

Szónikus kavitáció alkalmazása hatóanyag szemcseméretének csökkentésére^{1*}

BARTOS CSILLA^{1,2}, AMBRUS RITA¹, SZABÓNÉ RÉVÉSZ PIROSKA^{1*}

¹Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszertechnológiai Intézet, Szeged, Eötvös u. 6-6720

²Richter Gedeon Nyrt., Budapest, Gyömrői út 19-21-1103

*Levelezési cím: revesz@pharm.u-szeged.hu

Summary

Bartos, Cs., Ambrus, R., Szabó-Révész, P.: **Particle size reduction using acoustic cavitation**

Different pharmaceutical technological processes have been used for modification of the physico-chemical and biopharmaceutical properties of drugs. Changes of crystal size, distribution and morphology can open up new, alternative administration routes, e.g. intranasally and the pulmonary route, where the particle size is a determining factor. A wet grinding method based on acoustic cavitation (the collapse of bubbles or voids formed by sound waves) is a novel possibility for modification of the properties of particles. During our work this wet grinding technique was studied. The effect of this method was investigated on particle size reduction. The samples were treated with extreme sonication parameters. The effect of the concentration of the polymer was examined on the particle size reduction. Meloxicam was chosen as a model crystalline drug because of its poor aqueous solubility. The structural characterization and the morphological analysis of the dried products were carried out by DSC, XRPD and SEM. It was found that the acoustic cavitation resulted in crystalline micronized product.

Keywords: meloxicam, particle size reduction, acoustic cavitation, extreme sonication parameters

Összefoglaló

A hatóanyagok fizikai-kémiai és biofarmáciai sajátosságainak változtatására számos gyógyszertechnológiai megoldás ismeretes. A részecskeméret csökkentés és a morfológia módosítása egy hatóanyag esetében új, alternatív beviteli kapukat nyithat meg, mint pl. a nazális vagy a pulmonáris bevitelt. Ilyen gyógyszerformák esetében a szemcseméret, szemcseméret megoszlás meghatározó paraméter. A szónikus kavitáción alapuló őrlés új lehetőséget nyújt a hatóanyag szemcsék sajátosságainak megváltoztatására. Munkánk során akusztikus kavitáción alapuló ultrahangos nedves őrlést alkalmaztunk szemcseméret csökkentés céljából. Adott szonikációs paraméterek mellett az alkalmazott polimer koncentrációjának hatását vizsgáltuk a szemcseméret csökkentésre. Modellanyagként meloxicámot, mint rossz vízoldékonyságú, nem szteroid gyulladásgátlót alkalmaztunk. A szilárd fázis kinyerését követően vizsgáltuk a termékek fizikai-kémiai és morfológiai sajátosságait (DSC, XRPD, SEM). Megállapítottuk, hogy kristályos szerkezetű, mikronizált hatóanyagot tartalmazó termék állítható elő.

Kulcsszavak: meloxicám, szemcseméret csökkentés, akusztikus kavitáció, szélsőséges szonikációs paraméterek

1. Bevezetés

A nedves őrlés jól ismert eljárás különböző hatóanyagok pre-szuszpenziójának előállítására, amelyek közti terméként felhasználhatók gyógyszerforma előállítására (kapszula, tableta, injekció, orrspray, orrgél stb.) [1]. Mint ismeretes, a nedves őrlés a száraz őrléshez képest kevesebb energiát és időt vesz igénybe. A zárt rendszer miatt nincs kiporzás, továbbá csökken az anyag felmelegedése is [2]. Nedves őrlés golyós malmok, kolloid malmok és kavitáción alapuló eljárások segítségével valósítható meg.

Az ultrahangos szonotróddal generált kavitáción alapuló homogenizálás széles körben használt a gyógyszertechnológia területén [3]. Alkalmazható emulziók [4], suszpenziók [5] előállításá-

ra, valamint kristályosításnál alkalmas a szemcseméret csökkentésére (bottom up- integráló eljárás) [6]. A szónikus kavitáción alapuló ultrahangos nedves őrlés, mint dezintegráló művelet (top down) új irányvonalként jelenik meg ebben a témában. Az akusztikus kavitáció fizikai jelenség, amely akkor következik be, amikor az ultrahang hullámok által keltett buborékok, üregek összeroppannak, az egymásnak csattanó folyadékfelületek lökéshullámot keltenek, ami rezgéssel és a környező szilárd testek eróziójával jár [7]. A méretcsökkentés – dezintegráció révén – a kavitáció eredménye; az általa generált nagy nyíróerő képes szétszakítani a részecskéket, legyőzve az azokat összetartó erőket. A részecskék elsősorban a rácshibák, repedések mentén dezintegrálódnak [8]. Szemcseméret csökkentésre az ultrahangos energiát 20-100 kHz közötti frekvencia tartományban alkalmazzák [9]. A statikus szonikáció esetében a nyugalomban lévő mintát ultrahangozzuk, így a kavitáció hatása

¹ A szerzők a cikket *Kata Mihály* emeritus professzornak ajánlják 80. születésnapja alkalmából, tiszteletük jeléül.

a szonotródtól távolodva csökken (a rendszerre nézve inhomogén).

Az ultrahangos folyadékkezelést számos paraméter befolyásolja (amplitúdó, nyomás, hőmérséklet, a kezelendő mintában lévő komponensek koncentrációja). A szonikálás hatékonysága az egységnyi térfogatra (V) jutó energiamennyiség (E) függvényével (f) fejezhető ki:

$$\text{hatás} = f(E/V),$$

ahol az energia (E) a teljesítményből (P) és a kezelés időtartamából (t) tevődik össze:

$$E[J] = P[W] * t[s]$$

A függvény az egyes paraméterek változtatásával módosul [10].

Jelen kísérletes munka előzményeként ultrahangos nedves őrlést alkalmaztunk. Faktoriális kísérleti tervet készítettünk és meghatároztuk az eljárási paramétereket. Az optimalizálás a termék szemcseméretére történt [11]. Munkánk során az optimalizált paraméterekhez képest olyan „szélsőséges” paramétereket alkalmazva készítettünk mintákat, amelyekkel tovább kívántuk csökkenteni a szemcseméretet. Modellanyagként rossz vízoldékonyságú hatóanyagot, a meloxikámot (MEL) választottuk. Célunk volt annak vizsgálata, hogy az így előállított termékben a MEL szemcseméret csökkenthetőségén kívül, a kavitáció milyen változásokat idéz elő a termék fizikai-kémiai és morfológiai sajátágaiban.

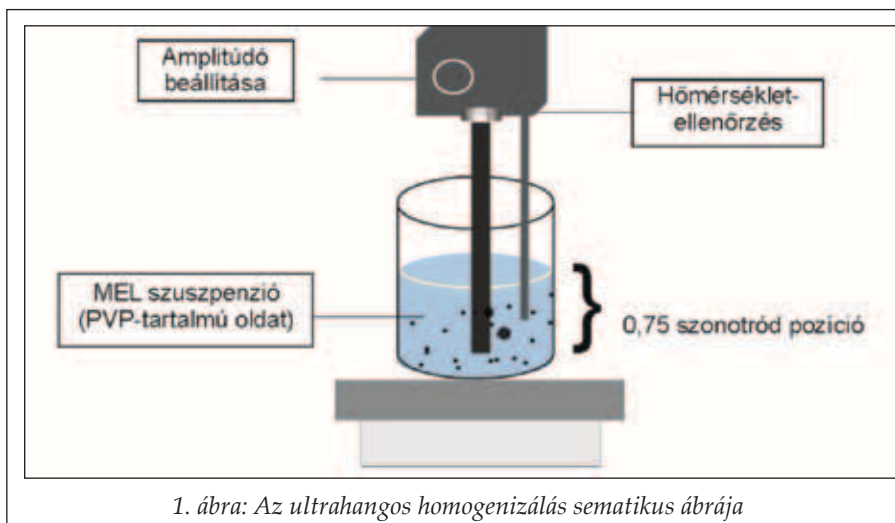
2. Anyagok és termék előállítása ultrahangos technikával

Anyagok

Felhasznált anyagok: meloxikám (MEL) – EGIS Gyógyszergyár (Budapest, Magyarország); PVP K-25 (PVP) (polivinilpirrolidon) – ISP Customer Service GmbH (Köln, Németország).

Szemcseméret-csökkentés ultrahangos eljárás alkalmazásával

A MEL szemcseméretét nagy intenzitású ultra-



1. ábra: Az ultrahangos homogenizálás sematikus ábrája

hanggal (Hielscher UP 200S, 200W, Németország), statikus szonikációval csökkentettük. A korábban optimalizált paraméterekhez képest (70%-os amplitúdó, 36 °C, 30 perc) „szélsőséges” paramétereket alkalmaztunk. A mintákat 90%-os amplitúdóval, 50 °C-on (Julabo, Németország), 60 percen át ultrahangoztuk, a szonotród minden minta esetében a teljes folyadéktest 75%-áig merült a rendszerbe (1. ábra). A MEL koncentrációja 20 mg/10 ml volt. Az eljárás során minden minta esetében diszperziós közegként 25 ml térfogatú, különböző koncentrációjú PVP K-25-oldatot (0,1, 0,5 és 2,0%) alkalmaztunk. A PVP, mint polimer a gyógyszeriparban is széles körben alkalmazott diszpergálószer. A MEL karboxil-csoportja és a PVP között kialakuló gyenge másodlagos kötés segít egymástól távol tartani a hatóanyag-részecskéket csökkentve ezzel az aggregáció veszélyét [12].

3. Vizsgálati módszerek

3.1 Szemcseméret megoszlás, morfológia

A MEL szemcseméretét és méreteloszlását Malvern Mastersizer 2000 készülékkel (Malvern Instruments, Worcestershire, UK) határoztuk meg, Hydro 2000 SM kis térfogatú diszpergáló egységgel. A D0,1, D0,5, D0,9 értékeket térfogat szerinti méretanalízissel határoztuk meg.

A kiindulási hatóanyag és a szilárd minta morfológiai jellemzése pásztázó elektronmikroszkóppal történt (Hitachi S4700, Hitachi Scientific Ltd., Japan). A minta töltődésének megakadályozása céljából arany-palládium bevonó anyagot használtunk, 18 mA plazmaáram alkalmazásával. A felvételek 15 kV nagyfeszültség, 10 µA elektronáram és 0,1 Pa élővákuum beállításával készültek.

3.2 Szerkezeti sajátosságok

A termékek termoanalitikai sajátosságait Mettler Toledo STAR® termoanalitikai készülékkel (Mettler Inc., Schwerzenbach, Svájc) határoztuk meg. A DSC (differenciál pásztázó kalorimetria) méréseket argon gáz átmoltatásával (10l/óra) végeztük (2-5 mg-os minta, 25-300 °C, 5 °C/perc fűtési sebesség).

A hatóanyag kristályos jellegét porróntgen diffrakciós vizsgálatokkal határoztuk meg (Miniflex II Rigaku porróntgen diffraktométer, Rigaku Co. Tokyo, Japan). Mérési paraméterek: Cu ($K\alpha=1,5405 \text{ \AA}$), 30 kV, 15 mA.

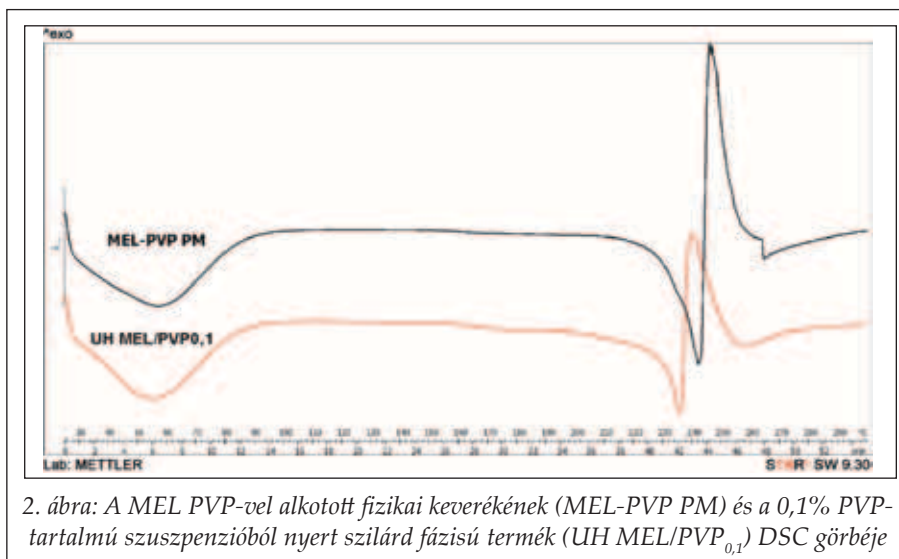
4. Eredmények értékelése

4.1 MEL szemcseméret csökkentése különböző PVP-koncentráció mellett

A minták szemcseméret megoszlását ultrahangozott pre-diszperzióban határoztuk meg. Az eredmények az **1. táblázatban** láthatók, amelyek alapján elmondható, hogy a kiindulási mérethez képest mindhárom minta esetében jelentős mértékben lecsökkent a MEL szemcsemérete. Mivel a PVP mennyisége nem befolyásolta lényegesen a szemcseméret-megoszlást, egymáshoz viszonyítva a három termékben, ezért a legkisebb PVP-tartalmú mintát vizsgáltuk tovább. Az alacsony segédanyag-koncentráció mellett végzett mikronizálás mind gazdasági, mind citotoxicitás szempontjából is előnyösebb.

4.2 Szilárd fázisú termék jellemzése

A 0,1% PVP-tartalmú szuszpenzióból (UH MEL/PVP_{0,1}) 40 °C-on vákuum szárítóban távolítottuk el a vizet (Binder, Németország) abból a célból, hogy szilárd fázisú terméket nyerjünk. A szárítást köve-



2. ábra: A MEL PVP-vel alkotott fizikai keverékének (MEL-PVP PM) és a 0,1% PVP-tartalmú szuszpenzióból nyert szilárd fázisú termék (UH MEL/PVP_{0,1}) DSC görbéje

tően a termék fizikai-kémiai sajátosságait vizsgáltuk és annak fizikai keverékével (MEL-PVP PM) hasonlítottuk össze. A kezelt minta hőmérséklete szonikálás során 53 °C-ig emelkedett, tehát hő hatására bomlás nem következett be.

DSC felvételek

A kezeletlen MEL-nek 259,27 °C-on jól definiálható olvadáspontja van. A PVP amorf sajátosságú segédanyag, olvadásponttal nem rendelkezik. A MEL-PVP fizikai keverékében és a szilárd fázisú minta görbéjén is megfigyelhető a hatóanyag kristályos olvadáspontja, amivel a MEL kezelés és szárítás utáni kristályos jellegét bizonyítottuk (2. ábra). A fizikai keverék esetében az olvadáspont-csökkenés annak köszönhető, hogy a PVP az üvegesedési hőmérsékletén ($T_g = 34 \text{ °C}$) meglágyul, ennek következtében a MEL olvadása alacsonyabb hőmérsékleten következik be (242 °C). A kezelt, szárított mintában megfigyelhető további olvadáspont-csökkenés (236 °C) azzal magyarázható, hogy a kisebb kristályok megolvadásához kevesebb energiára van szükség.

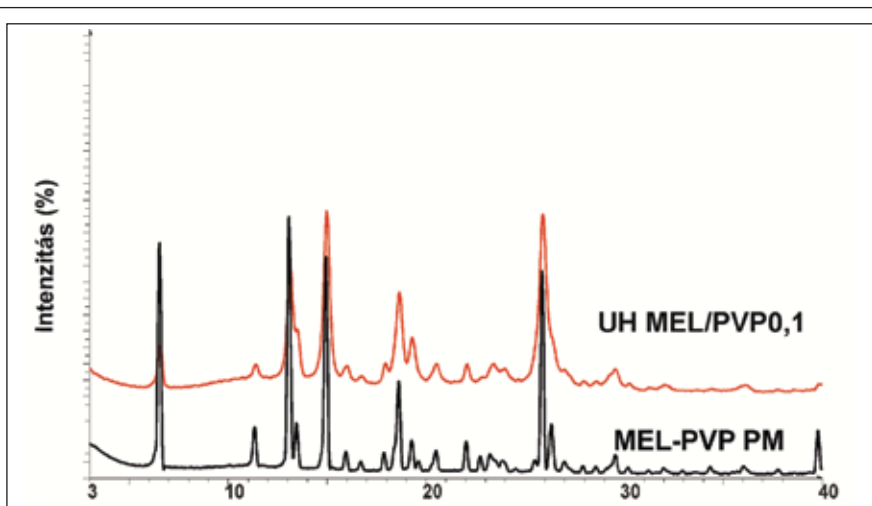
XRPD eredmények

A porróntgen-diffrakciós eredmények ugyancsak a minta kristályos jellegét bizonyítják. A ka-

1. táblázat

Szonikált termékek szemcseméret-megoszlása különböző PVP-koncentráció mellett

	PVP-oldat (%)	D0,1	D0,5	D0,9
MEL _{kiindulási}	-	10,82	34,03	75,81
UH MEL/PVP _{0,1}	0,1	0,16	3,08	16,80
UH MEL/PVP _{0,5}	0,5	0,14	2,79	19,09
UH MEL/PVP _{2,0}	2,0	0,28	3,93	12,91



3. ábra: A MEL PVP-vel alkotott fizikai keverékének (MEL-PVP PM) és a 0,1% PVP-tartalmú szuszpenzióból nyert szilárd fázisú termék (UH MEL/PVP_{0,1}) porröntgen felvétele

rakterisztikus csúcsok a fizikai keverék és a szilárd fázisú minta esetében is megjelennek. A MEL-re jellemző csúcsok 13,22, 15,06, 26,46 és 26,67 2θ értékeknél olvashatók le (3. ábra). Mivel a fizikai keverék és a termék jellemző csúcsai egybeesnek – azon túl, hogy a MEL kristályos maradt – az is megállapítható, hogy polimorf módosulat a kezelés hatására nem keletkezett. A szonikációval előállított mintában a csúcsok intenzitása kisebb a fizikai keverékben található MEL csúcsaihoz képest, ami a méretcsökkenéssel magyarázható.

Elektronmikroszkópos felvételek

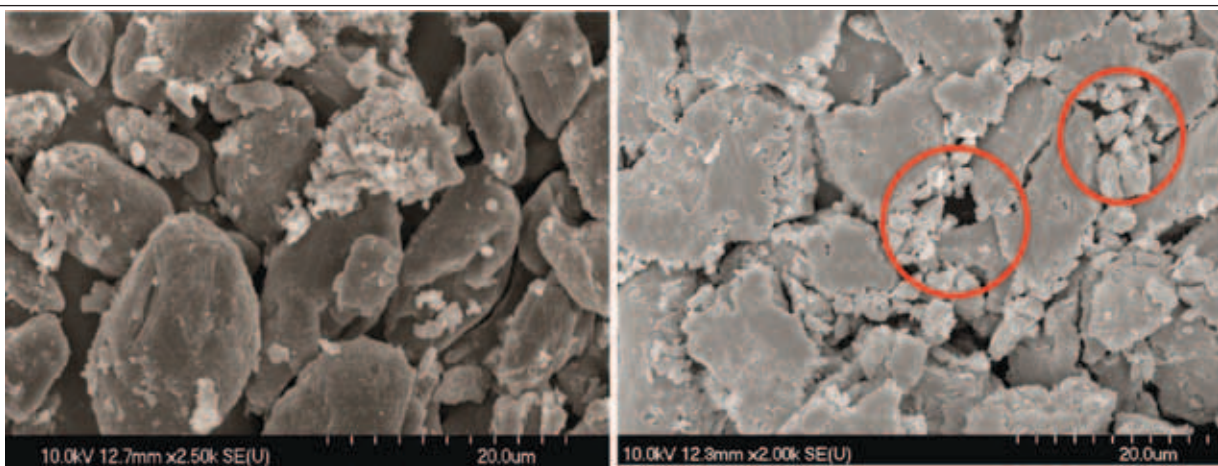
Az elektronmikroszkópos képek alapján látható, hogy a kiindulási MEL kristályai nagy, oszlo-

pos kristályok. A szilárd fázisú termék hatóanyag kristályai szabálytalan alakúak, egyenetlen felszínűek. A MEL kristályok a felvételen is látható, nagyméretű, amorf PVP-részecskék között detektálhatók (4. ábra).

5. Összegzés

Közleményünk összefoglalót adott a kavitáció jelenségről, az ultrahangos nedves őrléses eljárásról. Munkánk során statikus szonikációt alkalmaztunk a MEL szemcseméretének

csökkentése céljából, s vizsgáltuk a különböző PVP-koncentráció szemcseméretre gyakorolt hatását. Megállapítottuk, hogy az alkalmazott eljárási paraméterekkel (90%-os amplitúdó, 50 °C, 60 perc, 75% szonotród pozíció) mikronizált MEL-t tartalmazó pre-suszpenzió állítható elő, amely alkalmas közvetlenül szuszpenziós orrspray és orrgél fejlesztésére. A 0,1% PVP-t tartalmazó minták szárítását követően, fizikai-kémiai vizsgálatokat végeztünk. Megállapítottuk, hogy kristályos szerkezetű, mikronizált hatóanyagot tartalmazó termék állítható elő. Terveink között szerepel nátrium-hialuronát, mint mukoadhezív segédanyag, továbbá Cremophor RH 40, illetve kitozán, mint permeabilitást fokozó segédanyagok alkalmazásával nazális gyógyszerforma fejlesztése.



4. ábra: A kiindulási MEL és a 0,1% PVP-tartalmú szuszpenzióból nyert szilárd fázisú termék (UH MEL/PVP_{0,1}) elektronmikroszkópos felvétele

Irodalom

- [1] *Juhnke, M., Märtin, D., John, E.*: Eur. J. Pharm. Biopharm. *81*, 214-222 (2012).
- [2] *Sipos P.*: Gyógyszertechnológiai műveletek középüzemi méretben, Galenusi gyógyszerkészítmények előállítására és vizsgálata. JATEPress, Szeged, 2005. 71-104. old.
- [3] *Mettin, R., Cairós, C., Troia, A.*: Ultrason. Sonochem. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.08.015> (2014).
- [4] *Behrend, O., Ax, K., Schubert, H.*: Ultrason. Sonochem. *7*, 77-85 (2000).
- [5] *Benes, E., Grösschl, M., Handl, B., Trampler, F., Nowotny, H.*: Das europäische TMR-Netzwerk Ultrasonic Separation of Suspended Particles. Proc. Joint Symposium AAA and ÖPG TC Acoustics, Graz, Austria. *2*, 1998, pp. 14-15.
- [6] *Hatkar, U. N., Gogate, P. R.*: Chem. Eng. Process. *57-58*, 16-24 (2012).
- [7] *Caupin, F., Herbert, E.*: Comptes Rendus Physique. *7*, 1000-1017 (2006).
- [8] *Patil, N.M., Pandit, B.A.*: Ultrason. Sonochem. *14*, 519-530 (2007).
- [9] *Sandilya D. K., Kannan A.*: Ultrason. Sonochem. *17*, 427-434 (2010).
- [10] <http://www.hielscher.com> [2013. 10. 10.] *Hielscher T.*: Ultrasonic production of nano-size dispersions and emulsions
- [11] *Bartos, Cs., Kukovecz, Á., Ambrus, R., Farkas, G., Radacsi, N., Szabó-Révész, P.*: Chem. Eng. Process. *87*, 26-34 (2015).
- [12] *Mártha, Cs., Kürti, L., Farkas, G., Jójárt-Laczkovich, O., Szalontai, B., Glässer, E., Deli, M. A., Szabó-Révész, P.*: Eur. Polym. J. *49*, 2426-2432 (2013).

Érkezett: 2014. december 5.
