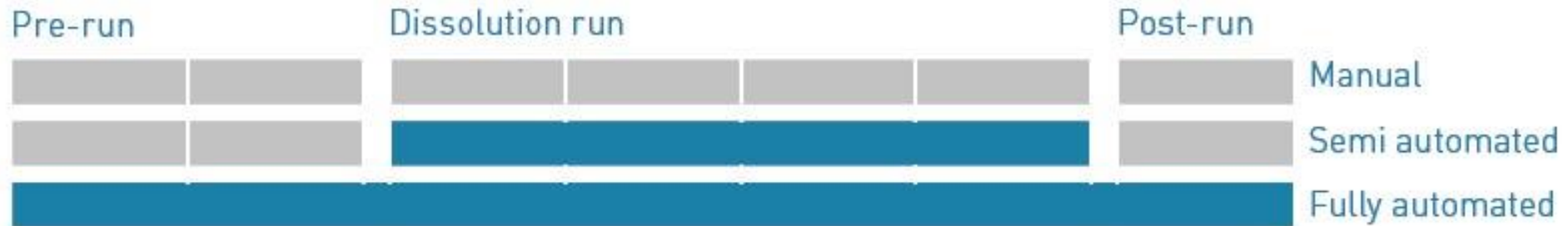
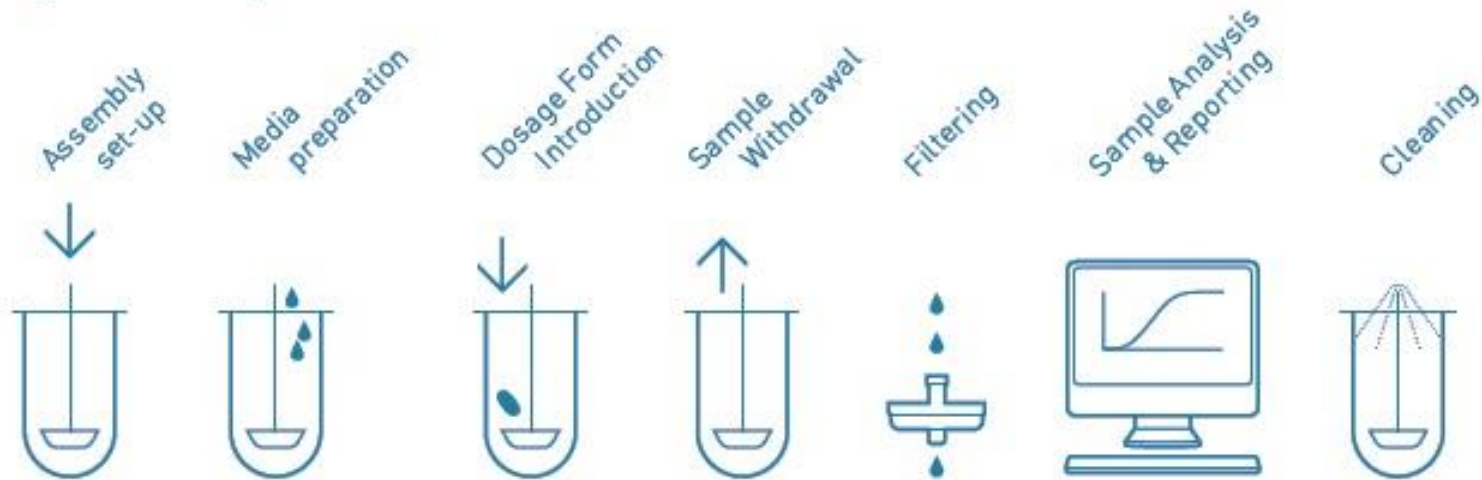
- Fogókosaras módszer (50/100 rpm)
- Forgólapátos módszer (50/75 rpm)
- Mintavétel 15 percenként, gyorsan kioldódó minták esetében 5-10 percenként
- Térfogat: 500 ml, 900 ml, 1000 ml (sink conditions)
- pH=1,2-6,8 (de nem több 8,0-nál)

A kioldódásvizsgálat menete



Kioldóásvizsgálatok végrehajtása

Required Steps



Requires user presence and interaction (technician-dependent)

Does not require user presence and interaction (technician-independent)

Gázmentesítés

- A helytelen gázmentesítés vagy alacsony vagy magas hatóanyag értékekhez vezetnek:
 - **Magas koncentráció értéket** kaphatunk akkor, ha a sok buborék a tablettá részecskéinek felszínére tapad, az felemelkedik és a kioldó közeg nagyobb örvényáramú részére kerül és így felgyorsul a kioldódás.
 - **Alacsony koncentráció értéket** akkor kapunk, ha a buborékok a kioldó kosár falára tapadnak, ez fizikai barriert képez a kioldó közeg és a tablettá között.

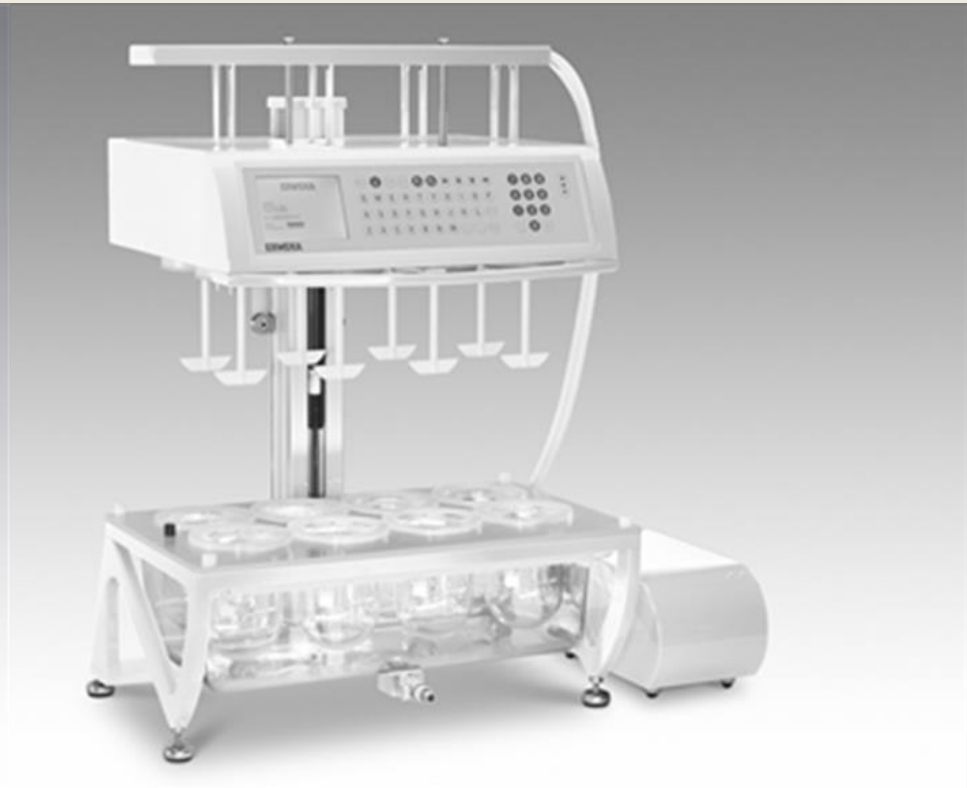
Gázmentesítés

- 22°C-on 8,74 mg/l oxigén található a vízben
- 37°C-on 7,73 mg/l oxigén található a vízben
- A kioldó közeg melegítésekor túltelítődik oxigénnel a kioldó közeg, ami buborékképződéshez vezet. (akár 130%-os túltelítődés)
- Megfelelő vizsgálatához a túltelítettségi oxigéntartalomhoz képest 5%-kal kevesebb oxigéntartalmat kell biztosítani.

Kioldódás-vizsgáló készülék (ERWEKA típus)



ERWEKA DT820 Dissolution tester



Kioldódás-vizsgáló készülék



Kioldódás-vizsgáló készülék



Kioldódás-vizsgáló készülék



Mintavevő kanül



UHMW – polietilén – 35-40 μ m átlagos pórusátmérőjű

kanül filterek



In-line filter disc



Keverőlapát



PTFE – politetrafluor-etilén keverőlapát



Forgókosár



Forgókosár



Forgókosár





Süllyesztőspirál



Süllyesztőspirál

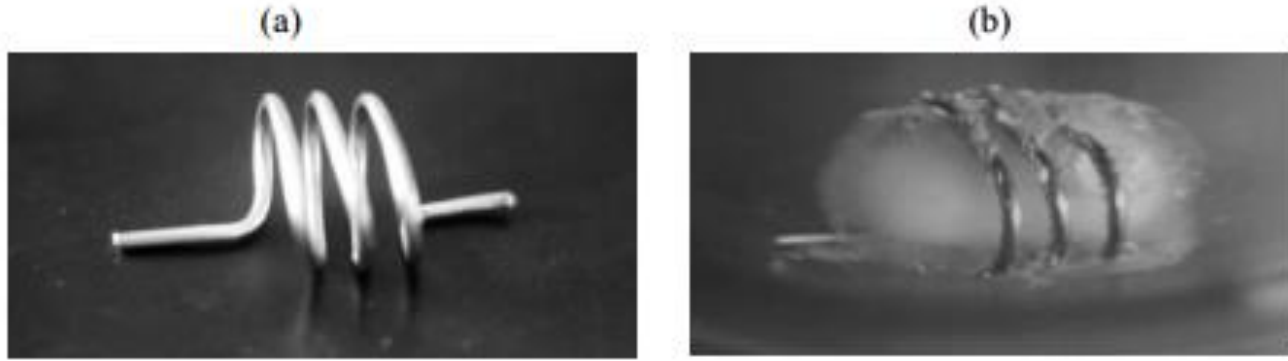


Fig. 1. Tablet sinker (a) and the sinker with a PTFE tablet during dissolution (b)

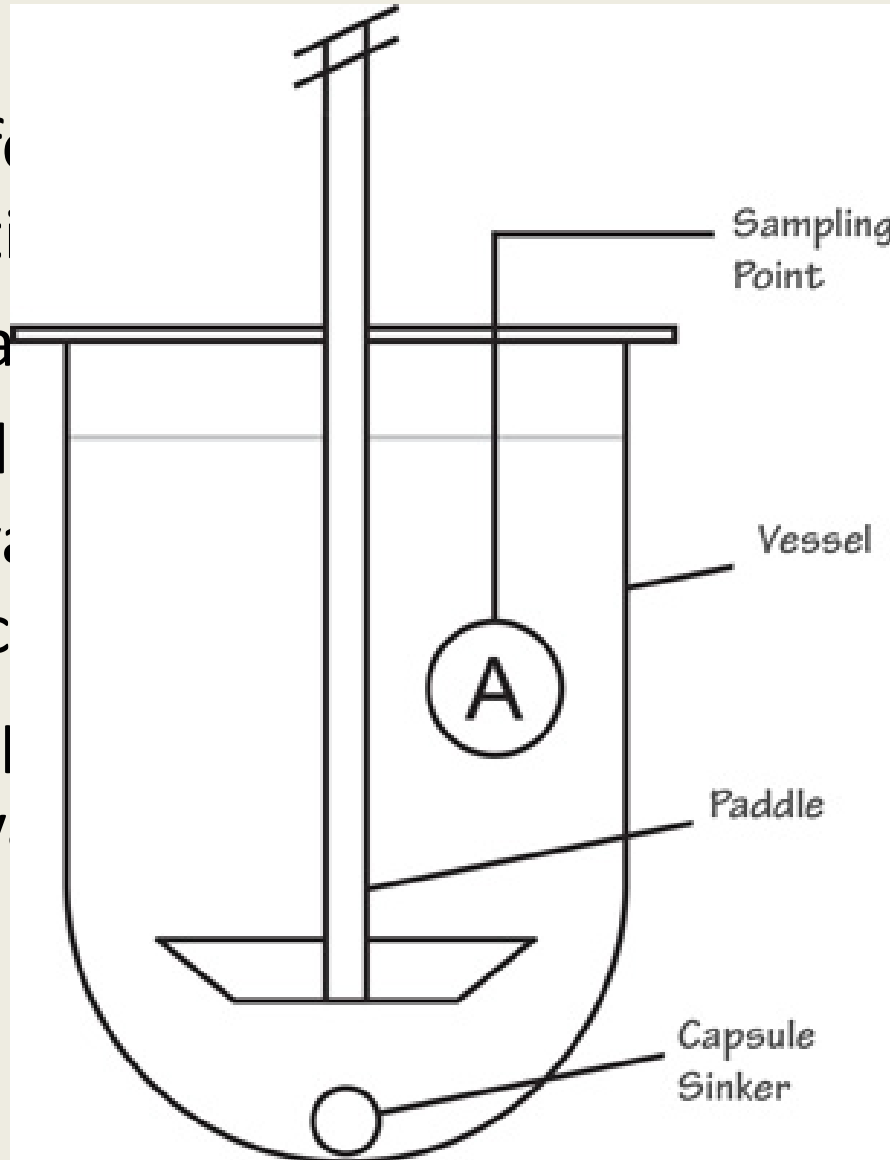
Scientia Pharmaceutica (Sci. Pharm.) 75, 147-163 (2007)

GoodTailin Autosampler



A mintavétel helye

- A vizsgálófolyadék teteje között
- A tartály falánál
- A kivett folyadék vizsgálófolyadék a térfogatcsökkentés érdekében
- Kivételt képez a tartályba való



gy lapát

n.

nyiségű

isba vesszük

kerül a

eszünk.

Transzdermális tapaszok vizsgálata

- Szitakorongos eljárás

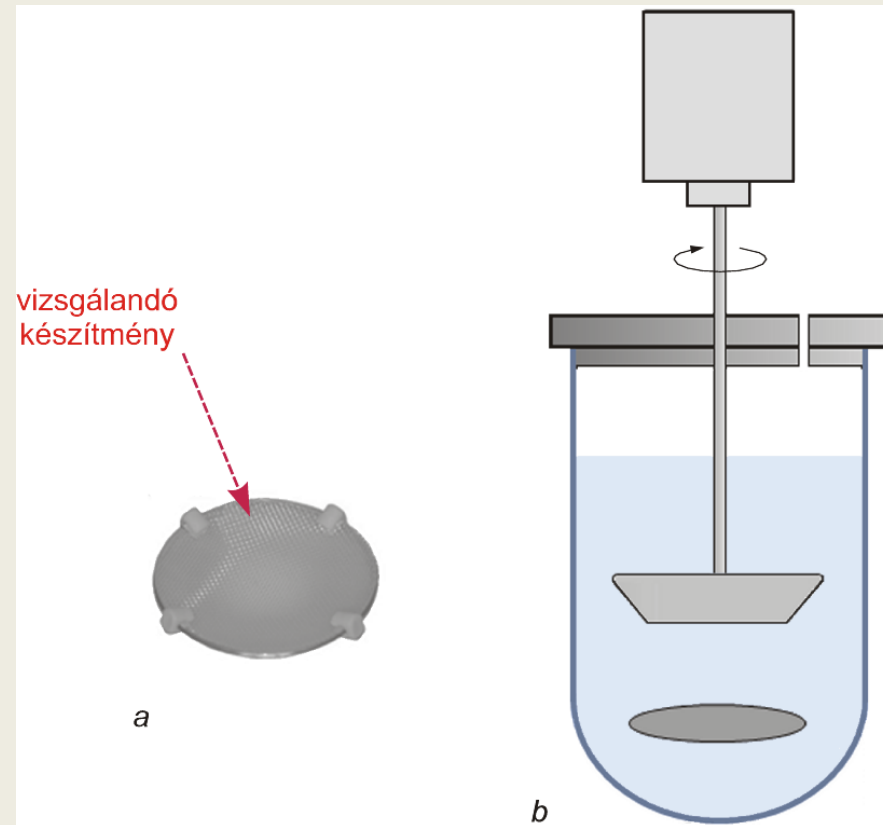
- Az eljárás során a forgólapátos készüléket használjuk.
- Az alkalmazott rozsdamentes acélszita 125 μm fonalközű.
- A korong a tapaszt a hatóanyagleadó felületével felfelé tartja.
- Hőmérséklet: $32 \pm 0,5^\circ\text{C}$

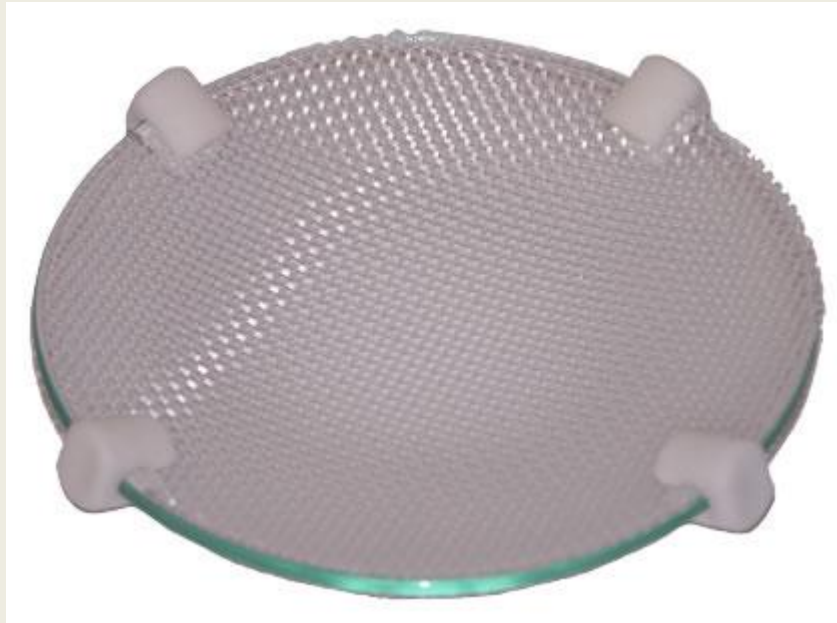
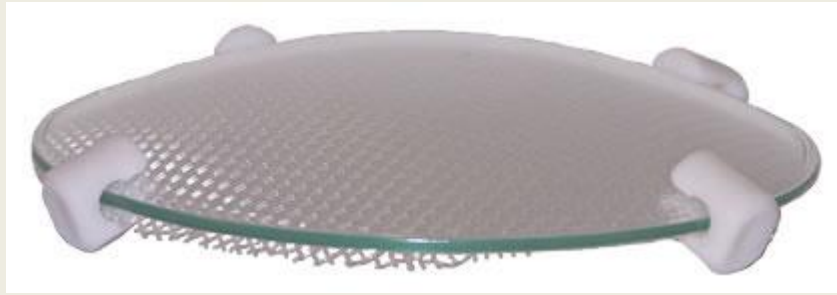
Liberációs vizsgálatok

Transzdermális tapaszok hatóanyagleadásának vizsgálata

A **szitakorongos eljárás** esetében, a vizsgálat során a vizsgáló folyadék adott mennyiségét rendszerint 32°C-ra melegítjük.

A tapaszt a korongra helyezük, és a koronghoz rögzítjük. A korongra ragasztott tapaszt hatóanyagleadó felületével felfelé a tartály aljára helyezük és a keverést (100 ford/perc) megindítjuk.





Transzdermális tapaszok vizsgálata

- Cellás eljárás
 - A forgólapátos eljárás alkalmazható ebben az esetben is.
 - A kioldócella egy rozsdamentes acélgyűrű.

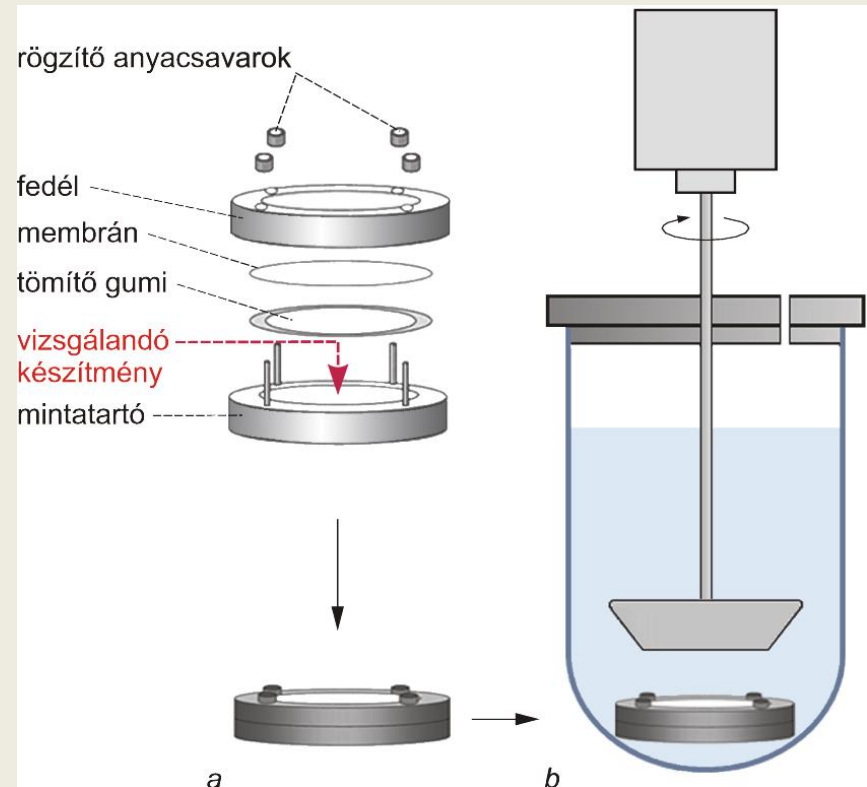
Liberációs vizsgálatok

Transzdermális tapaszok hatóanyagleadásának vizsgálata

A **cellás eljárás** alkalmazásakor a tapaszt a mintatartó közepén található mélyedésbe helyezzük, hatóanyagleadó oldalával felfelé.

Ha szükséges membránnal zárjuk le, és a fedelet a csavaranyákkal rögzítjük.

A kioldódás vizsgáló tartályba helyezzük, és a hőmérsékletet beállítjuk és a kioldódott hatóanyag mennyiségét alkalmas módszerrel határozzuk meg.

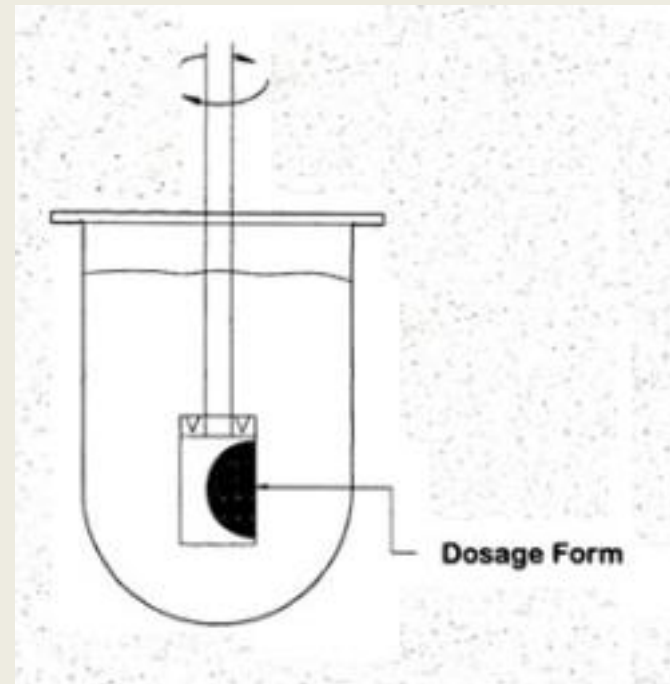


Transzdermális tapaszok vizsgálata

- Forgóhengeres eljárás
 - A forgólapátos készülék alkalmazandó ebben az esetben is.
 - A forgólapátot hengerrel helyettesítjük.
 - A tapaszt a tapadó felületével egy megfelelő közömbös anyagú, porózus membránra helyezzük.
 - A membrán minden oldalon legalább 1 cm-rel nagyobb legyen, mint a tapasz.

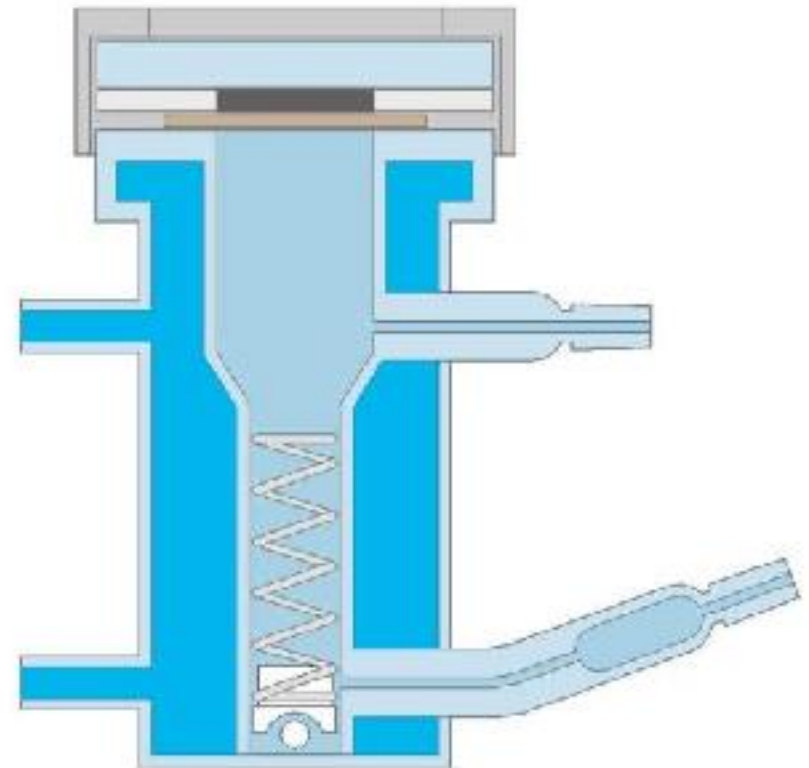
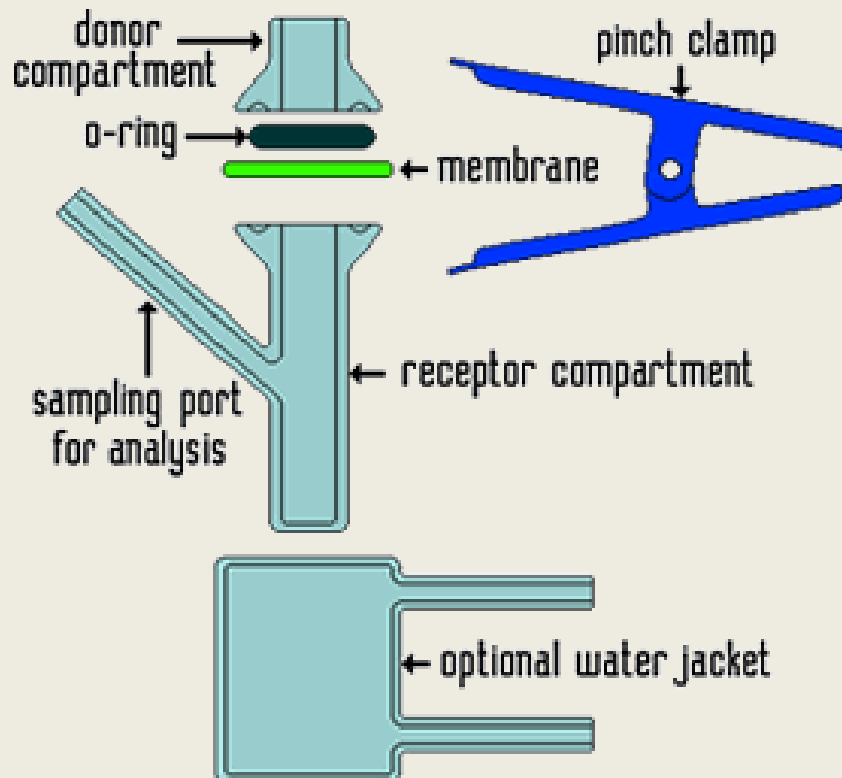
A tapasz rögzítése

- Megfelelő ragasztószert kenünk a membrán szabadon maradt széleire
- Kétoldalán tapadó ragasztószalagothelyezünk a henger külső falára.
 - A tapasz nem tapadó hátoldalát enyhe nyomást alkalmazva a hengerre illesztjük úgy, hogy a hatóanyagfelület érintkezzék a vizsgálófolyadékkal, és a tapasz hosszanti tengelye körülforogja a henger kerületét.



Félszilárd gyógyszerformák hatóanyagleadás-vizsgálata

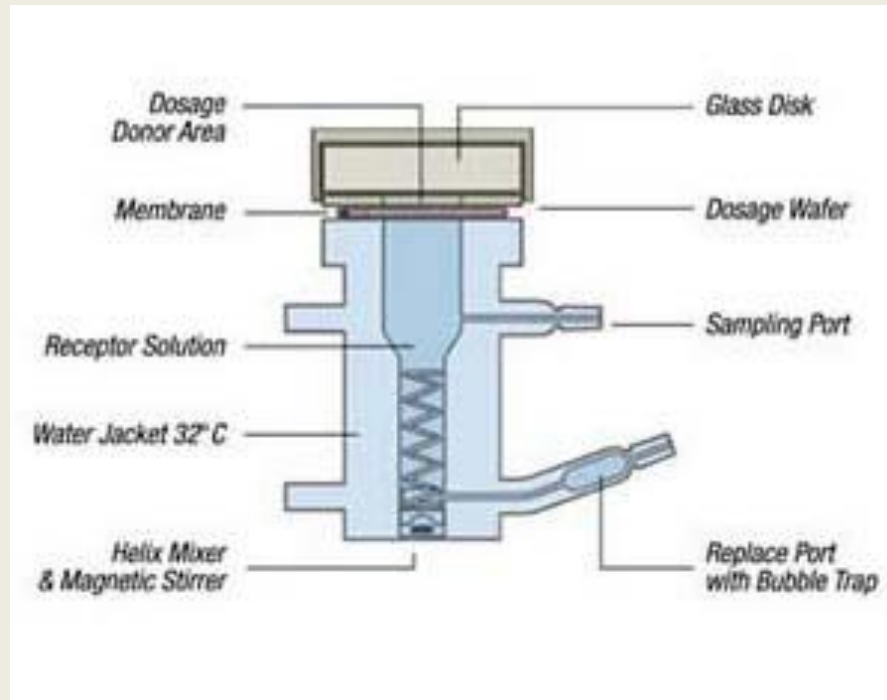
Franz-cella



Franz-cella



Franz-cella



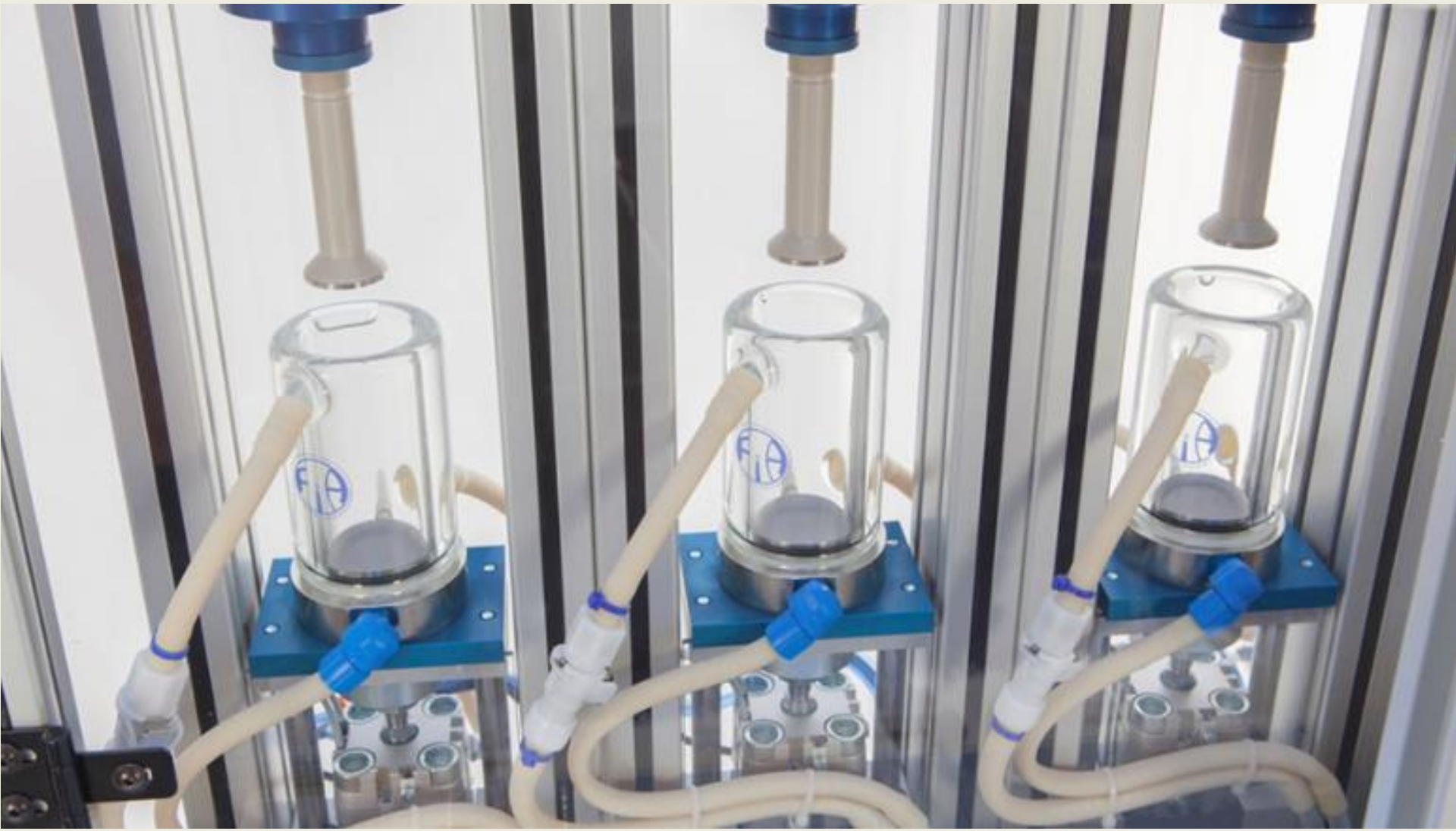
MicroettePlus



Gyógyszeres ráógumik hatóanyagleadása

- A vizsgálat során a ráógumit ismert térfogatú (20-40 ml), tompító oldatot (mesterséges nyál) tartalmazó kisméretű ráógókamra mechanikus gyúróhatásának vetjük alá.
- Hőmérséklet: $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$
- Rágófrekvencia 60 rágás/perc

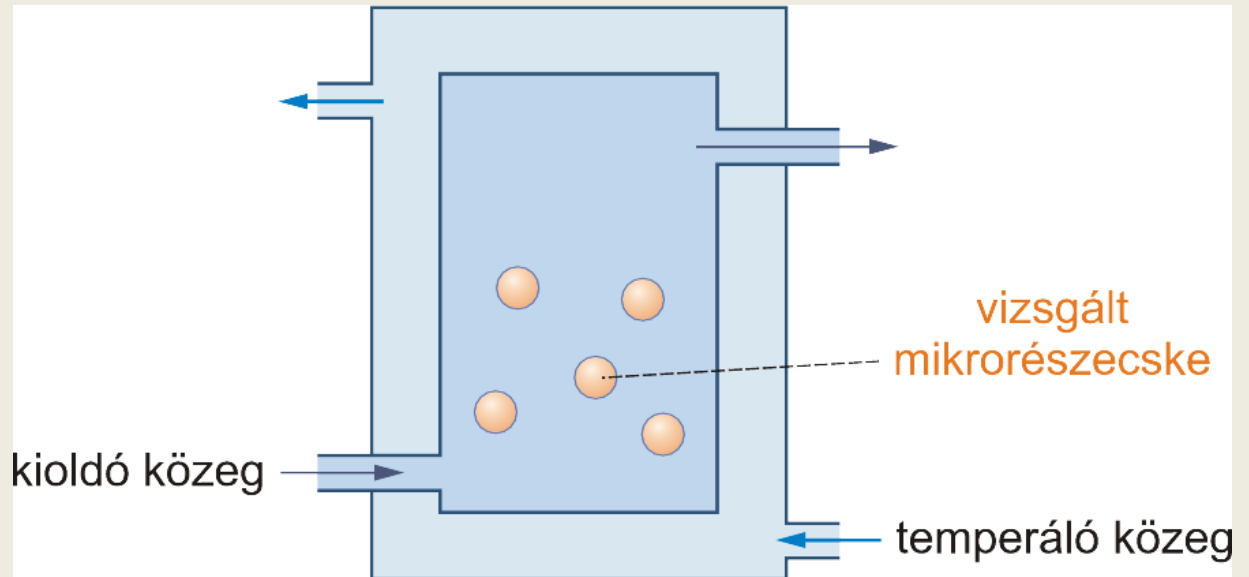
Gyógyszeres rágógumik hatóanyagleadása





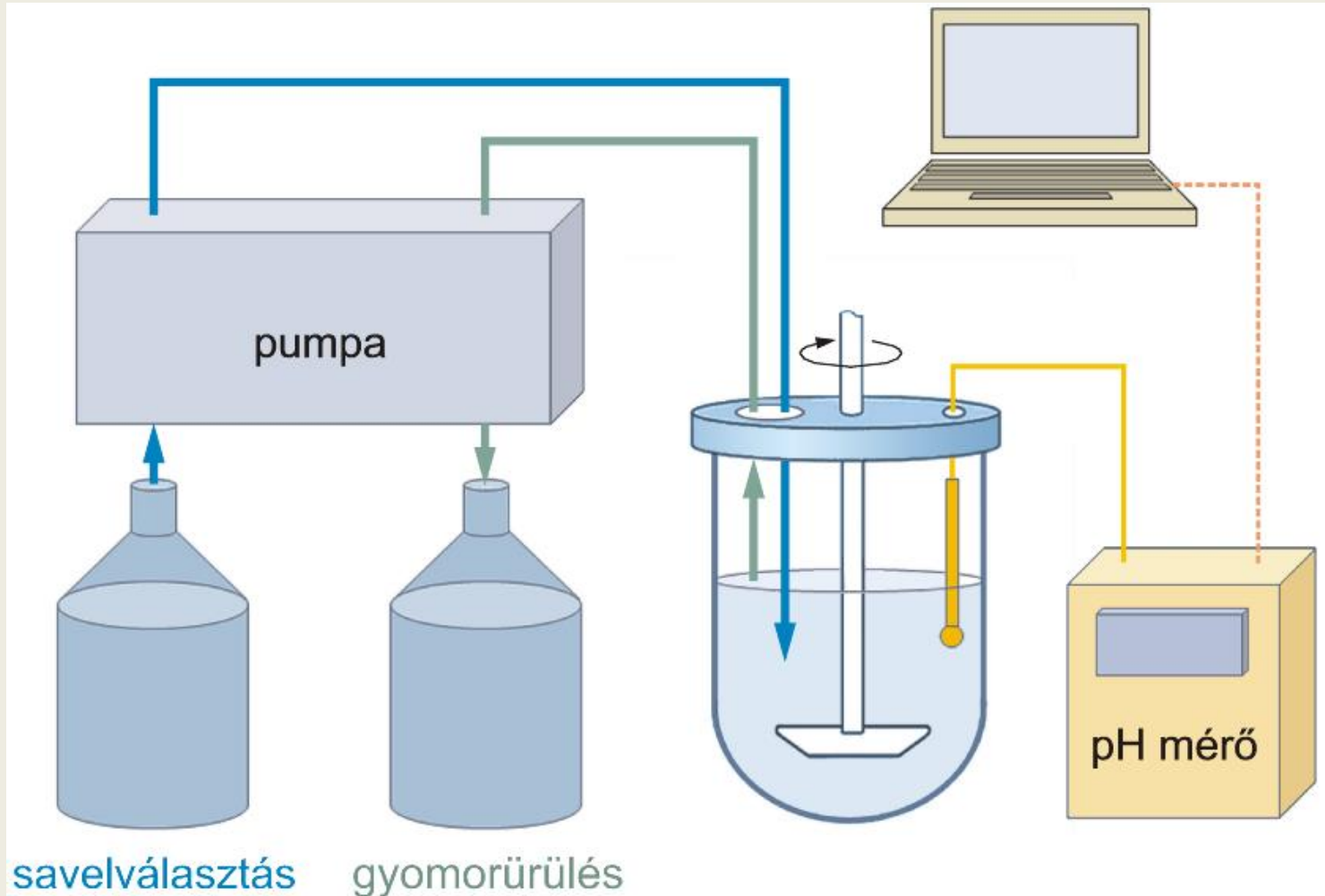
Liberációs vizsgálatok

Mikrorendszerek kioldódása



Liberációs vizsgálatok

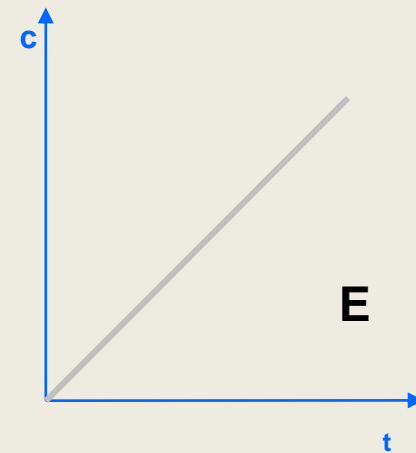
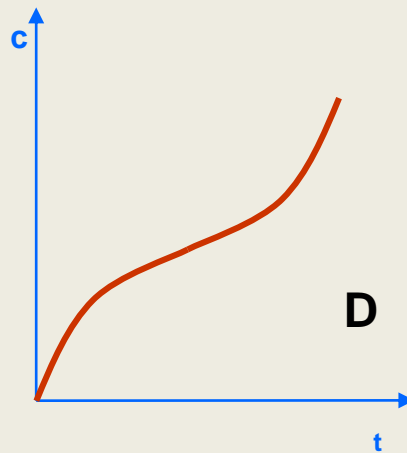
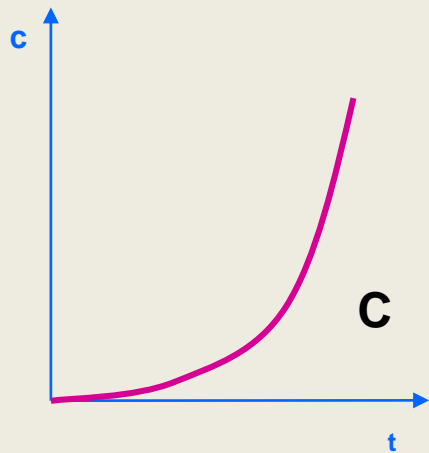
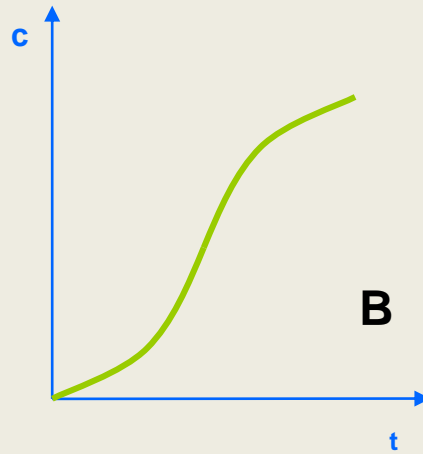
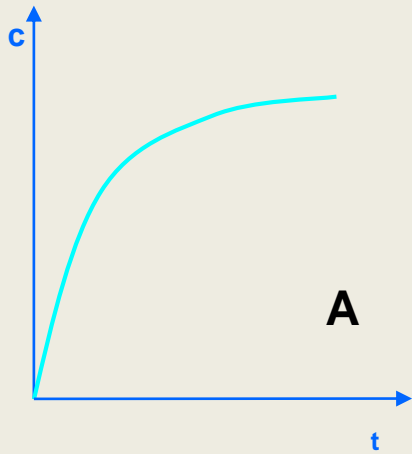
Szimulált gyomor



A hatóanyag-leadás értékelése

A liberáció

Hatóanyag-kioldódási görbék



Liberációs vizsgálatok értékelése

A kioldódási profilok összehasonlító értékelésére használhatók:

1.) modell-függő

2.) modell-független módszerek

Liberációs vizsgálatok értékelése

Modell-függő módszerek

A kioldódási folyamatokat közelítő függvények

1.) elméletileg megalapozottak,
2.) elméletileg nem megalapozottak, csak leíróak, tapasztalatiak

Modell-függő módszerek

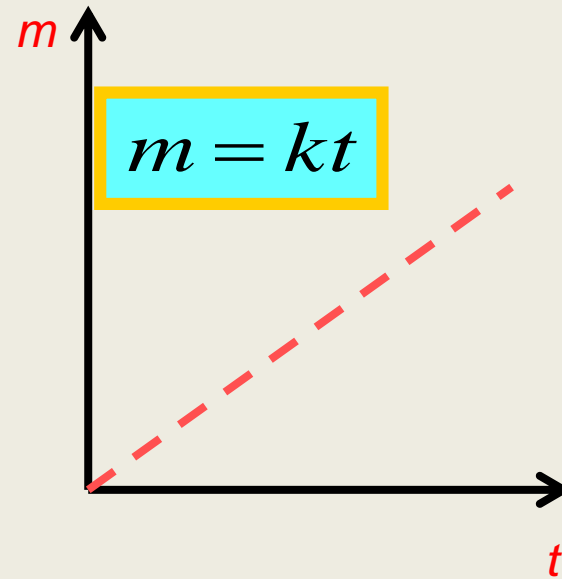
nulladrendű kinetika

$$m = kt$$

m ha. mennyisége t időben

t idő

k sebességi állandó



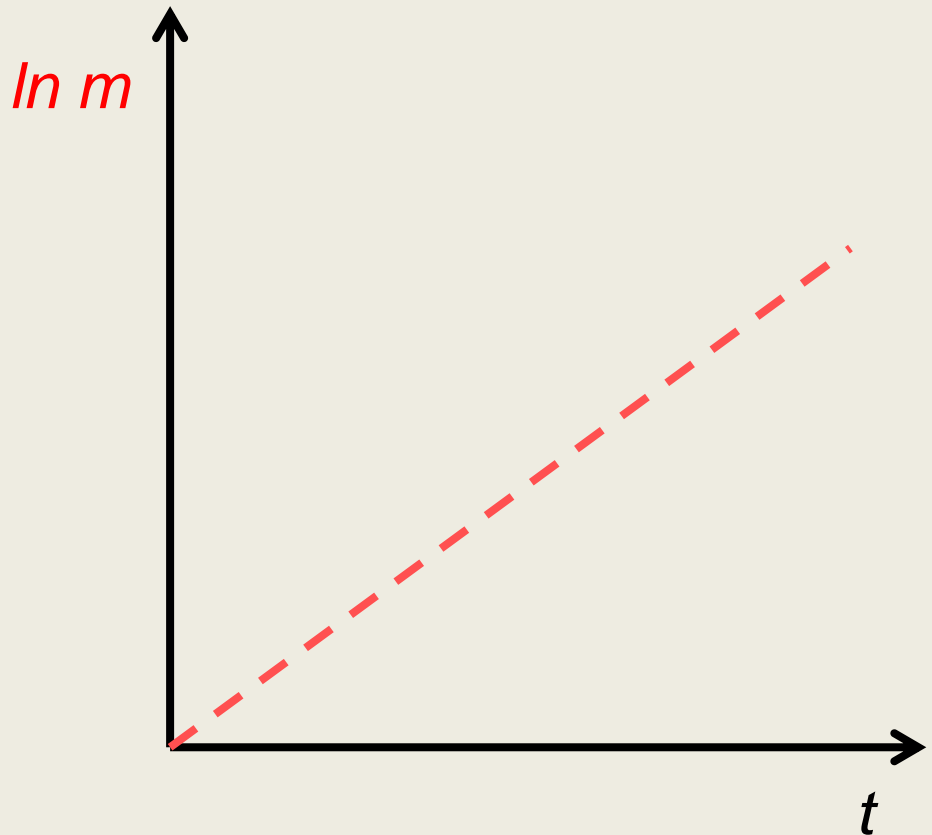
Modell-függő módszerek

elsőrendű kinetika

$$\frac{dm}{dt} = km$$

$$m = m_0 e^{-kt}$$

$$(\ln m - \ln m_0) = -kt$$



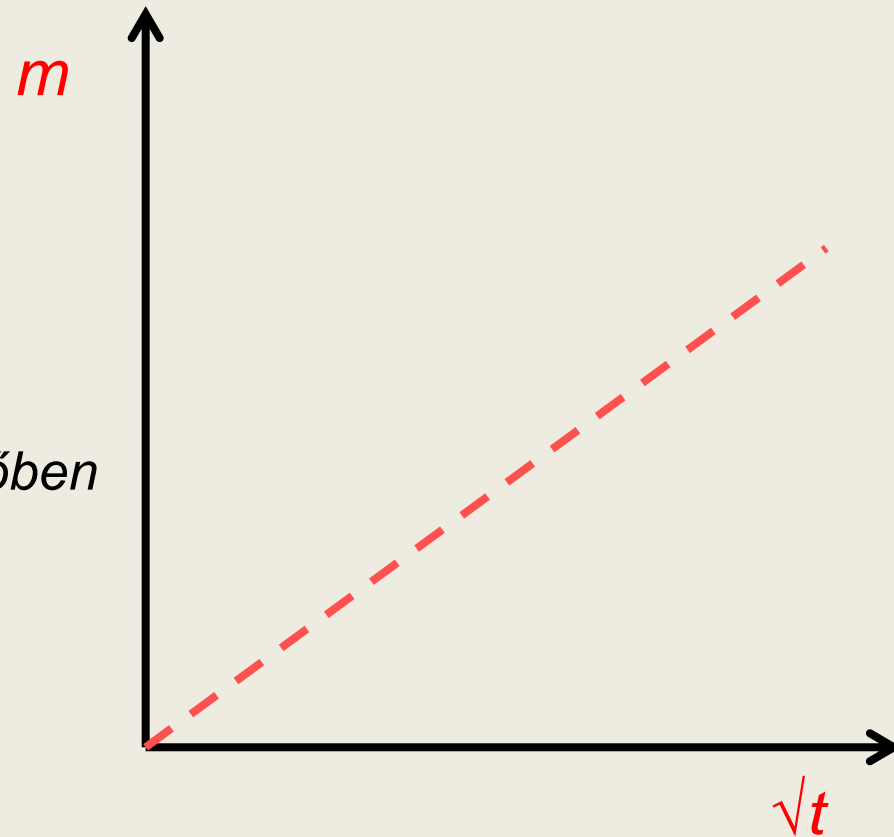
Modell-függő módszerek

polimer mátrix diffúzió

Higuchi összefüggés

$$m = \sqrt{D(2C - C_s)C_s t}$$

- m a kioldódott h.a. mennyisége t időben
 D diffúziós állandó
 C_s a ha. oldékonysága
 C a ha. kezdeti koncentrációja



Modell-függő módszerek

pórusos rendszerek

$$m = \sqrt{\frac{D_s \varepsilon C_s}{\tau} (2M - \varepsilon C_s) t}$$

m kioldódott ha. mennyisége
 t időben

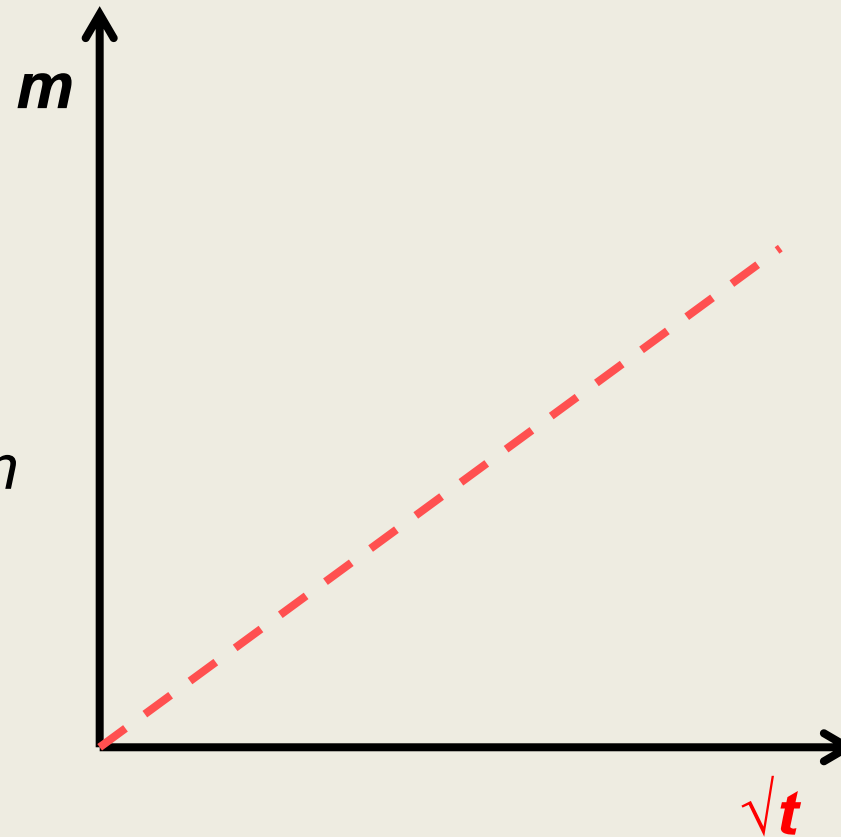
M ha. mennyisége a mátrixban

C_s ha. oldékonysága

D_s ha. diffúziós állandója

ε porozitás

τ kanyarulatossági tényező



Modell-függő módszerek

biológiai erózió

$$m = k_e A_e t$$

m kioldódott ha. mennyisége t
időben

k_e eróziós állandó

A_e erodeálódó (változó) felület

Modell-függő módszerek

ozmotikus rendszerek

$$m = \frac{\pi A}{h} \Delta p C_s t$$

- m a kioldódott ha. mennyisége t időben
- π permeabilitás
- A felület
- Δp ozmotikus nyomáskülönbség
- C_s oldékonyság
- h a féligáteresztő membrán vastagsága

Modell-függő módszerek

általánosítható modellek

Weibull modell

$$m / m_{\infty} = 1 - \exp\{-[(t - t_0) / \tau]^{\beta}\}$$

$$m / m_{\infty} = 1 - e^{-\left[\frac{t-t_0}{\tau}\right]^{\beta}}$$

m t időben felszabadult hatóanyag mennyisége

m_{∞} $t=\infty$ időben felszabadult hatóanyag mennyisége

t idő

t_0 késési idő (lag time)

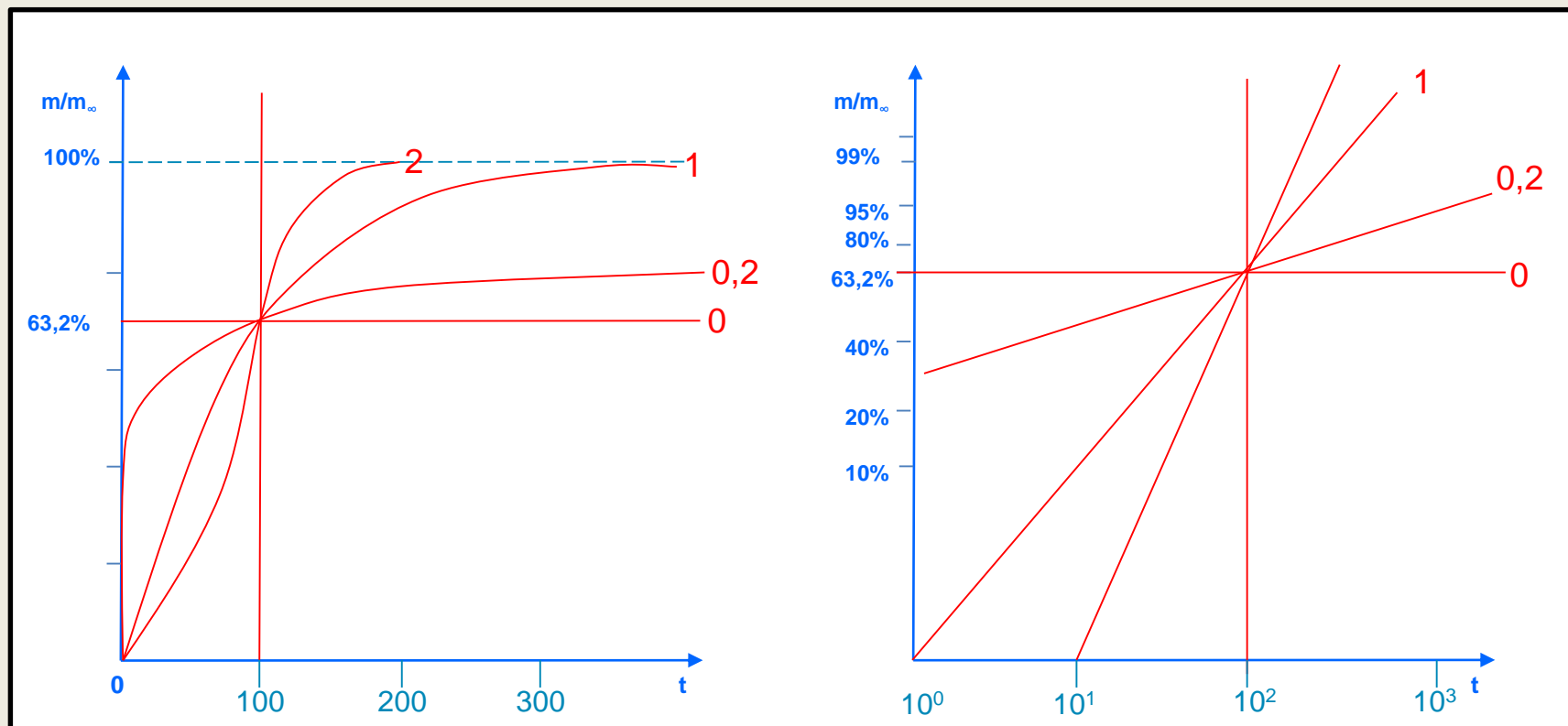
τ a 63,2% hatóanyag felszabadulásához szükséges idő

β alakú paraméter

Modell-függő módszerek

Weibull modell

β alaki paraméter



$\beta=1$ esetén elsőrendű kioldódás

A linearitáshoz szükséges $\beta \rightarrow 1$

Liberációs vizsgálatok értékelése

Modell-független módszerek I.

A kioldódási folyamatokat közelítő függvények **gyakran elméletileg nem megalapozottak, hanem csak leíróak, tapasztalatiak**, ezért a kioldódási profilok jellemzésére és összehasonlítására a kinetikai modellektől független módszereket is bevezettek

Liberációs vizsgálatok értékelése

Modell-független módszerek I.

A modell-független értékelő módszerek különböző kioldódási profilok értékelésére illetve összehasonlítására alkalmazhatók.

A módszerek **egyik csoportja az egyes kioldódási görbék egyedi jellemzését végzi el** először a különböző kioldódási profilok **jellemző értékeinek** (pl. közepes kioldódási idő, görbe alatti terület, kioldódási hatékonyság) kiszámításával, majd ezeket az értékeket statisztikai módszerekkel (statisztikai próbákkal) hasonlítja össze

Modell-független módszerek

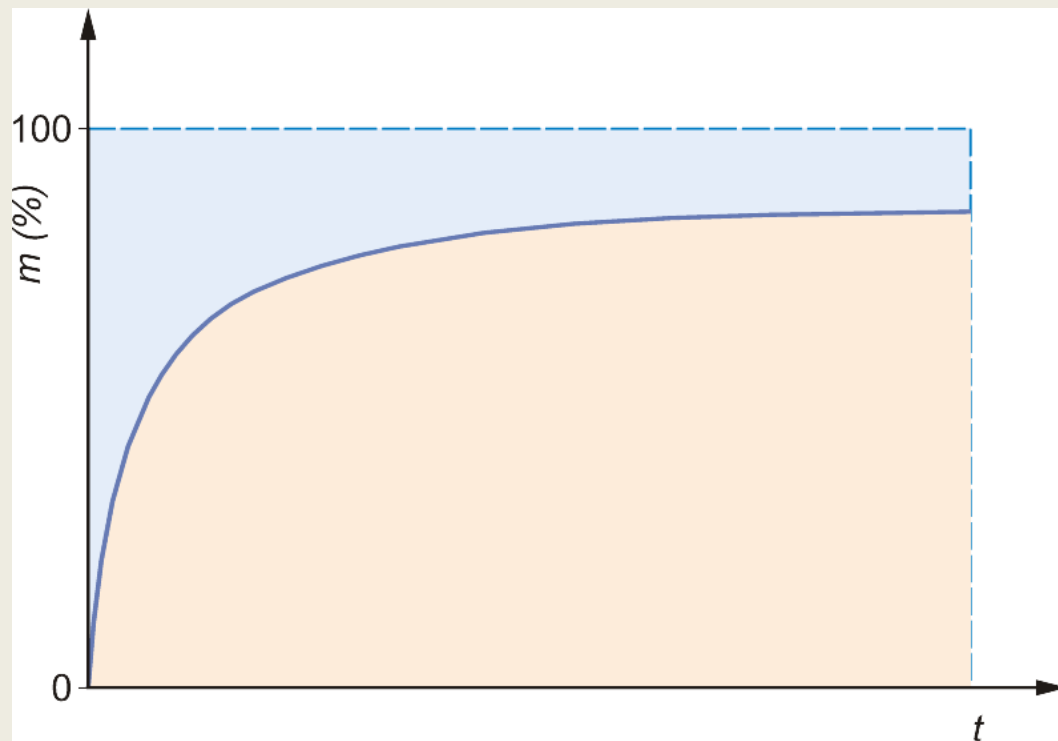
kioldódási hatékonyság (Dissolution Efficiency *D.E.*)

A kioldódási görbe adott időpontig számított görbe alatti területének aránya az ugyanazon időpontig számított maximális (100%-os) kioldódásnak megfelelő görbe alatti területértékhez képest.

$$D.E. = \frac{\int_0^t m_t dt}{m_{100\%} t} \times 100$$

m_t kumulatív százalékos kioldódás t időben

$m_{100\%}$ 100%-os kioldódás.



Modell-független módszerek

közepes kioldódási idő (Mean Dissolution Time, MDT)

Az MDT, mint összehasonlításra alkalmas jellemző különböző készítmények vizsgálatára, vagy az in vitro - in vivo korreláció felállítása szempontjából előnyös lehet

$$MDT = \frac{\int_{i=1}^n \bar{t}_i \Delta m_i}{\int_{i=1}^n \Delta m_i}$$

$$\bar{t}_i = \frac{t_{i-1} + t_i}{2}$$

- i minta száma,
 n mintavételi időpontok száma,
 \bar{t}_i a t_j és t_{j-1} közötti időpont középértéke,
 Δm t_j és t_{j-1} időköz alatt kioldódott hatóanyag mennyiség.

Liberációs vizsgálatok értékelése

Modell-független módszerek II.

A modell-független módszerek másik csoportja közvetlenül a **kioldódási profilok összehasonlítását végzi** úgy, hogy az összehasonlítandó adatsorok értékeit párosítja (*pairwise comparison*) és megfelelő statisztikai eljárás alkalmazásával, a hasonlóságot vagy különbözőséget jellemző tényező kiszámításával ad lehetőséget a hasonlóság eldöntésére.

Modell-független módszerek

illeszkedési faktorok (fit factors f_1, f_2)

A módszer a referens és a minta készítmény adott időpontban mért százalékos kioldódás értékeit hasonlítja össze, és a két kioldódási görbe különbözőségét illetve hasonlóságát jelzik .

f_1 különbözőségi faktor

$$f_1 = \frac{\sum_{i=1}^n (R_i - T_i)}{\sum_{i=1}^n R_i} \times 100$$

f_2 hasonlósági faktor

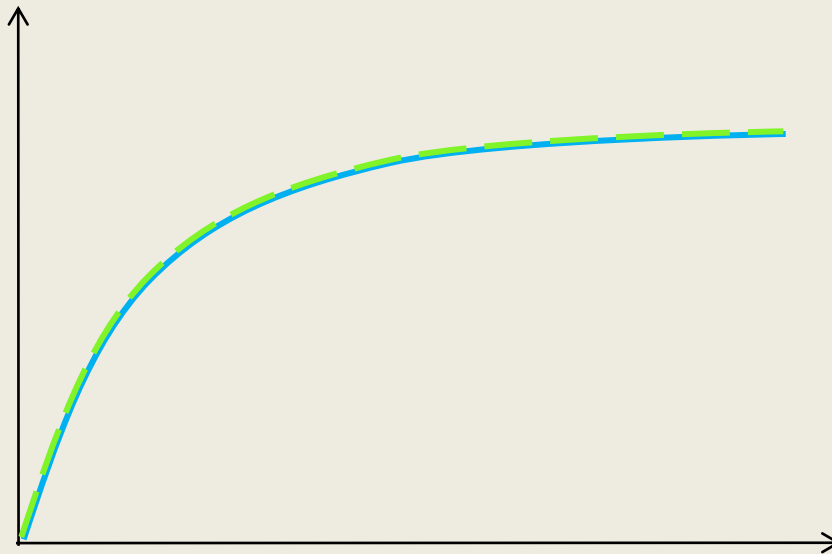
$$f_2 = 50 \lg \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (R_i - T_i) \right]^{-0,5} * 100 \right\}$$

- n a mintavételi időpontok száma,
 R_i referens készítményből az i-edik időpontban átlagosan kioldódott hatóanyag %-ban kifejezve,
 T_i a vizsgált készítményből az i-edik időpontban átlagosan kioldódott hatóanyag %-ban kifejezve.

Modell-független módszerek

illeszkedési faktorok (fit factors f_1, f_2)

Ha a *különbözőségi* (f_1) faktor =0, akkor a két kioldódási profil tökéletesen egyezik (0-15 elfogadott).



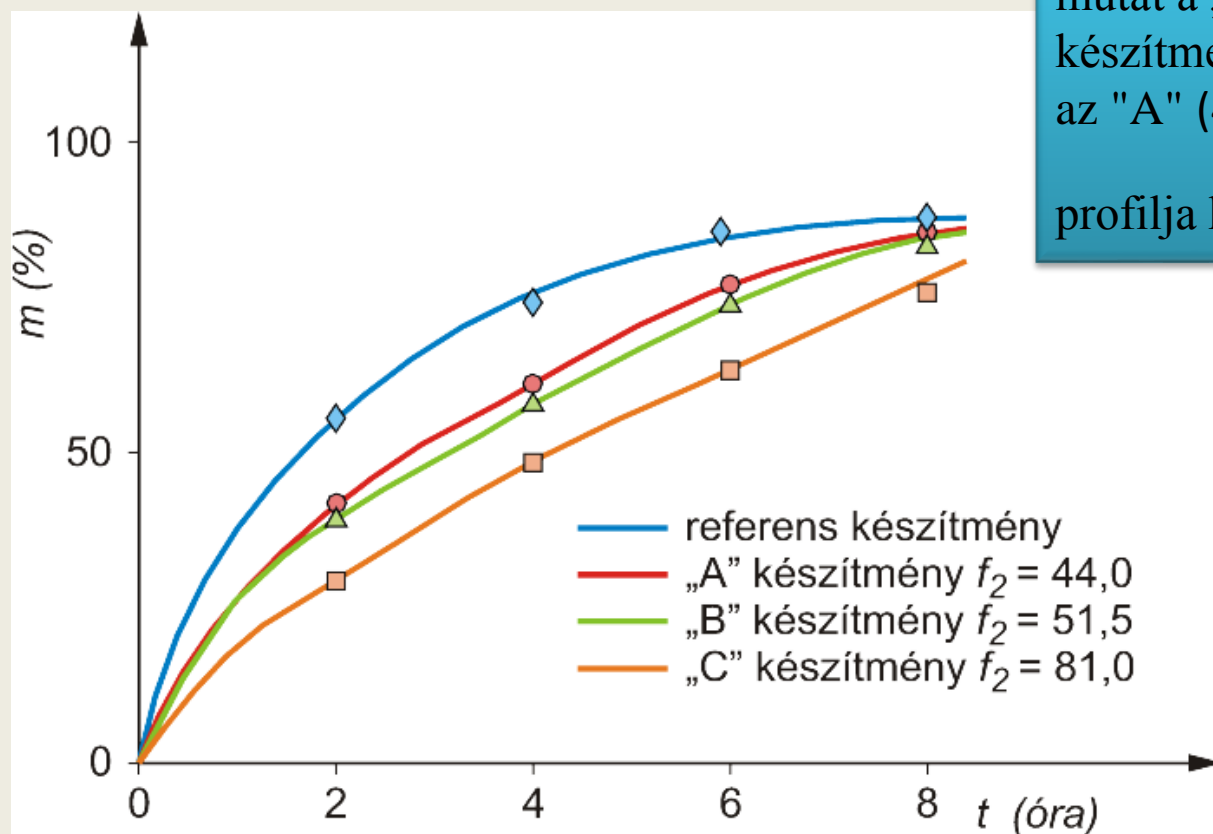
Modell-független módszerek

illeszkedési faktorok (fit factors f_1, f_2)

A hasonlósági (f_2) faktor 0-és 100 közötti dimenzió nélküli szám.

Ha $f_2 > 50$, akkor a két görbe hasonló.

A referens készítménnyel hasonlóságot mutat a „B” (51,5) és a „C” (81) készítmény, az „A” (44) készítmény kioldódási profilja különbözik.



Összehasonlító kioldódás-vizsgálat

Hasonlósági profil meghatározása

Két feltétel annak meghatározásához, hogy két készítmény kioldódási profilja azonosnak tekinthető-e:

1. Ha **mindkét készítmény (referencia és teszt) 85%-a 15 perc alatt kioldódik**, a kioldódási profilokat **hasonlónak tekintjük**.
 - **Nincs szükség további számításokra**

Amennyiben ez nem teljesül, lásd a 2. pontot:

2. Számítsuk ki az f_2 értéket (hasonlósági faktor)
 - Ha **$f_2 \geq 50$** , a kioldódási profilok **hasonlónak tekinthetők**

Összehasonlító kioldódás-vizsgálat

Hasonlósági faktor - f_2

$$f_2 = 50 \cdot \log \left[\frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{t=1}^{t=n} [\bar{R}(t) - \bar{T}(t)]^2}{n}}} \right]$$

n = mintavétel száma

$R(t)$ = a referencia készítmény kioldódása 't' időpontban

$T(t)$ = a generikus készítmény kioldódása 't' időpontban

- **Legkevesebb 3 időpont** (nulladik időpont kizárva)
- **12 párhuzamos – hivatalos vizsgálatok céljából**
- **Csak egy mérést számíthatunk be 85%-os kioldódási szint felett!**
- **Szórás** a későbbi mintavételi időpontokban $\leq 10\%$

Összehasonlító kioldódás-vizsgálat

Készülék	<ul style="list-style-type: none">• Keverőlapát, 50 (75) rpm vagy• Forgókosár, 100 rpm
Kioldó közeg	<ol style="list-style-type: none">1. pH 6.8 puffer <u>vagy</u> mesterséges bélnedv enzimek nélkül2. pH 4.5 puffer3. 0.1 M HCl <u>vagy</u> pH 1.2 puffer <u>vagy</u> mesterséges gyomornedv enzimek nélkül
Mindhárom szükséges a teljes összehasonlításhoz	
Térfogat	900 ml vagy kevesebb
Hőmérséklet	37°C ± 0.5°C
Mintavétel	10, 15, 20, 30, 45, (60, 120) perc. (tipikus)
Párhuzamos vizsgálat	12 – hivatalos mérések céljából

Példa

1-A		
Idő (min)	% hatóanyag	
	Tabletta A (Ref)	Tabletta B (Teszt)
10	87	94
15	96	99
20	99	99
30	100	99
45	101	99
60	101	99
f2 szükséges?	Nem, $\geq 85\%$ 15 perc alatt	
f2 (n = N/A ?)	hasonló	

1-B		
Idő (min)	% hatóanyag	
	Tabletta D (Ref)	Tabletta E (Teszt)
10	55	57
15	72	78
20	85	91
30	97	100
45	102	100
60	103	101
f2 szükséges?	Igen	
f2 (n = 3 ?)	64 (hasonló)	

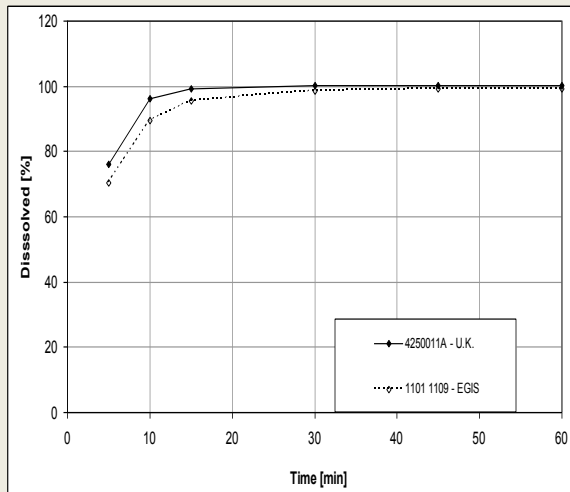
Példa

1-C		
Idő (min)	% hatóanyag	
	Tabletta X (Ref)	Tabletta Y (Teszt)
10	29	34
15	38	41
20	47	50
30	63	64
45	80	79
60	95	91
f2 szükséges?	Igen	
f2 (n = 6 ?)	74 (hasonló)	

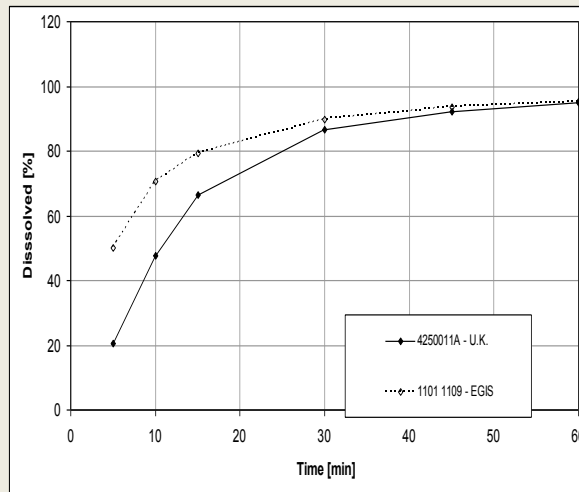
1-D		
Idő (min)	% hatóanyag	
	Tabletta A (Ref)	Tabletta Y (Teszt)
10	87	55
15	96	72
20	99	85
30	100	97
45	101	102
60	101	103
f2 szükséges?	Igen	
f2 (n = 3 ?)	31 (különböző)	

Generikus fejlesztés kioldódásvizsgálatai

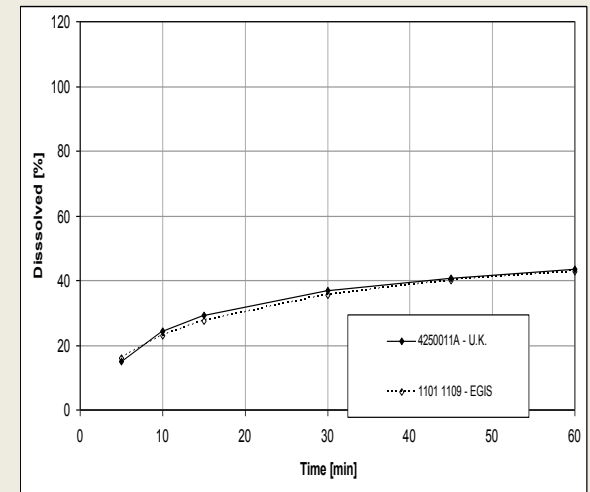
pH 1,2:
f2 = 60,5



pH 4,5:
f2 = 35



pH 6,8:
f2 = 90,4



Köszönöm a figyelmet!