

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Dr. Haimhoffer Ádám

Gasztroretentív szilárd gyógyszerformák előállítása

DEBRECENI EGYETEM

GYÓGYSZERÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2022

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Gasztroretentív szilárd gyógyszerformák előállítása

Dr. Haimhoffer Ádám

Témavezető: Dr. Fenyvesi Ferenc



DEBRECENI EGYETEM

GYÓGYSZERÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2022

TARTALOMJEGYZÉK

1. Rövidítések.....	4
2. Bevezetés.....	5
3. Irodalmi áttekintés.....	7
3.1. Gyomor és emésztőrendszer.....	7
3.1.1. Anatómia	7
3.1.2. Élettani tulajdonságok	9
3.2. Gasztroretentív gyógyszerformák	11
3.2.1. Gasztroretentív hatóanyagok	11
3.2.2. Mágneses térrel visszatartott GR gyógyszerhordozó	13
3.2.3. Mukoadhézív GR gyógyszerhordozó	14
3.2.4. Méretnövekedésen alapuló GR gyógyszerhordozó	15
3.2.5. Sűrűségeen alapuló GR gyógyszerhordozó.....	16
4. Célkitűzés	20
5. Anyagok és módszerek.....	21
5.1. Anyagok	21
5.2. Gyártóberendezés fejlesztése.....	21
5.3. Gyártási paraméterek optimalizálása.....	23
5.3.1. Gyártási hőmérséklet optimalizálása	23
5.3.2. Kritikus paraméterek optimalizálása	24
5.4. Bárium-szulfát tartalmú kontrasztanyag mintá fejlesztés	25
5.4.1. Minta gyártás.....	25
5.4.2. Sűrűség meghatározás	25
5.4.3. Mikro-CT.....	26
5.4.4. Állományelemzés	26
5.4.5. <i>In vivo</i> gasztroretentív vizsgálat	27
5.5. Verapamil tartalmú kapszula fejlesztés	27
5.5.1. Kapszula gyártás.....	27
5.5.2. Sűrűség meghatározás	28
5.5.3. Pásztázó elektronmikroszkópos képalkotás és kémiai elem analízis	28
5.5.4. Kioldódási vizsgálat	28
5.5.5. Gyártás validálás	29
5.5.6. Cella szerkezet vizsgálat mikro-CT-vel	30
5.5.7. Felhajtóerő vizsgálat.....	30
5.5.8. Állományelemzés	30
5.5.9. Erózió és vízfelvétel vizsgálat.....	31

5.5.10. Hosszútávú és gyorsított tárolási körülményeket követő kioldódási teszt	31
5.5.11. Biohasznosulás <i>in vivo</i> vizsgálata.....	32
5.5.12. Gasztroszkópia	33
5.5.13. Plazma verapamil koncentrációjának meghatározása	33
5.5.14. Statisztikai analízis	34
6. Eredmények.....	35
6.1. Gyártási paraméterek optimalizálása.....	35
6.2. Bárium-szulfát tartalmú formuláció	38
6.2.1. Sűrűség meghatározás	38
6.2.2. Mikro-CT.....	38
6.2.3. Állományelemzés	40
6.2.4. In vivo gasztroretentív vizsgálat.....	41
6.3. Verapamil tartalmú formuláció	42
6.3.1. Sűrűség meghatározás	42
6.3.2. SEM és kémiai elem analízis.....	43
6.3.3. Kioldódási vizsgálat	45
6.3.4. Gyártás validálás	46
6.3.5. Cella szerkezetvizsgálat mikro-CT-vel	48
6.3.5. Állományelemzés	51
6.3.6. Erózió és vízfelvétel vizsgálat.....	52
6.3.7. Felhajtóerő vizsgálat.....	54
6.3.8. Hosszútávú és gyorsított tárolási körülményeket követő kioldódási teszt	55
6.3.9. Biohasznosulás <i>in vivo</i> vizsgálata	56
7. Megbeszélés	59
8. Összefoglalás.....	64
9. Conclusion.....	65
10. Irodalmijegyzék.....	66
11. Ábrajegyzék.....	82
12. Táblázatjegyzék.....	84
13. Tárgyszavak.....	85
14. Köszönetnyilvánítás	86
15. Függelék	88

1. RÖVIDÍTÉSEK

API	Aktív hatóanyag
BaSO ₄	Bárium-szulfát
BER	Bazális elektromos ritmus
CT	Computer tomográfia
DDS	Drug delivery system (gyógyszerhordozó rendszer)
ECL	Hisztamint elválasztó enterochromaffin sejtek
FDA	Food and Drug Administration (Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hatóság)
GMP	Good Manufacturing Practice (Helyes gyártási gyakorlat)
GR	Gasztroretentív
HPMC	Hidroxipropil-metil-cellulóz
MMC	Migráló mioelektromos komplex
NdFeB	Neodímium-vas-bór ötvözet
PEG 4000	Polietilén-glikol 4000
Ph. Eur.	Európai Gyógyszerkönyv
SA	Sztearinsav
SEM	Scanning electron microscope (elektronmikroszkóp)
USA	Egyesült Államok
VER	Verapamil-hidroklorid

2. BEVEZETÉS

A gyógyszeripar napjaink egyik legfőbb húzóágazatának tekinthető, a világgazdaság jelentős forgalmát teszi ki. A 2019-es adatok alapján évi közel 1250 milliárd USA dolláros forgalmat bonyolított csak a gyógyszeripar. 2022-es évre további emelkedő tendenciákat mutatnak a statisztikák és várhatóan csak az Amerikai Egyesült Államok 650 milliárd, míg Európa esetén közel 300 milliárd USA dollár bevétel várható [1]. A szilárd gyógyszerformák erős piaci megjelenését jól mutatja, hogy az FDA statisztikája alapján a 2019-ben újonnan forgalomba hozott gyógyszerek esetén, 54%-ban szilárd orális készítményekről beszélhetünk, míg a maradék százalékot az oldatok, szuszpenziók vagy emulziók teszik ki [2]. A szilárd gyógyszerformák jelentős része tablettaként vagy kapszulaként kerül forgalomba.

A gyógyszerhordozó rendszereket (Drug Delivery Systems, DDS) öt generációba sorolhatjuk. Az első generáció a konvencionális gyógyszerkészítmények, mint például kapszulák, tabletták és granulátumok, míg ezek bevonattal ellátott verziójuk már a második generációhoz tartoznak. A harmadik generációba tartoznak a szabályozott hatóanyagleadó rendszerek, míg a negyedik és az ötödik generáció esetén már célzott terápiás rendszerekről beszélhetünk: monoklonális antitestek, nanorobotok vagy génterápia [3]. Napjainkban egyre inkább szükségessé válik ezen szabályozott hatóanyagleadó rendszerek kidolgozása, alkalmazása. A régi és újonnan szintetizált hatóanyagok esetén is egyre nagyobb mértékben kerülnek elő a konvencionális gyógyszerhordozók hátrányai. Farmakokinetikai szempontok alapján elmondható, hogy a hatóanyagok (API) egyre gyakrabban rendelkeznek rövid felezési idővel és nagy megoszlási állandóval a humán szervezetben. A hatóanyagok kis terápiás indexszel és kisebb receptor specifitással rendelkezhetnek, így farmakodinámiai problémákba is ütközhetünk. Nem beszélve arról, hogy a tápcsatorna eltérő környezeti hatásai miatt gyakran állunk szemben alacsony oldékonysággal és permeabilitással vagy nem kielégítő stabilitással. Ezek mind hozzájárulnak ahhoz, hogy a gyógyszermolekulákat nagyobb dózisban kell alkalmazni, ami számos mellékhatást okozhat és a többszöri adagolás miatt a beteg *compliance* is csökkenhet [3]. Ezek leküzdésére, kiküszöbölésére gyógyszerleadó rendszerek alkalmazása egyre fontosabbá válik. A régebbi hatóanyagok, így új köntösben sokkal hatásosabbak lehetnek kisebb dózisban is, elkerülve a mellékhatásokat, továbbá a napi többszöri adagolást kiválthatja az egyszeri, mely javítja a beteg *compliance*-t.

Egyes hatóanyagok farmakokinetikai sajátosságai miatt különlegesebb gyógyszerhordozók fejlesztését igénylik. Az egyik ilyen számunkra fontos szabályozott

hatóanyagleadó rendszer a gasztroretentív formuláció. Ezek a készítmények a gyomorban maradnak és ott elnyújtottan adják le hatóanyagukat. Azok a farmakonok, amelyeknek a felszívódási ablaka a *duodenum* vagy *jejunum* szakaszára esik, lúgosabb pH-n kevésbé stabilak vagy rossz az oldékonyságuk, potenciálisan alkalmassá válnak arra, hogy a biohasznosulásukat gasztroretentív (GR) készítményekkel fokozzuk. A formulációk szükségességét és eredményességét az is mutatja, hogy a publikációk száma évről évre nő a 2000-es évek óta, továbbá a statisztikai jóslatok szerint 2028-ig a terület bevételeiben 6,4%-os növekedés figyelhető majd meg, melyhez hozzájárul az egyre több GR készítmény megjelenése a patikai polcokon [4].

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

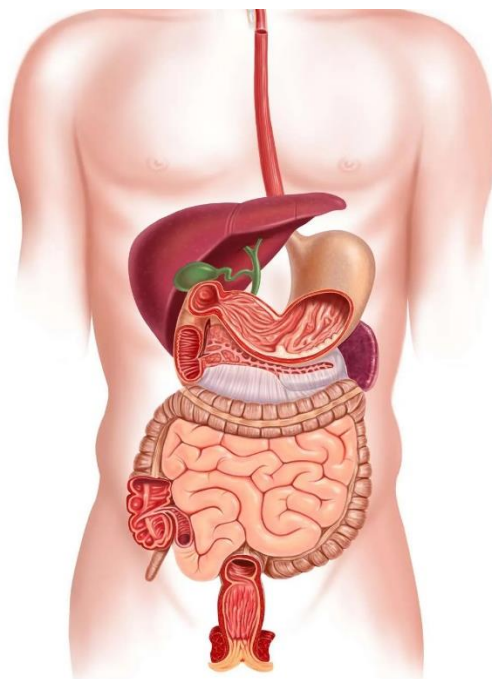
3.1. Gyomor és emésztőrendszer

A gasztroretentív készítmények tervezésénél elengedhetetlen a gyomor és béltraktus megfelelő ismerete. Így szeretném a következő néhány alfejezetben bemutatni az anatómiai felépítést, fiziológias tulajdonságait, továbbá a potenciális hatóanyagokat, melyek felszívódása javítható.

3.1.1. Anatómia

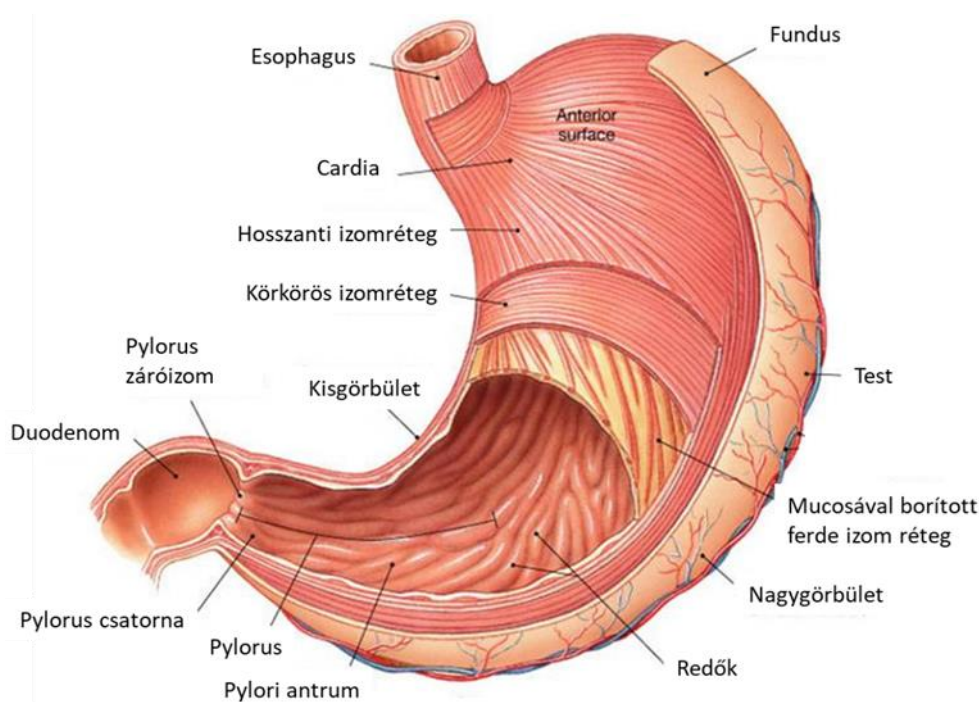
Az emberi emésztőrendszer szájától a végbélnyílásig tart, mely három fő szakaszra osztható: elő, közép és utóbél. Az előbél magába foglalja a szájüreget, a garatot, a nyelőcsövet és a gyomrot. Kutatásunk szempontjából a gyomor működése és anatómiai sajátosságai relevánsok, így ezekkel szeretnék részletesebben foglalkozni a következőkben.

A gyomor anatómiai felépítését az 1. ábra mutatja be. Elhelyezkedését tekintve a hasüregben baloldalon helyezkedik el a rekeszizom alatt, a máj és az elülső hasfal takarásában. A gyomor alakját tekintve „J” betűt ír le, mely az emésztőrendszer legtágabb része, képes akár nyugalmi térfogatának többszörösére is tágulni. Mögötte helyezkedik el a hasnyálmirigy, a bal oldali vese és mellékvese, a lép és a vastagbél egy része.



1. ábra A gyomor anatómiai elhelyezkedése a hasüregben [5].

A gyomrot az alsó *oesophagealis* izom és a *pylorus* záróizom határolja el a nyelőcsőtől, az *oesophagus*-tól, és a vékonybél első szakaszától, a *duodenum*-tól. Az *oesophagealis* körkörös izom feladat a gyomortartalom nyelőcsőbe történő visszaáramlásának megakadályozása. A *pylorus* záróizom a gyomortartalom kiürülését szabályozza. A gyomor 3 fő részre osztható: a *fundus*, gyomorléghólyag, mely csak álló helyzetben rajzolódik ki röntgenfelvételeken, a *corpus*, a gyomor felső része, és az *antrum*, mely átmenetet képez a *duodenum*-ba. A gyomrot körbe ölelő simaizmok lefutása eltérő a gyomor különböző részein, melyek 3 réteget alkotnak autonóm beidegzéssel. A *stratum longitudinale* a külső, hosszanti lefutású, mely a kis görbületnél (*curvatura minor*) a legerősebb és hiányos az *angulus gastricus*-nál. A *stratum circulare* a középső réteg, mely folyamatos zárt réteget alkot a gyomor körül, továbbá az izomréteg megerősödése fedezhető fel a *pylorus* záróizom (*musculus sphincter pylori*) körül. A *fibrae obliquae* a legbelső izomréteg, mely a szívároktól húzódik egészen a nagy hajlathoz (2. ábra) [6].



2. ábra A gyomor részei és a gyomrot felépítő izmok lefutása [7].

A gyomor belső felszínét működése szempontjából eltérő felszínek alkotják. A *fundus* és *corpus* felszínét szabálytalan redők alakítják, melyek éles váltást mutatnak a nyelőcső felszínéhez képest. Az *antrum*-tól a *duodenum* felé futó hosszanti redők figyelhetők meg, melyek a folyadék továbbításában játszanak fontos szerepet. A gyomor bőséges vérellátásáról

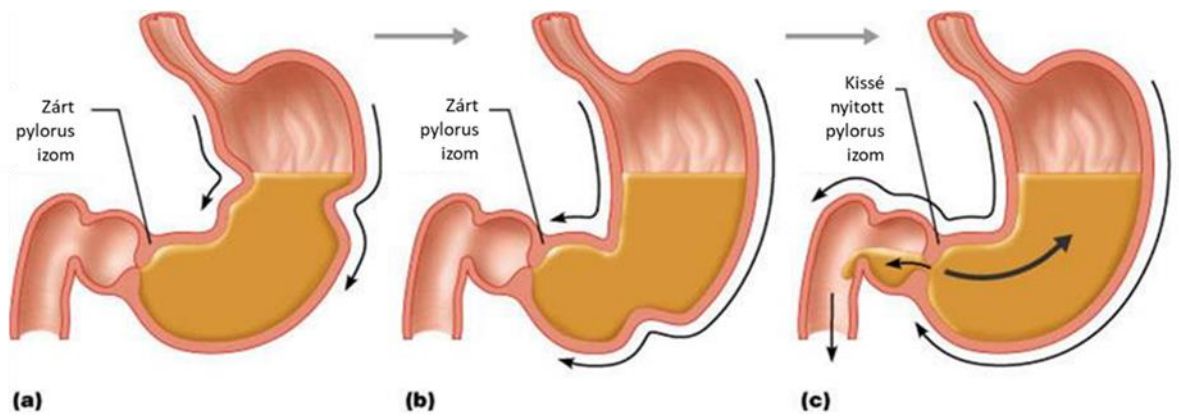
az *arteria gastrica sinistra* és *dextra*, az *arteria gastroepiploica dextra* és *sinistra* és végezetül az *arteriae gastricae breves* gondoskodik. A gyomor vénái a *vena portae*-ban gyűlnek össze.

3.1.2. Élettani tulajdonságok

A gyomor fiziológias motorikus működésének három fő feladat van: a tárolás, az őrlés és a gyomortartalom továbbítása a bélrendszer felé. A proximális gyomornak, a *fundus*-nak és *corpus*-nak együttesen a táplálék befogadása a fő feladata. Az *antrum* az őrlésben, keverésben és a *chymus* továbbításában vesz részt. A két rész eltérő működésének oka, az eltérő simaizomzat felépítés és azt szabályozó idegek különbözősége.

A proximális gyomor nem végez fluktuációs összehúzódást, csak nyugalmi tónusos összehúzódás figyelhető meg, melynek következménye a kis méretű 50 ml-es gyomor térfogat. Táplálkozás során a kezdeti térfogat akár a 30-szorosára is tágulhat, 1500 ml, anélkül, hogy a benne lévő nyomás jelentősen megnövekedne [8]. A gyomor tágulása két relaxációs folyamat egymást követő eredménye. Receptív relaxáció alatt azt értjük, mikor a nyelőcső tágulása előidézi már a gyomor tágulását, pedig a táplálék még nem érte el azt. A beérkező szilárd vagy folyékony táplálék által okozott további relaxációt, adaptív relaxációnak nevezzük. A proximális gyomor nem vesz részt közvetlenül a gyomortartalom továbbításában, de közvetetten a gyomor ürülésével visszanyeri eredeti térfogatát, mely ezáltal a gyomortartalmat a distalis gyomor felé mozdítja.

A distalis gyomor motorikáját a nagygörbület mentén, a *corpus* harmadánál lévő Cajal-féle interstitialis sejtek generálják. A 3/min frekvenciájú periodikus depolarizálódást, bazális elektromos ritmusnak (BER) nevezzük. A BER a Cajal-féle sejtekről áttevődik az elektromosan kapcsolt simaizomsejtekre, ezáltal az izomzat összehúzódik a *pylorus* irányába [9]. A továbbító feladat felosztható üres és jóllakott gyomor mozgásokra. A keverő, továbbító mozgások sematikus ábrázolása a lentebbi 3. ábrán látható.



3. ábra A gyomor őrlő és továbbító mozgásának sematikus ábrázolása [7].

Az éhező állapotra jellemző mozgások 2-3 óránként jelentkeznek, melyeket Wilson és Washington szerint a 4 részre osztható migráló mioelektromos komplex (MMC) jellemzi [10]:

- I. fázis (bazális fázis): 40-60 percig tart, ritka kontrakciók jellemzik
- II. fázis: 40-60 percig tart, egyre erősödő és sűrűsödő akciós potenciálok és kontrakciók jellemzik
- III. fázis: 4-6 percig tartó erős és sűrűn jelentkező kontrakciókból áll, ebben a fázisban továbbítódik a táplálék a *duodenum* felé
- IV. fázis: 0-5 percig tart, a III. fázist vezeti át az I.-be.

Jóllakott állapot a II. fázishoz hasonló, mely elősegíti a táplálék megfelelő őrlését és homogenizálást az emésztő nedvekkel, de MMC ilyenkor nem tapasztalható, a gyomor mozgása lelassul. Az *antrum* által kifejtett továbbító mozgás során a *pylorus* izomzata lezárja az utat a *duodenum* felé. Így létrejön egy préselő, őrlő mozgás a gyomorban, mely során a táplálék neki préselődik a gyomor lumenének és visszaáramlik a *corpus* felé, így a keletkező nyíróerők hatására egyre kisebb darabokra diszpergálódik a táplálék [9].

A gyomorban az emésztést és a *chymus* kialakításához szükséges szekréciós termékeket az exokrin és az endokrin sejtek között található endokrin és parakrin sejtek termelik. A gyomor a nyálkahártya szerkezete alapján két részre, *corpus*-ra és *antrum*-ra osztható. A nyálkahártya funkciója szerinti felosztás eltér a motorikus felosztástól. A gyomornedv szekréciójában a *corpus* vesz részt főképpen, a sósav és az intrinsic faktor kiválasztását végzik a sejtek, továbbá a pepszinogén(ek), a mucin és a bikarbonát egy része is kiválasztásra kerül itt. Az *antrum* a szekréció szabályozó régió. Az *antrum* nyálkahártya felszínét mucinosus sejtek fedik, amelyek bikarbonátot is szekretálnak. A gyomormirigyek a *corpus* jellegzetes mirigyei, melyeknek

nyaki régiójába is benyúlnak a felületi mucint termelő és bikarbonátot szekretáló sejtek. A proliferáló sejttálmomány biztosítja a nyálkahártya megújulását, a mucinosus sejtek regenerálódását, újra képződését. Továbbá fősejteket, fedősejteket és a parakrin funkciójú, hisztamint elválasztó enterochromaffin típusú (ECL) sejteket hoznak létre lefelé irányulva. A gyomor tartalmának kémhatásához a gyomornedv, és a bevitt táplálék savas vagy lúgos karaktere együttesen járul hozzá. Az optimális pH=1,2, mely táplálkozás során lúgosabb irányba is eltolódhat, akár pH=5-ig is. Az erős környezeti tényezők ellenére a gyomornedvek mégsem támadják meg a gyomor falát, e mögött a felületét borító glikoproteinek és mucin réteg áll és a sejtek által termelt és kiválasztott karbonát-ion, mely lokálisan semlegesíti a pH-t [8,11].

3.2. Gasztroretentív gyógyszerformák

Gasztroretentív gyógyszerkészítmények alatt azokat a bevételre szánt gyógyszerkészítményeket értjük, melyeknek a gyomorban való tartózkodási ideje megnyúlt, azaz gátolt a gyomorból való kiürülésük és mindeközben elnyújtott hatóanyag leadásra képesek. Alkalmazhatjuk őket a gyomor lokális kezelésére vagy biohasznosulás fokozására, olyan esetben, amikor a hatóanyag lúgosabb pH-n instabil és elbomlik vagy ott rossz oldékonysággal rendelkezik, továbbá olyan esetekben amikor a farmakon felszívódási ablaka a *duodenum* vagy *jejunum* elülső szakaszára esik.

3.2.1. Gasztroretentív hatóanyagok

Ebben a fejezetben szeretnék pár példát hozni, olyan farmakonokra, melyeknél előnyös lehet a GR rendszerek alkalmazása (1. táblázat). A felsorolásban főképpen rossz biohasznosulással rendelkező antibiotikumok, antivirális szerek és kardiovaszkuláris szerek találhatók meg [12–14].

1. táblázat Rosszul biohasznosuló hatóanyagok, amelyeknél előnyös lehet egy gasztroretentív formuláció.

A rossz biohasznosulás oka	Hatóanyag	Hivatkozás
Helyi alkalmazás, gyomor lokális kezelése	Ranitidin, Amoxicillin, Levofloxacin, Metronidazol, Famotidin	[15–21]
Plazmaszint ingadozás	Ciprofloxacin, Klaritromicin	[22–25]
Alacsony oldékonyság a jejunum és ileum pH-ján	Ofloxacin, Cinnarizin, Furoszemid, Diazepám	[26–30]

Szűk felszívódási ablak	Riboflavin, Cilostazol, Pregabalin	[31–35]
Rövid plazma felezési idő	Levodopa, Metformin, Aciklovir	[36–44]
Rossz felszívódás a <i>jejunum</i> késői, illetve <i>ileum</i> szakasról	Atenolol, Lafutidin	[13,45–47]
Gyenge stabilitás a <i>jejunum</i> és <i>ileum</i> pH-ján	Verapamil, Kaptopril	[48–52]

Az előbbi hatóanyagok egy része már engedélyezett gyógyszerként forgalomba került. Az utóbbi évtizedben egyre több GR technológián alapuló készítmény kerül forgalomba, a teljesség igénye nélkül a lentebbi 2. táblázatban szeretnék bemutatni párat, melyek a gyógyszertárak polcain már elérhetőek külföldön vagy Magyarországon [53, 54].

2. táblázat Gasztroretentív készítmények, melyek elérhetőek patikai forgalomban.

Készítmény	Hatóanyag	GR típus
Cytotec®	Misoprostol	Alacsony sűrűségű készítmény
Baclofen GRS®	Baklofen	Duzzadó készítmény
Convicon®	Vas-szulfát	Alacsony sűrűségű készítmény
ZanocinOD	Ofloxacin	Alacsony sűrűségű készítmény
RiometOD®	Metformin HCl	Alacsony sűrűségű készítmény
CifranOD®	Ciprofloxacín	Alacsony sűrűségű készítmény
Topalkan®	Alumínium és Magnézium	Alacsony sűrűségű készítmény
Almagate FlatCoat®	Alumínium és Magnézium	Alacsony sűrűségű készítmény
Accordion pill®	Karbidopa és Levodopa	Kitekeredő készítmény
Madopar HBS®	Levodopa és Benszerazid	Alacsony sűrűségű készítmény
Prolopa HBS®	Levodopa és Benszerazid HCl	Alacsony sűrűségű készítmény

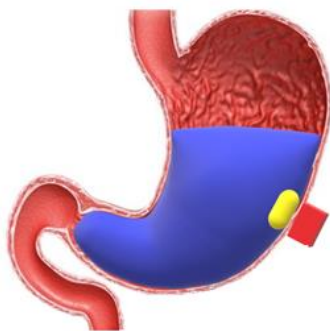
Valrelease®	Diazepám	Alacsony sűrűségű készítmény
Inon Ace tablets®	Szimetikon	Alacsony sűrűségű készítmény
Coreg CR®	Karvedilol	ozmotikus GR készítmény
Prazopress XL®	Prazozin HCl	Duzzadó és alacsony sűrűségű készítmény
Cipro XR®	Ciprofloxacin HCl	Erodábilis mátrix GR készítmény
Liquid Gaviscon®	Alginát és Nátrium-hidrogén-karbonát	Alacsony sűrűségű készítmény
Cefaclor LP®	Cefaklór	Alacsony sűrűségű készítmény
Tramadol LP®	Tramadol	Alacsony sűrűségű készítmény
Gabapentin GR®	Gabapentin	Duzzadó készítmény
Proquin XR®	Ciprofloxacin	Duzzadó készítmény
Glumetza®	Metformin HCl	Duzzadó készítmény
Xifaxan®	Rifaximin	Bioadhezív készítmény
Cifran OD®	Ciprofloxacin	Alacsony sűrűségű készítmény
Oflin OD®	Ofloxacin	Alacsony sűrűségű készítmény

GR gyógyszerhordozó létrehozására számos lehetőséget találunk az irodalomban és a fenti táblázat alapján elmondhatjuk, hogy forgalomban is több különböző típusa megtalálható. A következő fejezetben szeretném a GR gyógyszerhordozók előállításainak és fontosabb vizsgálataink bemutatását részletesebben kifejteni.

3.2.2. Mágneses térrel visszatartott GR gyógyszerhordozó

A külső mágneses téren alapú GR gyógyszerformák habár nem a leggyakoribb rendszerek, mégis ezzel szeretném kezdeni a GR hordozók típusainak ismertetését, majd továbbhaladva az irodalomban gyakoribb típusok felé. Mágneses térrel visszatartott hordozó esetén, a készítményt egy mágneses tér kialakítására alkalmas eszköz tartja a megfelelő helyen, a megfelelő ideig, melyet az 4. ábra illusztrál. A gyógyszerkészítmények a hatóanyag mellett

mágnesezhető anyagokat is tartalmaznak. A technológia hátrányai miatt alkalmazásuk nem terjedt el, annak ellenére, hogy jobb biohasznosulást értek el vele dipeptidil-peptidáz-4 inhibitorok, fluorofór, aminofen vagy aciklovir esetén is [55–57]. Rossz a beteg *compliance* a kényelmetlen külső mágnes miatt, továbbá nehézkes a használatuk a precíz külső mágnes felhelyezése miatt [58]. A készítmények tartalmazhatnak neodímium-vas-bór ötvözetet (NdFeB), vas vagy vas-oxid részecskéket, mint mágnesezhető anyagot [59–61].



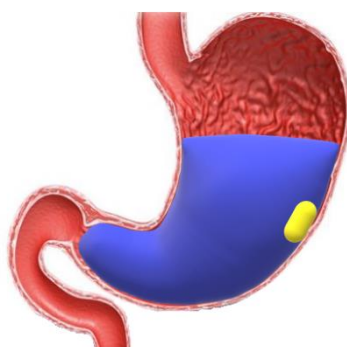
4. ábra Mágneses térrel visszatartott GR gyógyszerhordozó.

A készítmény vizsgálatait a gyógyszerkönyvi előírásoknak megfelelően kell elvégezni, a készítmények nem igényelnek egyedi *in vitro* vizsgálatokat. Az *in vivo* gasztroretenció vizsgálatára legáltalánosabb vizsgálati módszer, a mágneses marker monitorozás. A mágneses készítmények eleve tartalmaznak olyan segédanyagokat, melyek alkalmassá teszik őket a vizsgálatra, így nem szükséges az eredeti összetételt módosítani a vizsgálatához. A módszerrel a készítmények tápcsatornán belüli elhelyezkedéséről kaphatunk képeket, melyeket biomágneses mérőberendezésekkel rögzítenek [62].

3.2.3. Mukoadhezív GR gyógyszerhordozó

Az első bioadhezív/mukoadhezív GR rendszert Park és Robinson írta le elsőként még 1984-ben [63]. A mukoadhézió során a fentebb említett mucin tartalmú nyálkahártyát használják fel a készítmények helyhez kötéséhez. Segédanyagként alkalmazhatunk természetes és mesterséges polimereket is. A mukoadhézió két lépésben valósul meg, elsőnek a készítmény kontaktusba kerül a gyomornedvvel, majd átnedvesedik és megduzzad, majd a második lépésben pedig kialakul a polimer és a mucin közötti kötődés. A kötések létrejöttére különböző teóriák alakultak ki az évek alatt. A nedvesítés elmélet szerint a mukoadhezív polimer behatol a nyálkahártya mélyebb rétegeibe, és ott hoz létre kötődést a mucin réteggel. A diffúziós elmélet szerint a mucin glikoprotein szálai és a rugalmas polimerláncok képesek fizikailag összefonódni és kötést kialakítani ezáltal. Mindkét komponens molekulatömege,

keresztkötöttsége, lánc rugalmassága és duzzadási képessége befolyásolja a kialakult kötődési erőt. Az adszorpció teória alapján az érintkező felületek közötti elsődleges (ionos és kovalens), illetve másodlagos (van der Waals, hidrofób és hidrogénkötések) kötőerőknek köszönhetően a készítmény a gyomor falához tapad. A töltés következtében kialakuló elektrosztatikus erők a glikoprotein negatív töltése és a bioadhezív anyag pozitív töltése között alakul ki [12]. A készítményekben leggyakrabban használt polimerek: poliakrilátok[64], hidroxipropil-metil-cellulóz (HPMC) [51], szukralfát [23], dextrán [65], tragakanta [66], tamarind [67], vagy Na-alginát [19, 68, 69]. A rendszer legnagyobb hátránya a mucin réteg folyamatos megújulása, mely miatt a készítmények leválhatnak a rétegről és kiürülhetnek. Másrésről a mukoadhezív réteg más felülethez is képes kikötődni, például a nyelőcsőhöz. A kialakult nyálkás, tapadós felszín könnyen eldörzsölhető a gyomor mozgásai miatt, ami a gyorsabb kiürüléséhez vezethet.



5. ábra Mukoadhezív GR rendszer.

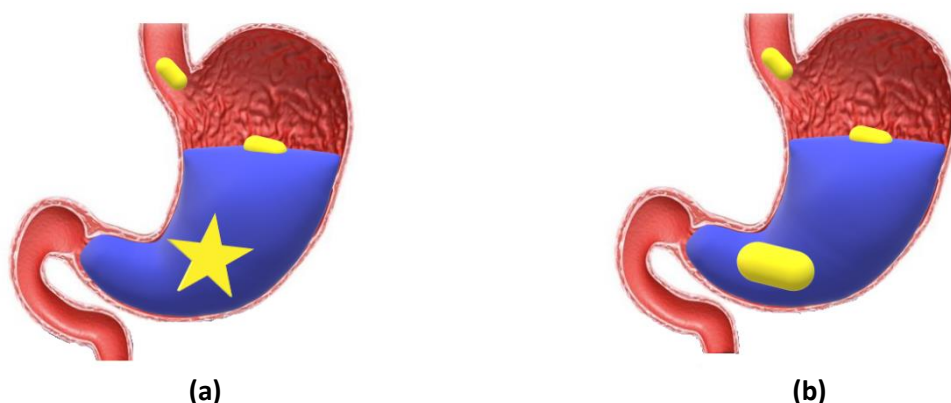
A készítmények vizsgálata során legcélszerűbb *ex vivo* mukoadhezív vizsgálatokat végezni a kötődés mérésére. A vizsgálatok során mérhetjük a szövet felszínéről történő lemosási időt vagy a készítmény leszakításához szükséges erőt [8].

3.2.4. Méretnövekedésen alapuló GR gyógyszerhordozó

A méretnövekedésen alapuló GR rendszereket két csoportra oszthatjuk, a gyomorsavban duzzadó és kitekeredő gyógyszerformákra. A készítményekkel szemben támasztott alapvető 3 szabály, hogy olyan kisméretűek legyenek bevételkor, hogy azt a betegek könnyedén le tudják nyelni, a gyomornedvvel érintkezve gyorsan változtassák meg alakjukat, és a hatóanyag leadás után olyan méretűre csökkenjenek, erodálódjanak, hogy a gyomorból ki tudjanak ürülni [70]. Az irodalmi adatok alapján a nyitott *pylorus* nagysága akár 12,8 mm is lehet. Az ennél nagyobb készítmények a lebomlásuk során végig gyomorban maradnak így megnő a gasztroretenciós idejük [71]. A kitekeredő gyógyszerformák elsődlegesen kapszulába

hajtogatott különböző formákat öltő polimer alapú hordozók, mint például poli-tejsav-glikolsav-kopolimer vagy cellulóz [72, 73]. A tok feloldódása után a gyógyszerforma kitekeredik és a kezdeti méretének többszörösét veszi fel, mely így alkalmassá teszi a gasztroretencióra.

A duzzadó formák olyan polimereket tartalmaznak, melyek a gyomortartalom hatására képesek saját méretük többszörösére növekedni, duzzadni, majd erodációjuk során elnyújtva felszabadítják hatóanyagukat a gyomorban. A duzzadó készítményeket három generációba soroljuk [14]. Az első generációba tartozó hidrogélek a carbopolok, HPMC és polietilén-oxidok. A második generációsok az úgy nevezett szuper porózus hidrogélek, ezek esetén akrilsavval vagy akrilamiddal együtt történik a polimerizáció, így sokkal ellenállóbb, de kisebb duzzadási képességgel rendelkező készítményt kaphatunk. A harmadik generáció akril-amidot, guar gumit, Na-alginátot vagy polivinil-alkoholt is tartalmaznak segédanyagként így egy rugalmas, tartósabb, nem képlékeny mátrixot kapunk [74, 75].



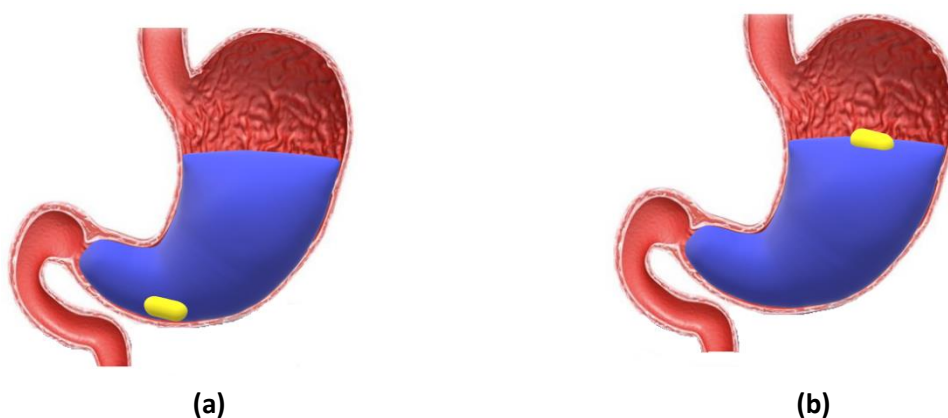
6. ábra Méretnövekedésen alapuló GR rendszerek: kitekeredő (a) és duzzadó (b) gyógyszerformák.

A méretnövekedésen alapuló hordozók esetén a duzzadási index és vízfelvétel vizsgálatok kerülnek leírásra az irodalomban, mint fontos *in vitro* jellemzés, a konvencionális vizsgálatokon felül. A duzzadási index megadja, hogy a tabletta méreteiben (vastagság és átmérő) mekkorát változik, miután 37 °C kioldó közegbe merítjük, míg a vízfelvétel vizsgálat során a felvett kioldóközeg tömegét határozhatjuk meg [62].

3.2.5. Sűrűségeen alapuló GR gyógyszerhordozó

Az utolsó nagyobb csoportba azok a GR rendszerek tartoznak, melyek sűrűségükből kifolyólag képesek a gyomorban tovább maradni. Az alacsony sűrűségű készítmények a

gyomor tartalom felszínén úszva, míg a nehezebb készítmények a gyomor fenékre, azaz *antrum* görbületi részébe lehorgonyozva növelik a retenciós időt.



7. **ábra** Sűrűségeen alapuló GR rendszerek: nagy sűrűségű **(a)** és alacsony sűrűségű **(b)** gyógyszerformák.

Clarke és munkatársai leírták, hogy $2,5 \text{ g/cm}^3$ sűrűség feletti készítmények gyomorban való tartózkodási ideje megnövekszik a lesüllyedés következtében, mely nehezíti a továbbjutást a duodenum felé [14,76,77]. A készítmények formulálása során, nagy sűrűségű segédanyagokat alkalmaznak, erre a legalkalmasabb a bárium-szulfát [78], alumínium [79] vagy más nehéz inert segédanyag (cink-oxid, titán-dioxid, vas por) [80].

Az első alacsony sűrűségű gasztroretentív gyógyszerhordozót Shet és Tossounian írta le 1975-ben [81]. Az azóta eltelt időben számos újabb technológiát és tablettát fejlesztettek, melyek alkalmasak a gyomornedvben való úszásra. A gyomornedv legfontosabb tulajdonsága, az úszó GR rendszerek tekintetében, a sűrűsége, melynek értéke $1,004\text{--}1,010 \text{ g/cm}^3$ [77]. A csak alacsony sűrűségeen alapuló készítményeket két csoportba oszthatjuk, a gázképződésen alapuló és nem gáz képződésen alapuló rendszerekre. A gáz csapdázódást kihasználó rendszerek esetén, egy duzzadásra képes mátrixba egy gázképző segédanyagot keverünk bele, így a keletkezett gáz megragad, csapdázódik a mátrixban, csökkentve annak látszólagos sűrűségét. A készítmények az esetek majdnem 100%-ban szén-dioxid képződésén alapulnak, melyhez nátrium-hidrogénkarbonátot alkalmaznak legtöbbször és Na-alginát, etilcellulóz, kitozán vagy hidroxipropil-metil-cellulóz (HPMC) polimerrel kombinálják [82–85]. Másik lehetőség a gáz felszabadulás elérésére és csapdázódására, olyan kapszulák fejlesztése, melyek a testhőmérsékleten gáz halmazállapotúvá váló folyadékot tartalmaznak, például: ciklopentán vagy éter. Ezekben a készítményekben a gyógyszeres rezervoár el van határolva a gázzal töltött kompartmenttől. A feloldódó dugó, az erodáció után kiengedi a gázt

a kompartmentből, és kiürülnek a gyomorból a készítmények maradványai [10,86]. Gázképződésen alapuló rendszerek hátrányát képezi a lebegésig eltelt idő, ami előnyösen kevesebb, mint 5 perc, de ez idő alatt a gyomorból való eltávozás lehetősége fennáll. Továbbá a nyák eldörzsölésével a látszólagos sűrűség növekedhet, ami a gyógyszer süllyedéséhez, majd távozásához vezethet.

A nem gázképződésen alapuló GR rendszerek, legfontosabb előnyei gázképződéses rendszerekkel szemben, hogy a 0. pillanatól már lebegnek a gyomortartalomban, általában keményebb struktúrával is rendelkeznek, mely ellenáll a gyomor őrlő mozgásainak. A teljeség igénye nélkül szeretnék pár technológiai módszert bemutatni, melyek alacsony sűrűségű lebegő formulációk kialakítására alkalmasak. Számos példa található az irodalomban arra, hogy a készítmény szublimációra alkalmas segédanyagot tartalmaz és így kerül préselésre tablettá formába. A legjellemzőbb segédanyag a kámfor, melyet utána vákuum és/vagy enyhe melegítéssel elszublimálnak a készítményből. Az elszublimált kámfor egy nagy porozitású üreghidrogént hagy maga után, így a készítmény látszólagos sűrűsége lecsökken. További segédanyagként általában valamilyen duzzadó polimert tartalmaz, mely lassú átnedvesedése miatt elnyújtja a hatóanyag leadást [40]. Egy másik lehetőség a hatóanyag tartalmú porkeverék és egy polimerképző porkeverék együttes töltése kapszulába tömörítés nélkül, így a duzzadó réteg csapdázza a bent maradt, megrekedt levegőt és elnyújtja a hatóanyag tartalmú porhalmaz átnedvesedését, hasonlóan a gázképző rendszerekhez [81]. Továbbá alkalmazhatunk alacsony sűrűségű habporokat is, mint tablettázási segédanyag, mellyel préselés után is alacsony sűrűséget érhetünk el [87]. Az alacsony sűrűségű lipofil mátrixot is kialakíthatunk, mely esetén olajokat alkalmazhatunk, mint például hidrogénezet szójabab olaj [88].

Napjaink legújabb technológiái, melyek alacsony sűrűségű gasztroretentív gyógyszerhordozók kialakítás irányulnak, olvadék alapú extrudálásával vagy az olvadékok habosításával valósulnak meg. Az olvadék alapú extrudálás során a megolvasztott mátrixhoz olyan segédanyagot adnak hozzá folyadék vagy szilárd állapotban, melyek az extruderből kijöve, felfújja a készítményt. A kész extrudátumot méretre vágják és kapszulába töltve vagy segédanyagokkal tablettává préselve érik el a végleges gyógyszerformát [89,90].

Az alacsony sűrűségű készítmények jellemzésére az első és legfontosabb vizsgálati módszer az úszási képesség kialakulásáig eltelt idő vizsgálata. A vizsgálat során a kioldóközegbe téve a készítményt vizsgáljuk, hogy mennyi idő szükséges a felszínre való úszásig. Ez a vizsgálat főleg a gázképződésen alapuló rendszerek összehasonlíthatóságára

irányuló vizsgálat. A teljes úszási idő vizsgálat megadja, hogy a készítmény mennyi ideig képes a kioldóközeg felszínén tartózkodni. A felhajtóerő vizsgálat fontossága mellett sem mehetünk el hisz a készítmények a kioldódás során erodálódnak vagy vizet vehetnek fel, ami megváltoztatja tömegüket, ezáltal csökkenhet az általuk generált felhajtóerő, mellyel képesek ellenállni a gyomorból való kiürülésnek. Tehát nem elegendő csak a kezdeti sűrűséget meghatározni.

A készítmények *in vitro* vizsgálataik mellett elengedhetetlen az *in vivo* vizsgálatok is, mely a leírt esetek többségében megegyeznek. Radiológia módszerekkel könnyen behatárolható a készítmény elhelyezkedése a gyomorban vagy a tápcsatornában. A vizsgálathoz bárium-szulfátot alkalmaznak, melyet a készítmények mátrixában oszlatnak el, mint kontrasztanyagot és időközönként a gyomorról felvételeket készítenek, amin jól látszódik a készítmény, a megnőtt röntgensugár elnyelése miatt. Szcintigráfias módszer esetén Technécium 99 (^{99}Tc) izotópot alkalmaznak a mátrixba ágyazva, melynek a gammabomlását detektálják. Gasztroszkópia esetén közvetlenül a gyomortartalmat vizsgáljuk egy kamerás endoszkóp segítségével [62].

Korábban a Tanszéken kidolgoztunk egy új gasztroretentív készítmény előállítására irányuló technológiát, mely során az olvadt szuszpenziókat képesek vagyunk habosítani légköri nyomáson. A módszer segítségével azonnal, a 0. másodperctől, lebegő, kis sűrűségű, szilárd bevételre szánt egyszeri dózisú gyógyszerformákat tudunk előállítani. A sztearinsav (SA) és polietilén-glikol 4000 (PEG 4000) keveréket tartalmazó összetételeink 1 g/cm^3 alatti sűrűséget értek el a habosítási protokoll után [20]. A készítmények gasztroretencióját *in vitro* vizsgálatokkal támasztottuk alá. Az eredmények fényében felmerült az ipari gyárthatóság megvalósítása, mely ihlette a disszertációm témáját.

4. CÉLKITŰZÉS

PhD értekezésem céljául tűztük ki, hogy az irodalomba leírt gasztroretentív készítményeknél előnyösebb, jobb gyógyszerhordozót állítsunk elő a következők szerint:

- a tanszéken korábban kidolgozott és szabadalmi eljárásra bocsátott új gyártási technológiát átültessük egy folyamatos gyártásra alkalmas berendezésre
- a mértéknöveléssel az ipari szereplők számára is érdekes és innovatív gyártási eszköz tervezése és megépítése
- a gyártóeszköz kritikus paramétereinek meghatározása és optimalizálása
- kontrasztanyagok gyógyszerhordozó fejlesztése
- *in vitro* és *in vivo* vizsgálata
- verapamil-HCl tartalmú alacsony sűrűségű hab kapszula előállítás
- *in vitro* jellemzése irodalmi és gyógyszerkönyvi vizsgálatok által
- *in vivo* biohasznosulás vizsgálata

5. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

5.1. Anyagok

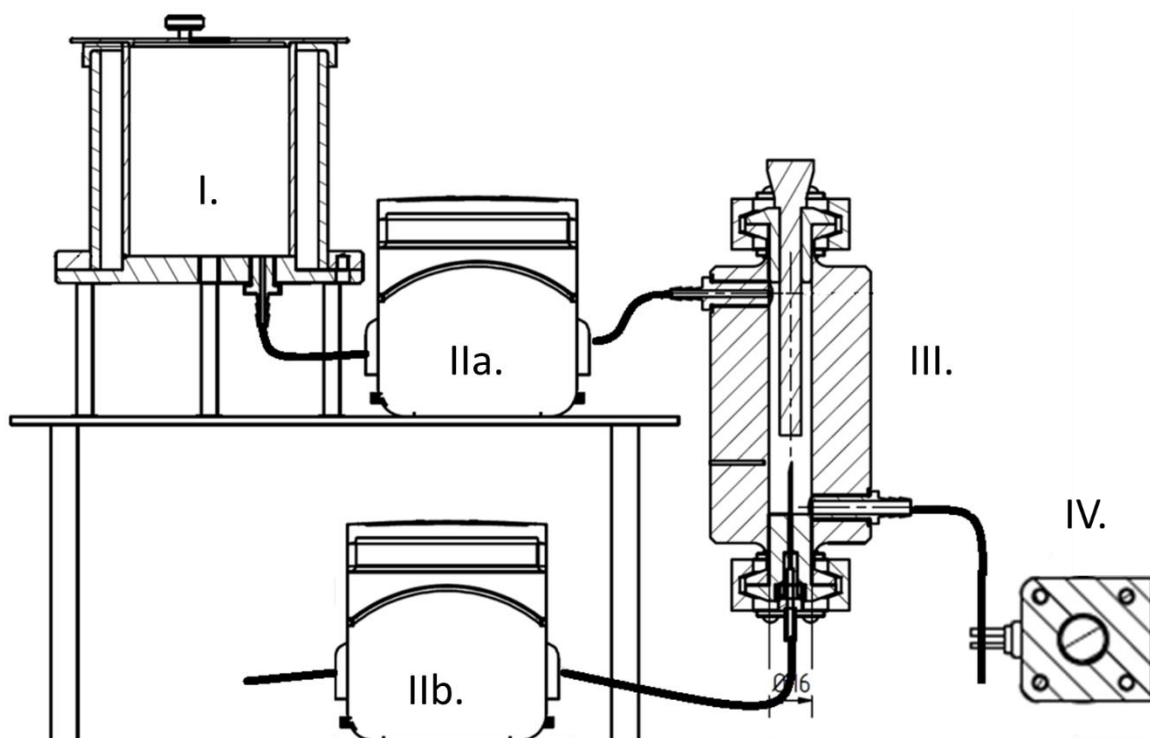
A gyógyszerformulálás során Ph. Eur. minőségű alapanyagokkal dolgoztunk, melyek a Molar Chemicals Kft.-től (Halásztelek, Magyarország) kerültek beszerzésre, többek között polietilén-glikol 4000 (PEG 4000), sztearinsav (50-es típus; SA), laktóz-monohidrát, báriumszulfát (BaSO_4) és verapamil-hidroklorid (VER). A kísérletekhez és vizsgálatokhoz felhasznált minden egyéb anyagot és reagenst analitikai tisztaságban a Sigma-Aldrich Kft.-től (Budapest, Magyarország) rendeltünk meg. A kemény zselatinkapszulákat (Coni-Snap[®], 00-as méret) a Capsugel[®] (Morristown, NJ, USA) cégtől kaptuk ajándékba. Az *in vivo* állatkísérletek során felhasznált Fischer-344 patkányokat (n=3, hím) az Animalab Kft. (Budapest, Magyarország), míg a Beagle fajtatiszta kutyákat (n=6, nőstény) a WOBÉ Kft. (Budapest, Magyarország) tenyésztette és szállította számunkra. Az állatok altatásához és érzéstelenítéséhez CP-Ketamin (ketamine hydrochloride 10%; Produlab Pharma BV, Hollandia), CP-Xylazin (xylazine-hydrochloride, 2%; Produlab Pharma BV, Hollandia), Seduxen inj. (diazepam, 0.5%; Richter Gedeon Nyrt., Magyarország) és Forane (Izoflurán, Abbott Laboratories Kft. Magyarország) gyógyszereket alkalmaztunk a vizsgálatok során.

5.2. Gyártóberendezés fejlesztése

A QUICKfoamcell Lab[®] folyamatos gyártásra alkalmas berendezést a QUICK 2000 Kft.-vel (Tiszavasvári, Magyarország) közreműködve terveztük és építettük meg úgy, hogy alkalmas legyen a tanszéken már korábban kidolgozott habosítási eljárás folyamatossá tételére. A tervezés során figyelembe kellett venni pár paramétert és a folyamatosság elvét, ezáltal az eszköznek alkalmasnak kellett lennie akár 250-500 g szilárd anyag megolvasztására, és állandó hőmérsékleten tartására. A temperált olvadékot ezután folyamatosan habosítani kellett egy átfolyós cellában, melyet ezután 00 kapszulákba töltésre alkalmassá kellett tenni. A rozsdamentes acélból elkészült berendezést a 8. ábra mutatja be.

A készülék két fő részre osztható: egy olvasztótégelyre és egy habosító cellára. Az olvasztótégely 600 ml végtérfogatú olvadék befogadására alkalmas, köpenyfűtéssel termosztálható, zárható edény, melynek az alján egy 8 mm széles kiadagolónyílás található. A tartály további részegysége egy 4 lapátos propellerkeverő (IKA EURO-ST D), mely a fedelén keresztül a tartályba nyúlva biztosítja az olvadék homogén keverését az olvasztási fázisban. A kiadagoló nyíláshoz csatlakozik egy Watson-Marlow 114 ST perisztaltikus pumpa, mely a

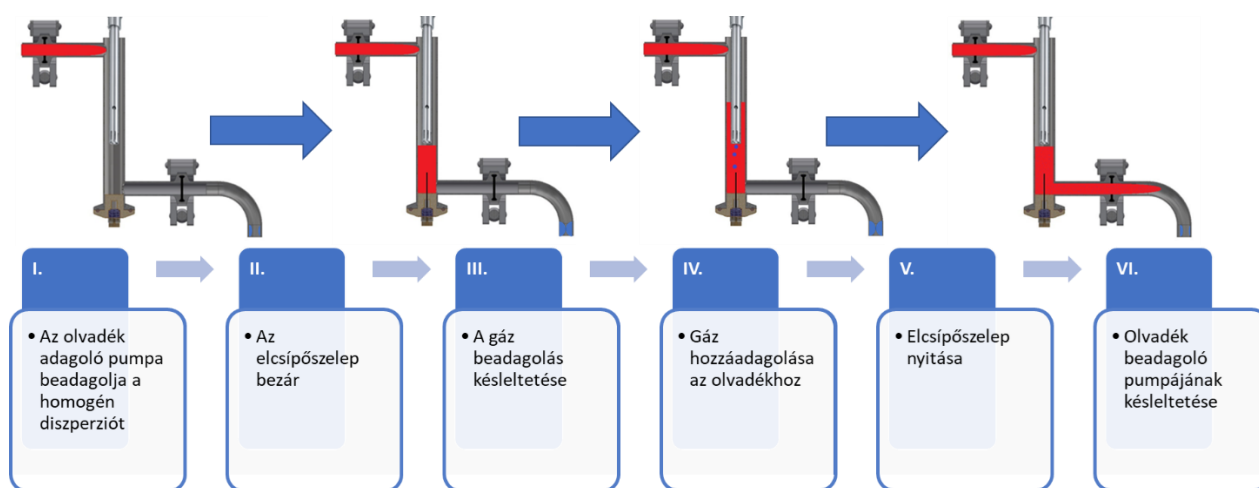
megolvadt homogén szuszpenziót továbbítja a habosító cellába. A habosító cella kapacitása 30 ml, mely gyártás során lecsökken körülbelül a felére a habosító szár benyúlásakor, ez függ a használt szár átmérőjétől és a benyúlás mélységétől. A cella 3 db nyílással rendelkezik: a diszperziós olvadék beadagolási nyílása, a gázbemenet és a habosított termék kiadagoló nyílása. Továbbá a cella is, az olvasztótégelyhez hasonlóan, köpenyfűtéssel biztosítja az olvadék állandó hőmérsékletét a cellán belül. A gáz diszpergálása az olvadékba egy IKA® ULTRA-TURRAX® T-25 digitális homogenizálóval történik, amelyhez S25 N - 10G szárat alkalmaztunk. Gáz bevezetését úgyszintén egy Watson-Marlow 114 ST típusú perisztaltikus pumpa végezte. A hab kiadagolását egy vezérelt csípőszelep végzi (TAKASAGO PK-6405-NC).



8. ábra A gyártóberendezés sematikus ábrája. I. olvasztótégely, II a. olvadékadagoló perisztaltikus pumpa, II b. levegőt beadagoló perisztaltikus pumpa, III. habosító cella, IV. kiadagoló elcsípőszelep.

A gyártások során mindig 150 grammra mértük össze a kompozíciókat a lentebbi módszereknél megtalálható összetételek alapján, melyeket az itt leírt módszer szerint elsőnek megolvasztottunk, homogenizáltunk és habosítottunk. A PEG 4000-et és a SA-t kimértük táramérlegen és megolvasztottuk az olvasztótégelyben, miközben kíméletes kevertetést alkalmaztunk (50 rpm, IKA EURO-ST D). Ezután az inert anyagot vagy hatóanyagot diszpergáltuk az olvadékban (300 rpm, IKA EURO-ST D). Első lépésben a habosító cellát töltöttük fel a habosítandó olvadt szuszpenzióval, az olvadék beadagoló perisztaltikus pumpa

segítségével. A habosítás folyamatos gyártással történt, a habosító cellában a hab kialakuláshoz szükséges lépések egy gyors, mini ciklust alkotnak, melynek teljes ideje kevesebb, mint 10 másodperc. Egy ciklus 6 lépésből áll, melyet a 9. ábra mutat be. Az ábrázolt ciklus közben erőteljes diszpergálást végzünk IKA® ULTRA-TURRAX® T-25 digitális keverővel. Minden ciklus után a meleg, képlékeny habot 00 méretű kemény kapszulákba töltjük, és hagyjuk szobahőmérsékleten megdermedni.



9. ábra A habosítási mini ciklus folyamatábrája.

5.3. Gyártási paraméterek optimalizálása

5.3.1. Gyártási hőmérséklet optimalizálása

A habképződés sebességére és mértékére jelentős hatással van a habosítandó mátrix hőmérséklete, ezekkel kapcsolatos preformulációs vizsgálatokat már korábban végeztünk a Gyógyszertechnológiai Tanszéken [20]. Ahhoz, hogy meghatározzuk a hőmérséklet befolyásoló hatását a gyártóberendezésen, 20 kapszulát különböző hőmérsékleten állítottunk elő, míg a további gyártási paramétereket változatlanul hagytuk. A cella hőmérsékletét 56, 58 vagy 60 °C-ra állítottuk be; az alkalmazott gáz mennyisége 2 ml volt, 0,25 ml/s gázbefecskendezési sebességgel, a beadagolt olvadék mennyisége és sebessége: 2 ml és 0,25 ml/s. A keverőtengelyt 15 000 fordulat/perc sebességen tartottuk. A kontroll minták a habosítási folyamat nélkül készültek. Az előállított habok sűrűségét a következő módszerrel határoztuk meg. A 00 méretű kapszula tömege 118 ± 7 mg és 0,91 ml volt a gyártó specifikációja szerint [91]. Minden kapszulát teljesen megtöltöttünk olvadékkal, és a megszilárdulás után a kapszulákat lezártuk. A töltet pontosan 0,91 ml szilárd hab, melynek tömegét analitikai mérleggel mértük meg, és minden minta sűrűségét a következő képlettel határoztuk meg, a kapott adatokból:

$$\rho_{hab} = \frac{m_{minta} - m_{kapszula}}{V_{kapszula}}$$

ahol: $V_{kapszula}$ az üres kapszulatest térfogata (0,91 ml), m_{minta} a töltött hab tömege a kapszulatesttel és sapkával, $m_{kapszula}$ a sapkával ellátott üres kapszula tömege (118 mg); ρ_{hab} a szilárd hab sűrűsége.

5.3.2. Kritikus paraméterek optimalizálása

A folyamatos gyártás optimalizálására Box-Behnken faktoriális kísérlettervezést használtunk, mely során a gyártásokat véletlenszerűen, azaz randomizálva végeztük el eltérő időpontokban. A független változóként a következő paramétereket alkalmaztuk: a gáz mennyiségét (ml), a gáz beadagolási sebességét (ml/s), és a keverőfej fordulatszámát (rpm), melyek kritikus paraméternek tekinthetők a folyamatos gyártásra nézve, ezáltal hatással vannak a termék látszólagos sűrűségére. Ezt a három kísérleti tényezőt variáltuk a tervezés során, 3 szinten, 12 sorozatban, amelyeket a 3. táblázatban mutatunk be. A gáz térfogatát 0,1-4 ml között változtattuk, míg a gázbefecskendezés sebessége 0,02-0,5 ml/s között változott, a keverő fordulatszámát 3000-25000 fordulat/perc között állítottuk be. Az eredmények kiértékelése során a TIBCO Statistica® 13.4 (StatSoft Hungary, Budapest, Magyarország) szoftvert használtuk. A 3D válaszfelületek ábrázolása során egy változót megtartottunk a középső síkban és regressziós modellnek megfelelő válaszfelületet hoztunk létre.

3. táblázat Box-Behnken típusú faktoriális kísérlettervezési terv.

	Keverőfej fordulatszáma (rpm)	Gáz mennyiség (ml)	Gáz beadagolási sebesség (ml/s)
1	3000	0.1	0,02
2	3000	2	0,5
3	3000	4	0,25
4	14000	0.1	0,5
5	14000	2	0,25
6	14000	4	0,02
7	25000	0.1	0,25
8	25000	2	0,02
9	25000	4	0,5
10	14000	2	0,25
11	14000	2	0,25
12	14000	2	0,25

5.4. Bárium-szulfát tartalmú kontrasztanyag minták fejlesztés

5.4.1. Minta gyártás

A BaSO_4 tartalmú mintákat a lentebbi összetétel alapján gyártottuk le. A gyártási paramétereket a következőképpen állítottuk be: 2,5 ml gázt injektáltunk be 0,25 ml/s sebességgel, miközben 15000 rpm fordulatszám mellett diszpergáltuk a gázt az olvadt közegben. A meleg habot műanyag hengerekbe öntöttük (d: 5 mm, h: 50 mm) és megszilárdulás után egységes méretekre vágtuk (d: 5 mm, h: 5 mm).

4. táblázat BaSO_4 tartalmú minta összetétele.

Alapanyag	Bemért mennyiség
BaSO_4	45g
PEG 4000	75g
Sztearinsav	30g

5.4.2. Sűrűség meghatározás

A habosítás előtti és habosítás utáni minták sűrűségének meghatározásához a következő módszert alkalmaztuk. A méretre vágás után, a BaSO_4 tartalmú minták 5 mm átmérőjű és magasságú szabályos henger alakú matematikai testeket formáltak, melyek térfogatának számítására az alábbi egyenlet alkalmas:

$$V_{minta} = \left(\frac{d}{2}\right)^2 \times \pi \times h$$

ahol: V_{minta} a BaSO_4 tartalmú minta térfogata, d a minta átmérője (5 mm), π matematikai konstans, h a minta magasság.

A minta tömegét analitikai mérleggel határoztuk meg, a számított térfogat és a mért tömeg felhasználásával számítottuk ki a minta látszólagos sűrűségét az alábbi egyenlettel:

$$\rho_{hab} = \frac{m_{minta}}{V_{minta}}$$

ahol: m_{minta} BaSO_4 tartalmú minta tömege, V_{minta} a minta kalkulált térfogata (0,0981 ml); ρ_{hab} a gyártott hab látszólagos sűrűsége.

5.4.3. Mikro-CT

A szilárd készítmények szerkezetének és pórusainak jellemzésére mikro-CT (SkyScan 1272 compact desktop) készülékkel felvételeket készítettünk a habokról, az alábbi paraméterek mellett: felbontás: 5 μm , pixelméret: 1344x2016, gerjesztő feszültség: 50 kV; gerjesztő áramerősség: 200 μA , Flat field korrekciót és Geometriai korrekciót alkalmaztunk. A mikro-CT felvételeit SkyScan NRecon program (Version: 2.0.4.2) segítségével rekonstruáltuk, melyeken utólagos igazítást, sugárkeményedési korrekciót, gyűrűműtermék csökkentést és simítást végeztünk. DICOM and BPM formátumba mentettük ki a képeket.

2D/3D analízis során a CTAn szoftverét használtuk. A kiértékelés során sűrűség alapú analízist végeztünk, mely során Thresholding, ROI shrink-wrap, Reload, 2D and 3D Analysis plugins alkalmaztunk. Szürke határértéke a buborékoknak 0-40 közötti volt, az analízis előtt ROI-val eltávolítottuk a háttérét. A 3D ábrázolást CTVox szoftverben értékeltük ki és színskálával kódoltuk.

5.4.4. Állományelemzés

A minták állományváltozásának *in vitro* nyomon követésére Brookfield CT3 (Torontó, Kanada) állományvizsgáló készüléket alkalmaztunk. A kiindulási száraz mintákat szobahőmérsékleten vizsgáltuk anélkül, hogy kioldóközegbe merítettük volna őket. A vizsgálat során három véletlenszerűen kiválasztott mintát 50 ml pH=1,2-es sósavas pufferbe helyeztünk, amit 37 °C-on kevertettük 100 rpm fordulatszámon (Velp AREX-6 Digital fűthető mágneses keverő, VELP Scientifica Srl, Usmate Velate MB, Olaszország). A mintákat 0, 30, 60, 120, és 240 percig hagytuk a kioldódó közegben, majd óvatosan egy műanyag szitaszövettel kiemeltük őket a folyadékból. A felületen lévő vizet leitatuk gyengéden, majd elvégeztük az állományelemzést a következő beállítások mellett. A mérés során a mintákat az oldalukra fektetve a mintatartó fémasztalra tettük és felülről összenyomtuk 0,50 mm/s sebességgel egy próbatesttel (TA25/1000 akril henger, átmérő: 50,8 mm, magasság: 20 mm). A vizsgálat a teljes összenyomásig vagy 4500 grammnyi ellenállás érzékeléséig (a készülék felső méréshatáráig) történt, ekkor a nyomást 5 másodpercig megtartotta a mintán, majd visszahúzta a készülék a próbatestet, miközben mérte a testről való elszakadási erőt is. Az idő függvényében ábrázoltuk a testet ért terhelést (g), a textúra változásainak valós idejű bemutatásához.

5.4.5. *In vivo* gasztroretentív vizsgálat

A bárium-szulfátot nagy sűrűsége és röntgensugárzást elnyelő képessége miatt a klinikumba már régóta használják gyógyszerhordozók testen belüli elhelyezkedésének vizsgálatára, mint kontrasztanyag. A minta *per os* adagolás utáni elhelyezkedésére, a gyomorban való tartózkodási idejének meghatározására, ezáltal a gasztroretencióra való alkalmasságának vizsgálatára, *in vivo* gasztroretentív vizsgálatot végeztünk patkány modellen.

Az *in vivo* kísérletek során 16 hetes, 250-300 g súlyú hím Fischer-344 patkányokat (n=3; Animalab Kft., Budapest, Magyarország) használtunk. Az állatokat standard körülmények között tartottuk 23 ± 2 °C-on 50 ± 10 % páratartalom mellett, mesterséges megvilágítással 12 óras cirkadián ritmussal. A félszintetikus diéta (VRF1; Akronom Kft., Budapest, Magyarország) és az ivóvíz *ad libitum* elérhető volt minden állat számára. Az állatkísérletek során nem alkalmaztunk invazív beavatkozásokat, így etikai engedélyre nem volt szükség a kísérletek elvégzéséhez. A laboratóriumi állatokat minden idevonatkozó magyar törvénynek, állatjóléti iránymutatásnak és az Európai Unió-s előírásnak megfelelően tartottuk és kezeltük.

A *per os* adagolásához a patkányokat kisállat altató készülékben 3%-os izofluránnal (Forane) altattuk el. A 15 mg BaSO₄-ot tartalmazó tablettát anatómiai elhelyezkedését teljes test szkenneléssel határoztuk meg 0,5 és 2 óra elteltével nanoScan SPECT/CT (Mediso Kft., Magyarország) berendezés segítségével. A következő beállítási paraméterek mellett: röntgenső feszültség 60 kVp, áramerősség 86 mA, expozíciós idő 170 ms vetítésenként, voxel mérete 1×1 mm.

5.5. Verapamil tartalmú kapszula fejlesztés

5.5.1. Kapszula gyártás

A verapamil tartalmú kompozíciókat a lentebbi összetétel alapján gyártottuk le a QUICKfoamcell Lab[®] gyártóberendezéssel. A gyártás során a következő paramétereket alkalmaztuk: bemért össztömeg: 150 g; olvasztótégely hőmérséklete: 62 °C; habosító cella hőmérséklete: 56 °C; beadagolt olvadék mennyisége és sebessége: 2 ml és 0,25 ml/s; beadagolt gáz mennyisége és sebessége: 2 ml és 0,25 ml/s és fordulatszám 15000 rpm. A formulációkat 00 Coni-Snap[®] típusú zselatin kapszulákba adagoltuk és szobahőmérsékleten megvártuk, hogy szilárdodjanak, ezután a kapszula sapkákkal lezártuk a készítményeket.

5. táblázat Verapamil-HCl tartalmú kompozíciók százalékos összetétele.

Összetétel	PEG 4000	Sztearinsav	Verapamil-HCl
V1	75,0%	10,0%	15,0%
V2	72,5%	12,5%	15,0%
V3	70,0%	15,0%	15,0%

5.5.2. Sűrűség meghatározás

A megszilárdult formulációk sűrűségének meghatározására a gyártási hőmérséklet optimalizálása fejezetben leírt módszert alkalmaztuk. A 00 méretű kapszula tömege és térfogata megegyező volt a korábbi adatokkal, a kapszulák tömegét úgyszintén analitikai mérlegen mértük és fentebbi képlet segítségével meghatároztuk a sűrűséget.

5.5.3. Pásztázó elektronmikroszkópos képalkotás és kémiai elem analízis

A készítmények törtfelszínéről, a hab struktúra és szerkezet vizsgálatára elektronmikroszkópos felvételeket készítettünk, Hitachi Tabletop Mikroszkóppal (TM3030 Plus, Hitachi High-Technologies Corporation, Tokió, Japán). A mintákat kettétörtük, ezáltal szabad törési felszínt létrehozva, majd grafit tartalmú kétoldalú ragasztószalaggal rögzítettük a mintatartó lemezhez. A mérések során a felszínen nem alkalmaztunk aranyozást vagy más bevonatot. A felvételeket vákuum alatt, 5 kV elektron gyorsító feszültséggel készítettük 100, illetve 500-szoros nagyítás mellett. A törtfelszínről továbbá kémiai elem analízist is végeztünk Bruker EDX 70 detektorral, mely során klór és oxigén elemeket vizsgáltunk.

5.5.4. Kioldódási vizsgálat

A kioldódási vizsgálatokat a VIII. Magyar Gyógyszerkönyv által előírt módszerrel végeztük. Kioldó közegnek 900 ml pH=1,2 sósavas puffert alkalmaztunk, melynek kémhatását minden oldatkészítéskor ellenőriztük asztali pH-mérővel (Mettler Toledo Seven Easy, Inlab Expert Pro elektród). A kioldáshoz Erweka DT800 kioldódásvizsgáló berendezést alkalmaztunk, forgólapátos módszerrel. A vizsgálatot 3-3 párhuzamos, összetételenként random módon kiválasztott kapszulával végeztük, 10 óra hosszáig (600 perc). A mintavétel automatikusan történt 3 ml kioldóközeg levételével kémcsövekbe, az alábbi időpontokban: 5, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480, 600 perc. Ezután a mintákat 0,25 mikronos fecskendőszűrőn szűrtük meg és a kioldóközeggel 5-szörösére hígítottuk. UV-VIS

spektrofotométert (Shimadzu UV-1601) használtunk a kioldódott hatóanyag mennyiségének meghatározásához, amit a verapamil-HCl abszorpciós maximumán mértünk vissza (278 nm).

A kioldódási adatokat grafikusán elemeztük, mely során nullad-rendű, elsőrendű, Korsmeyer-Peppas, Higuchi és Weibull modellek illeszkedését vizsgáltuk. Nullad-rendű kinetika esetén a kioldódott hatóanyag frakciója az idő függvényében lineáris. Elsőrendű kinetika vizsgálatakor a visszamaradt hatóanyag frakciójának a 10-es alapú logaritmusát az idő függvényében ábrázolva egyenest kapunk. Korsmeyer-Peppas kinetika esetén a felszabaduló hatóanyag frakció logaritmusának és az idő logaritmusának pontjai egyenest alkotnak. Higuchi modell esetén a kioldódott hatóanyag százalékat ábrázoltuk az idő négyzetgyökének függvényében. A Weibull modell esetén a lentebbi egyenlettel átszámított kioldódott hatóanyag mennyiséget ábrázoltuk az idő természetes alapú logaritmusának függvényében és egyenest illesztettünk rá [92].

$$\text{korrigált hatóanyag mennyiség} = \ln(-\ln(1 - \text{kioldódott hatóanyag frakciója}))$$

5.5.5. Gyártás validálás

A gyártás validálása során a V2 készítmény összetétele alapján gyártottuk le a verapamil tartalmú kapszulákat különböző időpontokban, a leírt gyártási protokoll paramétereit követve. Összehasonlítottuk a gyártási sarzsok sűrűségét, hatóanyagtartalmát és kioldódási profilját. A hasonló kioldódási görbék összehasonlítására a következő statisztikai módszereket alkalmaztuk: f1: különbözőségi faktor (difference factor) f2: hasonlósági faktor (similarity factor). Mindkettőt használja és ajánlja az FDA a készítmények hatóanyag kioldódási profiljainak összehasonlításához (generikus az originális tabletta). Bioekvivalensek, azaz hasonlóknak tekinti a biológiai hatását humán alanyban vizsgálva, ha f1: 0-15 közötti, illetve f2 esetén 50-100 közötti értéket mutat, hiszen BCS I. és III. osztályba tartozó hatóanyagok esetén a hatóanyag készítményből való kioldódása határozza meg a biohasznosulást [92].

$$f1 = \frac{\sum_{j=1}^n |R_j - T_j|}{\sum_{j=1}^n R_j} \times 100$$

$$f2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + (1/n) \sum_{j=1}^n |R_j - T_j|^2 \right]^{-0,5} \times 100 \right\}$$

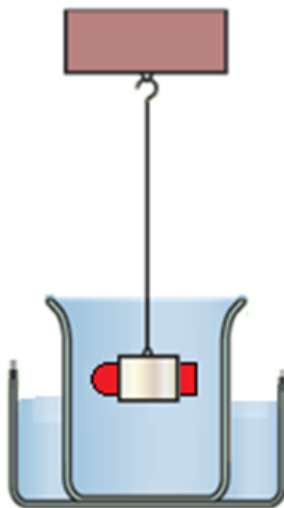
ahol R_j : a referens készítményből j időpontban kioldódott hatóanyag mennyisége százalékban;
 T_j : a vizsgálati készítményből kioldódott hatóanyag mennyiségének százaléka a j időpontban;
 n : a mintavételi időpontok számát jelenti.

5.5.6. Cella szerkezet vizsgálat mikro-CT-vel

A V2 összetételű kapszuláról a fentebb leírt módszerrel (mikro-CT fejezet) elkészült képeket szoftveresen kiértékeltek és rekonstruált 3D képeket készítettünk, melyeken a felszín felé nyitott pórusokat azonosítottuk és eltérő színnel jelöltük őket a zárt pórusoktól.

5.5.7. Felhajtóerő vizsgálat

Simons és Wagner [39] munkája alapján, úszó készítmények felhajtóerejének detektálására alkalmas készüléket építettünk, mely 10. ábrán látható. Közvetlenül a tenziométer (Attension) karjára egy mintatartóhálót erősítettünk, mely a vízfelszín alá nyomta a kapszulát. Az eredő felhajtóerőt közvetetten a háló súlyváltozásából számítottuk ki. A méréseket 500 ml, pH=1,2-es pufferben, 37 °C-on, folyamatosan keverés mellett végeztük, hogy az *in vitro* kioldódási vizsgálatokhoz hasonló körülményeket teremtsünk.



10.ábra Felhajtóerő mérésére szolgáló készülék sematikus ábrája.

5.5.8. Állományelemzés

Az állományelemzést a korábbi BaSO₄ rész állományelemzés fejezetben leírtak alapján végeztük el, a vizsgálat során az előzőekben leírtaktól eltérően 900 ml kioldóközeget alkalmaztunk, melyhez 20 csepp 5 m/m%-os Sicovit[®] Tartrazine (BASF, Ludwigshafen,

Németország) festékanyagot adtunk, hogy az átnedvesedést vizuálisan is nyomon tudjuk követni. Az állományelemzéshez 0, 60, 180, 300, 420, illetve 600 perc után mintát vettünk. Az állományelemző géppel megnyomott mintákról fényképeket készítettünk.

5.5.9. Erózió és vízfelvétel vizsgálat

A készítmények vízfelvételét, erózióját, és visszamaradt minta tömeget a következő módszerrel határoztuk meg. A minták kezdeti tömegét ($m_{kezdeti}$) a kísérlet előtt feljegyeztük, majd a kioldódás vizsgálat fejezetben leírtak szerint a kioldóberendezésbe helyeztük. 1, 3, 5, 7 és 10 óra elteltével a mintákat óvatosan kivettük a kioldóközegből egy műanyaggháló segítségével, és analitikai mérlegen megmértük a nedves minták tömegét (m_{vizes}) a felesleges víz eltávolítása után. Ezután a mintákat szárítószekrénybe (Memmert SFE 550, Memmert GmbH, Németország) 45 °C-on tömegállandóságig szárítottuk, majd újra lemértük a tömegüket ($m_{száraz}$) [20]. Három párhuzamos mintát vizsgáltunk a V2-es összetételből.

Vízfelvétel százalékban kifejezve:

$$Vízfelvétel \% = \frac{m_{vizes} - m_{száraz}}{m_{vizes}} \times 100$$

Erózió mérték százalékban:

$$Erózió \% = \frac{m_{kezdeti} - m_{száraz}}{m_{kezdeti}} \times 100$$

Visszamaradt minta tömegszázaléka:

$$Visszamaradt minta tömeg \% = \frac{m_{száraz}}{m_{kezdeti}} \times 100$$

Az erózió követésére a mintavételi pontok szárított mintáiról mikro-CT felvételeket készítettünk, a Mikro-CT fejezetben leírt módszer szerint. A felvételeket ImageJ segítségével értékeltük ki, a visszamaradt rész mennyiségét százalékban kifejezve vizsgáltuk a kiindulás mátrixhoz viszonyítva.

5.5.10. Hosszútávú és gyorsított tárolási körülményeket követő kioldódási teszt

A készítmények eltarthatóságának vizsgálatára stabilitási vizsgálatot végeztünk az ICH irányelvek figyelembe vételével [93]. Tíz kapszulát légmentesen záródó üvegtartályban lezárva a klímakamrába (ICH110, Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach, Németország) helyeztük

gyorsított tárolási körülmények között ($40 \pm 2^\circ\text{C}$, $75 \pm 5\%$ relatív páratartalom) 3 hónapig. Másik tíz kapszulát szintén légmentesen záródó tartályban tároltunk két évig szobahőmérsékleten. A vizsgálatok végén a minták megjelenését vizuálisan vizsgáltuk. *In vitro* kioldódási vizsgálatot végeztünk a stabilitás bizonyítására. A kioldódási vizsgálatot a Kioldódási vizsgálat fejezetben leírtak szerint hajtottuk végre. A hatóanyag leadások összehasonlítására hasonlósági, f_2 és különbözőségi, f_1 faktorokat számoltunk, mely során referencia mintának a friss mintával végzett kioldódást vettük alapul.

5.5.11. Biohasznosulás *in vivo* vizsgálata

A farmakokinetikai vizsgálatok a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottság (DE MÁB) és a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH) engedélyével valósultak meg (nyilvántartási száma: 7/2019/DEMÁB; engedélyezési szám: HB/06-ÉLB/1657-4/2019; jóváhagyás időpontja: 2019. március 14), betartva a nemzeti (1998. évi XXVIII. törvény az állatok védelméről és kíméléséről) és az Európai Unió (2010/63/EU irányelv) előírásait. A kísérletekbe hat darab nőstény Beagle kutyát (10 ± 0.5 kg) vontunk be, melyeket $15\text{--}21^\circ\text{C}$, $50 \pm 10\%$ páratartalom, és 12 órás cirkadián ritmusban tartottunk. A kutyák számára biztosított volt a korlátlan ivóvíz és napi 300 g pelletált táp. Huszonegy napos akklimatizációs időt tartottunk a kísérletek előtt a 3R tökéletesítésének jegyében. A farmakokinetikai vizsgálatot két lépésben hajtottuk végre, 7 napos kimosási időszakot hagyva a két formuláció között, ezzel is csökkentve a szükséges állatok számát az állat jóléti szempontokat figyelembe véve. A gyógyszer beadások előtt 12 órával az ételt megvontuk a kutyáktól, de a vízhez való hozzáférés továbbra is biztosított volt számukra. A vérmintákat a *v. cephalica* kanülálásával vettük. A mintavétel után a kanül öblítésére 3 ml steril *sol. saline*-t fecskendeztünk be, és nátrium-heparin oldatot használtunk véralvadástgátló szerként.

A vizsgálat első részében 10 ml, 50 mg tartalmú verapamil oldatot adtunk be orálisan a kutyáknak ($n=6$). Három milliliter vérmintát vettünk *v. cephalica*-ból 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 és 24 órával a *per os* beadás után. A vérmintákat a levételt követően egyből lecentrifugáltuk (3500 fordulat/perc 10 percig), és a plazma részt begyűjtöttük, majd -80°C -on tároltuk a hatóanyag koncentráció visszaméréséig. A 6 órás mintavétel után az állatok számára újra elérhető volt az étel.

Az egy hetes kimosási időszakot követően a kísérlet második fázisában 120 mg verapamil tartalmú habosított kapszulát adtunk szájon át a kutyáknak ($n=6$). A további eljárás

(mintavételi idő, mintamennyiségek, plazma elválasztás és tárolás) megegyezett a fentebb leírtakkal.

5.5.12. Gasztroszkópia

A verapamilos kapszulák beadása után 2, illetve 4 óra elteltével, gasztroszkópiát végeztünk, hogy megbizonyosodjunk arról, hogy a szilárd gyógyszerhordozó a gyomorban tartózkodik, az állatok gyomortartalmáról videofibroszkóppal (PENTAX Medical Ultrasound Video Fiberscope, EB19-J10U, HOYA Corporation, Shinjuku-ku, Tokió, Japán) rövid videókat rögzítettünk. A vizsgálat előtt az állatokat intramuszkuláris ketaminnal (10mg/tkg), xilazinnal (1mg/tkg) és diazepammal (0,2mg/tkg) érzéstelenítettük. A projekt engedélye szerint a kutyákon a kísérlet végén nem végeztünk eutanáziát.

5.5.13. Plazma verapamil koncentrációjának meghatározása

A mintákat -80 fokban fagyasztás után kiolvastottuk és folyadék-folyadék extrakciós mintaelőkészítést alkalmazva feldolgoztuk. 250 µl levett mintához 500 µl foszfát puffert (pH=6,0) adtunk hozzá. A pH=6,0 foszfát puffert az Európai Gyógyszerkönyv szerint készítettük [94]. Ezután 1,5 ml TBME-etil-acetát (1:1, V:V) keverékével extraháltuk a mintánkat 5 percig vortexeléssel 30 rpm-en. Centrifugálás (4000 G, 8 percig) után a felülúszó szerves fázist lepipettáztuk, és nitrogén bepárló segítségével 40 °C-on teljesen bepároltuk [95]. A kivált maradékot 500 µl LC mozgófázisban oldottuk fel, és Thermo Accela +LTQ XL LCMS készülékkel mértük vissza. A kromatográfiás elválasztás során Kinetex XBC18 oszlopot (100 × 2,1 mm, 2,6 µm) alkalmaztunk. A mobil fázis 0,1% hangyasavas metanol (A) és 0,1% vizes hangyasav oldat (B) keveréke volt. A mérés során eluens gradienst használtunk a következők szerint: 0,00 perc 70% B, 2,00 perc 0% B, 3,10 perc 70% B és 5,50 perc 70% B. Az oszlop hőmérsékletét 40 °C-on tartottuk, az áramlási sebesség 0,3 ml/percre állítottuk be és a mérések során 10,0 µl mintát injektáltunk minden esetben. Az optimális ESI ionizációs paraméterek a következők voltak: fűtőtest hőmérséklete: 200 °C; köpenygáz: N₂; áramlási sebesség: 10 arb; segédgáz áramlási sebessége: 5 arb; porlasztási feszültség: 5 kV; kapilláris hőmérséklet: 275 °C; és a kapilláris feszültség: 23,50 V. A minta méréseket pozitív ion üzemmódban (MS) végeztük. A verapamil [M+H]⁺ iontömegét (455 m/z) SIM módban detektáltuk.

Az eredményeket Graphpad Prism 6.1 szoftverrel értékeltük ki, és a relatív biohasznosulást a következő egyenlettel számítottuk:

$$f_r = \frac{AUC_A \times D_B}{AUC_B \times D_A} \times 100$$

ahol f_r : relatív biohasznosulást (%); AUC : görbe alatti terület (plazma hatóanyag koncentrációja az idő függvényében); D a gyógyszer dózisa, B : referenciaminta és A : tesztminta.

Az *in vivo* és *in vitro* korreláció során az *in vitro* kioldódás függvényében ábrázoltuk az *in vivo* felszívódott hatóanyag százalékos mennyiségét [96].

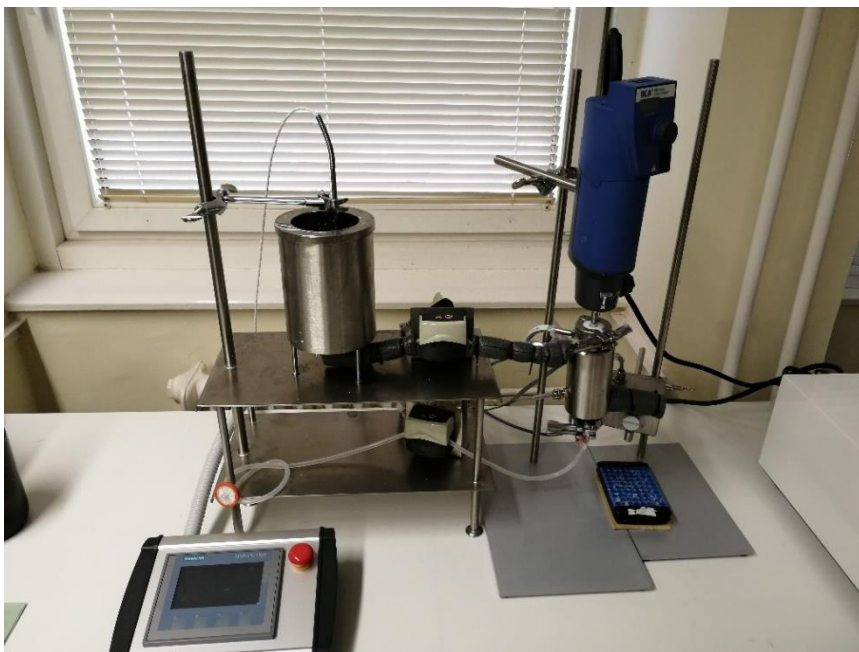
5.5.14. Statisztikai analízis

A statisztikai elemzéshez GraphPad Prism®-et (6.01-es verzió, GraphPad Software Inc.) használtunk. Két minta összehasonlítása esetén t-próbát végeztünk, míg több minta esetén ANOVA-t. Szignifikáns ANOVA teszt esetén, több mintát egymással Tukey-féle post hoc teszttel, míg több mintát és a kontrollt Dunnett-féle post hoc teszttel hasonlítottuk össze. A különbségeket $p < 0,05$ értéknél tekintettük szignifikánsnak.

6. EREDMÉNYEK

6.1. Gyártási paraméterek optimalizálása

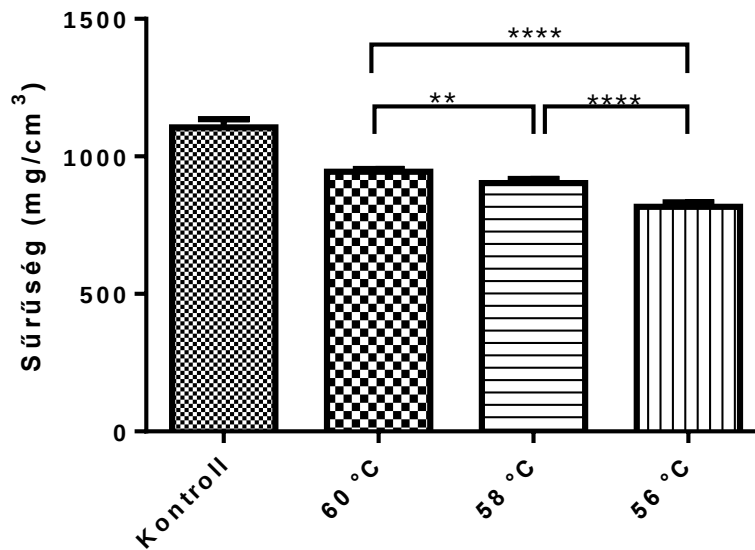
A 11. ábrán az elkészült gyártó berendezés látható, mely a Debreceni Egyetem Proof of Concept program finanszírozásának köszönhetően valósult meg.



11. ábra QuickfoamCell® berendezés a Gyógyszertechnológiai Tanszéken.

A gyártási paraméterek meghatározásának során elsőnek a gyártási hőmérsékletet vizsgáltuk. A kísérlet célja megtalálni azt legalacsonyabb hőmérsékletet, ahol olvadék már habosodik, de még nem dermed be a gépbe kiadagolás közben. Az előkísérletek során, meghatároztuk a szükséges olvadék átáramlási sebességet és szükséges mennyiségét, továbbá az elektronikus elcsípő szelepek és apparátusok késleltetésének beállításait.

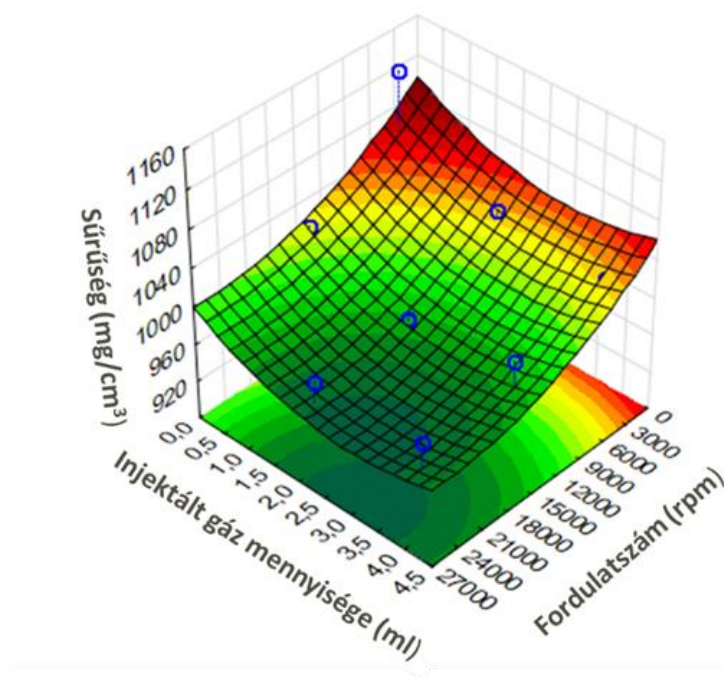
Ezután a gyártási paraméterek középső értékeivel eltérő hőmérsékleten 60, 58 és 56 °C végeztük el a habosítást, melynek eredménye a lenti 12. ábrán látható. A hőmérséklet csökkentésével csökkent a látszólagos sűrűség. A kezdeti olvadék sűrűség $1105 \pm 29,83 \text{ mg/cm}^3$, mely az 56 °C-on történt gyártás hatására $817,1 \pm 15,71 \text{ mg/cm}^3$ változott. A kontroll, vagyis kiindulási értékhez viszonyítva minden esetben, 60, 58, illetve 56 °C-on is, szignifikáns (****, $p \leq 0,0001$) csökkenést tapasztaltunk. A hőmérsékletek közötti eltérések is szignifikánsnak tekinthetők, melyeknek mértéke a 12. ábráról leolvasható.



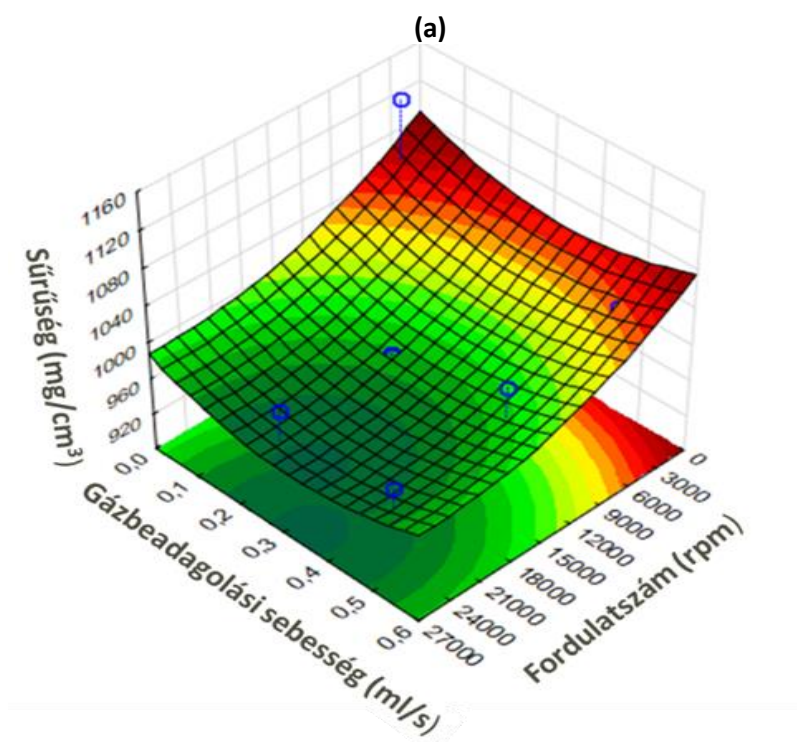
12. ábra Eltérő hőmérsékleten gyártott placebo GR rendszerek sűrűsége.

A gyártási paraméterek optimalizálása faktoriális kísérlet tervezéssel történt. Három változtatható gyártási paramétert vizsgáltunk, melyeket kritikus paraméternek gondoltunk az előkísérletek alapján. A vizsgálat során, nem csak a tiszta mátrixot habosítottuk, mint a hőmérséklet vizsgálata során, hanem már placebo hatóanyagot is alkalmaztunk. Laktóz diszpergáltunk az olvadékban, mely nem oldódott be a mátrixba, így előkísérleteink alapján stabilizálhatja a hab képződést azáltal, hogy növelte az adott hőmérsékleten a viszkozitást, anélkül, hogy a dermedési hőmérséklet csökkent volna. A laktóz megváltoztatta a kiindulási olvadék sűrűségét és viszkozitását, mely így jobban megközelíti a hatóanyagos formulációk összetételét és fizikai tulajdonságait. A változtatható, kritikus gyártási paraméterek középső értékének a hőmérséklet befolyásoló hatását vizsgáló kísérleti értékeket vettük alapul. Az értékeket ezután csökkentettük és növeltük, hogy megvizsgáljuk a habosításra gyakorolt hatásukat. Elmondható a 13. ábrát áttanulmányozva, hogy a fordulatszám közel lineárisan befolyásolja a habosodás mértékét. A fordulatszám emelésével növekszik a gáz diszpergálás hatékonysága az olvadékban. Az injektált gáz mennyiség során ez a linearitás eltűnik, egy optimális mennyiség után a habosodás mértéke romlik, a látszólagos sűrűség növekszik. A gáz beadagolási sebessége esetén ugyanezt a hatást figyelhetjük meg. Az eredmények alapján megállapíthatók az ideális gyártási paraméterek. A habosodás növeléséhez minél nagyobb fordulatszám javasolt. A további kísérletek során 15000 rpm-et használtunk, a gép túlterhelésének elkerülése érdekében, és a fordulatszámon tapasztalt hatékony diszpergáló képesség miatt. Az ideális gáz beadagolási sebesség és mennyiség esetén egy tartományt határozhatunk meg, melyen belül nincs szignifikánsan kedvezőbb eredmény, a beadagolt

menyiség 2,5-3,5 ml-nek, míg a sebesség 0,25 ml/s 0,35 ml/s között található. A kísérleteink során a legkisebb értékeken dolgoztunk, tehát 2,5 ml gáz adagoltunk az olvadékhoz 0,25 ml/s-mal, míg 15000 rpm mellett végeztük az agitációt.



(a)



(b)

13. ábra Faktoriális kísérlet tervezés 3D válaszfületei.

A mérésekre a Debreceni Egyetem, Gyógyszertechnológiai Tanszékén került sor, a mérésekben Czomba Zsuzsa TDK hallgató segédkezett.

6.2. Bárium-szulfát tartalmú formuláció

6.2.1. Sűrűség meghatározás

A bárium-szulfát tartalmú minták kiindulási sűrűsége $1107 \pm 108,18 \text{ mg/cm}^3$, melyet $507 \pm 45,48 \text{ mg/cm}^3$ -re csökkentettünk a habosítási eljárásunkkal, mely több mint 54% tömegvesztésnek felel meg egységnyi térfogatot vizsgálva. Az egységnyi méretre vágott mini minták, az első perctől úszási tulajdonságot mutattak, melyről felvételeket készítettünk (14. ábra). A minták 4 órán keresztül folyamatos úszási tulajdonságot mutattak, az állományuk egyben maradt nem estek szét.

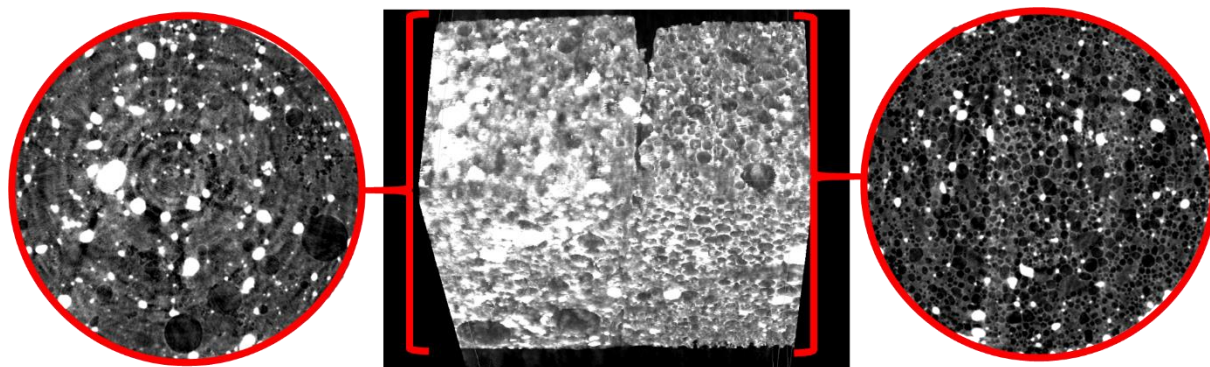


14. ábra BaSO_4 tartalmú mini tabletták úszása kioldó közegben.

6.2.2. Mikro-CT

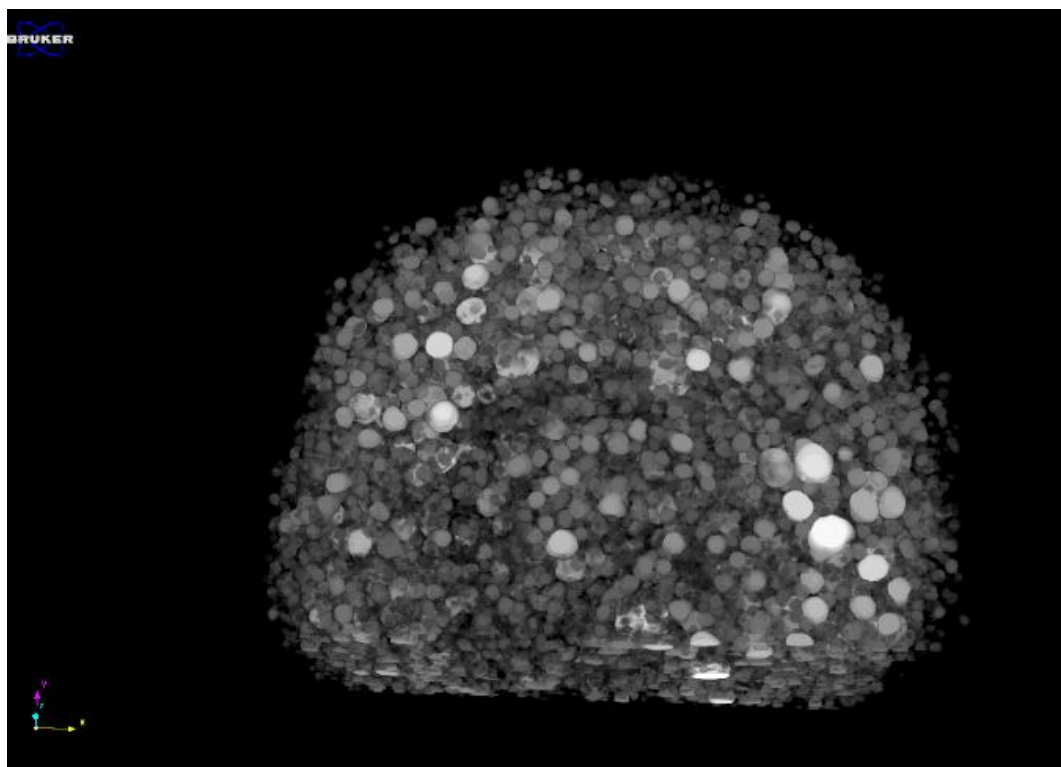
A habosított készítményről és a kiindulási olvadékból öntött mintákról mikro-CT felvételeket készítettünk. A 15. ábrán láthatók a vágott felszínek és kivett keresztmetszeti képek. A fehér világító részecskék, a diszpergált BaSO_4 részecskék, melyek nagymértékben elnyelik a röntgensugarakat, míg a sötétebb foltok a készítményen belüli üregek, a mátrix színe szürkésen jelenik meg a képeken. Bal oldali metszeti képen látható, hogy a kontrasztanyag szemcséi nagyobbak és néhol elvétve egy-egy üreg látható, mely a kontrasztanyag eloszlása során csapódott a mátrixba. Ezek mérete jóval nagyobb, mint a jobb oldalon látható keresztmetszeti képen jelenlévő üregek. A jobb oldali képen megfigyelhető, hogy a BaSO_4

részecskék mérete sokkal kisebbek, ez az ultra-turrax homogenizáló hatásának köszönhető. A készítmény homogén eloszlásban tartalmazza az üregeket.

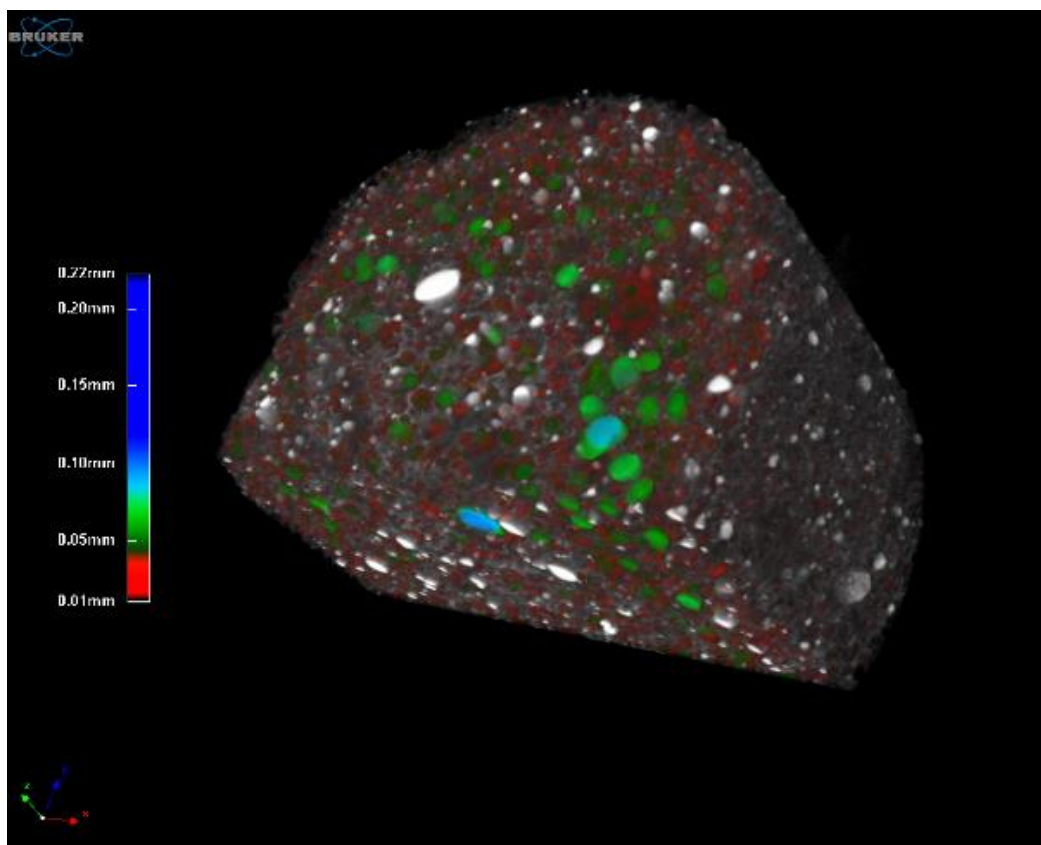


15. ábra Mikro-CT felvétel a BaSO₄ tartalmú mintáról, balra a habosítás előtti kép, míg jobb oldalt a habosítás utáni kép.

A rekonstruált felvételekről eltávolítottuk a mátrixot és a visszamaradt buborékokat ábrázoltuk, ezután szoftveresen kiértékeltek a látható buborékok méreteloszlását. Az átlagos buborék méret 40 μm körüli, melyhez egy homogén eloszlás társul, a buborékok 93,2%-a a 0-100 μm -es tartományba esnek (16.ábra).



(a)



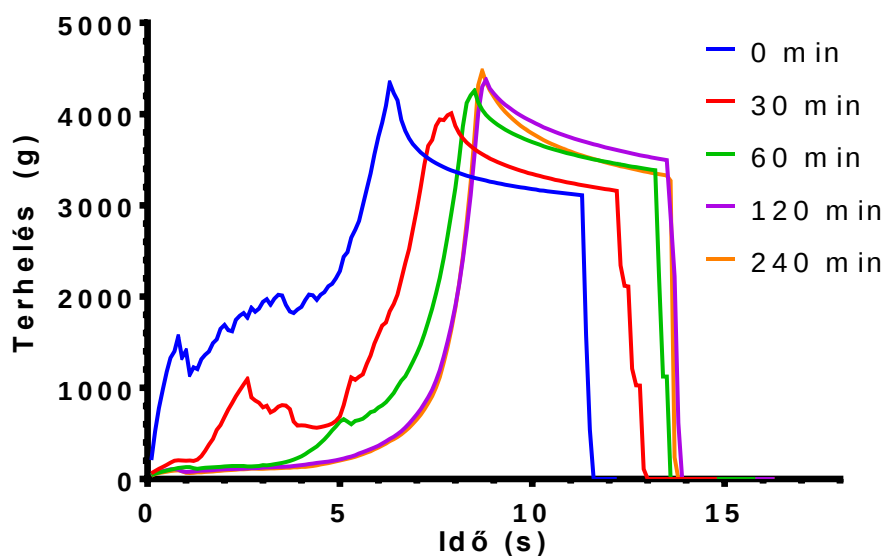
(b)

16. ábra Rekonstruált mikro-CT felvételek a habosított mintáról. A mátrix eltávolítása után visszamaradt buborékok (a), és a buborékok méreteloszlása a készítményen belül, színskálával jelölve a méreteket (b).

A mikro-CT felvételek elkészítésében és kiértékelésében Dr. Béresova Monika a Debreceni Egyetem, Orvosi Képpalkotó Intézet munkatársa segédkezett.

6.2.3. Állományelemzés

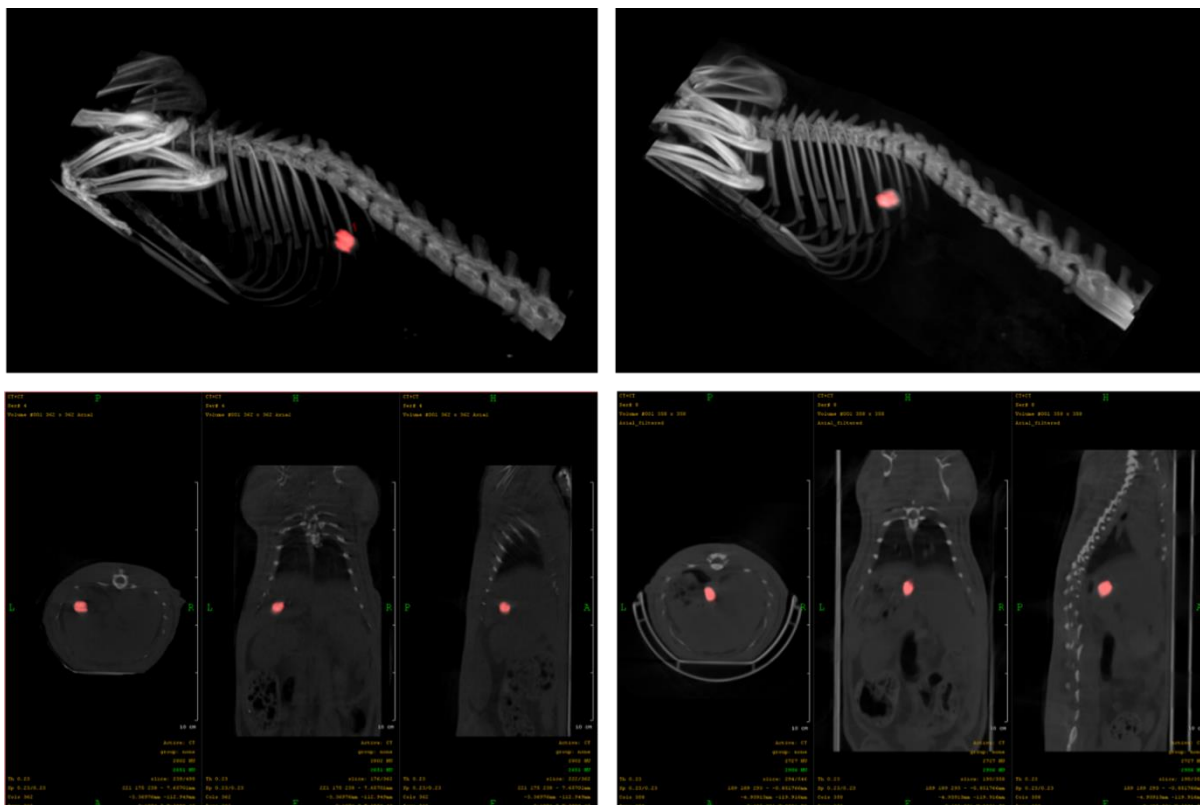
Állományelemzés során a készítményt 4500 grammos terheléssel összenyomtuk 0, 30, 60, 120, 240 perccel a kioldóközegbe helyezés után, a készítményen mérhető terhelést az idő függvényében ábrázoltuk a 17. ábrán. A 0. percben a készítmény szerkezete az 1500 g terhelésre összetör, melyet a görbén látható letörések jeleznek. A 30. percben egy kisebb képlékeny, átnedvesedett réteg található a minta szilárd magja körül, a csúcs letörés, ezért később jelenik meg és kevesebb törést tartalmaz, a kisebb át nem nedvesedett mag miatt. 60. percnél az átnedvesedés nagyobb mértékű, de még tartalmaz szilárd magot, mely a 120. és 240. percre teljesen átnedvesedik. A készítmény magas sztearinsav tartalma miatt 4 óra elteltével is egy könnyen kivehető, egyben lévő mini tablettáról beszélhetünk, annak ellenére, hogy a gyomor őrle mozgásának a minta már nem áll ellen.



17. ábra BaSO₄ tartalmú minta állomány változása.

6.2.4. In vivo gasztroretentív vizsgálat

A BaSO₄, mint kontrasztanyag lehetőséget nyújtott számunkra, hogy a készítmény elhelyezkedését tanulmányozzuk az emésztőrendszeren belül. A lentebbi 18. ábra az állatokról készített CT felvétel 30 perc, illetve 2 óra után. A készítményünk fél óra elteltével a gyomorban található meg, az állat le tudta nyelni a készítményt egyben és jól lokalizálható a gyomorban. Két óra elteltével az állatról készült felvételen látható, hogy a készítmény továbbra is a gyomorban helyezkedik el. A mérete csökkent az erózió által, de a gyomorból nem ürült ki. A 4. órában a készítmény már nem volt megtalálható az állat gyomrában, eliminálódott onnan.



18. ábra *In vivo* gasztroretenció vizsgálata patkány modellen bal oldali kép az adagolást követő 30. percben készült, míg a jobb oldali kép a 120. percben.

A kísérlet bizonyította, hogy az alacsony sűrűségű készítményünk képes a gyomorban maradni akár 2 óra hosszán keresztül is. Ezen eredményeink tükrében kezdtük meg a verapamilos formulációk gyártását és *in vitro*, *in vivo* vizsgálatait.

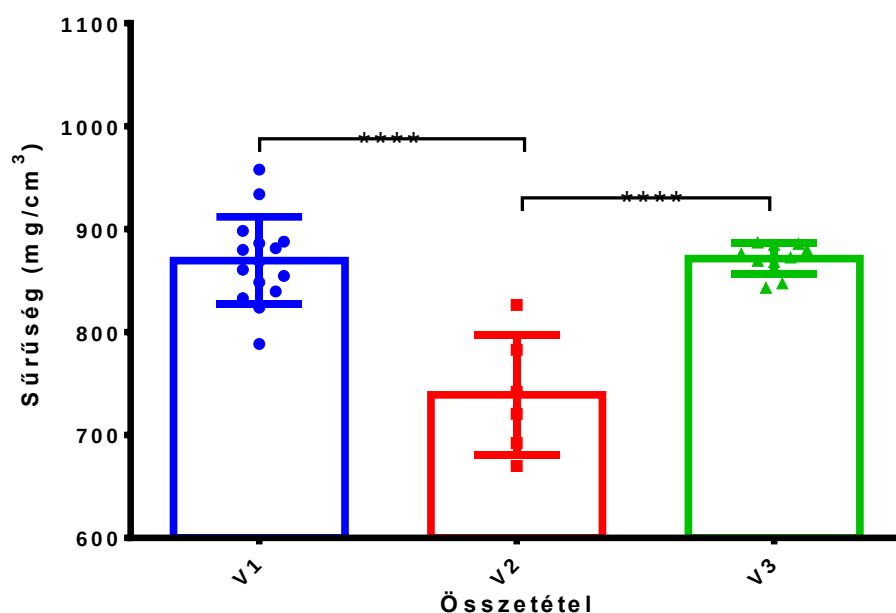
A PET/CT felvételek elkészítésében és kiértékelésében Dr. Trencsényi György a Debreceni Egyetem, Orvosi Képző Intézet munkatársa segédkezett.

6.3. Verapamil tartalmú formuláció

6.3.1. Sűrűség meghatározás

A legyártott összetételek sűrűségét határoztuk meg első lépésben. A töltet tömegének és a kapszulák kalibrált térfogatának hányadosával meghatároztuk a legyártott habok sűrűségét, melynek eredményét az 19. ábra prezentálja. A leghatékonyabb habosodást a V2 esetén érték el, melyben 12,5% sztearinsav található. V3, illetve V1 esetén a habosítás kevésbé volt hatékony. Fontos megemlíteni, hogy ezekben az esetekben is a kitűzött $1,00 \text{ g/cm}^3$ sűrűség alatti eredményeket kaptunk, mellyel már alkalmas lenne a készítmény a gasztroretenció elérésére. Az eredmények alapján elmondható, hogy a lipofil összetevő növelése nem növeli egy ponton túl a habosodás mértékét, pont ellenkezőleg, rontotta a készítmény sűrűség csökkenését. A

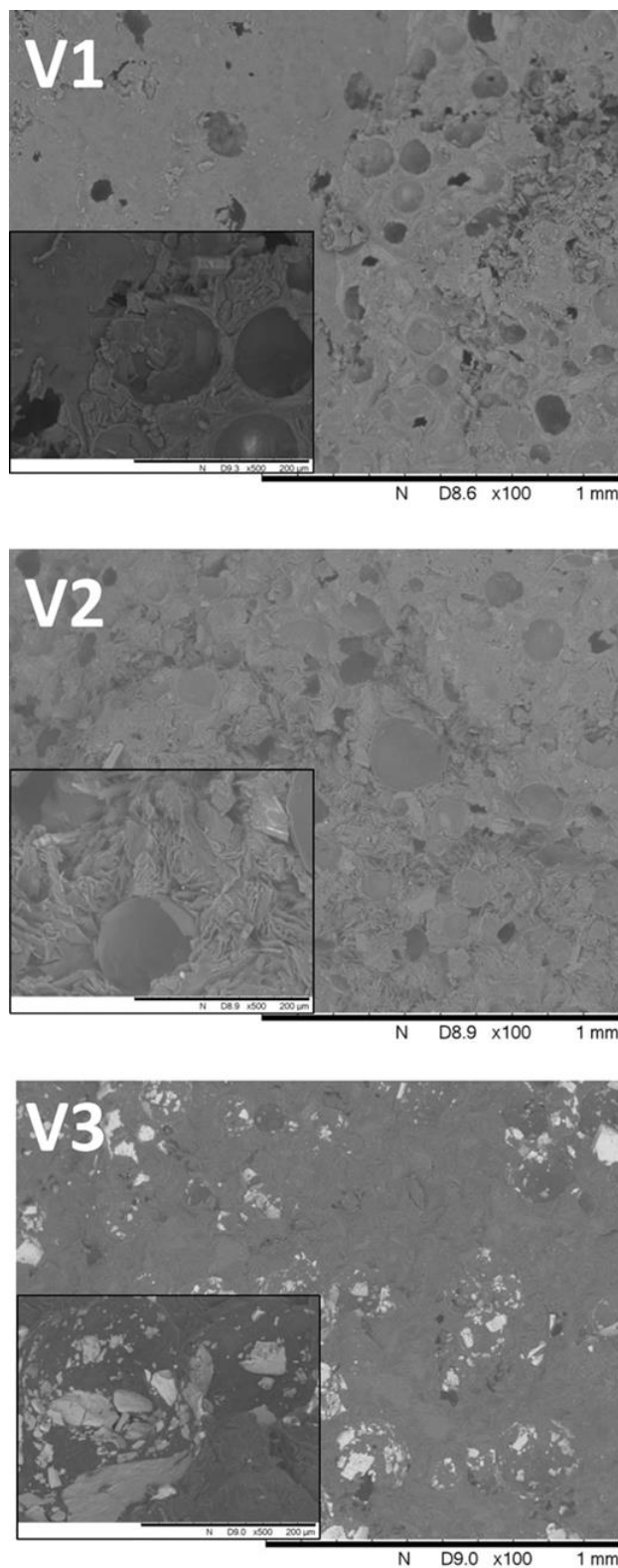
kiindulás összetétellel összehasonlítva elmondható, hogy minden esetben 14%-nál nagyobb csökkenést tapasztaltunk átlagosan, ez a V1 és V3 esetén alig volt nagyobb, csupán 14,3%, illetve 14,5%, míg a V2 esetén ez 27,2% adódott. A kiindulási sűrűséghez képest minden esetben $p \leq 0,0001$ volt, tehát szignifikánsnak tekinthető. A V2 minta esetén is szignifikánsan alacsonyabb sűrűséget kaptunk a V1, illetve V3-hoz hasonlítva.



19. ábra Verapamil-HCl tartalmú összetételek habosítás utáni látszólagos sűrűségük.

6.3.2. SEM és kémiai elem analízis

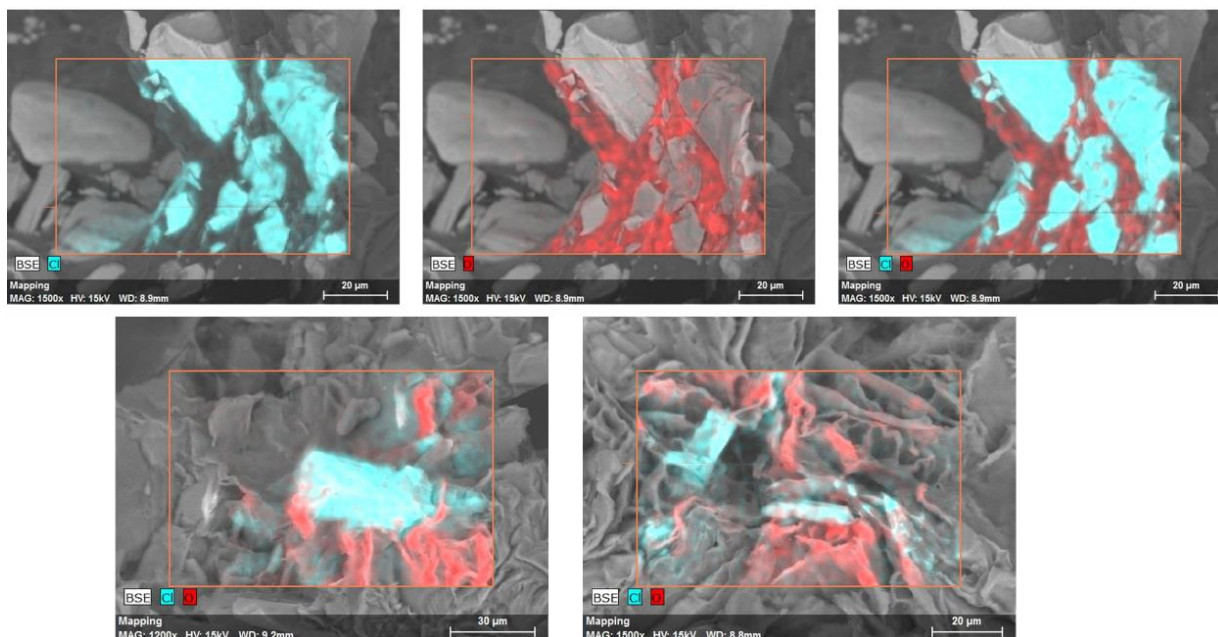
SEM segítségével felvételeket készítettünk a készítményeink törtfelszínéről. A törtfelszínek képei a 20. ábrán láthatóak. A V1 és V2 esetén azonos felszínt figyelhetünk meg, de a V2-ben több a látható buborék. A két minta esetén a mátrixba ágyazódva figyelhetőek meg a verapamil kristályok, ezek a kristályok a buborékok mentén egy vékony mátrix film réteg mögött helyezkednek el és stabilizálják a diszpergált buborékokat. A V3 esetén egy teljesen eltérő felszínt figyelhetünk meg. Habár a mátrixban is látható buborékok és hatóanyag kristályok, az üregek pontosabb szemrevételezésekor megfigyelhető, hogy a vékony mátrix réteg ennél az összetételnél nem borítja a kristályokat, betüremkednek ezáltal az üregekbe, azaz a buborékokba.



20. ábra SEM felvételek a V1, V2, illetve V3 törtfelszínéről, a bal alsó képeken a buborékok 500x nagyításon láthatóak.

A kémiai elemanalízis vizsgálata során a V3 mintát vizsgáltuk meg a jelenség pontosabb leírása miatt, kék színnel a klóratomban dús elemek láthatóak a képen, melyek a verapamil-HCl kristályok. Piros színnel jelenik meg az oxigénatomban dús mátrix, mely körbe öleli a

kristályokat. A képen jól látható, hogy a piros mátrix nem fedi el a kék kristályokat, hanem azok az üreg belső felszínén helyezkednek el (21. ábra felső 3 kép). A V1, illetve V2 minta esetén a kristályokat halvány piros réteg borítja (21. ábra alsó 2 kép).



21. ábra Kémiai elemanalízis eredményei, felül balról jobbra haladva a V3 minta klór, oxigén tartalmú részeit míg a 3. képen az egyszerre történő ábrázolása látható, az alsó képeken a V1, illetve a V2 klór és oxigén tartalmú részeit láthatjuk egyesítve.

A SEM felvételek elkészítésében és kiértékelésében Dr. Budai István, a Debreceni Egyetem, Műszaki Kar munkatársa segédkezett.

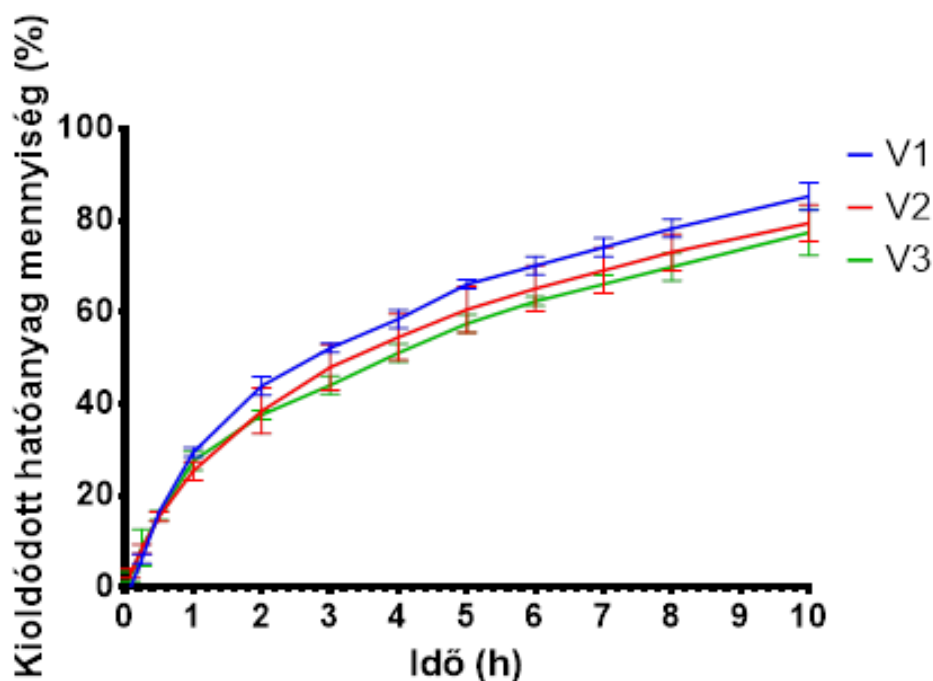
6.3.3. Kioldódási vizsgálat

A hatóanyag kioldódási vizsgálata alátámasztotta az elnyújtott hatóanyag leadást (22. ábra). A készítményeinket a vizsgálat során folyamatosan nyomon követtük vizuálisan és elmondhatjuk, hogy a teljes kioldás alatt folyamatosan a kioldóközeg tetején úsztak. A növekvő sztearinsav tartalom csökkentette a kioldódás hatékonyságát (DE), V1 esetén ez 70,03% volt, míg a V3 esetén ez lecsökkent egészen 68,43%-ig.

A görbékre grafikusan illesztettünk nullad, első, Korsmeyer-Peppas, Higuchi és Weibull modelleket, a grafikus illesztések a függelék 1. ábráján láthatóak, a kapott korrelációs értékeket a 6. táblázatban foglaltam össze.

6.táblázat A készítmények hatóanyagleadási kinetikáinak korrelációs együtthatóit összefoglaló táblázat.

Összetétel	Korrelációs együttható (R^2)				
	Nulladrendű	Elsőrendű	Korsmeyer-Peppas	Higuchi	Weibull
V1	0,7467	0,9740	0,9371	0,9850	0,9817
V2	0,7572	0,9646	0,9589	0,9927	0,9966
V3	0,7511	0,9881	0,9619	0,9936	0,9842



22. ábra A verapamil-HCl tartalmú formulációk kioldódási profilja.

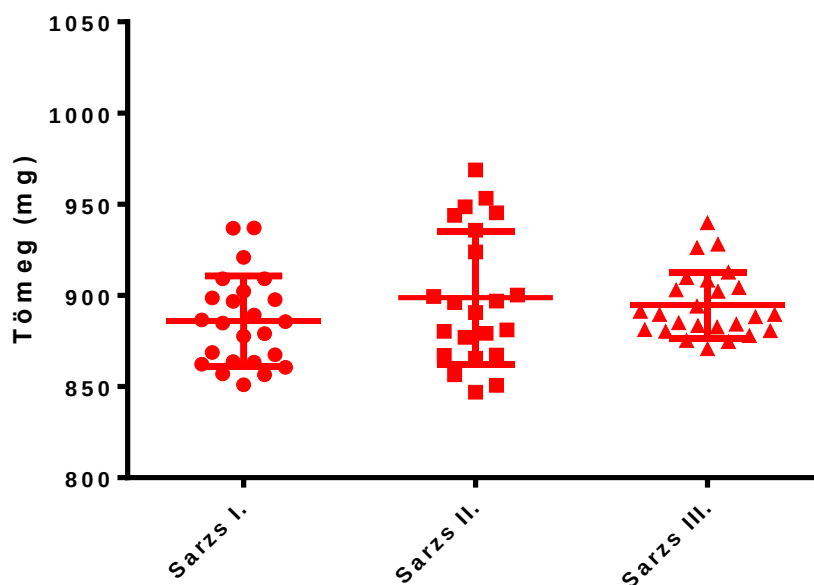
6.3.4. Gyártás validálás

A preformulációs vizsgálataink eredményét figyelembe véve V2-es összetétellel kaptuk a legígéretesebb eredményeket, ezért a további vizsgálatokat és a gyártás validálását ezzel az összetétellel végeztük el. Gyártás validálás során a 3 párhuzamos időben eltérő gyártást hajtottunk végre, melyek összehasonlítását 7. táblázat összegzi.

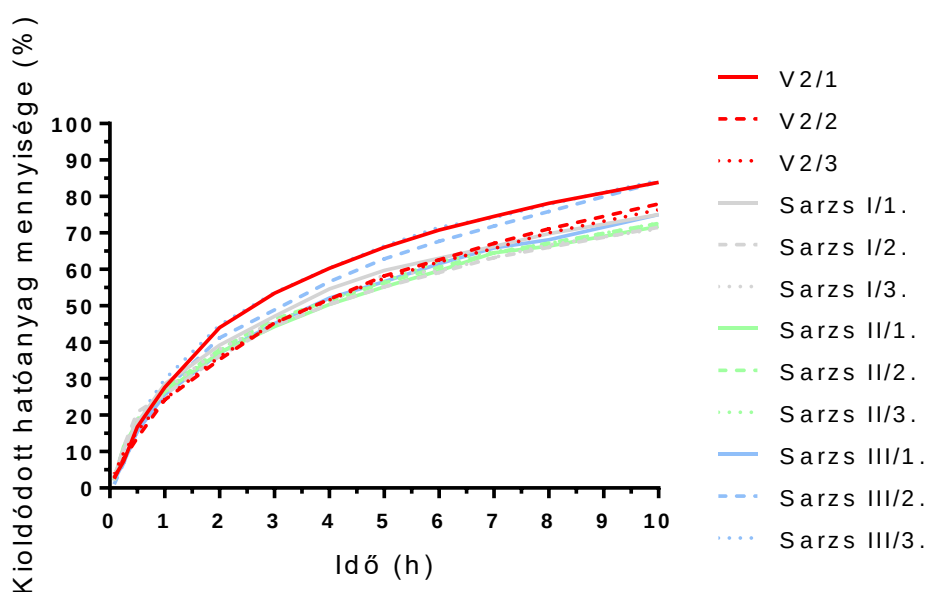
7. táblázat A gyártás validálás eredményeit összegző táblázat.

Validációs értékek	V2 összetétel		
	Sarzs I.	Sarzs II.	Sarzs III.
átlagtömeg $\pm$ SD (mg)	885,9 $\pm$ 24,8	898,8 $\pm$ 36,5	894,5 $\pm$ 18,15
Legnagyobb százalékos eltérés az átlagos tömegtől (%)	5,0	8,8	5,5
Átlagos hatóanyag tartalom $\pm$ SD (mg)	106,9 $\pm$ 4,0	117,2 $\pm$ 8,5	122,1 $\pm$ 5,2
Legnagyobb százalékos eltérés az átlagos hatóanyag tartalomtól (%)	11,9	10,7	11,4
Különbözőségi faktor	4,19	4,95	2,60
Hasonlósági faktor	99,98	99,98	99,99

A 23. ábrán látható a gyártási sarzsok során kapott kapszula tömegek, ezek szignifikánsan nem különböznek egymástól. Egyadagos gyógyszerkészítmények tömegének egységességének (Ph. Hg. VIII. 2.9.5.) vizsgálata alapján egyenként kell lemérni az egyadagos készítmény húsz, véletlenszerűen kiválasztott egységének tömegét és meghatározni az átlagtömeget. Az átlagtömegtől a megadott 7,5 százalékos eltérésnél nagyobb mértékben legfeljebb két egyedi tömeg térhet el, a megadott érték kétszeresét pedig egyetlen egyedi tömeg átlagtól való eltérése sem haladhatja meg. A tömegegységesség vizsgálatát mind a 3 sarzs teljesítette, 7,5%-nál egyedül a sarzs II.-ben találtunk 1 kapszulát, melynek az eltérése 8,8% volt az átlagtól. A hatóanyagtartalom esetén az átlagtól való eltérés 85-115%-os gyógyszerkönyvi határértéken belül maradt. A sarzsok kioldódási profilját összehasonlítva, elmondható, hogy a preformulációs V2-höz hasonlítva mind hasonlósági faktor alapján, mind különbözőségi faktor alapján hasonlóak a kioldódási profilok (24. ábra).



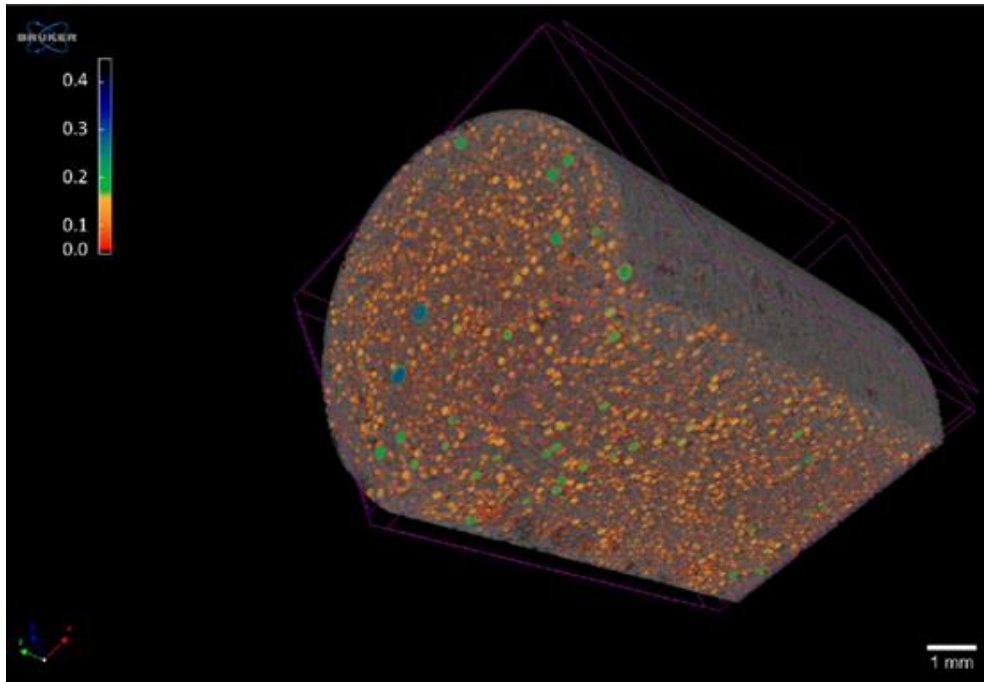
23. ábra Gyártás validálás tömegegységességének vizsgálati eredménye



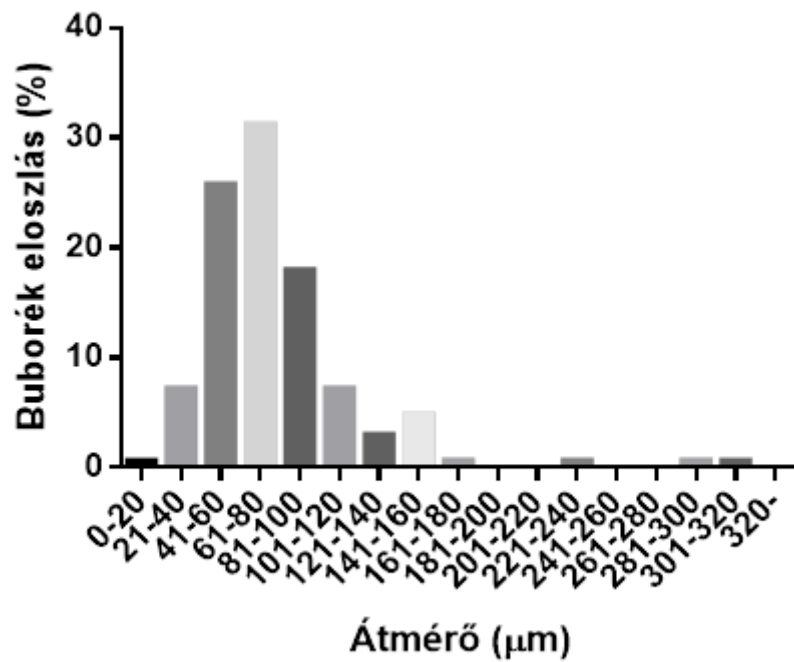
24. ábra Három párhuzamos gyártási sarzs kioldódási profiljának ábrázolása

6.3.5. Cella szerkezetvizsgálat mikro-CT-vel

A cellás szerkezetet mikro-CT segítségével is megerősítettük, melynek porózus szerkezete a 25. ábrán látható. A buborék méreteloszlása és mátrixon belüli eloszlása homogén, a töltet szélén nem látható felhalmozódás vagy buborékok összeolvadása nagyobb, szférikus buborékokká. A buborékok 89,2% a 20-120 μm -eres tartományba esnek, az átlagos buborék méret 78 μm .



(a)

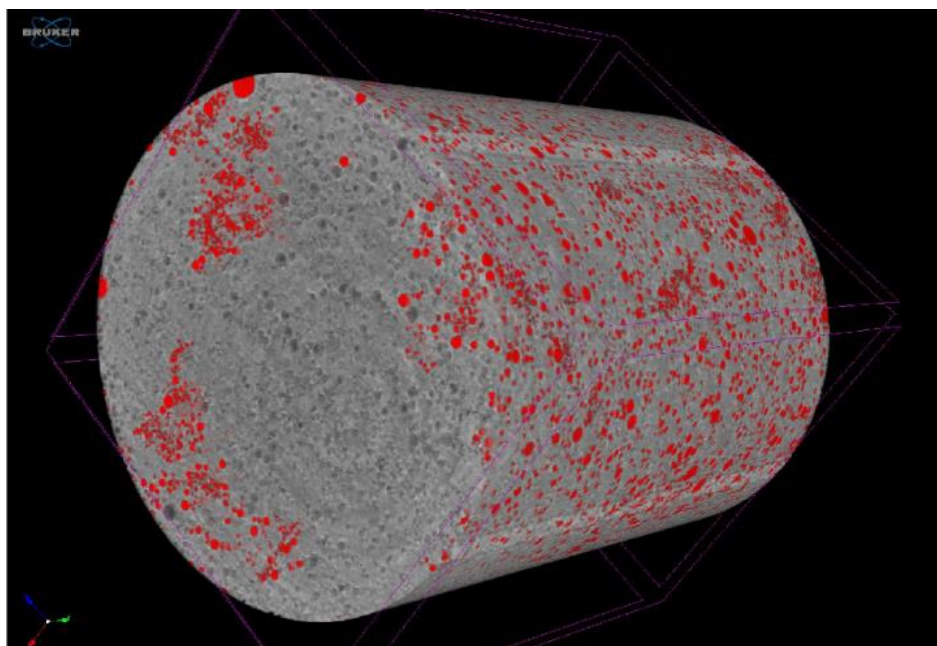


(b)

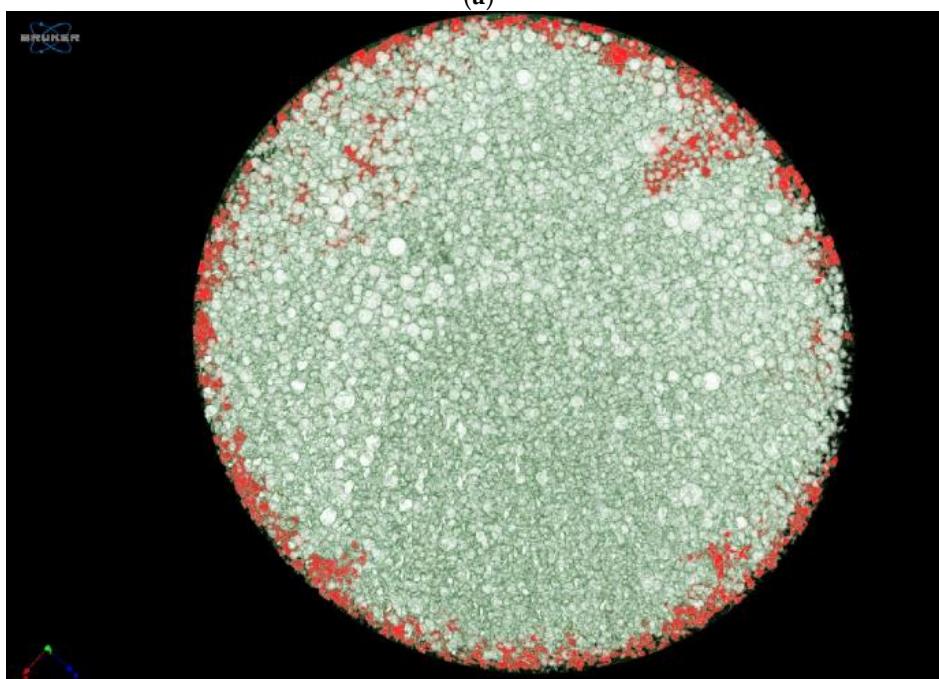
25. ábra A buborék méreteloszlás a készítményen belül, mikro-CT rekonstruált kép buborék átmérővel (a), kiértékel buborék méret eloszlásának hisztogramja (b).

A készítményről készítettünk rekonstruált képeket (26. ábra), ahol a nyílt és zárt pórusokat ábrázoljuk. A képeken piros színnel jelennek meg a nyílt pórusok, melyek a felszínnel egybenyílnak, a kapszula tok leoldódása után. A pórusok csak kis hányada nyitott a

felszín felé, a nyitott üregek nagy része egymásba olvadva a készítmény széleinél üregrendszer alakít ki.



(a)



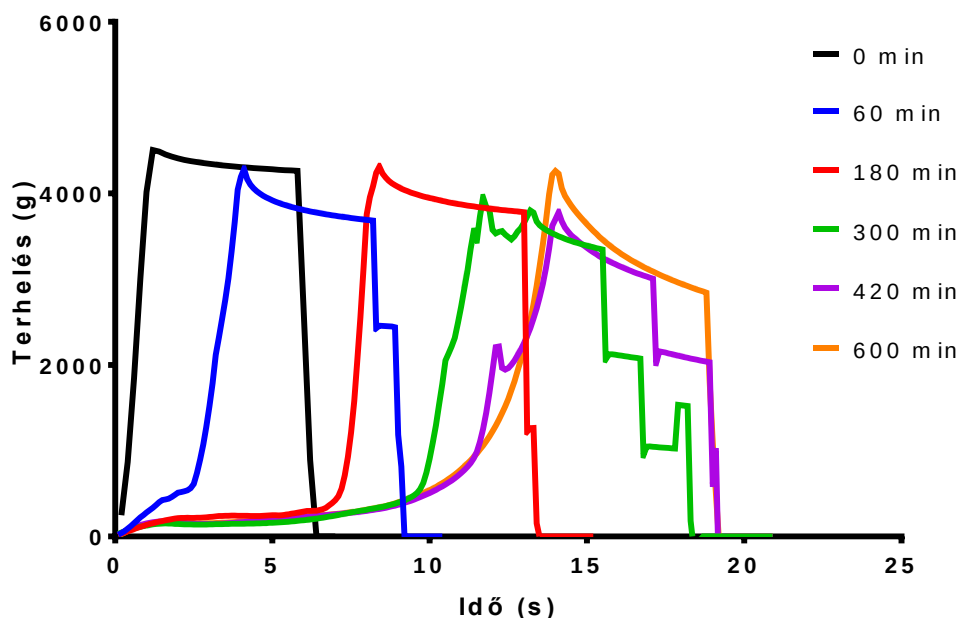
(b)

26. ábra Nyílt pórusok a teljes készítményben **(a)**, keresztmetszeti képen **(b)**.

A mikro-CT felvételek elkészítésében és kiértékelésében Béresova Monika a Debreceni Egyetem, Orvosi Képalkotó Intézet munkatársa segédkezett.

6.3.5. Állományelemzés

Az állományelemzés eredményeit a 27. ábrán szeretném bemutatni. A szobahőmérsékleten tartott száraz mintán (0. perc) a 4500 g terhelés hatására, nem észlelhető törés, roppanás a görbe alapján. A 60. és 180. percben úgyszintén nem figyelhető meg törés, roppanás, viszont, ami egyértelműen látszik a görbék lefutásáról, hogy az origóból való indulás után a terhelés nem lineárisan nő, mindkét esetben egy szigmoid görbe lefutás figyelhető meg a görbe első szakaszán, ami egy ponton, amikor a kemény magot eléri a próba test, lineárisra vált. Az origó és a görbe lefutásának megváltozása közötti időből kiszámítható az átnedvesedett réteg vastagsága, mely a 60. perces minta esetén, 0,62 mm-nek adódik, 180. perces minta esetén ez a réteg már 1,75 mm vastag a szilárd mag körül. Az átnedvesedés tehát lassan megy végbe és 3 óráig 4500 grammos terhelésnek ellenálló mag található a készítményben. A 300., illetve 400. percre a görbék lineáris részét több helyen is törések törik meg. A 600. percnél a törések teljesen eltűnnek a görbéről, teljesen átnedvesedett a készítmény és számítások alapján a készítmény vastagsága 7,00 mm, ami a kiindulási átmérőhöz képest 1,18 mm-rel csökkent az erózió miatt.



27. ábra Verapamil tartalmú minta állományváltozás a kioldódás során.

Az összenyomott mintákról fényképeket is készítettünk (28. ábra), az átnedvesedés jobb láthatósága miatt. A kioldó közegben alkalmazott ételfesték, Sicovit® Tartrazine, láthatóvá tette azokat a részeket, amelyeket már a kioldóközeg meggyengített, azaz átnedvesített. A 28.

ábrán látható, hogy 60., illetve 180. percben egy külső sárga réteg található a kemény el nem tört mag körül. 300. percben egy jól kivehető törhető mag látható a szétnyomott tabletta képén, míg a 420. percre már csak alig található. A 600. percre egy teljesen képlékeny szilárd rész nélküli nyomat látható.

60. perc



180. perc



300. perc



420. perc



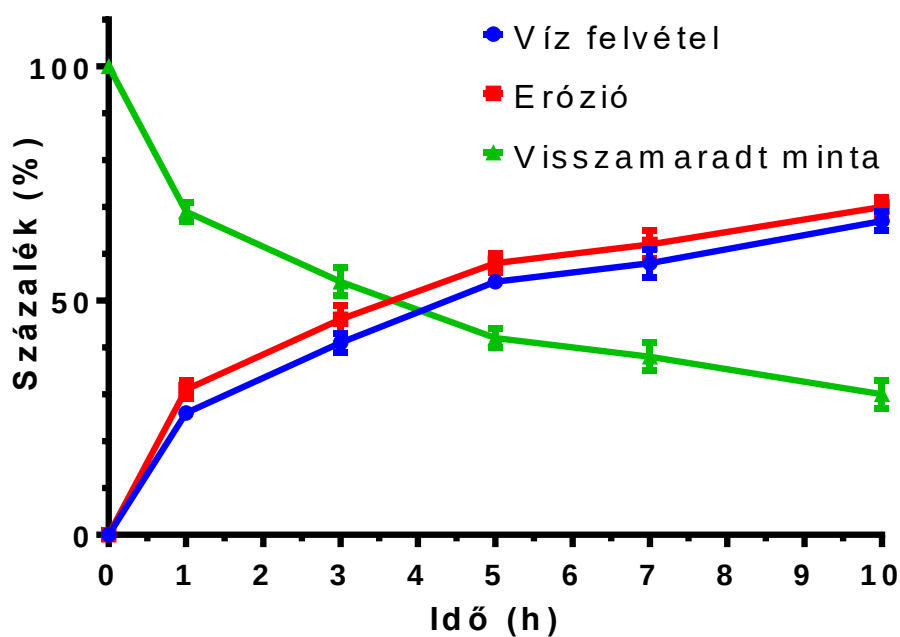
600. perc



28. ábra Összenyomott minták képei az állományelemzés során. Sárgával megfestve az átnedvesedett részek.

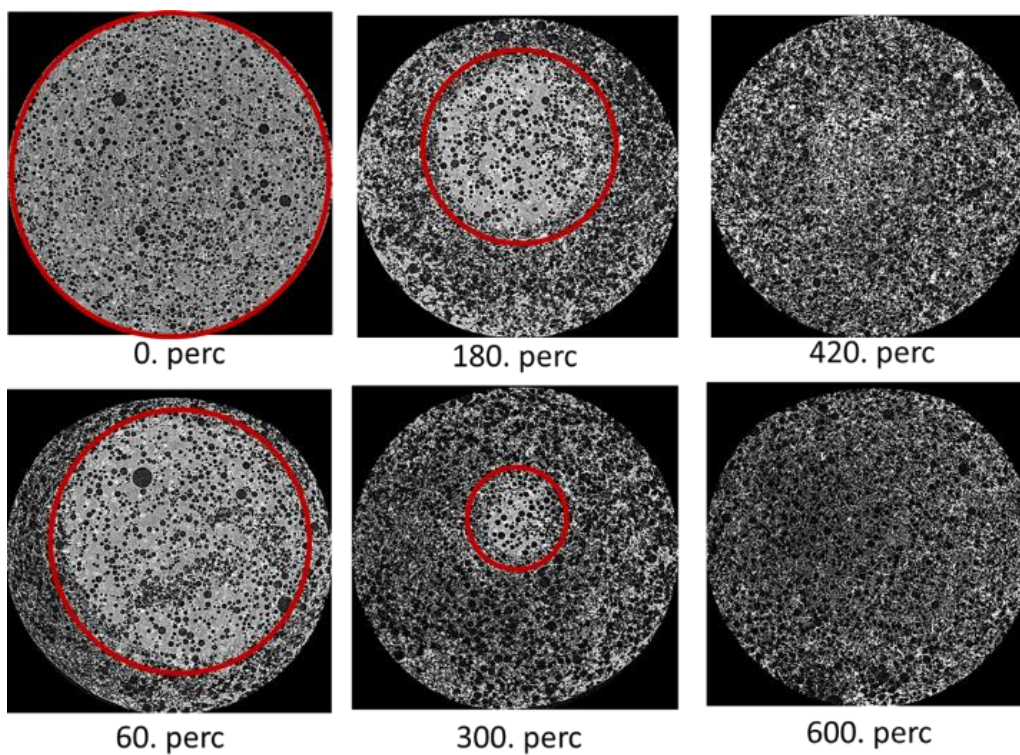
6.3.6. Erózió és vízfelvétel vizsgálat

Az eróziós vizsgálat során a készítmény folyamatosan erodálódott. A 29. ábrán a görbék megnevezve elmondható, hogy a készítmény tömeg a kioldódás során közel állandó maradt, a felvett víz tömege és a visszamaradt minta tömegének összege $90,65 \pm 1,85$ %-a volt a kiindulási tömegnek a vizsgálat teljes ideje alatt.

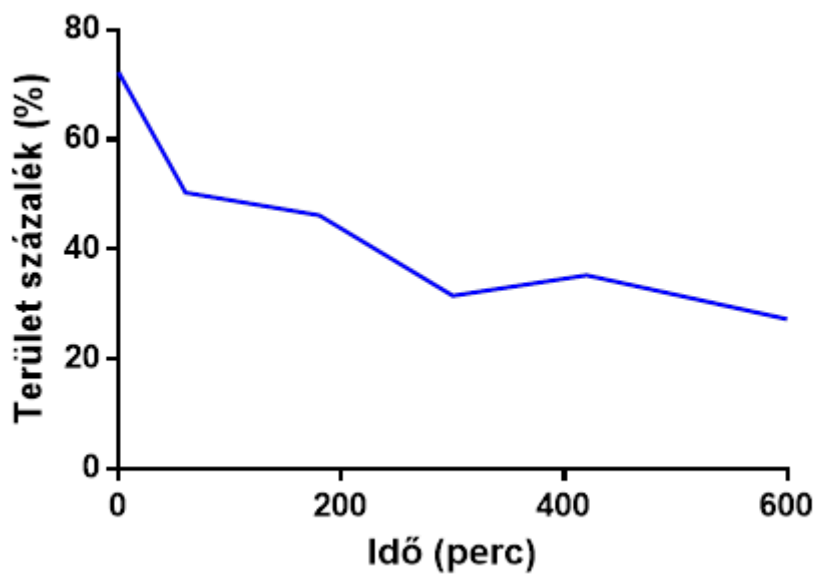


29. ábra Vízfelvétel és eróziós vizsgálat eredményei.

Az állomány változásról mikro-CT felvételeket is készítettünk (30. ábra). A kapszulák mérete alig vagy nem csökken a hatóanyag leadás során, a mátrix tartalom folyamatosan kioldódik és felszabadul a hatóanyag. A mikro-CT felvételek kiértékelés során a kiindulási 75%-ban mátrixot, 25% pórust tartalmazó keresztmetszeti képe a kapszulának az idő előrehaladtával megváltozott. A teljes mátrix a készítmény teljes felületére vetítve lecsökkent 25%-ra és 75%-ban pórusokat tartalmazott. A készítményünkről ezen információk fényébe kijelenthetjük, hogy nem duzzad, viszont a megtartott nagy porozitású szerkezetébe képes vizet adszorbeálni.



(a)



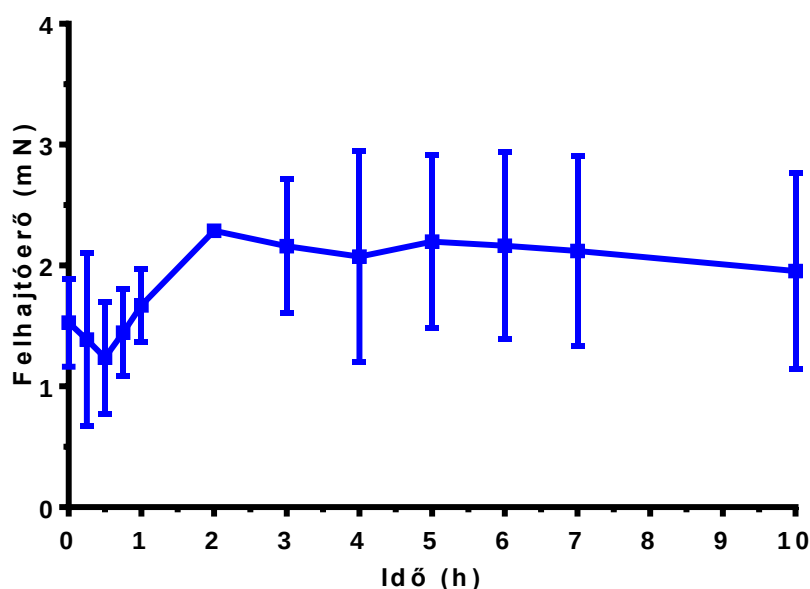
(b)

30. ábra Állományváltozás szemléltetése mikro-CT felvételekkel (a), A készítmények visszamaradt mátrix területszázaléka ImageJ-vel kiértékelve az idő függvényében (b).

6.3.7. Felhajtóerő vizsgálat

A készítményünk az első pillanattól kezdve úszni képes a gyomortartalom felszínén, melyet a kioldódás és állomány elemzés során vizuálisan, fényképekkel bizonyítottunk. A ténye, hogy úszik a kapszula nem kielégítő, a gyomor őrle mozgása miatt fontos, hogy milyen

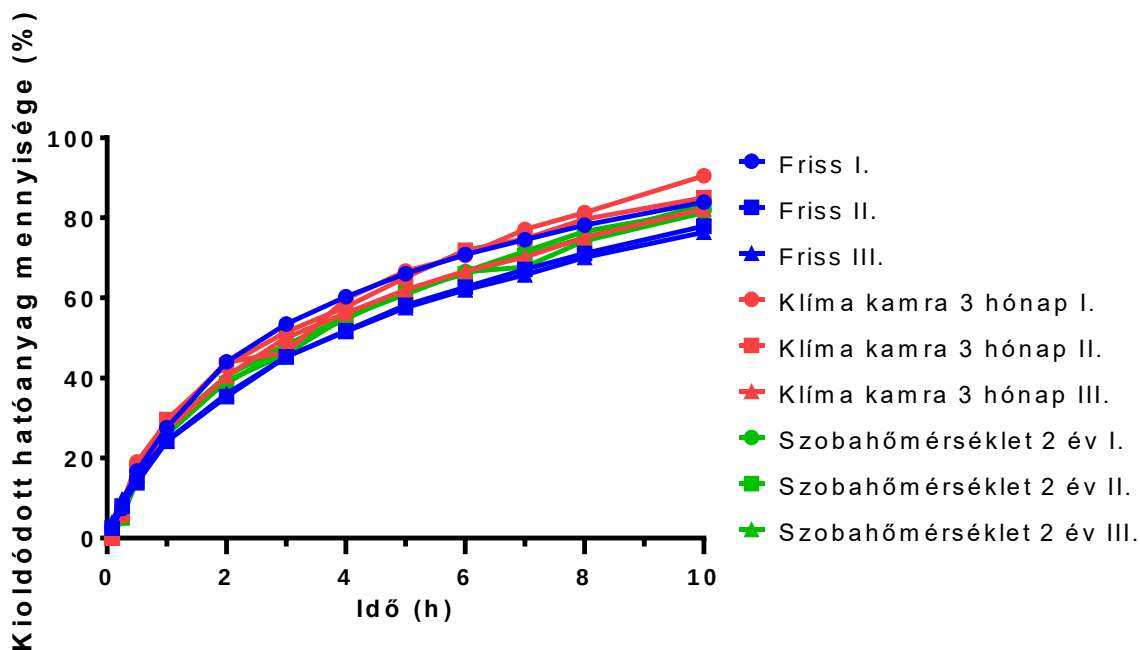
nagy felhajtóerőt generál a kapszula, mellyel késleltetheti a gyomorból való továbbhaladást. A felhajtóerő vizsgálatának görbét az 31. ábrán elemezhetjük. A görbe 3 szakaszra tagolható az első szakasz az első 30. percet foglalja magába, ekkor egy lineáris csökkenés figyelhető meg, ami a kapszulahéj megduzzadása miatt következik be, mely növeli a látszólagos sűrűségét a készítménynek. A következő szakasz egy felszálló ág, mely során a készítményünkről leoldódik a kapszulahéj és ezáltal lassan csökken a látszólagos sűrűség, ezáltal a kapszula felhajtóereje növekszik. Az utolsó szakaszban egy plató szakasz figyelhető meg, a készítmény tömege nem változik és a térfogat változás is minimálisra tehető, így a generált felhajtóerő állandónak tekinthető.



31. ábra Verapamil kapszula által generált felhajtóerő az idő függvényében ábrázolva.

6.3.8. Hosszútávú és gyorsított tárolási körülményeket követő kioldódási teszt

Tárolási körülményeket követő kioldódási vizsgálat során egy rövidebb, forszírozott körülményeken és egy kétéves szobahőmérsékleten tárolt minták kioldódását vizsgáltuk. Eredményeinket a 32. ábra jól mutatja, hogy a kioldódási görbék hasonlóak egymáshoz, ezt hasonlósági és különbség-faktorok számításával is bizonyítottuk, melyet a 8. táblázat foglal össze. Elmondható, hogy a minták 2 évig eltarthatóak szobahőmérsékleten a kioldódási profil változása nélkül.



32. ábra Különböző tárolási körülmények utáni kioldódási vizsgálat eredményei.

8. táblázat A kioldódási profilok összehasonlítási eredménye f1 és f2 faktor alkalmazásával.

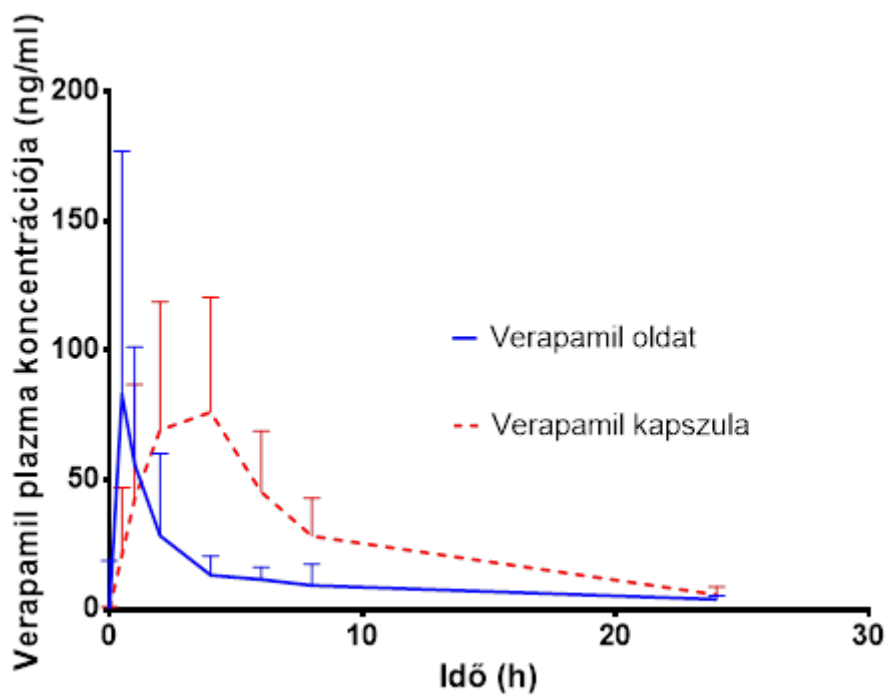
	Klíma kamra	Szobahőmérséklet
	3 hónap	2 év
Különbözőségi faktor ¹	6.27	1.80
Hasonlósági faktor ¹	61.80	71.74

¹ a friss mintával összehasonlítva

6.3.9. Biohasznosulás *in vivo* vizsgálata

A verapamil tartalmú kapszuláinkkal relatív biohasznosulási vizsgálatot végeztünk el, mely során 50 mg verapamil tartalmú oldattal hasonlítottuk össze a hatóanyag plazma koncentrációját (33. (a) ábra). Két órával a kapszula bevétele után egy gyomortükrözést hajtottunk végre az állaton, mely bizonyította, hogy az úszó kapszulánk a gyomorban helyezkedik el (33. (b) ábra). A kapszula esetén a maximum koncentrációt a 4. órában értük el, míg az oldat esetén ez fél óra után volt detektálható. A GR hordozó 5-ször több ideig tudta a terápiás 50 ng/ml plazma szint felett tartani a gyógyszerkoncentrációt. A két gyógyszerformát összehasonlítva elmondható, hogy 99,3%-os biohasznosulást értünk el. Az *in vivo* – *in vitro* korreláció alapján elmondható (34. ábra), hogy egy késleltetett hatás után lineáris összefüggés

áll fenn a hatóanyag leadása és felszívódása között. Az *in vitro* kioldódás vizsgálattal így megjósolható a készítmény *in vivo* mérhető koncentrációja.

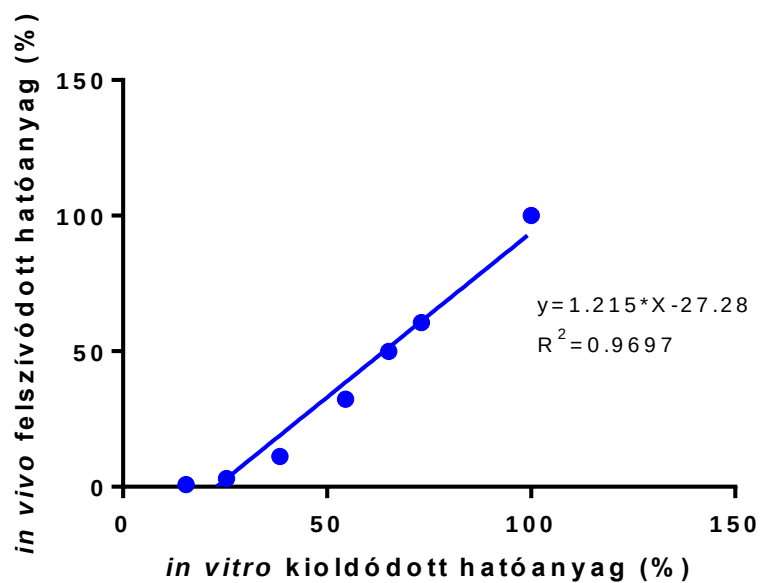


(a)



(b)

33. ábra Verapamil plazma koncentrációja oldat és úszó kapszula adagolása után **(a)**, gasztroszkópiás felvétel a gyomorról az adagolás utáni 2. órában. A kép felső részében látható fehér tárgy a porózus mátrix fel nem oldódott váza **(b)**.



34. ábra *In vitro* kioldódás és *in vivo* biohasznosulás korrelációja.

Az állatkísérletek elvégzésében és az állatok tartásában Dr. Deák Ádám, a Debreceni Egyetem, Műtétani Intézet munkatársa segédkezett.

7. MEGBESZÉLÉS

A PhD munkám célja volt a tanszéken korábban kidolgozott szilárd habok előállítására alkalmas szakaszos gyártási technológia gépesítése, folyamatos gyártásra alkalmassá tétele gyártóberendezés fejlesztésével. A munkánk első fázisában megterveztük és megépítettük a gyártóberendezést. A gyártógép kritikus paramétereit feltártuk és kísérletesen megállapítottuk az ideális gyártási körülményeket. A munkánk során egy kontrasztanyag mini tablettát és egy verapamil tartalmú kapszulát fejlesztettünk, melyeknek *in vitro* és *in vivo* tulajdonságait tanulmányoztuk.

A gyártóberendezésünk kapacitása folyamatos gyártással eléri óránként a 300-500 kapszulát. A habosító berendezés, Quickfoamcell[®], két részre osztható. Az olvasztótégely, melynek kapacitása 600 milliliter, könnyedén növelhető a szükséges térfogatig. A tartály felfűthető 70 °C fölé, mely számos polimer és segédanyag olvadáspontjához elegendő [97]. A berendezés működése egy kezelőpanelen keresztül irányítható, a fűtés és a szelepek nyitása szabályozható. A habosítás fő színtere a habosító cella, ahol az olvadékba gázt diszpergálunk erőteljes keveréssel, a végső gyógyszerforma kialakítására pedig kapszulatokokat alkalmaztunk, melyben az olvadékok lehülve és kapszula sapkával lezárva elnyerték végső formájukat. A 00-ás kapszulák térfogata 0,91 ml [91], mely az elkészült hab sűrűségétől és hatóanyag 10-30 tömegszázalékos tartalmától függően, akár 300 mg farmakont is tartalmazhat kapszulánként. Ez számos, már publikált, gasztroretentív hatóanyag terápiás dózisának tartománya, így széles körben is alkalmazható a hatóanyagleadó rendszerünk [14, 98]. Az ideális gyártás hőmérséklet az általunk használt PEG és sztearinsav keverékű mátrix esetén 54-56 °C közé tehető, ezen a hőmérsékleten a mátrix még képlékeny, nagy viszkozitással rendelkezik a gázok csapdázásához, de még elég meleg, hogy a kapszulákba kiadagolva azokat teljesen, nagyobb buborékok nélkül feltöltse. Ez összetételként változhat, mert a hatóanyagok és további segédanyagok befolyásolják az olvadék viszkozitását és dermedési hőmérsékletét, ezáltal a gyártási hőmérsékletet is nagy mértékben befolyásolják [20]. A gyártás során kritikus paraméternek találtuk a hozzáadott gáz mennyiségét és sebességét, továbbá a diszpergálási fordulatszámot. A keverő fej magasabb fordulatszámon lineárisan csökkentette a hab sűrűségét [20, 99], míg a másik két paraméter esetén egy optimális tartományt tudtunk meghatározni faktoriális kísérlettervezéssel. A magasabb gáz beadagolási sebesség és mennyiség esetén azt feltételeztük, hogy a beinjektált gáz egy nagy buborék “dugót” hoz létre a keverőszár körül. Ji Ma és kollégái leírták, hogy a folyadékba beinjektált gáz esetén a sebesség növelése exponenciálisan növeli a buborék méretét, melyek leválnak az injektor végéről [100]. A

képződött nagyobb buborékok rontják a keverés hatásfokát ezzel a habosodás mértékét, mely jól korreál a kapott faktoriális kísérlettervezés eredményeivel. A hozzáadott gáz mennyisége esetén a kis mennyiség nem eredményezett megfelelő sűrűség csökkenést, míg a több gáz hozzáadása esetén sem figyelhetünk meg javuló eredményt. Ennek hátterében a megnyúlt keverési idő állhat, mely a habos struktúra széttörését eredményezheti [99].

A bárium-szulfát tartalmú minták esetén jobb habosodást értünk el, mint a korábban publikált szakaszos üzemű metronidazolt tartalmazó készítmények gyártása során, a minták sűrűsége 54%-al csökkent, míg a szakaszos üzemű berendezés esetén ez csak 36%-ra tehető [20]. Ennek hátterében a jobb hatásfokkal bíró ultra-turrax-os keverés állhat, mely nagyobb hatásfokkal rendelkezik, mint a korábban használt négyszálú keverőfej. Az 507 mg/cm^3 sűrűség által a mini tabletták a 0. perctől nem gázképződésen alapuló úszási képességgel rendelkeznek [101]. A technológiánkat összehasonlítva más folyamatos gyártásra alkalmas készülékkel, melyekben CO_2 gáz szabadul fel az extrudálás során és így nagy porozitással rendelkező készítményt eredményez, kisebb sűrűség csökkenést értünk el [90]. Ennek ellenére sok hátrányosságot kiküszöböl a technológiánk az extrudálásos technológiához képest, kisebb hőmérséklet is elegendő, nincs visszamaradt gázképző oldószer és egyszerű, könnyen kivitelezhető technológia. A készítmény mikro-CT felvételein jól láthatók a fehér színű, röntgensugarat elnyelő BaSO_4 részecskék [19, 102], és a nagyfokú porozitás a készítményen belül. A porozitás homogénen oszlik meg a készítményben, az átlagos buborék átmérőnk 40 mikrométeresnek adódott, mely esetén már nagy porozitásról beszélhetünk. Az irodalomban nagy porozitásúnak írják le a 200-300 μm nagyságú homogénen elhelyezkedő pórust tartalmazó készítményeket [40, 89]. A teljes térfogat 44%-a levegő, melyeket zárt üregek építenek fel, így a buborék térfogathoz nagy felület társul. A homogén eloszlás, a kis buborék méret és a teljes térfogathoz viszonyított gáztérfogatot és a gáztérfogathoz társuló felület méretét figyelembe véve, a legyártottok BaSO_4 tartalmú kontrasztanyagos mátrix tablettánk nagy porozitásúnak tekinthető. A kialakult szerkezet zárt cellásnak nevezhető mivel a gázbuborékok majdnem teljes hányada zárt, nem nyitottak a külső környezet felé. A készítmény szobahőmérsékleten kemény, de 15 N-os terhelés esetén összetörhető. Ez a törési szilárdság kisebb, mint a hasonló méretű tabletták vagy pelleték átlagos szilárdsága [103], de már elég erős ahhoz, hogy ellenálljon a gyomor őrlőmozgásainak míg teljesen át nem nedvesedik. A textúraelemzés eredményei alapján, a minták teljes nedvesedése 120 perc alatt következett be, de a BaSO_4 minták ez után is egy darabban maradtak a vizsgálat során. A BaSO_4 oldhatatlan vízben, így nem segíti elő a kioldódása a mátrix gyengülését, erózióját, ezáltal hozzájárulhat a mátrix megmaradásához, a

minta keménységének és textúrájának megőrzéséhez. A textúra vizsgálat során a minta összenyomásával kis mennyiségű víz távozott a kis tablettákból, melynek feltételezett oka lehet a BaSO_4 részecskék rossz nedvesedése [104]. A bárium-szulfátot régóta alkalmazzák, mint kontraszt anyagot a diagnosztikák során, hogy információt kapjunk a készítmények testen belüli elhelyezkedéséről [105]. A mintákat könnyen kimutathatjuk CT-vel és *in vivo* vizsgálatban könnyen azonosíthatóak a bélrendszeren belül. A vizsgálat fényében megerősíthető, hogy a BaSO_4 -tartalmú minták legalább két óra hosszáig a gyomorban tartózkodnak és nem ürülnek ki a gyomorból, annak ellenére, hogy a minták mérete lecsökkent. Az alacsony sűrűségű minták a gyártási technológiával alkalmas a gasztroretencióra.

A kutatásunk második felében egy szisztémás hatással bíró, rossz biohasznosulással rendelkező hatóanyag formulálásával foglalkoztunk. Célunk volt a verapamil-HCl biológiai hozzáférhetőségének növelése a kidolgozott technológiával. A forgalomba lévő verapamil tartalmú retard készítményeket gyakori, napi többszöri adagolás jellemzi a megfelelő terápiás hatás elérése érdekében, ezen hiányosság kiküszöbölésére alkalmas a GR rendszerek alkalmazása [79, 106, 107]. A verapamil hőstabilitása is kedvező az általunk kidolgozott technológiához, a verapamil-HCl nem olvad meg, nem figyelhető meg kristályszerkezet változás és rövid ideig történő melegítés során sem bomlik el [108]. A verapamil tartalmú szilárd hab előállítása során az előállított olvadékok magasabb olvadáspontja miatt, a habosító cella hőmérsékletét 2 °C-kal magasabbra kellett emelni, mint a korábban alkalmazott BaSO_4 összetételnél. Három különböző sztearinsav tartalmú kompozíciót gyártottunk le 15%-os verapamil-HCl-tartalommal, mely kapszulánként 80-120 mg verapamilt tartalmaztak, ami megfelel az irodalomban és a forgalomban lévő készítmények esetén elérhető hatóanyagtartalomnak [50, 51, 109]. A sztearinsavtartalom 10%-ról (V1) 12,5%-ra (V2) történő növelése segítette a habszerkezet kialakulását, ahogyan azt Vasvári és munkatársai korábban leírták [20], de fontos megemlíteni, hogy a túl magas sztearinsav tartalom csökkentette a habzást. A V3 esetben tapasztalt sűrűség növekedés oka lehet a hatóanyagrészecskék nedvesedésének megváltozása a mátrix összetétele miatt [110–112]. A SEM-felvételekkel alátámasztottuk a szilárd részecskék megváltozott elhelyezkedését. A V3 összetétel esetén a verapamil kristályok az üreg belső felületén találhatók, míg a V1 és V2 esetében a mátrixban oszlanak el, így mátrix fedi őket. A habosítás során fény derült arra is, hogy a hatékonyságot nem csak a mátrix hidrofilitásától függ, tapasztalataink szerint a szilárd fázis részecskemérete is jelentősen befolyásolja a habosítás mértékét. A korábban leggyártott kontrasztanyag minták esetén, a kisebb BaSO_4 hatóanyagrészecskék (314 ± 115 nm), felhasználásával, kisebb sűrűségű terméket állítottunk

elő, míg a nagyobb átlagos részecskeméretű ($13,4 \pm 11,2 \mu\text{m}$) verapamil esetén nagyobb sűrűséget tapasztaltunk. A hatóanyag kioldódási vizsgálata során mind a három összetétel elnyújtott hatóanyagleadást mutatott. A forgalomban lévő készítményekkel összehasonlítva a hatóanyag-felszabadulás lassabb, elnyújtottabb, mint a Magyarországon is forgalomba lévő Isoptin SR esetén tapasztalható, de hasonló kinetikát mutat a Calaptin SR-rel összehasonlítva, habár ez a készítmény jelenleg országunkban nem elérhető [68, 79]. A formulációs vizsgálatokat figyelembe véve a V2-es minta a legideálisabb a további vizsgálatainkhoz és *in vivo* biohasznosulás elvégzésére. A validálás során három párhuzamos gyártást végeztünk el és hasonlítottunk össze, a validálási eredmények megfelelnek az FDA ajánlásának és a GMP előírásainak [113]. A mikro-CT felvételeken a készítmény nagy porozitást mutat, a buborékok eloszlása a mátrixban homogén, és az üregek méreteloszlása is monodiszperz. Általánosan elmondható, hogy a felszínre nyitott pórusok gyorsíthatják a kioldó közeg bejutását a készítmény belsejébe, így előidézve a gyorsabb dezintegrációt, amivel a kioldódás sebessége nő, azonban a kapszulánk esetén kevés nyitott pórusról beszélhetünk, így jelenlétük nem járul hozzá jelentősen a készítmény eróziójához [114]. Az oldódás során végzett textúraelemzés alapján, a minták 300. percig kemény maggal rendelkeznek és csak a külső felszínük nedvesedik át, mely az idő haladtával egyre nő. A kemény mag ellenáll a 45 N erőhatásnak, így várhatóan a gyomor által kifejtett 1,5-2 N erőnek ellenállhat hosszú ideig [115]. A kioldódás végén a kiindulási tömeg 30 %-a visszamarad, a visszamaradt mátrix képlékennyé vált, amely így már a gyomor őrle és kavará mozgásának köszönhetően könnyen szétmállik, törik és eltávolítható a gyomorból [12, 14]. A PEG 4000 és a verapamil kioldódik a mátrixból jó vízoldhatóságuk okán, míg az SA lipofil tulajdonsága miatt vízben nem oldódik, így visszamarad a készítményből [116]. A készítmény nem mutatott duzzadási képességet a kioldó közegben, PEG 4000-re nem jellemző a duzzadás. A klímakamrában, emelt hőmérséklet és páratartalomban történő tárolás után végzett kioldódási vizsgálat során a készítményt az eredeti friss készítménnyel összehasonlítva megfelelt a támasztott elvárásoknak mind a hasonlósági, és különbözőségi faktorok esetén. Hasonló eredményt kaptunk a kiterjesztett, 2 éves standard körülmények között tárolt kapszulák esetén is. A kioldódási vizsgálatok eredményei bizonyították, hogy a verapamil tartalmú szilárd habmátrixban nem következik be olyan jelentős változás, amely befolyásolná a hatóanyagkioldódását. Az *in vivo* farmakokinetikai vizsgálat során bizonyítottuk, hogy az általunk gyártott VER tartalmú GR rendszer képes jelentősen megváltoztatni a verapamil farmakokinetikai paramétereit. A vizsgálat során állatmodellnek kutyákat alkalmaztunk, mert a humán és a kutya emésztőrendszeri tulajdonságai nagyban hasonlítanak. A gyomor mérete arányaiban megfelel az emberének, a gyomornedv

pH-ja, gyomor motilitása megfelelő és közel hasonló pylorus nyílással rendelkeznek [70]. A verapamil oldat esetében a verapamil *in vivo* plazmakoncentrációja korrelál a publikált hagyományos verapamil-HCl tablettákéval, mint például a Staveran-nal [107]. A kísérleteink során, azért használtunk tiszta verapamil oldatot, hogy a verapamil segédanyagok nélküli felszívódását is tanulmányozzuk a GI-traktusból és pontosabb képet kapjunk a farmakokinetikai tulajdonságáról. A habosított formulációkat összehasonlítva, a forgalomba lévő retard tablettával, az Isoptin SR-el, megfigyelhető, hogy a t_{max} eltolódik. Az éles csúcs helyett egy plató szakasz figyelhető meg, melynek csúcspontja 4. óránál található, miközben már az első órától kezdve a plazmaszint a terápiás tartományban található [79]. 99,3 %-os relatív biológiai hasznosulást értünk el a készítményünkkel, ami jó eredménynek számít a forgalomba lévő más GR készítményeket figyelembe véve. A 2 órás gasztroszkópián bizonyítottan megtalálható a gyomorban a készítményünk, mely a 4. órára már kiürült. Az összehasonlításnál figyelembe kell venni, hogy a kutyák gyomor mozgása közel kétszerese is lehet a humánénak, ami eredményezhette a vártnál gyorsabb erodációt [111, 113], illetve a vizsgálat üres gyomorban történt. Az *in vivo* eredmények korrelációját vizsgáltuk a kioldódási eredmények függvényében. Az *in vitro* - *in vivo* korreláció alapján, jól előre jelezhető az *in vivo* felszívódás az *in vitro* kioldódási vizsgálatokkal [96]. A nagy porozitású verapamil hab alkalmazásával a gasztroretentív alkalmazás megvalósítható, ahol elnyújtott hatóanyagleadás és a gyomorban való visszatartás egyszerre érvényesül. Eredményeinket tekintve elmondható, hogy sikeresen létrehoztunk egy folyamatos gyártásra alkalmas eszközt, melynek a kritikus paramétereit optimalizáltuk. Sikeres formulációt hajtottunk végre kontrasztanyaggal és szisztémás hatással rendelkező hatóanyaggal. A készítményünk alkalmasságát gasztroretencióra mind *in vitro* és *in vivo* bizonyítottuk. Kutatásunk alapjait képezhetik a szilárd gyógyszerformulák előállításának, melyeket a gasztroretención kívüli terápiás területeken is alkalmazhatók.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

A doktori munkám során egy új berendezést terveztünk és építettünk meg, mely alkalmas alacsony sűrűségű GR hordozó előállítására olvadt diszperziók habosításával. A habosítási folyamatot Box–Behnken faktoriális kísérletitervezéssel optimalizáltuk, hogy meghatározzák az ideális, leghatékonyabb beállítást, és a lehető legnagyobb porozitással rendelkező szilárd habot hozzuk létre. BaSO₄ tartalmú mintákat gyártottunk, melyek alacsony sűrűséggel rendelkeznek. A nagy porozitást mikro-CT-vizsgálattal bizonyítottuk. Savas kioldóközegben textúra analízist végeztünk a minták *in vitro* nedvesedésének jellemzésére. A kontrasztanyagot és a PET/CT-t használtuk a habosított készítmény *in vivo* gasztroretenciójának bizonyítására patkánymodellben. Verapamil tartalmú gasztroretentív kapszulákat állítottunk elő a berendezéssel, majd az *in vitro* és *in vivo* viselkedést vizsgáltuk. A termék látszólagos sűrűségét optimalizáltuk a sztearinsav figyelembevételével, mely után a gyártást is validáltuk a megfelelő összetételre. A mikro-CT-vizsgálatok eredményei zárt cellás szerkezetet mutattak, ahol az üregek nagyobb része kisebb átmérővel rendelkezik, mint 120 mikrométer. A textúra elemzés eredményei megerősítették a kemény belső mag szerkezetet, még 5 órás kioldódás után is. A PEG tartalmú mátrix folyamatos eróziója ellenére, a minták folyamatos úszási tulajdonságot mutattak a kioldódás során. Vizsgálataink igazolták, hogy az elsőrendű hatóanyag leadás 2 éves tárolás után is megmaradt. Az *in vivo* farmakokinetikai vizsgálat igazolta a hatóanyag elnyújtott felszabadulását a mátrixból, a maximális gyógyszer plazmakoncentrációt 4 órával a beadás után érte el. Verapamil oldathoz képest 99,3%-os relatív biohasznosulást értünk el. Eredményeinket összegezve megállapíthatjuk, hogy a habosító berendezésünkkel sikeresen fejlesztettünk alacsony sűrűségű, nagy porozitású szilárd olvadék alapú kapszulát folyamatos gyártással, mely gasztroretentív tulajdonságait *in vivo* vizsgálatokkal is alátámasztottuk.

9. CONCLUSION

During my PhD work, a novel apparatus was designed and built to produce low density GR carrier that based on continuous foaming of molten dispersions. The foaming process was optimized by a Box–Behnken experimental design to determine the most effective setup to create solid foams with high porosity. We developed BaSO₄ containing samples with low density. The high porosity was showed in mikro-CT scan. In acidic media, texture analysis was performed to characterize the *in vitro* wetting of the samples. The contrast agent and PET/CT were used to prove the *in vivo* gastroretention of the foam formulation in a rat model. We have produced verapamil-loaded gastroretentive capsules and investegated the *in vitro* and *in vivo* behavior. After optimizing the apparent density of the product by considering the SA contents, production runs were validated, as well. Micro-CT scans revealed a closed cell structure where the main fraction of the voids is smaller than 120 mikrons. Texture analysis results confirmed hard structure, even after 5 hours of dissolution. Despite continuous erosion of the PEG matrix, floating strengths of the samples remained stable during dissolution. Our studies confirmed that the first order drug release was preserved, even after 2 years of storage. *In vivo* pharmacokinetic study verified the prolonged release of the API from the matrix, maximum drug plasma concentration was reached after 4 hours of administration. Compared to the verapamil oral solution, a relative bioavailability of 99,3 % was reached. Summarizing our results, we state that our foaming device can be successfully used to produce low density molded capsule by continuous operation with *in vivo* gastroretentive properties.

10. IRODALMIJEGYZÉK

1. González Peña, O.I.; López Zavala, M.Á.; Cabral Ruelas, H. Pharmaceuticals market, consumption trends and disease incidence are not driving the pharmaceutical research on water and wastewater. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2021**, *18*, 1–37, doi:10.3390/ijerph18052532.
2. Janet Woodcock Advancing Health Through Innovation New Drug Therapy Approvals 2019. *U.S. Food Drug Adm.* **2020**, 1–44.
3. Tewabe, A.; Abate, A.; Tamrie, M.; Seyfu, A.; Abdela, S.E. Targeted Drug Delivery — From Magic Bullet to Nanomedicine: Principles, Challenges, and Future Perspectives. *J. Multidiscip. Healthc.* **2021**, *14*, 1711–1724, doi:10.2147/JMDH.S313968.
4. Gastroretentive Drug Delivery Systems Market Size, Share & Trends Analysis Report By Type (Tablets, Liquid, Capsule), By Dosage Form, By Distribution Channel, By Region, And Segment Forecasts, 2021 - 2028 elérhető online: https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/gastroretentive-drug-delivery-systems-market?fbclid=IwAR38WPqKAT18psoxQ5_zENkUIBFpbomyPwkw3gkYZ42gHB5qA52SfEQuBA, 2022.02.25.
5. Centro-Medical Egészségügyi Központ Anatómiai alapismeretek 5. -emésztőrendszer elérhető online: <https://centro-medical.hu/tajekoztatok/egy-kis-anatomia-emesztorendszer/>, 2022.02.25.
6. Mahadevan, V. Anatomy of the stomach. *Surg.* **2014**, *32*, 571–574, doi:10.1016/j.mpsur.2014.09.009.
7. Austin Community College District, Digestive System, elérhető online: <https://www.austincc.edu/apreview/PhysText/Digestive.html>. 2022.02.25.
8. Schneider; Koziolk; Weitschies In Vitro and In Vivo Test Methods for the Evaluation of Gastroretentive Dosage Forms. *Pharmaceutics* **2019**, *11*, 416, doi:10.3390/pharmaceutics11080416.
9. Fonyó, A. *Élettan gyógyszerészhallgatók részére*; V.; Medicina Könyvkiadó Zrt.:

Budapest, 2015; ISBN 978-963-226-543-8.

10. Streubel, A.; Siepmann, J.; Bodmeier, R. Gastroretentive drug delivery systems. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2006**, 3, 217–233, doi:10.1517/17425247.3.2.217.
11. Van Den Abeele, J.; Rubbens, J.; Brouwers, J.; Augustijns, P. The dynamic gastric environment and its impact on drug and formulation behaviour. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2017**, 96, 207–231, doi:10.1016/j.ejps.2016.08.060.
12. Tripathi, J.; Thapa, P.; Maharjan, R.; Jeong, S.H. Current state and future perspectives on gastroretentive drug delivery systems. *Pharmaceutics* **2019**, 11, doi:10.3390/pharmaceutics11040193.
13. Vogelpoel, H.; Welink, J.; Amidon, G.L.; Junginger, H.E.; Midha, K.K.; Möller, H.; Olling, M.; Shah, V.P.; Barends, D.M. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms based on biopharmaceutics classification system (BCS) literature data: Verapamil hydrochloride, propranolol hydrochloride, and atenolol. *J. Pharm. Sci.* **2004**, 93, 1945–1956, doi:10.1002/jps.20131.
14. Lopes, C.M.; Bettencourt, C.; Rossi, A.; Buttini, F.; Barata, P. Overview on gastroretentive drug delivery systems for improving drug bioavailability. *Int. J. Pharm.* **2016**, 510, 144–158, doi:10.1016/j.ijpharm.2016.05.016.
15. El-Zahaby, S.A.; Kassem, A.A.; El-Kamel, A.H. Design and evaluation of gastroretentive levofloxacin floating mini-tablets-in-capsule system for eradication of *Helicobacter pylori*. *Saudi Pharm. J.* **2014**, 22, 570–579, doi:10.1016/j.jsps.2014.02.009.
16. Cvijic, S.; Ibric, S.; Parojcic, J.; Djuris, J. An in vitro - in silico approach for the formulation and characterization of ranitidine gastroretentive delivery systems. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2018**, 45, 1–10, doi:10.1016/j.jddst.2018.02.013.
17. Hooda, A.; Nanda, A.; Jain, M.; Kumar, V.; Rathee, P. Optimization and evaluation of gastroretentive ranitidine HCl microspheres by using design expert software. *Int. J. Biol. Macromol.* **2012**, 51, 691–700, doi:10.1016/j.ijbiomac.2012.07.030.
18. Odeku, O.A.; Aderogba, A.A.; Ajala, T.O.; Akin-Ajani, O.D.; Okunlola, A. Formulation of floating metronidazole microspheres using cassava starch (*Manihot esculenta*) as

- polymer. *J. Pharm. Investig.* **2017**, *47*, 445–451, doi:10.1007/s40005-017-0319-7.
19. Diós, P.; Nagy, S.; Pál, S.; Pernecker, T.; Kocsis, B.; Budán, F.; Horváth, I.; Szigeti, K.; Bölskei, K.; Máthé, D.; et al. Preformulation studies and optimization of sodium alginate based floating drug delivery system for eradication of *Helicobacter pylori*. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2015**, *96*, 196–206, doi:10.1016/j.ejpb.2015.07.020.
 20. Vasvári, G.; Haimhoffer, Á.; Horváth, L.; Budai, I.; Trencsényi, G.; Béresová, M.; Dobó-Nagy, C.; Váradi, J.; Bácskay, I.; Ujhelyi, Z.; et al. Development and Characterisation of Gastroretentive Solid Dosage Form Based on Melt Foaming. *AAPS PharmSciTech* **2019**, *20*, 290, doi:10.1208/s12249-019-1500-2.
 21. Raval, J.A.; Patel, M.M. Formulation and characterization of gastroretentive discs containing famotidine. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* **2011**, *54*, 293–300, doi:10.1590/S1516-89132011000200010.
 22. Jain, S.K.; Jangdey, M.S. Lectin Conjugated Gastroretentive Multiparticulate Delivery System of Clarithromycin for the Effective Treatment of *Helicobacter pylori*. *Mol. Pharm.* **2009**, *6*, 295–304, doi:10.1021/mp800193n.
 23. Hardikar, S.; Bhosale, A. Formulation and evaluation of gastro retentive tablets of clarithromycin prepared by using novel polymer blend. *Bull. Fac. Pharmacy, Cairo Univ.* **2018**, *56*, 147–157, doi:10.1016/j.bfopcu.2018.07.001.
 24. Inukai, K.; Takiyama, K.; Noguchi, S.; Iwao, Y.; Itai, S. Effect of gel formation on the dissolution behavior of clarithromycin tablets. *Int. J. Pharm.* **2017**, *521*, 33–39, doi:10.1016/j.ijpharm.2017.01.065.
 25. Mostafavi, A.; Emami, J.; Varshosaz, J.; Davies, N.M.; Rezazadeh, M. Development of a prolonged-release gastroretentive tablet formulation of ciprofloxacin hydrochloride: Pharmacokinetic characterization in healthy human volunteers. *Int. J. Pharm.* **2011**, *409*, 128–136, doi:10.1016/j.ijpharm.2011.02.035.
 26. Chavanpatil, M.D.; Jain, P.; Chaudhari, S.; Shear, R.; Vavia, P.R. Novel sustained release, swellable and bioadhesive gastroretentive drug delivery system for ofloxacin. *Int. J. Pharm.* **2006**, *316*, 86–92, doi:10.1016/j.ijpharm.2006.02.038.

27. Ali, J.; Hasan, S.; Ali, M. Formulation and development of Gastroretentive drug delivery system for ofloxacin. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* **2006**, *28*, 433, doi:10.1358/mf.2006.28.7.1003574.
28. Ammar, H.O.; Ghorab, M.; Kamel, R.; Salama, A.H. Design and optimization of gastro-retentive microballoons for enhanced bioavailability of cinnarizine. *Drug Deliv. Transl. Res.* **2016**, *6*, 210–224, doi:10.1007/s13346-016-0280-4.
29. Sethi, S.; Mangla, B.; Kamboj, S.; Rana, V. A QbD approach for the fabrication of immediate and prolong buoyant cinnarizine tablet using polyacrylamide-g-corn fibre gum. *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, *117*, 350–361, doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.05.178.
30. Sharma, D.; Sharma, A. Gastroretentive drug delivery system - a mini review. *Asian Pacific J. Heal. Sci.* **2014**, *1*, 80–89, doi:10.21276/apjhs.2014.1.2.9.
31. Fu, J.; Yin, H.; Yu, X.; Xie, C.; Jiang, H.; Jin, Y.; Sheng, F. Combination of 3D printing technologies and compressed tablets for preparation of riboflavin floating tablet-in-device (TiD) systems. *Int. J. Pharm.* **2018**, *549*, 370–379, doi:10.1016/j.ijpharm.2018.08.011.
32. Kagan, L.; Lapidot, N.; Afargan, M.; Kirmayer, D.; Moor, E.; Mardor, Y.; Friedman, M.; Hoffman, A. Gastroretentive Accordion Pill: Enhancement of riboflavin bioavailability in humans. *J. Control. Release* **2006**, *113*, 208–215, doi:10.1016/j.jconrel.2006.03.022.
33. Hwang, K.-M.; Cho, C.-H.; Tung, N.-T.; Kim, J.-Y.; Rhee, Y.-S.; Park, E.-S. Release kinetics of highly porous floating tablets containing cilostazol. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2017**, *115*, 39–51, doi:10.1016/j.ejpb.2017.01.027.
34. Kim, S.; Hwang, K.-M.; Park, Y.S.; Nguyen, T.-T.; Park, E.-S. Preparation and evaluation of non-effervescent gastroretentive tablets containing pregabalin for once-daily administration and dose proportional pharmacokinetics. *Int. J. Pharm.* **2018**, *550*, 160–169, doi:10.1016/j.ijpharm.2018.08.038.
35. Qin, C.; Wu, M.; Xu, S.; Wang, X.; Shi, W.; Dong, Y.; Yang, L.; He, W.; Han, X.; Yin, L. Design and optimization of gastro-floating sustained-release tablet of pregabalin: In vitro and in vivo evaluation. *Int. J. Pharm.* **2018**, *545*, 37–44,

doi:10.1016/j.ijpharm.2018.04.011.

36. Ngwuluka, N.C.; Choonara, Y.E.; Kumar, P.; du Toit, L.C.; Modi, G.; Pillay, V. An optimized gastroretentive nanosystem for the delivery of levodopa. *Int. J. Pharm.* **2015**, *494*, 49–65, doi:10.1016/j.ijpharm.2015.08.014.
37. Klausner, E.A.; Eyal, S.; Lavy, E.; Friedman, M.; Hoffman, A. Novel levodopa gastroretentive dosage form: in-vivo evaluation in dogs. *J. Control. Release* **2003**, *88*, 117–126, doi:10.1016/S0168-3659(02)00487-X.
38. Chen, C.; Cowles, V.E.; Sweeney, M.; Stolyarov, I.D.; Illarioshkin, S.N. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Gastroretentive Delivery of Levodopa/Carbidopa in Patients With Parkinson Disease. *Clin. Neuropharmacol.* **2012**, *35*, 67–72, doi:10.1097/WNF.0b013e31824523de.
39. Simons, F.J.; Wagner, K.G. Modeling, design and manufacture of innovative floating gastroretentive drug delivery systems based on hot-melt extruded tubes. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2019**, *137*, 196–208, doi:10.1016/j.ejpb.2019.02.022.
40. Oh, T.O.; Kim, J.Y.; Ha, J.M.; Chi, S.C.; Rhee, Y.S.; Park, C.W.; Park, E.S. Preparation of highly porous gastroretentive metformin tablets using a sublimation method. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2013**, *83*, 460–467, doi:10.1016/j.ejpb.2012.11.009.
41. Sarkar, D.; Nandi, G.; Changder, A.; Hudati, P.; Sarkar, S.; Ghosh, L.K. Sustained release gastroretentive tablet of metformin hydrochloride based on poly (acrylic acid)-grafted-gellan. *Int. J. Biol. Macromol.* **2017**, *96*, 137–148, doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.12.022.
42. He, W.; Li, Y.; Zhang, R.; Wu, Z.; Yin, L. Gastro-floating bilayer tablets for the sustained release of metformin and immediate release of pioglitazone: Preparation and in vitro/in vivo evaluation. *Int. J. Pharm.* **2014**, *476*, 223–231, doi:10.1016/j.ijpharm.2014.09.056.
43. Haimhoffer, Á.; Fenyvesi, F.; Lekli, I.; Béresová, M.; Bak, I.; Czagány, M.; Vasvári, G.; Bácskay, I.; Tóth, J.; Budai, I. Preparation of Acyclovir-Containing Solid Foam by Ultrasonic Batch Technology. *Pharmaceutics* **2021**, *13*, 1571–1586, doi:10.3390/pharmaceutics13101571.

44. Bahri-Najafi, R.; Mostafavi, A.; Tavakoli, N.; Taymouri, S.; Shahraki, M.-M. Preparation and in vitro-in vivo evaluation of acyclovir floating tablets. *Res. Pharm. Sci.* **2017**, *12*, 128, doi:10.4103/1735-5362.202451.
45. Patil, S.; Talele, G.S. Gastroretentive mucoadhesive tablet of lafutidine for controlled release and enhanced bioavailability. *Drug Deliv.* **2015**, *22*, 312–319, doi:10.3109/10717544.2013.877099.
46. Siddam, H.; Kotla, N.; Maddiboyina, B.; Singh, S.; Sunnapu, O.; Kumar, A.; Sharma, D. Formulation and evaluation of atenolol floating bioadhesive system using optimized polymer blends. *Int. J. Pharm. Investig.* **2016**, *6*, 116, doi:10.4103/2230-973X.177832.
47. kumria, R.; Kumar Reddy, G.D.; Bansal, V.; B. Nair, A.; Hasan, A.A. Development and Evaluation of Gastroretentive Atenolol Tablets. *Zagazig J. Pharm. Sci.* **2014**, *23*, 49–58, doi:10.21608/zjps.2014.38181.
48. Jiménez-Martínez, I.; Quirino-Barreda, T.; Villafuerte-Robles, L. Sustained delivery of captopril from floating matrix tablets. *Int. J. Pharm.* **2008**, *362*, 37–43, doi:10.1016/j.ijpharm.2008.05.040.
49. Streubel, A.; Siepmann, J.; Bodmeier, R. Floating microparticles based on low density foam powder. *Int. J. Pharm.* **2002**, *241*, 279–292, doi:10.1016/S0378-5173(02)00241-7.
50. Lunio, R.; Sawicki, W.; Skoczen, P.; Walentynowicz, O.; Kubasik-Juraniec, J. Compressibility of Gastroretentive Pellets Coated with Eudragit NE Using a Single-Stroke and a Rotary Tablet Press. *Pharm. Dev. Technol.* **2008**, *13*, 323–331, doi:10.1080/10837450802089206.
51. Gattani, S.G.; Londhe, S.G.; Chalikwar, S.S.; Amrutkar, J.R. Formulation and evaluation of verapamil hydrochloride transmucosal drug delivery system. *Eur. J. of Parenteral Pharm. Sci.* **2010**, *15*, 125–129.
52. Bhukya, N.; Dhurke, R. Novel gastroretentive mucoadhesive pulsatile tablet for Verapamil hydrochloride. *J. Chem. Pharm. Res.* **2016**, *8*, 1190–1198.
53. Mandal, U.K.; Chatterjee, B.; Senjoti, F.G. Gastro-retentive drug delivery systems and their in vivo success: A recent update. *Asian J. Pharm. Sci.* **2016**, *11*, 575–584,

doi:10.1016/j.ajps.2016.04.007.

54. J BHANDWALKAR, M.; S DUBAL, P.; K.TUPE, A.; N MANDRUPKAR, S. Review on Gastroretentive Drug Delivery System. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* **2020**, *4*, 38–45, doi:10.22159/ajpcr.2020.v13i12.37264.
55. Seth, A.; Lafargue, D.; Poirier, C.; Badier, T.; Delory, N.; Laporte, A.; Delbos, J.-M.; Jeannin, V.; Péan, J.-M.; Ménager, C. Optimization of magnetic retention in the gastrointestinal tract: Enhanced bioavailability of poorly permeable drug. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2017**, *100*, 25–35, doi:10.1016/j.ejps.2016.12.022.
56. Gröning, R.; Berntgen, M.; Georgarakis, M. Acyclovir serum concentrations following peroral administration of magnetic depot tablets and the influence of extracorporeal magnets to control gastrointestinal transit. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **1998**, *46*, 285–291, doi:10.1016/S0939-6411(98)00052-6.
57. Fujimori, J. Effect of magnetically controlled gastric residence of sustained release tablets on bioavailability of acetaminophen. *Int. J. Pharm.* **1995**, *119*, 47–55, doi:10.1016/0378-5173(94)00368-F.
58. Das, S.; Kaur, S.; Rai, V.K. Gastro-retentive drug delivery systems: a recent update on clinical pertinence and drug delivery. *Drug Deliv. Transl. Res.* **2021**, *11*, 1849–1877, doi:10.1007/s13346-020-00875-5.
59. Seth, A.; Lafargue, D.; Poirier, C.; Badier, T.; Delory, N.; Laporte, A.; Delbos, J.-M.; Jeannin, V.; Péan, J.-M.; Ménager, C. Optimization of magnetic retention in the gastrointestinal tract: Enhanced bioavailability of poorly permeable drug. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2017**, *100*, 25–35, doi:10.1016/j.ejps.2016.12.022.
60. Fujimori, J. Effect of magnetically controlled gastric residence of sustained release tablets on bioavailability of acetaminophen. *Int. J. Pharm.* **1995**, *119*, 47–55, doi:10.1016/0378-5173(94)00368-F.
61. Gröning, R.; Berntgen, M.; Georgarakis, M. Acyclovir serum concentrations following peroral administration of magnetic depot tablets and the influence of extracorporeal magnets to control gastrointestinal transit. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **1998**, *46*, 285–291, doi:10.1016/S0939-6411(98)00052-6.

62. Jadi, R.K.; Mohan, C.K.. A Comprehensive Review on Gastro-Retentive Floating Drug Delivery Systems. *INDO Am. J. Pharm. Sci.* **2016**, *3*, 115–128.
63. Park, K.; Robinson, J.R. Bioadhesive polymers as platforms for oral-controlled drug delivery: method to study bioadhesion. *Int. J. Pharm.* **1984**, *19*, 107–127, doi:10.1016/0378-5173(84)90154-6.
64. Gayakwad, B.P.; Bavaskar, S.R.; Fulzele, S.; Yadav, R. Natural Polymers In The Development Of Gastroretentive Systems : A Review. **2021**, *8*, 2895–2906.
65. Miyazaki, Y.; Yakou, S.; Takayama, K. Comparison of gastroretentive microspheres and sustained-release preparations using theophylline pharmacokinetics. *J. Pharm. Pharmacol.* **2010**, *60*, 693–698, doi:10.1211/jpp.60.6.0003.
66. Gaur, P.K.; Mishra, S.; Kumar, A.; Panda, B.P. Development and optimization of gastroretentive mucoadhesive microspheres of gabapentin by Box–Behnken design. *Artif. Cells, Nanomedicine, Biotechnol.* **2014**, *42*, 167–177, doi:10.3109/21691401.2013.800081.
67. Mali, K.K.; Dhawale, S.C. Design and optimization of modified tamarind gum-based floating-bioadhesive tablets of verapamil hydrochloride. *Asian J. Pharm.* **2016**, *10*, 239–250.
68. Khan, A.D.; Meenakshi, B. Formulation and Evaluation of Floating beads of Verapamil hydrochloride. *Int. J. PharmTech Res.* **2011**, *3*, 1537–1546.
69. Wu, Y.; Zhang, W.; Huang, J.; Luo, Z.; Li, J.; Wang, L.; Di, L. Mucoadhesive improvement of alginate microspheres as potential gastroretentive delivery carrier by blending with Bletilla striata polysaccharide. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *156*, 1191–1201, doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.11.156.
70. Klausner, E.A.; Lavy, E.; Friedman, M.; Hoffman, A. Expandable gastroretentive dosage forms. *J. Control. Release* **2003**, *90*, 143–162, doi:10.1016/S0168-3659(03)00203-7.
71. Khosla, R.; Davis, S.S. The effect of tablet size on the gastric emptying of non-disintegrating tablets. *Int. J. Pharm.* **1990**, *62*, R9–R11, doi:10.1016/0378-5173(90)90243-W.

72. Svagan, A.J.; Benjamins, J.-W.; Al-Ansari, Z.; Shalom, D.B.; Müllertz, A.; Wågberg, L.; Löbmann, K. Solid cellulose nanofiber based foams – Towards facile design of sustained drug delivery systems. *J. Control. Release* **2016**, *244*, 74–82, doi:10.1016/j.jconrel.2016.11.009.
73. Verma, S.; Nagpal, K.; Singh, S.K.; Mishra, D.N. Unfolding type gastroretentive film of Cinnarizine based on ethyl cellulose and hydroxypropylmethyl cellulose. *Int. J. Biol. Macromol.* **2014**, *64*, 347–352, doi:10.1016/j.ijbiomac.2013.12.030.
74. El-Zahaby, S.A.; Kassem, A.A.; El-Kamel, A.H. Formulation and in vitro evaluation of size expanding gastro-retentive systems of levofloxacin hemihydrate. *Int. J. Pharm.* **2014**, *464*, 10–18, doi:10.1016/j.ijpharm.2014.01.024.
75. Omidian, H.; Rocca, J.G.; Park, K. Elastic, Superporous Hydrogel Hybrids of Polyacrylamide and Sodium Alginate. *Macromol. Biosci.* **2006**, *6*, 703–710, doi:10.1002/mabi.200600062.
76. Clarke, G. Comparative gastrointestinal transit of pellet systems of varying density. *Int. J. Pharm.* **1995**, *114*, 1–11, doi:10.1016/0378-5173(94)00200-O.
77. Sharma, D.; Sharma, A. Gastroretentive drug delivery system - a mini review. *Asian Pacific J. Heal. Sci.* **2014**, *1*, 80–89, doi:10.21276/apjhs.2014.1.2.9.
78. Clarke, G. Comparative gastrointestinal transit of pellet systems of varying density. *Int. J. Pharm.* **1995**, *114*, 1–11, doi:10.1016/0378-5173(94)00200-O.
79. Yousry, C.; Amin, M.M.; Elshafeey, A.H.; El Gazayerly, O.N. Ultrahigh verapamil-loaded controlled release polymeric beads using superamphiphobic substrate: D-optimal statistical design, in vitro and in vivo performance. *Drug Deliv.* **2018**, *25*, 1448–1460, doi:10.1080/10717544.2018.1482974.
80. Bechgaard, H.; Ladefoged, K. Distribution of pellets in the gastrointestinal tract. The influence on transit time exerted by the density or diameter of pellets. *J. Pharm. Pharmacol.* **2011**, *30*, 690–692, doi:10.1111/j.2042-7158.1978.tb13366.x.
81. Timmermans, J.; Moës, A.J. How well do floating dosage forms float? *Int. J. Pharm.* **1990**, *62*, 207–216, doi:10.1016/0378-5173(90)90234-U.

82. Krögel, I.; Bodmeier, R. Development of a multifunctional matrix drug delivery system surrounded by an impermeable cylinder. *J. Control. Release* **1999**, *61*, 43–50, doi:10.1016/S0168-3659(99)00096-6.
83. Dave, B.S.; Amin, A.F.; Patel, M.M. Gastroretentive drug delivery system of ranitidine hydrochloride: Formulation and in vitro evaluation. *AAPS PharmSciTech* **2004**, *5*, 77–82, doi:10.1208/pt050234.
84. Jagdale, S.C.; Agavekar, A.J.; Pandya, S. V.; Kuchekar, B.S.; Chabukswar, A.R. Formulation and Evaluation of Gastroretentive Drug Delivery System of Propranolol Hydrochloride. *AAPS PharmSciTech* **2009**, *10*, 1071, doi:10.1208/s12249-009-9300-8.
85. Rouge, N.; Cole, E.T.; Doelker, E.; Buri, P. Buoyancy and Drug Release Patterns of Floating Minitablets Containing Piretanide and Atenolol as Model Drugs. *Pharm. Dev. Technol.* **1998**, *3*, 73–84, doi:10.3109/10837459809028481.
86. J. D., Bashaw; A., Zaffaroni; A. S., M. Self-monitored device for releasing agent at functional rate 1976.
87. Treesinchai, S.; Puttipipatkachorn, S.; Pitaksuteepong, T.; Sungthongjeen, S. Development of curcumin floating tablets based on low density foam powder. *Asian J. Pharm. Sci.* **2016**, *11*, 130–131, doi:10.1016/j.ajps.2015.11.092.
88. Becker, K.; Salar-Behzadi, S.; Zimmer, A. Solvent-Free Melting Techniques for the Preparation of Lipid-Based Solid Oral Formulations. *Pharm. Res.* **2015**, *32*, 1519–1545, doi:10.1007/s11095-015-1661-y.
89. Fukuda, M.; Peppas, N.A.; McGinity, J.W. Floating hot-melt extruded tablets for gastroretentive controlled drug release system. *J. Control. Release* **2006**, *115*, 121–129, doi:10.1016/j.jconrel.2006.07.018.
90. Zhang, P.; Shadambikar, G.; Almutairi, M.; Bandari, S.; Repka, M.A. Approaches for developing acyclovir gastro-retentive formulations using hot melt extrusion technology. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2020**, *60*, 102002, doi:10.1016/j.jddst.2020.102002.
91. Stegemann, S.; Bornem, C. Hard gelatin capsules today - and tomorrow. In *Capsugel Library BAS 192 E*; 2002; pp. 1–23.

92. Costa, P.; Sousa Lobo, J.M. Modeling and comparison of dissolution profiles. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2001**, *13*, 123–133, doi:10.1016/S0928-0987(01)00095-1.
93. Davis, S.S.; Stockwell, A.F.; Taylor, M.J.; Hardy, J.G.; Whalley, D.R.; Wilson, C.G.; Bechgaard, H.; Christensen, F.N. The effect of density on the gastric emptying of single- and multiple-unit dosage forms. *Pharm. Res.* **1986**, *3*, 208–13, doi:10.1023/A:1016334629169.
94. HealthCare, E.D. for the Q. of M.& EUROPEAN PHARMACOPOEIA. In; 2011 ISBN 9287167001.
95. Chytil, L.; Štrauch, B.; Cvačka, J.; Marešová, V.; Widimský, J.; Holaj, R.; Slanař, O. Determination of doxazosin and verapamil in human serum by fast LC–MS/MS: Application to document non-compliance of patients. *J. Chromatogr. B* **2010**, *878*, 3167–3173, doi:10.1016/j.jchromb.2010.09.032.
96. Qiu, Y.; Duan, J.Z. In Vitro/In Vivo Correlations. In *Developing Solid Oral Dosage Forms*; Elsevier, 2017; pp. 415–452 ISBN 9780128024478.
97. Iglesias, N.; Galbis, E.; Romero-Azogil, L.; Benito, E.; Lucas, R.; García-Martín, M.G.; De-Paz, M.V. In-depth study into polymeric materials in low-density gastroretentive formulations. *Pharmaceutics* **2020**, *12*, 1–44, doi:10.3390/pharmaceutics12070636.
98. Gupta, R.; Tripathi, P.; Bhardwaj, P.; Mahor, A. Recent advances in gastro retentive drug delivery systems and its application on treatment of H. Pylori infections. *J. Anal. Pharm. Res.* **2018**, *7*, 404–410, doi:10.15406/japlr.2018.07.00258.
99. Drenckhan, W.; Saint-Jalmes, A. The science of foaming. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2015**, *222*, 228–259, doi:10.1016/j.cis.2015.04.001.
100. Ma, J.; Li, J.; Zhou, P.; Song, Y.; Chai, L.; Zhou, C.Q. A viewpoint on the dynamics of bubble formation from a submerged nozzle. *Eur. J. Mech. B/Fluids* **2019**, *78*, 276–283, doi:10.1016/j.euromechflu.2019.08.004.
101. Chikhalikar, S.S.; Wakade, R.B. Floating drug delivery system - An approach to oral controlled drug delivery. *Int. J. PharmTech Res.* **2012**, *4*, 1812–1826.
102. Diós, P.; Szigeti, K.; Budán, F.; Pócsik, M.; Veres, D.S.; Máthé, D.; Pál, S.; Dévay, A.;

- Nagy, S. Influence of barium sulfate X-ray imaging contrast material on properties of floating drug delivery tablets. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2016**, 95, 46–53, doi:10.1016/j.ejps.2016.09.034.
103. Louis, M.M.; Badawy, A.A.; Nessem, D.I.; Nevine, S.A.E. Drotaverine hydrochloride gastroretentive floating mini-tablets: Formulation, in-vitro and in-vivo evaluation. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2020**, 57, 101733–101741, doi:10.1016/j.jddst.2020.101733.
 104. Patowary, M.; Ananthakrishnan, R.; Pathak, K. Superhydrophobic and oleophilic barium sulfate material for oil spill clean-ups: Fabrication of surface modified sorbent by a one-step interaction approach. *J. Environ. Chem. Eng.* **2014**, 2, 2078–2084, doi:10.1016/j.jece.2014.09.007.
 105. Schneider, F.; Koziolok, M.; Weitschies, W. In vitro and in vivo test methods for the evaluation of gastroretentive dosage forms. *Pharmaceutics* **2019**, 11, doi:10.3390/pharmaceutics11080416.
 106. Elkheshen, S.A.; Yassin, A.E.B.; Alsuwayeh, S.; Alkhaled, F.A. In vitro and in vivo evaluation of floating controlled release dosage forms of verapamil hydrochloride. *Pharm. Ind.* **2004**, 66, 1364–1372.
 107. Sawicki, W. Pharmacokinetics of verapamil and norverapamil from controlled release floating pellets in humans. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2002**, 53, 29–35, doi:10.1016/S0939-6411(01)00189-8.
 108. Gupta, V. Das Quantitation and Stability of Verapamil Hydrochloride using High-Performance Liquid Chromatography. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1985**, 11, 1497–1506, doi:10.3109/03639048509057682.
 109. Shinde, S.; Zadbuke, N.; Padalkar, A.; Shahi, S. Formulation developement and evaluation of floating matrix tablet of Verapamil HCl. *Asian J. Pharm.* **2013**, 7, 27, doi:10.4103/0973-8398.110933.
 110. Binks, B.P.; Vishal, B. Particle-stabilized oil foams. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2021**, 291, 102404, doi:10.1016/j.cis.2021.102404.
 111. Fameau, A.-L.; Fujii, S. Stimuli-responsive liquid foams: From design to applications.

- Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2020**, *50*, 101380–101398, doi:10.1016/j.cocis.2020.08.005.
112. Murakami, R.; Bismarck, A. Particle-Stabilized Materials: Dry Oils and (Polymerized) Non-Aqueous Foams. *Adv. Funct. Mater.* **2010**, *20*, 732–737, doi:10.1002/adfm.200902007.
 113. FDA Guidance for Industry; Process Validation: General Principles and Practices Available online: <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Process-Validation--General-Principles-and-Practices.pdf>.
 114. Narang, A.S.; Sheverev, V.A.; Stepaniuk, V.; Badawy, S.; Stevens, T.; Macias, K.; Wolf, A.; Pandey, P.; Bindra, D.; Varia, S. Real-Time Assessment of Granule Densification in High Shear Wet Granulation and Application to Scale-up of a Placebo and a Brivanib Alaninate Formulation. *J. Pharm. Sci.* **2015**, *104*, 1019–1034, doi:10.1002/jps.24233.
 115. Kamba, M.; Seta, Y.; Kusai, A.; Ikeda, M.; Nishimura, K. A unique dosage form to evaluate the mechanical destructive force in the gastrointestinal tract. *Int. J. Pharm.* **2000**, *208*, 61–70, doi:10.1016/S0378-5173(00)00552-4.
 116. Lara-Hernández, B.; Hernández-León, A.; Villafuerte-Robles, L. Effect of stearic acid on the properties of metronidazole/methocel K4M floating matrices. *Brazilian J. Pharm. Sci.* **2009**, *45*, 497–505, doi:10.1590/S1984-82502009000300016.
 117. Kamba, M.; Seta, Y.; Kusai, A.; Nishimura, K. Evaluation of the mechanical destructive force in the stomach of dog. *Int. J. Pharm.* **2001**, *228*, 209–217, doi:10.1016/S0378-5173(01)00844-4.
 118. Kamba, M.; Seta, Y.; Kusai, A.; Ikeda, M.; Nishimura, K. A unique dosage form to evaluate the mechanical destructive force in the gastrointestinal tract. *Int. J. Pharm.* **2000**, *208*, 61–70, doi:10.1016/S0378-5173(00)00552-4.



Nyilvántartási szám: DEENK/90/2022.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Haimhoffer Ádám

Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Haimhoffer, Á.**, Vasvári, G., Budai, I., Béres, M., Deák, Á., Németh, N., Váradi, J., Sinka, D. Z., Bácskay, I., Vecsernyés, M., Fenyvesi, F.: In Vitro and In Vivo Studies of a Verapamil-Containing Gastroretentive Solid Foam Capsule.
Pharmaceutics. 14 (2), 1-18, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics14020350>
IF: 6.321 (2020)
2. **Haimhoffer, Á.**, Vasvári, G., Trencsényi, G., Béres, M., Budai, I., Czomba, Z., Rusznyák, Á., Váradi, J., Bácskay, I., Ujhelyi, Z., Fehér, P., Vecsernyés, M., Fenyvesi, F.: Process Optimization for the Continuous Production of a Gastroretentive Dosage Form Based on Melt Foaming.
AAPS PharmSciTech. 22 (5), 1-9, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1208/s12249-021-02066-y>
IF: 3.246 (2020)

További közlemények

3. Rusznyák, Á., Malanga, M., Fenyvesi, É., Sente, L., Váradi, J., Bácskay, I., Vecsernyés, M., Vasvári, G., **Haimhoffer, Á.**, Fehér, P., Ujhelyi, Z., Nagy, B. J., Fejes, Z., Fenyvesi, F.: Investigation of the Cellular Effects of Beta- Cyclodextrin Derivatives on Caco-2 Intestinal Epithelial Cells.
Pharmaceutics. 13 (2), 1-14, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics13020157>
IF: 6.321 (2020)





4. Pető, Á., Kósa, D., **Haimhoffer, Á.**, Fehér, P., Ujhelyi, Z., Sinka, D. Z., Fenyvesi, F., Váradi, J., Vecsernyés, M., Gyöngyösi, A., Lekli, I., Szentesi, P., Marton, A., Gombos, I., Dukic, B., Vigh, L., Bácskay, I.: Nicotinic Amidoxime Derivate BGP-15, Topical Dosage Formulation and Anti-Inflammatory Effect.
Pharmaceutics. 13 (12), 1-17, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics13122037>
IF: 6.321 (2020)
5. **Haimhoffer, Á.**, Dossi, E., Béres, M., Bácskay, I., Váradi, J., Afsar, A., Rusznyák, Á., Vasvári, G., Fenyvesi, F.: Preformulation Studies and Bioavailability Enhancement of Curcumin with a 'Two in One' PEG-[beta]-Cyclodextrin Polymer.
Pharmaceutics. 13 (10), 1-18, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics13101710>
IF: 6.321 (2020)
6. **Haimhoffer, Á.**, Fenyvesi, F., Lekli, I., Béres, M., Bak, I., Czagány, M., Vasvári, G., Bácskay, I., Tóth, J., Budai, I.: Preparation of Acyclovir-Containing Solid Foam by Ultrasonic Batch Technology.
Pharmaceutics. 13 (10), 1-15, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics13101571>
IF: 6.321 (2020)
7. Fenyvesi, F., Nguyen, T. L. P., **Haimhoffer, Á.**, Rusznyák, Á., Vasvári, G., Bácskay, I., Vecsernyés, M., Ignat, S. R., Dinescu, S., Costache, M., Ciceu, A., Hermenean, A., Váradi, J.: Cyclodextrin Complexation Improves the Solubility and Caco-2 Permeability of Chrysin.
Materials. 13 (16), 3618-3629, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ma13163618>
IF: 3.623
8. Arany, P., Papp, I., Bodroginé Zichar, M., Csontos, M., Elek, J., Regdon, G., Budai, I., Béres, M., Gesztelyi, R., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Vasvári, G., **Haimhoffer, Á.**, Fenyvesi, F., Váradi, J., Vecsernyés, M., Bácskay, I.: In Vitro Tests of FDM 3D-Printed Diclofenac Sodium-Containing Implants.
Molecules. 25 (24), 1-31, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25245889>
IF: 4.411
9. **Haimhoffer, Á.**, Rusznyák, Á., Réti-Nagy, K., Vasvári, G., Váradi, J., Vecsernyés, M., Bácskay, I., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Fenyvesi, F.: Cyclodextrins in Drug Delivery Systems and Their Effects on Biological Barriers.
Sci Pharm. 87 (4), 33-53, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/scipharm87040033>





10. Vasvári, G., **Haimhoffer, Á.**, Horváth, L., Budai, I., Trencsényi, G., Béres, M., Dobó Nagy, C., Váradi, J., Bácskay, I., Ujhelyi, Z., Fehér, P., Sinka, D. Z., Vecsernyés, M., Fenyvesi, F.: Development and Characterisation of Gastroretentive Solid Dosage Form Based on Melt Foaming.
AAPS PharmSciTech. 20 (7), 1-11, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1208/s12249-019-1500-2>
IF: 2.401
11. Argenziano, M., **Haimhoffer, Á.**, Bastiancich, C., Jicsinszky, L., Caldera, F., Trotta, F., Scutera, S., Alotto, D., Fumagalli, M., Musso, T., Castagnoli, C., Cavalli, R.: In Vitro Enhanced Skin Permeation and Retention of Imiquimod Loaded in [béta]-Cyclodextrin Nanosponge Hydrogel.
Pharmaceutics. 11 (3), 1-17, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics11030138>
IF: 4.421
12. Vasvári, G., Kalmár, J., Veres, P., Vecsernyés, M., Bácskay, I., Fehér, P., Ujhelyi, Z., **Haimhoffer, Á.**, Rusznyák, Á., Fenyvesi, F., Váradi, J.: Matrix systems for oral drug delivery: formulations and drug release.
Drug Discov. Today Technol. 548, 1-10, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ddtec.2018.06.009>

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 49,707

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 9,567

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2022.02.21.



11. ÁBRAJEGYZÉK

1. **ábra** A gyomor anatómiai elhelyezkedése a hasüregben.
2. **ábra** A gyomor részei és a gyomrot felépítő izmok lefutása.
3. **ábra** A gyomor örlő és továbbító mozgásának sematikus ábrázolása.
4. **ábra** Mágneses térrel visszatartott GR gyógyszerhordozó
5. **ábra** Mukoadhezív GR rendszer.
6. **ábra** Méretnövekedésen alapuló GR rendszerek: kitekeredő **(a)** és duzzadó **(b)** gyógyszerformák.
7. **ábra** Sűrűségen alapuló GR rendszerek: nagy sűrűségű **(a)** és alacsony sűrűségű **(b)** gyógyszerformák.
8. **ábra** A gyártóberendezés sematikus ábrája. I. olvasztótégely, II a. olvadékadagoló perisztaltikus pumpa, II b. levegőt beadagoló perisztaltikus pumpa, III. habosító cella, IV. kiadagoló elcsípőszelep.
9. **ábra** A habosítási mini ciklus folyamatábrája.
10. **ábra** Felhajtóerő mérésére szolgáló készülék sematikus ábrája.
11. **ábra** QuickfoamCell® berendezés a Gyógyszertechnológiai Tanszéken.
12. **ábra** Eltérő hőmérsékleten gyártott placebo GR rendszerek sűrűsége.
13. **ábra** Faktoriális kísérlet tervezés 3D válaszfelületei.
14. **ábra** BaSO₄ tartalmú mini tabletta úszása kioldó közegben.
15. **ábra** Mikro-CT felvétel a BaSO₄ tartalmú mintáról, balra a habosítás előtti kép, míg jobb oldalt a habosítás utáni kép.
16. **ábra** Rekonstruált mikro-CT felvételek a habosított mintáról. A mátrix eltávolítása után visszamaradt buborékok **(a)**, és a buborékok méreteloszlása a készítményen belül, színskálával jelölve a méreteket **(b)**.
17. **ábra** BaSO₄ tartalmú minta állomány változása.
18. **ábra** In vivo gasztroretenció vizsgálata patkány modellen bal oldali kép az adagolást követő 30. percben készült, míg a jobb oldali kép a 120. percben.
19. **ábra** Verapamil-HCl tartalmú összetételek habosítás utáni látszólagos sűrűségük.
20. **ábra** SEM felvételek a V1, V2, illetve V3 törtfelszínéről, a bal alsó képeken a buborékok 500x nagyításon láthatóak.

21. ábra Kémiai elemanalízis eredményei, felül balról jobbra haladva a V3 minta klór, oxigén tartalmú részeit míg a 3. képen az egyszerre történő ábrázolása látható, az alsó képeken a V1, illetve a V2 klór és oxigén tartalmú részeit láthatjuk egyesítve.

22. ábra A verapamil-HCl tartalmú formulációk kioldódási profilja.

23. ábra Gyártás validálás tömegegységességének vizsgálati eredménye.

24. ábra Három párhuzamos gyártási sarzs kioldódási profiljának ábrázolása.

25. ábra A buborék méreteloszlás a készítményen belül, mikro-CT rekonstruált kép buborék átmérővel **(a)**, kiértékel buborék méret eloszlásának hisztogramja **(b)**.

26. ábra Nyílt pórusok a teljes készítményben (a), keresztmetszeti képen (b).

27. ábra Verapamil tartalmú minta állományváltozás a kioldódás során.

28. ábra Összenyomott minták képei az állományelemzés során. Sárgával megfestve az átnedvesedet részek.

29. ábra Vízfelvétel és eróziós vizsgálat eredményei.

30. ábra Állományváltozás szemléltetése mikro-CT felvételekkel **(a)**, A készítmények visszamaradt mátrix területszázaléka ImageJ-vel kiértékelve az idő függvényében **(b)**.

31. ábra Verapamil kapszula által generált felhajtóerő az idő függvényében ábrázolva.

32. ábra Különböző tárolási körülmények utáni kioldódási vizsgálat eredményei.

33. ábra Verapamil plazma koncentrációja oldat és úszó kapszula adagolása után **(a)**, gasztroszkópiás felvétel a gyomorról az az adagolás utáni 2. órában. A kép felső részében látható fehér tárgy a porózus mátrix fel nem oldódott váza **(b)**.

34. ábra *In vitro* kioldódás és *in vivo* biohasznosulás korrelációja.

12. TÁBLÁZATJEGYZÉK

1. táblázat Rosszul biohasznosuló hatóanyagok, amelyeknél előnyös lehet egy gasztroretentív formuláció.

2. táblázat Gasztroretentív készítmények, melyek elérhetőek patikai forgalomban.

3. táblázat Box-Behnken típusú faktoriális kísérlettervezési terv.

4. táblázat BaSO₄ tartalmú minta összetétele.

5.táblázat Verapamil-HCl tartalmú kompozíciók százalékos összetétele.

6.táblázat A készítmények hatóanyagleadási kinetikáinak korrelációs együtthatóit összefoglaló táblázat.

7.táblázat A gyártás validálás eredményeit összegző táblázat.

8. táblázat A kioldódási profilok összehasonlítási eredménye f1 és f2 faktor alkalmazásával.

13. TÁRGYSZAVAK

Tárgyszavak: szilárd hab, gasztroretentív, úszó készítmény, verapamil, olvadék habosítás, folyamatos gyártás, farmakokinetikai vizsgálat

Keywords: solid foam, gastroretentive, floating formulation, verapamil, melt foaming, continuous production, pharmacokinetic study

14. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönet illeti témavezetőmet, Dr. Fenyvesi Ferencet, amiért segítette PhD munkámat és a disszertációm elkészültét. Témavezetése alatt bármikor fordulhattam hozzá segítségért és számíthattam tanácsaira és szaktudására.

Ezúton is köszönöm Prof. Dr. Vecsernyés Miklós Dékán Úrnak és Dr. Kovácsné Prof. Dr. Bácskay Ildikó Dékánhelyettes asszonynak, és Tanszékvezető asszonynak, hogy a tanszékén a kutatásomat elkezdhettem és folytattathattam. Hálás vagyok, hogy kutatómunkám során lehetőséget biztosítottak külföldi konferenciákon való részvételre is. Továbbá segítettek fél éves olaszországi szakmai gyakorlatomat.

Köszönöm Dr. Vasvári Gábornak, hogy TDK munkám alatt mentorált és bármikor számíthattam szakmai segítségére. Köszönöm a lelkesítését a PhD munkám során és a barátságát.

Szeretném megköszönni a társszerzők munkáját is, akik segítségre voltak a disszertáció alapjául szolgáló közlemények megírásában. Köszönöm, hogy nyitottak voltak a közös munkára és a kísérleteket, méréseket és kiértékeléseket legjobb szaktudásukkal végezték el. Ezúton is köszönöm Dr. Budai Istvánnak, amiért lelkes és gyors szakmai segítségével hozzájárult a SEM felvételek elkészítéséhez és értékeléséhez. Szeretnék köszönetet mondani Béresova Monikának is, aki idejét nem sajnálva bármikor rendelkezésemre állt, a mikro-CT felvételek elkészítésében és kiértékelésében. A PET/CT felvételek elkészítésében és kiértékelése miatt szeretnék köszönetet mondani Dr. Trencsényi Györgynek. Továbbá szeretném megköszönni a Sebészeti Műtéttani Tanszék munkatársainak, Prof. Dr. Németh Norbertnek és Dr. Deák Ádámnak, hogy lehetőséget biztosítottak az állatkísérletek elvégzésére.

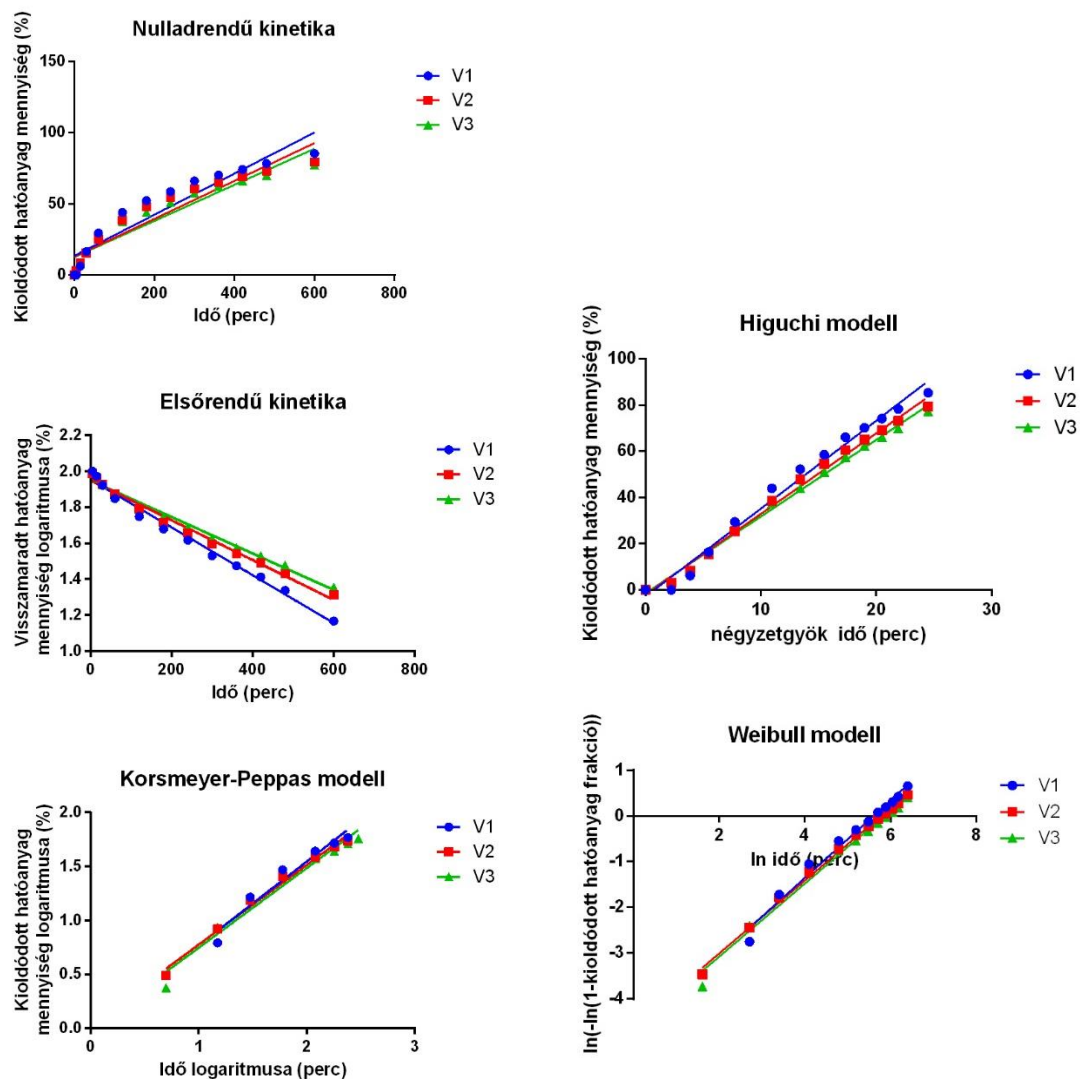
Szeretném megköszönni kollégáimnak a támogatást és biztatást, akikkel az évek alatt barátság is kötődött, Dr. Pető Ágotának, Dr. Kósa Dórának és Dr. Nemes Dánielnek.

Köszönettel tartozok a Gyógyszertechnológiai Tanszék munkatársainak, Dr. Váradi Juditnak, Dr. Ujhelyi Zoltánnak, Dr. Fehér Pálmának, Dr. Réti-Nagy Katalinnak, Dr. Arany Petrának, Dr. Rusznyák Ágnesnek, Dr. Sinka Dávidnak, Horányiné Körei Máriának, Szilágyi Erikának, Gulyás Évának, Bátoriné Pataki Brigittának, amiért munkájukkal és szakmai támogatásukkal hozzájárultak eredményeimhez. Köszönöm továbbá Nagyné Vaszily Máriának, Sipos Szilviának és Lakatos Szilviának fáradhatatlan munkájukat.

Végül, de nem utolsó sorban, óriási hálával tartozok szeretett Családomnak, többek között szeretett szüleimnek, testvéremnek és menyasszonyomnak, akik kitartóan támogattak a PhD-s éveim alatt és segítenek egész életemben.

Továbbá szeretnék köszönetet mondani a pályázatoknak, melyek keretében megvalósulhatott a PhD disszertációm és az ahhoz szükséges kísérletek. Doktori munkámat támogatta az 3.6.3-VEKOP-16-2017-00009 projekt ösztöndíja, valamint a „Proof of Concept” (PoC-008) programja a Debreceni Egyetemnek. A disszertáció elkészítését a GINOP-2.3.4-15-2020-00008 számú projekt is támogatta. A disszertációm alapjául szolgáló kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium által meghirdetett Tématerületi Kiválósági Program (TKP2021-EGA-18) is támogatta.

15. FÜGGELÉK



Függelék 1. ábra Grafikus kinetikai profil elemzés V1, V2 és V3-as összetétel esetén