

POLYMORFI

1 / 2004



ISSN: 1236-4002
1458-5820 (pdf)

POLYMORFI 1 / 2004
FYSIKAALISEN FARMASIAN YHDISTYKSEN JÄSENLEHTI

Päätoimittajalta	3
<i>Gradutiivistelmät</i>	
Ulkoiseen ionisäätelyyn perustuvat kontrolloidut lääkkeenantosysteemit	4
Farmaseuttisten tablettien tekstuuritutkimuksia röntgendiffraktiolla	5
Oligonukleotidien lääkkeellinen käyttö	6
Sähköstaattisen rengasanturin kalibrointi ja liu'utuskulman sekä hiukkaskoon vaikutus mikrokiteisen selluloosan ja polystyreenirakeiden varautumiseen	7
Polylaktidi-nanopartikkelit: partikkelien säilyvyyden parantaminen sekä LHRH-peptidin käyttäytyminen valmistusprosessissa	8
Eräiden farmaseuttisten apuaineiden hygroskooppisuus – laktoosin amorfisuusasteen määrittäminen kosteuskäyttäytymisen perusteella	9
Natriumkromoglikaattia sisältävät, polylaktidista valmistetut nanopartikkelit: pulmanaarisen imeytymisen ja toksisuuden tutkiminen Calu-3 solulinjan avulla	10
Neljän erilaisen DSC-laitteiston tarkastelu ja vertailu	11
Salisylaattien imeytymismekanismien tutkiminen Caco-2 soluilla	12
Erään lääkeaineen fysikaaliseen karakterisointiin liittyviä tutkimuksia	13
Jauheiden muodonmuutosominaisuudet ja puristuskäyttäytyminen sekä muodonmuutoksen tutkiminen creep-testeillä	14
<i>Väitöskirjatiivistelmät</i>	
Preparation of nanoparticles consisting of methacrylic polymers and drugs by an aerosol flow reactor method	15
Uusia näkökulmia kiinteiden lääkevalmisteiden visuaaliseen karakterisointiin	16
Starch acetate as a novel tablet excipient for extended oral drug delivery	18
Ionivahvuus- ja pH-sensitiivisten oksastettujen polymeerimembraanien ja biohajoavien polymeerien farmaseuttiset sovellukset	21
Modification by spray drying of the physicochemical properties of lactose used as carriers in a dry powder inhaler	25

Päätoimittaja: Mikko Koivisto, Turun yliopisto

mikjuko@utu.fi

Julkaisija: Fysikaalisen farmasian yhdistys ry

PÄÄTOIMITTAJALTA

Hyvät yhdistyksen jäsenet

Vuosi on jo hyvässä vauhdissa – fysikaalisen farmasian XV symposiumistakin on jo parisen kuukautta aikaa. Symppari oli jälleen kaikin puolin antoisa kokemus. Kiitokset kaikille osallistujille, etenkin esiintyjille ja paikalla olleille kunniajäsenille. Seuraava symposium järjestetään todennäköisesti täällä Turussa yksipäiväisenä ensi vuoden tammikuussa. Alustavasti seuraavan symposiumin aiheeksi on sovittu niukkaliukoiset lääkemolekyylit.

Tämä Polymorfi sisältää viime vuonna maassamme fysikaalisen farmasian alalta julkaistujen pro gradu -tutkielmien ja väitöskirjojen tiivistelmiä. Polymorfin seuraava numero ilmestyy syksyllä, ja se tulee edellisten lisäksi sisältämään myös pienimuotoisia artikkeleita fysikaalisen farmasian eri osa-alueilta.

Antoisia lukuhetkiä!

Mikko Koivisto (mikjuko@utu.fi)

ULKOISEEN TAI ITSESÄÄTELYYN PERUSTUVAT KONTROLLOIDUT LÄÄKKEENANTOSYSTEEMIT

Anne Sinisalo, Helsingin yliopisto, Farmasian laitos, Farmasian teknologia
Pro gradu -tutkielma (elokuu 2003) 77 s.

Kontrolloidusti lääkeainetta vapauttavien systeemien kehityksessä voidaan käyttää esimerkiksi älykkäitä polymeerejä tai erilaisia ioninvaihtomateriaaleja, kuten kuituja ja resinejä. Älykkäitä lääkeaineiden vapautumista kontrolloivia laitteita on olemassa kahdenlaisia, avoimia ja suljettuja systeemejä. Avoimet systeemit eivät reagoi automaattisesti kontrolloitavassa muuttujassa tapahtuvaan muutokseen, vaan annostelu perustuu jonkun ulkoisen tekijän, kuten sähkön, magneettikentän, ultraäänen tai valon aiheuttamaan ärsytykseen. Avoimia systeemeitä kutsutaan myös ulkoisesti tai pulssittaisesti säätelviksi systeemeiksi, koska lääkeaineen annostelu perustuu ulkoiseen ärsykkeeseen ja on luonteeltaan pulssittaista. Suljetuissa systeemeissä eli itsesäätelävissä systeemeissä annostelu perustuu informaatioon, joka välittyy systeemille suoraan ilman ulkoisia ärsykeitä, kun kontrolloitavassa muuttujassa tapahtuu muutos. Itsesäätelävissä systeemeissä käytetään esimerkiksi polymeerejä, jotka reagoivat lämpötilan tai pH:n muutokseen. Itsesäätelävissä systeemeissä voidaan käyttää myös systeemeitä, jotka hyväksikäyttävät esimerkiksi vasta-aine-interaktioita tai entsyymejä.

Ioninvaihtosysteemien tutkimisen ja kehittämisen yhtenä tarkoituksena on transdermaalisen lääkevalmisteen kehittäminen. Transdermaalisysteemeissä ioninvaihtomateriaalit toimivat lääkeaineen varastona ja ne kontrolloivat lääkeaineen vapautumista systeemistä tarkkaan optimoiduissa ulkoisissa olosuhteissa. Lääkeaineiden sitoutumis- ja vapautumiskinetiikkaan ioninvaihtomateriaaleista vaikuttavat lääkeaineen ja ioninvaihtomateriaalien ominaisuudet, kuten lääkeaineen lipofiilisyyden ja ioninvaihtomateriaalin sisältämät ioninvaihtoryhmät. Vapautumiseen vaikuttavat lisäksi vapautumisympäristön olosuhteet, kuten suolojen ja puskurin valinta ja vahvuus sekä vapautumisliuoksen pH. Lääkeaineen sitoutumista ja vapautumista on mahdollista ennustaa ja kontrolloida lääkeaineen ja kuidun ominaisuuksien perusteella. Muuttamalla ioninvaihtomateriaalin ominaisuuksia voidaan lisätä, vähentää, nopeuttaa tai hidastaa lääkeaineen sitoutumista ja vapautumista.

Tutkimuksessa selvitettiin 5-kloorisalisyylihapon (5-Cl) ja 5-hydroksyyllisalisyylihapon (5-OH) avulla, miten yhdisteen lipofiilisyyden vaikutus niiden sitoutumiseen ja vapautumiseen kuidusta. Lisäksi tutkittiin, miten vapautumisliuoksen olosuhteet (sähkövirta, suolapitoisuus, lämpötila) vaikuttavat ioninvaihtokuiduista vapautuvan yhdisteen määrään ja vapautumisnopeuteen. Hydrofobisempaan yhdisteenä 5-kloorisalisyylihappoa (5-Cl) kiinnittyi kuituihin kaikissa kokeissa pääsääntöisesti enemmän kuin 5-hydroksyyllisalisyylihappoa (5-OH). Yhdisteitä kiinnittyi enemmän heikkoja emäsiiryhmiä (pyridiini) sisältäviin kuituihin (Smopex[®]-105V ja Smopex[®]-105PE) ja vähemmän vahvempia emäsiiryhmiä (trimetyyliamiini) sisältäviin kuituihin (Smopex[®]-MAPTAC ja Smopex[®]-103PE). Vaikka yhdisteitä sitoutuikin eniten S-105V-kuituun, niitä vapautui prosentuaalisesti kyseisestä kuidusta vähiten, sillä yhdisteiden ja kuidun välillä vaikuttavat vuorovaikutukset olivat luultavammin voimakkaampia verrattuna muihin kuituihin. S-MAPTAC-kuidusta yhdisteitä vapautui prosentuaalisesti eniten. Sähkövirran avulla saatiin lisättyä ainoastaan 5-OH:n vapautumista Smopex[®]-MAPTAC-kuidusta. Vaikuttaako sähkövirta yhdisteen vapautumiseen kuidusta vai ei, näyttäisi mahdollisesti riippuvan sekä kuidun että yhdisteen ominaisuuksista. Lämpötilaa kasvattamalla ei pystytty lisäämään yhdisteiden sitoutumista tai vapautumista Smopex[®]-MAPTAC-kuidusta. Vapautumisliuoksen suolapitoisuudella sen sijaan pystyttiin lisäämään yhdisteiden vapautumista kuiduista. Lisäksi 5-Cl:llä oli suurempi affiniteetti kaikkiin kuituihin verrattuna 5-OH:n ja yhdisteillä oli suurempi affiniteetti kahdesta kuidusta aina hydrofobisempaan ja/tai pyridiiniiryhmiä sisältävään kuituun.

Asiasanat: polymeeri, ioninvaihtokuitu, 5-kloorisalisyylihappo, 5-hydroksyyllisalisyylihappo

FARMASEUTTISTEN TABLETTIEN TEKSTUURITUTKIMUKSIA RÖNTGENDIFFRAKTIOLLA

Tero Virjonen, Turun yliopisto, Fysiikan laitos, Teollisuusfysiikan laboratorio
Pro gradu -tutkielma (helmikuu 2003) 135 s., 5 liites.

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli tutkia farmaseuttisten täyteainenäytteiden, δ -mannitolin, β -laktoosin ja α -laktoosimonohydraatin tekstuuria eli kiteiden etuoikeutettua suuntautumista eri voimakkuuksilla ja ajoilla puristetuissa tableteissa. Tekstuurin muodostumista tutkittiin pääasiassa tekstuurigonimetrin sisältävällä röntgendiffraktometrillä, mutta myös mikroskooppia ja adsorptiomenetelmään perustuvaa ominaispinta-alamittausta käytettiin tutkimuksessa hyväksi. Tekstuurimittauksilla toivotaan tulevaisuudessa pystyttävän tutkimaan tablettien liukenemistä, kovuutta, murtolujuutta ja koossapysyvyyttä tablettia rikkomatta.

Toisena tämän tutkimuksen tarkoituksena oli esittää tekstuurimittausten kulku ja analysointi sekä teoriassa että käytännössä. Teoriaosassa onkin perehdytty kristallografiaan tähän tutkimukseen nähden laajasti. Teoriassa tutustutaan mm. WIMV algoritmilla muodostettuun ODF:ään, jota kokeellisessa osassa myös jatkuvasti käytetään sekä napakuvioiden mittaamiseen ja korjaamiseen. Teoriaosassa käsitellään lisäksi lyhyesti tablettien ja jauheiden ominaisuuksien välisiä yhteyksiä sekä partikkelimuodon ja -koon määrittystä mikroskoopilla ja ominaispinta-alamittauksella. Kokeellisen osan aikana on mittausdatan analysointiin ja muokkaamiseen kiinnitetty lisähuomiota pelkkien tulosten esittämisen sijasta.

Tutkimukset osoittivat, että δ -mannitolijauhe teksturoituu tabletoinnissa voimakkaasti. δ -mannitolinäytteen kideason (020) normaali suuntautui tabletin yläpinnan normaalin suuntaan. β -laktoositableteista ei tekstuuria havaittu. α -laktoosimonohydraattitableteissa havaittiin heikko tason (040) normaalin suuntautuminen tabletin yläpinnan suuntaisesti. Tekstuurin voimakkuus kasvoi hieman puristusvoiman kasvaessa. Tällaista käyttäytymistä ei δ -mannitolitableteissa havaittu. δ -mannitolijauhe oli jo alunperinkin teksturoitunut, mutta puristus vahvisti tekstuuria huomattavasti. δ -mannitolitabletin tekstuurin havaittiin lisäksi ulottuvan yli yhden millimetrin syvyydelle pinnan alle, jolloin tekstuurin voimakkuus kuitenkin väheni huomattavasti.

Mikroskooppi- ja ominaispinta-ala tutkimuksilla ei jauheen tai tabletin tekstuurin syntyyn löydetty selitystä. Kaikkien jauheiden partikkelit olivat melko tasadimensioisia ja vaihtelevan kokoisia.

Asiasanat: tekstuuri, röntgendiffraktio, suuntautumisjakaumafunktio, napakuviot, tabletti, apuaineet, δ -mannitoli, α -laktoosimonohydraatti, β -laktoosi, mikroskooppi, partikkelijakauma

OLIGONUKLEOTIDIEN LÄÄKKEELLINEN KÄYTTÖ

Tiina Huotari, Helsingin yliopisto, Farmasian laitos, Farmasian teknologia
Pro gradu -tutkielma (elokuu 2003) 70 s.

Oligonukleotidit ovat noin viidentoista emäksen mittaisia, negatiivisesti varautuneita molekyyliä. Kohdejaksoonsa sitoutuva oligonukleotidi estää sairauden taustalla olevan haitallisen proteiinin proteiinisynteesin. Solunsisäinen proteiinipitoisuus laskee ja proteiinin elimistövaikutukset, eli sairauden oireet, helpottavat. Oligonukleotidien vaikutus voidaan teoriassa kohdistaa mihin tahansa solunsisäisen proteiinisynteesin osavaiheeseen. Antisense-oligonukleotidien sitoutumiskohde on tyypillisesti yksijuosteinen, tietyn proteiinin geenin sense-emäsjärjestystä kantava mRNA-molekyyli. Kiinnittyäkseen kohdejaksoonsa, antisense-oligonukleotidi-molekyylin emäsjärjestyksen on oltava kohde-RNA-molekyylin sense-emäsjärjestyksen kanssa vastakkainen eli antisense. Teoreettisista eduistaan huolimatta oligonukleotidien lääkkeellinen käyttö edellyttää lukuisten käytännön ongelmien ratkaisua. Oligonukleotidi-molekyylin teoreettisesti yksinkertaista suunnitteluprosessia monimutkaistavat monet tekijät, kuten oligonukleotidi-molekyylin sekä sen kohdejakson sekundaari-rakenteiden muodostuminen. Perinteiset fosfodiesteri-sidokselliset oligonukleotidit pilkkoutuvat helposti in vivo nukleaasi-entsyymien vaikutuksesta. Kemialliset oligonukleotidi-johdokset ovat muuntelemattomia oligonukleotideja stabiilimpia, joten suurin osa kokeellisista tutkimuksista joudutaan käytännössä suorittamaan niillä. Oligonukleotidien heikko sellulaarinen kulkeutuminen on aiheuttanut käytännön ongelmia oligonukleotidien annostelussa in vitro tai in vivo. Vaikka kemiallisten oligonukleotidi-johdosten sellulaarinen kulkeutumiskyky on muuntelemattomia fosfodiesteri-oligonukleotideja parempi, on sellulaarisen kulkeutumisen edistämiseksi kehitetty erityisiä kantaja-aineita sekä kuljetussysteemejä. Teoreettisesti spesifisillä oligonukleotideilla on havaittu lukuisia epäspesifejä elimistövaikutuksia. Fosforotioateille tyypillisten komplemmenttiaktivaation sekä veren hyytymismuutoksien taustalla on voimakas sitoutuminen plasmaproteiineihin. Oligonukleotidien in vivo tai in vitro koetuloksia tulkittaessa on näin ollen ehdottoman tärkeää voida erottaa epäspesifiset vaikutukset spesifisistä vasteista. Koska oligonukleotidien solutason vaikutusmekanismeja elimistössä ei voida määrittää suoraan, joudutaan määritykset suorittamaan epäsuorin menetelmin. Vaikka ensimmäinen oligonukleotidi-lääkeaine, ihmisen sytomegalovirus-infektion hoitoon HIV-potilailla tarkoitettu fomivirsin (Vitravene™), on jo markkinoilla, edellyttää uusien oligonukleotidi-lääkevalmisteiden kehittämykselle oligonukleotidi-molekyylien fysikaalis-kemiallisten sekä biokemiallisten ominaisuuksien hienosäätöä sekä kliinisten tutkimusten läpäisyä. Oraalisen oligonukleotidi annostetun mahdollistaminen on eräs oligonukleotidi lääkesuunnittelun tulevaisuuden haasteista.

Asiasanat: oligonukleotidit, stabiilisuus, sellulaarinen kulkeutuminen, epäspesifiset elimistövaikutukset, koesuunnittelu

SÄHKOSTAATTISEN RENGASANTURIN KALIBROINTI JA LIU'UTUSKULMAN SEKÄ HIUKKASKOON VAIKUTUS MIKROKITEIDEN SELLULOOSAN JA POLYSTYREENIRAKEIDEN VARAUTUMISEEN

Kirsi Soininen, Turun yliopisto, Fysiikan laitos, Teollisuusfysiikan laboratorio
Pro gradu -tutkielma (huhtikuu 2003) 44 s., 4 liites.

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää teollisuudessa yleisesti käytettyjen jauheiden varautumiseen vaikuttavia tekijöitä. Teoreettisessa tarkastelussa olivat jauhemaisen materiaalin hankausvarautuminen ja varautumisen tutkimiseen käytettävän rengasanturin teoria.

Tutkielmassa on tarkasteltu, kuinka mikrokiteisen selluloosan ja polystyreenirakeiden varautumiseen vaikuttaa liu'utuskulman ja hiukkaskoon vaihtelu. Putken kulmaa vaihdettiin vaakatasoon nähden 65:sta 40:seen viiden asteen välein. Putkina käytettiin kuudesta eri materiaalista valmistettuja putkia. Mittauksia tehtiin kymmenen liu'utuksen sarjoina, jolloin joka liu'utuksen jälkeen mitattiin jauheen saama varaus ja putken läpäisseen jauheen massa. Lisäksi kalibroitiin Matti Murtomaan Turun yliopistolla kehittelemä ja rakentama rengasanturi varattujen vesipisaroiden avulla. Vesipisara varattiin jännitelähteellä eri jännitteen arvoilla ja pudotettiin rengasanturin läpi. Tuloksista piirrettiin käyriä, joihin sovitettiin ohjelmallisesti sopiva matemaattinen funktio silloin, kun se oli mahdollista.

Keskeisempinä tuloksina voidaan todeta, että putken liu'utuskulmalla on vaikutusta jauheen varautumiseen. Suurilla liu'utuskulmilla tapahtuu suurempi varautuminen kuin pienimmillä liu'utuskulmilla. Varautumiseen vaikuttaa myös jauheen hiukkaskoko. Pienimmän hiukkaskoon omaavat jauheet varautuvat eniten. Rengasanturilla saatiin vesipisaran varausmittauksissa hyvä korrelaatio Faradayn kupilla saatujen varausmittausten kanssa.

Tutkimuksen aikana ilmeni lisätutkimusmahdollisuuksia rengasanturille ja sen soveltavuudelle varaustutkimuksissa.

Asiasanat: sähköstatiikka, jauheiden varautuminen, rengasanturi

POLYLAKTIDI-NANOPARTIKKELIT: PARTIKKELIEN SÄILYVYYDEN PARANTAMINEN SEKÄ LHRH-PEPTIDIN KÄYTTÄYTYMINEN VALMISTUSPROSESSISSA

Laura Kainu, Helsingin yliopisto, Farmasian laitos, Farmasian teknologia
Pro gradu -tutkielma (lokakuu 2003) 71 s., 1 liites.

Farmasiassa nanopartikkeleilla tarkoitetaan nanometrikokoluokan polymeeristä valmistettuja kolloidisia lääkkeenkuljetusjärjestelmiä. Nanopartikkeleilla pyritään suojelemaan valo-, lämpö- ja pH-herkkiä ja/tai nopeasti hajoavia lääkeaineita, parantamaan huonosti imeytyvien lääkeaineiden pääsyä verenkiertoon sekä kontrolloimaan lääkeaineiden vapautumista elimistössä. Peptidien ja proteiinien kohdalla lääkehoitoa vaikeuttavat niiden herkkyys proteolyttisille entsyymeille, huono imeytyminen biologisten esteiden läpi sekä lyhyt puoliintumisaika elimistössä. Nanopartikkelit tarjoavatkin lupaavan mahdollisuuden näiden lääkeaineiden biologisen hyväksikäytettävyyden parantamiseen.

Tässä tutkimuksessa keskityttiin kahteen nanopartikkelien käyttöä peptidilääkinnässä toistaiseksi estävään seikkaan: nanopartikkelien heikkoon säilyvyyteen sekä peptidien helposti tapahtuvaan tuhoutumiseen valmistusprosessien aikana. Tutkimuksessa pyrittiin parantamaan muunnellulla nanosaostuksella valmistettujen PLA-nanopartikkelien säilyvyyttä sekä stabiloimalla syntyneitä nanopartikkelisuspensiota pinta-aktiivisin ainein että kuivaamalla nanopartikkelit kylmäkuivauksella. Lisäksi tutkittiin, miten mallipeptidi LHRH säilyy tässä uudessa valmistusmenetelmässä.

Tutkimuksen tuloksina havaittiin, että oikein valituilla pinta-aktiivisilla aineilla pystyttiin parantamaan muunnellulla nanosaostusmenetelmällä valmistetun nanopartikkelisuspension fysikaalista stabiiliutta. Parhaiksi stabilaattoreiksi havaittiin polyetyleeniglykolit PEG 400 ja 1500 sekä polysorbaatti Tween 80. Riittäväksi stabiloivaksi pitoisuudeksi todettiin 0,04 % verrattuna koko suspension massaan. PEG ja Tween pystyivät todennäköisesti vaikuttamaan samalla rajapinnalla valmistusmenetelmässä käytetyn propyleeniglykolin kanssa hydrofiilisten vuorovaikutusten ansiosta. Kylmäkuivauksen todettiin olevan ratkaisu muunnellulla nanosaostuksella valmistettujen nanopartikkelien pidempiaikaiseen säilyvyyteen. Nanopartikkeleita jäätymiseltä suojaava glukoosi ja materiaalin tiivistymisen estävä laktoosi ei kumpikaan osoittautunut yksinään riittävän toimivaksi suoja-aineeksi, vaan parhaaksi todettiin näiden sokereiden yhdistelmä siten, että glukoosia lisättiin 5 % ja laktoosia 10 % suspension kokonaistilavuuteen nähden. Aineiden erilaisen käyttäytymisen taustalla ovat erilaisten kemiallisten ominaisuuksien lisäksi erilaiset fysikaaliset ominaisuudet kuten kyky estää vesikiteiden muodostumista.

Peptidiä käsittelevässä tutkimuksen osassa havaittiin, että se säilyy vahingoittumattomana valmistusprosessissa. Partikkeleiden sitoutumistehokkuudeksi voitiin alustavassa kvantitatiivisessa määrittämisessä arvioida noin 50 %. Syntyvät LHRH-nanopartikkelit olivat ulkonäkönsä ja kokonsa puolesta kiitettäviä. Muunneltu nanosaostusmenetelmä tarjoaakin etuja moniin menetelmiin nähden hellävaraisuutensa ja muodostuvien nanopartikkeleiden vesiliukoisen ytimen johdosta.

Asiasanat: nanopartikkeli, pinta-aktiivinen aine, stabilaattori, kylmäkuivaus, suoja-aine, peptidi, LHRH

ERÄIDEN FARMASEUTTISTEN APUAINEIDEN HYGROSKOOPPISUUS – LAKTOOSIN AMORFISUUSASTEEN MÄÄRITTÄMINEN KOSTEUSKÄYTTÄYTYMISEN PERUSTEELLA

Jere Lahdenperä, Turun yliopisto, Fysiikan laitos, Teollisuusfysiikan laboratorio
Pro gradu -tutkielma (elokuu 2003) 67 s., 12 liites.

Lääketeollisuudessa valmistettujen tuotteiden toimivuuden takaamiseksi on tunnettava käytettyjen raaka-aineiden kosteuskäyttäytyminen. Kosteuden vuorovaikutus aineiden kanssa saattaa muuttaa niiden fysikaalis-kemiallisia ominaisuuksia. Suuri ongelma lääketeollisuudessa on kiteisiin aineisiin, esimerkiksi niiden eri käsittelyvaiheissa, helposti syntyvä amorfisuus. Aineen amorfisella muodolla on usein huomattavasti erilainen kosteuskäyttäytyminen kuin kiteisellä muodolla, ja jo pieni määrä amorfisuutta saattaa muuttaa aineen käyttäytymistä dramaattisesti.

Tässä tutkielmassa tutkittiin kolmen yleisesti lääketeollisuudessa käytetyn apuaineen (laktoosi, glukoosi ja mannitoli) kosteuskäyttäytymistä sekä määritettiin sumukuivattujen laktoosinäytteiden amorfisuusasteet kosteuskäyttäytymisen perusteella. Kosteuskäyttäytymisen tutkimiseksi laktoosille, glukoosille ja mannitolille määritettiin kosteuden sorptio-desorptioisotermit HMA-8-laitteella, jolla voidaan mitata näytteen massa eri kosteus- ja lämpötilaolosuhteissa. Jauheröntgendiffraktometria käytettiin näyteaineissa tapahtuvien kosteuden indusoimien transitioiden havaitsemiseen. Laktoosin amorfisuusasteen määrittämiseksi kosteuskäyttäytymisen perusteella kehitettiin kaksi uutta menetelmää. Ensimmäisessä, huomattavasti käyttökelpoisemmassa, menetelmässä amorfisuusaste määritettiin ainoastaan HMA-8:aa käyttäen, mutta toisessa menetelmässä käytettiin HMA-8:n lisäksi myös termogravimetria. Uusien menetelmien rinnakkaismenetelmänä käytettiin amorfisuusasteen määrittämistä röntgendiffraktiomittausten perusteella. Eri menetelmillä näytteille määritettyjen amorfisuusasteiden vertailussa oli käytössä myös isotermisellä mikrokalorimetrilla määritetyt amorfisuusasteet.

Määritetyt sorptio-desorptioisotermit osoittavat laktoosin, glukoosin ja mannitolin kiteisten muotojen adsorboivan erittäin vähän kosteutta. Laktoosianhydraatin absorboimaksi kideveden suhteelliseksi määräksi määritettiin 5,25 % ja glukoosianhydraatin 9,35 %. Mannitolin β - ja δ -muotojen kosteuskäyttäytymisten havaittiin olevan erilaista korkeilla suhteellisen kosteuden arvoilla. Kuitenkin δ -muodon muuttumisen β -muodoksi todettiin olevan kohtalaisen vaikeasti havaittavissa kosteuskäyttäytymisen perusteella. Eri amorfisuusasteen määrittämenetelmillä saatiin toisiaan tukevia tuloksia. Tutkielmassa käytetyistä amorfisuusasteen määrittämenetelmistä HMA-8-menetelmän todettiin olevan nopein ja tarkin.

Asiasanat: amorfisuusaste, kosteus, sorptio, desorptio, laktoosi, glukoosi, mannitoli

NATRIUMKROMOGLIKAATTIA SISÄLTÄVÄT, POLYLAKTIDISTA VALMISTETUT NANOPARTIKKELIT: PULMONAARISEN IMEYTYMISEN JA TOKSISUUDEN TUTKIMINEN CALU-3 SOLULINJAN AVULLA

Liisa Konttinen, Helsingin yliopisto, Farmasian laitos, Farmasian teknologia
Pro gradu -tutkielma (toukokuu 2003) 81 s., 2 liites.

Tämän pro gradu -tutkielman kirjallisessa osassa perehdytään keuhkojen kautta tapahtuvaan lääkkeenantoon ja imeytymisen tutkimiseen keuhkosoluviljelmien avulla. Ihmisen bronkiaalisesta adenokarsinoomasta peräisin oleva Calu-3 solulinja on havaittu hyödylliseksi bronkiaalisten hengitysteiden epiteelin läpi tapahtuvan imeytymisen tutkimisessa *in vitro*. Kirjallisessa osassa kartoitetaan myös kyseisen solulinjan erityispiirteitä.

Lääkehoidossa on usein toivottavaa, että lääkeaine imeytyisi tasaisella ja ennustettavalla nopeudella. Lääkeainetta sisältävät mikro- ja nanopartikkelit voivat paitsi vapauttaa lääkeainetta säädellysti ja pitkitetysti, myös suojata lääkeainetta nopealta metabolialta. Biohajoavista polymeereistä valmistetut mikro- ja nanopartikkelit ovat parin viime vuosikymmenen ajan olleet usean tutkijaryhmän kiinnostuksen kohteena peptidilääkkeiden ja muiden lääkeaineiden säädellyn vapautumisen ja imeytymisen saavuttamiseksi.

Kokeellisessa työssä käytettiin Calu-3 soluja *in vitro* imeytymis- ja sytotoksisuuskokeissa. Imeytymiskokeissa tutkittiin natriumkromoglikaatin läpäisyä. Kyseinen lääkeaine annosteltiin liuoksena tai nanopartikkelisuspensiona polylaktidista valmistettuihin nanopartikkeleihin fonnuloituna. Sytotoksisuuskokeissa tutkittiin kolmen inhalaatiolääkinnässä yleisesti käytetyn lääkeaineen, natriumkromoglikaatin, terbutaliinin ja salbutamolin toksisuuksia laajalla pitoisuusalueella sekä natriumkromoglikaattia sisältävien polylaktidinanopartikkelien aiheuttamaa toksisuutta.

Polykarbonaattikalvoilla ilmarajapinnassa kasvatettujen Calu-3 solukerrostojen korkeat sähköiset vastukset ja matala mannitolin läpäisevyys osoittivat, että solukerrokset olivat eheitä ja tiiviitä. Natriumkromoglikaatti läpäisi solukerrokset todennäköisesti, parasellulaarisesti. Läpäisykokeiden tulokset viittasivat siihen, että natriumkromoglikaatin vapautuminen nanopartikkeleista oli nopeaa, sillä nanopartikkelit eivät hidastaneet imeytymistä. Partikkeleissa oleva lääkeaine oli todennäköisesti partikkelien pinnassa. Lisäksi, nanopartikkelien suuri efektiivinen pinta-ala ja lääkeaineen hydrofiilisuus saattoivat edistää nopeaa vapautumista.

Sytotoksisuuskokeet osoittivat, että natriumkromoglikaatin, terbutaliinin ja salbutamolin Calu-3 soluille aiheuttama toksisuus oli vähäistä laajalla pitoisuusalueella. Useimpien tutkittujen natriumkromoglikaattia sisältävien polylaktidinanopartikkelierien aiheuttama toksisuus oli myös vähäistä. Havaitut eroavuudet sytotoksisuuksissa saattoivat johtua eroista todellisissa nanopartikkelisuspensioiden vahvuuksissa. Läpäisykokeissa solukerrostojen sähköiset vastukset eivät olleet laskeneet kokeen loppuun mennessä. Tämä viittasi siihen, että läpäisykokeissa käytetyt nanopartikkelisuspensiot eivät olleet vaurioittaneet solukalvoja tai tiiviitä liitoksia.

Tässä pro gradu -tutkielmassa on pyritty kiinnittämään huomiota seikkoihin, jotka saattavat tulla vastaan Calu-3 soluja kasvatettaessa sekä imeytymis- ja sytotoksisuuskokeiden suunnittelu- ja suoritusvaiheissa. Näin ollen tutkielman sisältöä voidaan hyödyntää jatkossa laitoksellemme tehtävissä tutkimuksissa.

Asiasanat: Calu-3 solut, nanopartikkelit, polylaktidi, natriumkromoglikaatti

NELJÄN ERILAISEN DSC-LAITTEISTON TARKASTELU JA VERTAILU

Kalle Viitanen, Turun yliopisto, Fysiikan laitos, Teollisuusfysiikan laboratorio
Pro gradu -tutkielma (marraskuu 2003) 83 s.

Differentiaalinen pyyhkäisykalorimetria (DSC) on eräs termooanalyttinen tutkimusmenetelmä, jota käytetään paljon eri teollisuuden aloilla määrittämään eri materiaalien lämpöominaisuuksia. Näyttemateriaalin reaktioissa vapautuu tai sitoutuu energiaa. DSC:llä voidaan mitata näiden reaktioiden lämpötilat ja entalpian muutokset. Differentiaaliset pyyhkäisykalorimetrialaitteistot voidaan jakaa mittausten menetelmän mukaan kahteen tyyppiin: lämpövuoto DSC:ksi tai tehokompensoivaksi DSC:ksi.

Farmaseuttisille ja orgaanisille materiaaleille tehtävistä testeistä yksi tärkeimpiä on niiden puhtauden määrittäminen DSC:llä. Puhtauden määrittämisen etuna DSC:llä on muun muassa sen nopeus.

Työn tarkoituksena oli selvittää neljän eri DSC-laitteiston perusominaisuuksia ja kunkin laitteiston erityispiirteet. Tavoitteena oli lisäksi tarkastella DSC:n ajoparametrien vaikutus DSC:n kuvaajaan ja määrittää kolmen glukoosianhydraattierän puhtaus DSC:llä.

Eri laitteistojen ominaisuuksien ja vertailumittauksien perusteella DSC 7 ja DSC Diamondin voidaan katsoa soveltuvan parhaiten tarkkoihin mittauksiin. FP84HT ja DSC 20 soveltuvat käytettäväksi suuntaa antavissa mittauksissa ja opetuskäytössä esimerkkinä lämpövuoto DSC:n toiminnasta.

Mittauksissa tarkasteltiin lämmitysnopeuden, näytteen massan, huuhtelukaasun virtausnopeuden ja partikkelikoon vaikutusta DSC:n kuvaajaan. Lämmitysnopeuden vaikutuksesta voitiin mittausten perusteella todeta, että mitä suurempi lämmitysnopeus, sitä suurempi on glukoosianhydraatin sulamispiikin pinta-ala. Suuremmalla lämmitysnopeudella näytti olevan myös korkeampi onsets-lämpötila ja laajempi sulamisväli. Massan voitiin mittaustulosten perusteella havaita vaikuttavan glukoosianhydraatin sulamispiikin korkeuteen. Näytteen isommalla massalla sulamispiikki oli korkeampi. Huuhtelukaasun virtausnopeuden arvolla 25 ml/min glukoosianhydraatin sulamisen voitiin nähdä alkavan hieman myöhemmin. Muilla virtausnopeuden arvoilla piikit näyttivät olevan lähes päällekkäin mittauskuvajassa. Mittaustuloksista ei voitu havaita mitään selvää johdonmukaisuutta. Laktoosimonohydraatilla suoritetuista partikkelikoon vaikutusmittauksista voitiin havaita näytteen ominaislämpötilojen olevan suuremmat isommille partikkelikoille. Transitiolämmölle tilanne näytti olevan päinvastainen.

Puhtauden määrittäminen DSC:llä osoittautui varsin nopeaksi ja yksinkertaiseksi tavaksi määrittää näytteen puhtaus. Menetelmän etuna oli myös se, että määrittämisessä ei tarvittu suuria näytekokoja ja määrittämisessä puhdasta näytettä ja epäpuhtautta ei tarvinnut erotella toisistaan, kuten esimerkiksi kromatografisilla tekniikoilla. Toisaalta menetelmän käytössä piti olla varovainen, sillä sen käyttöön liittyy useita reunaehtoja, joiden vuoksi menetelmä soveltuu vain melko puhtaille näytteille.

Asiasanat: lämpövuoto DSC, tehokompensoiva DSC, glukoosianhydraatti, laktoosimonohydraatti, puhtaus

SALISYLAATTIEN IMEYTYMISMEKANISMIIEN TUTKIMINEN CACO-2 SOLUILLA

Katja Suhonen, Helsingin yliopisto, Farmasian laitos, Farmasian teknologia
Pro gradu -tutkielma (helmikuu 2003) 74 s., 16 liites.

Caco-2 solut ovat peräisin ihmisen paksusuolen syöpäkudoksesta. huolimatta paksusuolialkuperästään voidaan soluja käsitellä niin, että ne erilaistuvat muistuttamaan mahdollisimman tarkasti ihmisen ohutsuolen epiteelisoluja (entrosyyttejä). Salisyllaattien kulkeutumisen on osoitettu tapahtuvan pH-jakautumisteorian mukaisesti, mutta ennen kaikkea yhdisteiden kulkeutumiseen vaikuttaa protonigradientti solukalvon eri puolilla. Lisäksi on esitetty teorioita, joiden mukaan aktiivisesta kuljetuksesta huolehtivan, solukalvon apikaalipuolella sijaitsevan, monokarboksylihappotransportterin (MCT) uskotaan katalysoivan yhdisteiden läpäisyä.

Tässä erikoistyössä tutkittiin Caco-2 soluviljelmien avulla salisyllaattien imeytymismekanismia ja MCT:n vaikutusta salisyllaattien (salisyylihappo, 2-naftoli-1-karboksyylihappo, 5-klorosalisyylihappo, 5-hydraksi-isoftaalihappo, bentsoehappo, gentisiinihappo) kokonaiskulkeutumiseen. Solukerroksen aiheuttaman sähköisen vastuksen (TEER) avulla arvioitiin yksisolukerroksen integriteetin kehittymistä kasvatuskalvoille siirrostamisen jälkeen sekä kulkeutumiskokeiden aikana. Kulkeutumiskokeiden jälkeen mitatut TEER-arvot laskivat lähes säännönmukaisesti puoleen tai alle puoleen lähtötasosta, mikä tarkoitti solujen välisten tiiviiden liitosten löystyneen ja parasellulaariläpäisyn lisääntyneen kokeiden aikana. Solukerroksen integriteetin seuraamiseen käytettiin myös radioaktiivisesti (¹⁴C) leimattua mannitolia, joka kulkeutui solukerroksen läpi lähinnä parasellulaarireittiä. Mannitolin kulkeutuminen lisääntyi erityisesti jos salisyllaattien kulkusuunta kokeissa oli basolateraalipuolelta apikaalipuolelle. Tähän oli ilmeisesti syynä se, että solukalvon basolateraalipuoli oli apikaalipuolta herkempi erilaisille muutoksille ja salisyllaatit olivat todennäköisesti solutoksia tutkituilla pitoisuuksilla.

Protonigradientti tehosti salisyylihapon, 2-naftoli-1-karboksyylihapon, bentsoehapon ja 5-klorosalisyylihapon kulkeutumista apikaali-basolateraalisuunnassa ja tähän suuntaan tehdyissä kokeissa hävisivät sink-olosuhteet. Tästä johtuen yhdisteiden kulkeutumiskuvaajat kaartuivat. Aktiivisen kuljetuksen osuutta salisyylihapon kokonaiskulkeutumisessa arvioitiin kylmäkokeella (+4(aste)C). Lämpötilan lasku vähensi huomattavasti yhdisteen kulkeutumista apikaali-basolateraalisuunnassa verrattuna yhdisteen kulkeutumiseen fysiologisessa lämpötilassa. Tämä johtui ilmeisesti kylmyyden aiheuttamasta solujen energiatuotannon heikkenemisestä ja MCT:n toiminnan hidastumisesta. Bentsoehappo ja salisyylihappo eivät inhiboineet toistensa kulkeutumista, vaikka ne olivat toistensa rakenteellisia analogeja ja niiden olisi pitänyt kilpailla samasta kuljetusmekanismista. Salisyylihapon aktiiviselle kuljetukselle ei näin ollen saatu vahvistusta. 5-hydroksi-isoftaalihappo ja gentisiinihappo läpäisivät solukerroksen todennäköisesti parasellulaarireittiä, sillä yhdisteiden kulkeutumiskuvaajat olivat lähes identtiset samoista kokeista saatujen mannitolin kulkeutumiskuvaajien kanssa.

Asiasanat: Caco-2 soluviljelmät, salisyllaatit, monokarboksylihappotransportteri (MCT), aktiivinen kuljetus

ERÄÄN LÄÄKEAINEEN FYSIKAALISEEN KARAKTERISOINTIIN LIITTYVIÄ TUTKIMUKSIA

Hanna Isotalo, Turun yliopisto, Fysiikan laitos, Teollisuusfysiikan laboratorio
Pro gradu -tutkielma (joulukuu 2003) 43 s., 11 liites.

Uuden lääkeaineen kehitysprosessissa on jo alkuvaiheessa kiinnitettävä huomiota fysikaalisten ja kemiallisten ominaisuuksien tuntemiseen. Erityisen kiinnostuksen kohteina ovat näiden ominaisuuksien vaikutukset lääkeaineen säilyvyyteen, imeytymiseen, biologiseen tehoon ja turvallisuuteen. Tässä tutkielmassa aiheena oli erään lääkeaineen kahden erilaisen partikkelikoon omaavan näytteen fysikaaliseen stabiiliuteen ja karakterisointiin liittyvien ominaisuuksien tutkiminen ja erityisesti partikkelikoon vaikutukset näiden tutkimusten tuloksiin.

Lääkeaineen fysikaaliseen stabiiliuteen liittyvien tekijöiden, kuten lämpö- ja kosteusrasituksen ja mekaanisen deformaation, vaikutuksia näyteaineiden kiderakenteisiin tutkittiin röntgendiffraktiomenetelmällä. Fysikaaliseen karakterisointiin liittyviä tutkimuksia suoritettiin röntgendiffraktiomenetelmällä, erilaisilla termooanalyttisillä menetelmillä, optisella mikroskopiolla ja BET-menetelmällä. Termooanalyttisistä menetelmistä käytössä olivat differentiaalinen pyyhkäisykalorimetria, termogravimetria ja Cloud Point -menetelmä. Karakterisointitutkimuksissa määritettiin lääkeaineen kiderakenne, termooanalyttinen käyttäytyminen ja näyteaineiden kideasullisia seikkoja, kuten partikkelikoko ja -muoto. Myös lääkeaineen sähköstaattista käyttäytymistä tutkittiin.

Stabiiliuteen liittyvien tutkimusten perusteella voidaan sanoa, että lääkeaine on erittäin stabiili poikkeavissa kosteus- ja lämpötilaolosuhteissa ainakin lyhyiden rasisaikojen osalta. Lääkeaine kestää tutkimusten valossa myös mekaanista jauhamista hyvin. Termooanalyttisissä tutkimuksissa kävi niin ikään ilmi, että lääkeaine kestää myös lämmittämistä erittäin hyvin.

Fysikaaliseen karakterisointiin liittyvissä tutkimuksissa eroavaisuudet näytteiden välillä johtuivat niiden erilaisesta partikkelikoosta. DSC:lla ja Cloud Point -menetelmällä tehdyissä tutkimuksissa pienemmän partikkelikoon näytteellä oli hieman matalampi sulamispiste. Ominaispinta-ala oli odotetusti suurempi pienemmän partikkelikoon näytteellä, partikkelin projisoitu pinta-ala taas huomattavasti pienempi. Myös partikkelien muodot poikkesivat näytteiden välillä. Sähköstaattisissa tutkimuksissa kävi ilmi, etteivät näyteaineet varaudu helposti.

Asiasanat: stabiilius, karakterisointi, röntgendiffraktio, termooanalyysi, optinen mikroskopia, BET-menetelmä

JAUHEIDEN MUODONMUUTOSOMINAISUUDET JA PURISTUSKÄYTTÄYTYMINEN SEKÄ MUODONMUUTOKSEN TUTKIMINEN CREEP-TESTEILLÄ

Leena Ihalainen, Helsingin yliopisto, Farmasian laitos, Farmasian teknologia
Pro gradu -tutkielma (toukokuu 2003) 84 s.

Farmaseuttisten jauheiden puristuskäyttäytyminen vaihtelee hyvin paljon. Joillakin materiaaleilla on luontaisesti hyvät sitoutumisominaisuudet ja niistä saadaan helposti puristettua hyvälaatuisia lujia tabletteja. Toiset materiaalit puolestaan muodostavat vain väliaikaisia sidoksia, jotka hajoavat puristuksen loputtua, jolloin materiaalista ei synny kunnollista tablettia. Materiaalit voidaan jakaa pääasiällisen muodonmuutosmekanismin perusteella kolmeen perustyyppiin: plastisiin, elastisiin tai fragmentoituviin eli murtuviin materiaaleihin, joista elastinen muodonmuutos on palautuvaa ja plastinen muotoutuminen sekä fragmentoituminen pysyvää muodonmuutosta. Muodonmuutosmekanismi vaikuttaa materiaalin muotoutumisen riippuvaisuuteen puristusaineesta ja kontaktiajasta.

Varsinkin teollisessa tablettien valmistuksessa on tärkeää, että saadaan puristetuksi mahdollisimman suuri määrä tabletteja mahdollisimman lyhyessä ajassa. Kuitenkin jos puristusprosessi on liian lyhyt, voivat tablettimassan tiivistymis- ja sitoutumisominaisuudet huonontua. Tutkimalla materiaalien muodonmuutuskäyttäytymistä puristuksessa, saadaan niistä arvokasta tietoa, mitä voidaan soveltaa erilaisia tablettiformulaatioita kehitettäessä. Esimerkiksi kun uuden lääkeaineen muodonmuutosmekanismi on selvitetty, voidaan sille valita sopivat apuaineet tabletointiin.

Tässä tutkimuksessa tarkasteltiin materiaalien muodonmuutuskäyttäytymistä ja muotoutumisen riippuvuutta eri tekijöistä sekä muotoutumisen vaikutusta tabletoitavuuteen. Kokeellisessa osassa suoritettiin materiaaliterillä creep-testejä useille muodonmuutosmekanismeiltaan erilaisille farmaseuttisille jauheille. Creep-testit ovat jauheiden väsytykokeita, joissa ylläpidetään vakioapuristusainetta tiivistämällä jauhepatsasta jatkuvasti jännityksen purkautuessa ja materiaalin muodonmuutosta seurataan ajan funktiona. Pääasiällisenä tarkoituksena oli tutkia, saadanko tässä tutkimuksessa käytetyllä materiaaliterillä ja tutkimuksen koejärjestelyillä luotettavia tuloksia materiaalien muodonmuutosominaisuuksia tutkittaessa, jotta kyseistä tutkimustapaa voisi myöhemmin käyttää muun muassa jauheseosten ja uusien apuaineiden tutkimisessa, Tulosten käsittelyä varten laskettiin kolme eri muodonmuutosta kuvaavaa parametria: $1/k_1$ eli näennäisviskositeetti, joka on plastisilla materiaaleilla pieni, J_e eli elastinen komplianssi, joka kvantifioi elastisen muodonmuutoksen ja k_2 eli viskoelastisen alueen aikavakio, joka kertoo muodonmuutoksen hitaudesta ollen plastisilla materiaaleilla suuri.

Saadut tulokset olivat aiempien tutkimusten kanssa samansuuntaisia. Esimerkiksi erittäin murtuva materiaali Emcompress[®] sai selkeästi fragmentoituvimpaan materiaaliin viittaavat arvot, kun taas plastinen ja hyvin elastinen perunatärkkelys sai melko pieniä näennäisviskositeetin arvoja ja suuria elastisen komplianssin arvoja. Tutkituista parametreista näennäisviskositeetti ja elastinen komplianssi näyttäisivät olevan informatiivisempia kuin viskoelastisen alueen aikavakio materiaalien muodonmuutuskäyttäytymistä tarkasteltaessa. Tutkimus kaiken kaikkiaan antaa hyvän pohjan jatkotutkimuksille esimerkiksi uusia lääkeaineita ja jauheseoksia silmällä pitäen, vaikkakin menetelmä kaipaa vielä kehittelyä.

Asiasanat: elastinen muodonmuutos, plastinen muodonmuutos, fragmentoituminen, creep-testit

PREPARATION OF NANOPARTICLES CONSISTING OF METHACRYLIC POLYMERS AND DRUGS BY AN AEROSOL FLOW REACTOR METHOD

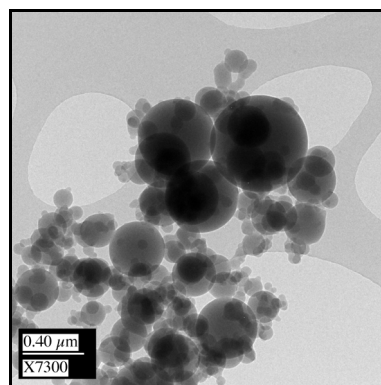
Hannele Eerikäinen,

University of Helsinki, Department of Chemistry, Laboratory of Polymer Chemistry

Drug-containing polymer nanoparticles are submicron-sized particles consisting of a drug and a stabilising or a functional polymer. In this experimental study, methacrylic polymer nanoparticles with and without incorporated model drug were prepared using a novel method, namely, aerosol flow reactor method. This method involves first preparing a solution containing the drug and the polymer, followed by spraying the solution as nanosized droplets into a carrier gas stream, then drying the nanoparticles in a tubular laminar flow reactor tube, and finally collecting the nanoparticles. Model polymers used in this study were Eudragit L, Eudragit E, and Eudragit RS, which are commonly used methacrylic polymers in the pharmaceutical industry. Model drugs studied were beclomethasone dipropionate, ketoprofen, and naproxen.

Various properties of the prepared nanoparticles were studied, such as particle size and size distribution, morphology, crystallinity, thermal properties, drug content, and drug release. It was found that this method was able to produce amorphous, spherical, homogeneous matrix-type drug-polymer nanoparticles. The size of the particles could be adjusted between 90 and 200 nm by the concentration of the solution, and the particle size distribution was lognormal. The morphology of the particles could be varied as a function of the properties and composition of the solution.

The nanoparticles were collected as dry powders, but the stability of the powders in an amorphous form was dependent on the interactions between the drug and the polymer. When the amount of the drug in the nanoparticles was below the solubility limit of the drug in the polymer, the amorphous nanoparticles were found to be stable and no crystallisation of the drug took place. When the amount of the drug was larger than the solubility limit, large crystalline structures were formed due to crystallisation of the drug. The crystallisation was also dependent on the thermal properties of the drug, as amorphous nanoparticles consisting of a drug could be collected at room temperature, when the glass transition temperature of the drug was high. A low glass transition temperature of the drug led to crystallisation of the drug at ambient conditions, when the drug amount in the nanoparticles was larger than the solubility limit. It was possible to modify drug release from the nanoparticles by using polymers having specific solubility properties. The nanoparticles were found to be physically stable for a time period of at least three months.



TEM image of nanoparticles containing 60% (w/w) BDP and 40% (w/w) Eudragit L (III).

UUSIA NÄKÖKULMIA KIINTEIDEN LÄÄKEVALMISTEIDEN VISUAALISEEN KARAKTERISOINTIIN

Niklas Laitinen,

Helsingin yliopisto, Farmasian laitos, Farmasian teknologian osasto

Proviisori Niklas Laitisen väitöskirja ”Opening new perspectives for visual characterisation of pharmaceutical solids” tarkastettiin Helsingin yliopiston matemaattis- luonnontieteellisessä tiedekunnassa 13.6.2003. Farmasian teknologiaan kuuluvassa väitöksessä vastaväittäjänä toimi tohtori Robert T. Forbes Bradfordin yliopistosta ja kustoksena Professori Jouko Yliruusi. Elektroninen versio väitöskirjasta on osoitteessa:

<http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/mat/farma/vk/laitinen/>

Kiinteiden lääkevalmisteiden fysikaalinen karakterisointi on olennainen osa lääkkeiden kehitysprosessia. Optimaalisten analyysimenetelmien kehittäminen parantaa lääkkeiden valmistusprosessien tehokkuutta. Tunnusomaisen kuvainformaation käyttö farmasian teknologiassa on perinteisesti ollut erittäin rajallista. Kyseisen aihepiirin kehittäminen ja tutkiminen on haasteellista kiinteiden lääkevalmisteiden karakterisoinnin näkökulmasta. Kuvainformaation hyödyntämiseen perustuvien partikkelien karakterisointimenetelmien kehittämisen tulisi keskittyä luotettaviin, nopeisiin ja helposti käytettäviin menetelmiin. Uudenlaiset lähestymistavat visuaalisen karakterisoinnin alueella tuovat uusia näkökulmia farmasian teknologiassa käytettäviin analyysitekniikoihin.

Väitöskirjatutkimuksen tarkoituksena oli kehittää uusia keinoja käyttää kuvainformaatiota farmaseuttisessa jauheteknologiassa ja kiinteiden lääkevalmisteiden karakterisoinnissa. Väitöstyössä haluttiin laajentaa kuvainformaation hyödyntämistä jauheteknologiassa perinteisiin kuva-analyysitekniikoiden nähden, joilla on tavallisesti mitattu ainoastaan yksittäisiä partikkeleita kuvaavia ominaisuuksia. Tavoitteena oli tarkastella kiinteiden lääkkeiden valmistuksessa käytettäviä jauheita suurempina populaatioina pintakuvien avulla. Päämääränä oli erottaa pintakuvista oleellista, analysoitavaan materiaaliin liittyvää, informaatiota. Pintakuvainformaatio pyrittiin yhdistämään kiinteiden lääkevalmisteiden fysikaalisiin ominaisuuksiin. Tutkimuksessa tarkasteltiin lisäksi kehitetyn pintakuvaustekniikan soveltumista lääkkeiden valmistukseen liittyvään prosessiseurantaan.

Väitöskirjatyössä tarkasteltiin lääkkeiden valmistuksessa käytettäviä jauhemateriaaleja täysin uudella tavalla hyödyntäen digitaalista kuvainformaatiota. Partikkelien tarkastelu pintakuvien avulla mahdollisti jauhekuvien luokittelun, partikkelikoon mittaamisen ja rakeiden tabletoitavuuden ennustamisen. Tutkimuksessa kehitettiin uusi jauhemaisen materiaalin partikkelikokoa kuvaava piirvektori, jota käytettiin menestyksellisesti partikkelikoon mittaamisessa. Väitöstyössä luotiin pohja ns. sisältöpohjaisen kuvahakutekniikan käytölle jauheiden pintakuvien vertailussa. Visuaaliseen tarkasteluun pohjautuvaa menetelmää hyödynnettiin myös tehokkaasti prosessiseurannan työkaluna. Pintakuvainformaation käyttö mahdollisti niin ikään rakeiden laadun varmistuksen rakeistusprosessin jälkeen. Tutkimuksessa luotu visuaalinen lähestymistapa kiinteiden lääkkeiden tutkimisessa avaa uusia käytännön mahdollisuuksia lääketeollisuuden materiaalitutkimukselle ja prosessiseurannan tehostamiseen.

VÄITÖSKIRJATYÖ PERUSTUU SEURAAVIIN JULKAISUIHIN

- I Laitinen, N., Antikainen, O., Mannermaa, J-P. and Yliruusi, J. 2000 Content-based image retrieval: a new promising technique in powder technology. *Pharmaceutical Development and Technology* , 5(2), 171-179.
- II Laitinen, N., Rantanen, J., Laine, S., Antikainen O., Räsänen, E., Airaksinen, S. and Yliruusi, J. 2002. Visualization of particle size and shape distributions using self-organizing maps. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 62(1), 47–60.
- III Laitinen, N., Antikainen, O. and Yliruusi J. 2002. Does a powder surface contain all necessary information for particle size distribution analysis? *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(4-5), 217-227.
- IV Laitinen N., Antikainen O., Rantanen, J. and Yliruusi, J. 2004. New perspectives for visual characterization of pharmaceutical solids, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 93(1), 165-176.

STARCH ACETATE AS A NOVEL TABLET EXCIPIENT FOR EXTENDED ORAL DRUG DELIVERY

Ossi Korhonen,
University of Kuopio

INTRODUCTION

In most cases, a tablet is the most desirable dosage form for human drug administration. The main advantages of dosing drugs in tablet form are the relatively simple production and patient acceptance, leading to good compliance and improved therapeutic efficacy. In the treatment of chronic diseases, once-a-day products with a constant drug release rate are desired. Many different technologies are under intensive investigation to reach this goal. Even so, the most commonly used approaches are still different kinds of matrix tablets, coated tablets and osmotic pumps prepared by natural or synthetic polymers. The main disadvantage in developing new formulations is that the preparation of a once-a-day product often demands sophisticated production technology. The most desired production method would be direct compression tableting, with as few excipients as possible, as it is a cheaper than complex processes.

Controlled drug delivery is defined as a technique or approach by which active chemicals are made available to a specified target at a rate and duration designed to accomplish an intended effect (Qiu and Zhang 2000). A typical controlled release system is designed to provide stable drug levels in plasma with reduced fluctuation via slow drug release over an extended period of time.

Until the last decade, the optimisation of drug formulation has been accomplished through trial and error, which is resource consuming. Today, the development and optimisation of formulations are based on well-established scientific principles (Gabrielsson et al. 2002). Due to this, and also due to the complex nature of formulations and preparation technologies, traditional statistical methods have not been able to interpret complex data very well. More recently, advanced statistical data analysis tools have been developed to increase the understanding of subtle relationships between factors and responses. Multivariate data analysis is often used in many fields of industry. In pharmaceutical technology, however, it has been practically neglected, although it has been shown to be powerful tool for modelling and predicting certain characteristics in complicated systems.

In pharmaceutical development, it is very important to understand the applicability of a product in humans as early as possible. In this way, inefficient products can be identified and excluded, thus reducing research and development costs. Early in vivo studies can also facilitate the creation of an in vitro – in vivo correlation (IVIVC). By the help of predictive IVIVC, it can be estimated how the changes in in vitro properties affect in vivo properties without biological studies.

In the present study, a novel tablet excipient, starch acetate, was investigated as an extended

drug release agent for once-a-day tablet product. These studies included the characterization of particle, powder and tableting properties, evaluation of in vitro drug release properties from a simple binary mixture of starch acetate-drug in direct compressed tablets using multivariate data analyses, administration of starch acetate – diltiazem hydrochloride tablets to the healthy human volunteers to evaluate pharmacokinetic parameters including, bioavailability and IVIVC.

SUMMARY

Oral administration is the most common form of drug administration, due to its good patient acceptance. To develop good quality, safe and potent drug delivery products requires an enormous amount of research on excipients and formulation design. The aim of this study was to evaluate the applicability of a novel starch acetate excipient for extended oral drug delivery.

Physicochemical properties of a starch acetate product having different degrees of substitution were studied. Effects of different drying methods on particle and powder properties and subsequent compactability were evaluated. Furthermore, release of different drugs from starch acetate tablets was analysed by multivariate data analyses. Finally, in vivo human studies were carried out to confirm the extended drug release characteristics of starch acetate tablets, and an in vitro – in vivo correlation was established using a novel direct cumulative under the curve approach.

Measured properties of the starch acetate were found to depend on the degree of acetate substitution. Starch acetate was found to be an amorphous polymer, where hydrophobicity increased as the degree of acetate substitution increased. The mechanical strength of tablets increased, and extended drug release could be found as the degree of acetate substitution increased. Using different drying methods, characteristics of particle, powder and consequent tableting properties could be affected. In particular, particles of different size, shape and surface properties could be produced. Drug release mechanisms from starch acetate tablets varied from Fickian diffusion to anomalous or even zero-order drug release, according to Power Law equation. As the release mechanism changed toward zero-order drug release, the lamination or cracking of the starch acetate tablet matrix became more dominant. Starch acetate was able to control the drug release rate between tablets with a desired drug. According to multivariate data analyses, molecule properties such as flexibility, hydrogen bonding capacity and molecular size parameters had a great impact on drug release kinetics and diffusional rate constants from starch acetate tablets. Factors that described tablet structure, and especially elasticity of the matrix, were identified as predictors of drug release rates in zero-order drug release. In vivo human studies confirmed that starch acetate could act as a release controlling excipient. An alternative approach was found to establish in vitro-in vivo correlation (IVIVC) as a predictable method for describing the correlation between the in vitro drug release and in vivo plasma concentration of diltiazem.

In conclusion, the present study demonstrated that novel starch acetate as an excipient can act as a release-controlling agent in extended oral drug delivery systems. It can be used as a direct compression excipient, and it allows for the formulation of drug release profiles in a simple way.

LIST OF THE ORIGINAL PUBLICATIONS

- I Ossi Korhonen, Pasi Raatikainen, Päivi Harjunen, Johanna Nakari, Eero Suihko, Soili Peltonen, Mika Vidgren, Petteri Paronen: Starch Acetates - Multifunctional Direct Compression Excipients. *Pharmaceutical Research* 17: 1138-1143, 2000
- II Ossi Korhonen, Seppo Pohja, Soili Peltonen, Eero Suihko, Mika Vidgren, Petteri Paronen, Jarkko Ketolainen: Effects of Physical Properties for Starch Acetate Powders on Tableting. *AAPS Pharmaceutical Science & Technology* 3(4), 2002
- III Ossi Korhonen, Antti Poso, Mika Vidgren, Petteri Paronen, Seppo Pohja, Jarkko Ketolainen: PCA- and PLS-analyses in evaluating drug release from starch acetate matrix tablets. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2003, Submitted
- IV Ossi Korhonen, Harri Kanerva, Mika Vidgren, Arto Urtti, Jarkko Ketolainen: Administration of Novel Starch Acetate – Diltiazem Controlled Release Tablets to Healthy Human Volunteers. *Journal of Controlled Release*, 2003, Accepted for publication

IONIVAHVUUS- JA pH-SENSITIIVISTEN OKSASTETTUIEN POLYMEERIMEMBRAANIEEN JA BIOHAJOAVIEEN POLYMEERIEEN FARMASEUTTIESET SOVELLUKSET

Tommy Tarvainen

Kuopion yliopisto, Farmasian teknologian ja biofarmasian laitos

Proviisori Tommy Tarvainen väitöskirja 'Ionic strength- and pH-responsive grafted polymer membranes and biodegradable polymers for pharmaceutical applications' tarkastettiin Kuopion yliopiston farmaseuttisessa tiedekunnassa 8.2.2003. Farmasian teknologian alaan kuuluvassa väitöksessä vastaväittäjänä toimi professori Jouni Hirvonen Helsingin yliopistosta ja kustoksena professori Kristiina Järvinen.

JOHDANTO

Uusien lääkeaineen annostelumenetelmien tutkimus on ollut suuren mielenkiinnon kohteena viime vuosikymmenien aikana, sillä niiden avulla voidaan lisätä mm. lääkeaineiden tehoa ja turvallisuutta. Useille lääkeaineille on ihanteellista lääkeaineen vapautuminen valmisteesta tasaisella nopeudella elimistöön. Tämä on toivottua etenkin kapean terapeuttisen pitoisuuden omaavilla lääkeaineilla. Optimaalinen lääkehoito ei kuitenkaan aina edellytä lääkeaineen vapautuvan valmisteesta vakionopeudella. Esimerkkinä voidaan mainita, että tasainen nitroglyseriinipitoisuus veressä voi aiheuttaa nitroglyseriinitoleranssin kehittymisen. Monesti tarvittaisiin lääkevalmisteita, joista lääkeainetta vapautuu jaksottaisesti oikea määrä, oikeaan aikaan ja oikeaan paikkaan elimistössä. Jaksottaisen, tarpeen mukaan tapahtuvan annostelun vaativia lääkeaineita nitroglyseriinin lisäksi ovat mm. insuliini, monet hormonit ja eräät antibiootit.

Jaksottainen vapautuminen voidaan aikaansaada annostelemalla lääkeaine valmisteesta, jossa lääkeaineen vapautumista säätelee muuntuva membraani, joka reagoi reversiibelisti joko ulkoiseen ärsykkeeseen tai elimistössä tapahtuvaan fysiologiseen muutokseen. Tällainen ulkoinen ärsyke voi olla mm. magneettinen oskillaatio, ultraääni ja sähkövirta. Systemit, joista lääkeaineen vapautumista säätelee elimistössä tapahtuva fysiologinen muutos, hyödyntävät mm. pH- ja lämpötila-sensitiivisiä polymeerejä, sekä polymeerikompleksi-systeemejä.

Elimistössä turvallisiksi yhdisteiksi pilkkoutuvien biohajoavien polymeerien avulla voidaan harventaa lääkeaineen annostelukertoja, annostella lääkeainetta halutulla nopeudella, sekä kohdentaa lääkeaine haluttuun paikkaan elimistöä. Markkinoilla on mm. biohajoavista polymeereistä valmistettuja syöpälääkevalmisteita. Biohajoavia polymeerejä on myös tutkittu käytettäväksi rokotteen, ehkäisy steroidien ja antibioottien säädelyssä vapautumisessa.

Väitöskirjatyön tavoitteena oli tutkia muuntuvan pH-sensitiivisen poly(akryylihapolla) (PAA) oksastetun poly(vinylideeni fluoridi) (PVDF) membraanin ja uusien biohajoavien polymeerien; oksatsoliinilla linkatun poly(maitohapon) (PEA) ja oksatsoliinilla linkatun poly(epsilon-kaprolaktonin) (PCL-O) soveltuvuutta farmaseuttisiksi kontrolloidusti lääkeainetta vapauttaviksi valmisteiksi. Lääkeaineiden vapautuminen muuntuvista membraanivalmisteista tutkittiin in vitro ja in vivo. Työssä selvitettiin uusien biohajoavien polymeerien hydrolyyttinen ja entsyymaattinen hajoaminen, sekä erilaisten malliaineiden vapautuminen polymeerivalmisteista.

TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU

Lääkeaineiden sitoutuminen muuntuvaan PAA-PVDF membraaniin

Muuntuva PAA-PVDF membraani muodostuu huokoisesta (huokoskoko 0,22 µm) PVDF-rungosta, johon on oksastettu pH:n ja ionivahvuuden muutoksiin reagoivia PAA-ketjuja. Lääkeaineita voitiin adsorboida PAA-PVDF membraaniin. Sähköisesti neutraalin diatsepaamin sitoutuminen PAA-PVDF membraaniin oli vähäistä, koska diatsepaamin sitoutuminen membraaniin tapahtui heikkojen sidosten avulla. Kationisten malliaineiden sitoutuminen membraaniin oli huomattavasti suurempaa kuin neutraalin malliaineen, sillä kationiset lääkeaineet

sitoutuivat membraaniin elektrostaattisten vuorovaikutusten avulla. Lisäksi lääkeaineiden lipofiilisyyttä vaikutti oleellisesti kationisten malliaineiden sitoutumiseen membraaniin: mitä lipofiilisempi malliaine, sitä enemmän malliainetta sitoutui membraaniin.

Myös adsorptioliuoksen ionivahvuudella oli merkittävä vaikutus lääkeaineen sitoutumiseen PAA-PVDF membraaniin. Adsorptioliuoksen ionivahvuuden kasvu pienensi kationisten lääkeaineiden adsorptiota membraaniin, koska kationiset ionit kilpailevat kationisen lääkeaineen kanssa anionisessa membraanissa olevista sitoutumispaikoista.

Ionivahvuuden vaikutus lääkeaineiden vapautumiseen muuntuvista membraanivalmisteista

Adsorptio- ja vapautumisliuosten ionivahvuudet vaikuttivat kationisten lääkeaineiden vapautumiseen PAA-PVDF membraanista in vitro, mutta ne eivät vaikuttaneet sähköisesti neutraalin diatsepaamin vapautumisnopeuteen membraanista. Kationisten malliaineiden vapautumisnopeus oli suurin, kun lääkeaine oli sidottu membraaniin matalassa ionivahvuudessa ja vapautumisnesteen ionivahvuus oli korkea. Kun taas, kationisten malliaineiden vapautumisnopeus oli hitain, kun lääkeaine oli sidottu membraaniin korkeassa ionivahvuudessa ja vapautumisnesteen ionivahvuus oli matala. Havaittu tulos selittyy muuttuvan membraanin ioninvaihto-ominaisuudella. Eli kun lääkeaine adsorboidaan kationinvaihto-membraaniin liuoksessa, jossa on korkea pitoisuus muita kationeja (esim. Na⁺), niin membraanin ioninvaihto kapasiteetti saturoituu enemmän muilla ioneilla kuin lääkeaineella. Tällöin kationinvaihto prosessi vapauttaa membraaniin sitoutuneen lääkeaineen hitaasti matalassa ionivahvuudessa. Kun lääkeaine sidotaan membraaniin matalassa ionivahvuudessa, niin lääkeaine vapautuu membraanista nopeasti korkeassa ionivahvuudessa.

Muuttamalla adsorptioliuoksen ionivahvuutta kationisten malliaineiden vapautumisnopeutta voitiin säädellä myös kanin silmässä.

pH:n vaikutus lääkeaineiden vapautumiseen muuntuvista membraanivalmisteista

Vapautumisnesteen pH:n vaikutus malliaineiden vapautumiseen muuntuvista membraanipusseista oli riippuvainen malliaineen varauksesta ja molekyylipainosta in vitro. Neutraalin kofeiinin, kationisen propranololi-HCl:n ja suuren molekyylikoon omaavan FITC-dekstraanin (mp. 4400) vapautumisnopeus kasvoi, kun vapautumisnesteen pH laski. Tämä aiheutui muuttuvan membraanin PAA-ketjujen turpoamisesta ja kutistumisesta pH:n muuttuessa. Korkeassa pH:ssa (7,0) PAA-ketjut ionittuvat ja turpoavat tukkien PVDF-membraanin huokoiset, jonka seurauksena lääkeaineen vapautuminen hidastuu tai estyy kokonaan. Matalassa pH:ssa (2,0) PAA-ketjut eivät ole ionittuneena, jolloin ne ovat kutistuneessa muodossa, jonka seurauksena PVDF-membraanin huokoiset ovat auki ja lääkeaine pääsee vapaasti vapautumaan.

Toisin kuin muiden malliaineiden, anionisen natriumsalisylaatin vapautumisnopeus oli suurempi pH:ssa 7,0 kuin pH:ssa 2,0, vaikka PAA-ketjut tukkivat PVDF-membraanin huokoiset pH:ssa 7,0. Tätä tulosta osaltaan selittää natriumsalisylaatin suurempi liukoisuus pH:ssa 7,0 kuin pH:ssa 2,0. Sillä pH:ssa 7,0 mm. pussin sisäinen osmoottinen paine sekä membraanin välillä oleva natriumsalisylaatin konsentraatiogradientti ovat suurempia kuin pH:ssa 2,0. Lisäksi natriumsalisylaatin kasvanut liukoisuus pH:ssa 7,0 saattaa aiheuttaa pussin sisäisen pH:n laskun, jonka seurauksena voi tapahtua muutoksia PAA-ketjujen turpoamisasteessa.

Malliaineiden (propranololi-HCl mp. 295,8 ja FITC-dekstraani mp. 4400) vapautuminen membraanipusseista tutkittiin in vivo rotilla ja koirilla (Kuopion yliopiston koe-eläintoimikunta hyväksynyt koe-eläinkoesuunnitelman). Malliaineiden vapautuminen tutkittiin sekä koe-eläinten mahassa että pohjukaissuolessa. In vivo lääkeaineiden vapautuminen ei kuitenkaan ollut pH:sta riippuvaista. In vitro kokeet tukevat olettamusta, että elimistön musiinikerroksen ja membraanipussin PAA-ketjujen väliset vuorovaikutukset peittävät pH:n vaikutuksen in vivo ja täten lääkeaineiden vapautuminen ei ole täysin pH:sta riippuvaista ruuansulatuskanavassa.

Uusien biohajoavien polymeerien hajoaminen ja eroosio

Poly(D,L-laktidi) (PDLLA) ja poly(epsilon-kaprolaktoni) (PCL) ovat biohajoavia polymeerejä, joiden hydrolyyttinen hajoaminen elimistössä on hidasta. Suuren molekyylipainon omaavista poly(laktideista) valmistetuista lääkevalmisteista, lääkeaineiden vapautumista säätelee sekä lääkeaineen diffuusio että polymeerin eroosio. Polylaktidi valmisteiden kohdalla erityisesti hydrofiilisten makromolekyylien, kuten hormonien,

peptidien ja proteiinien vapautumisessa on nähtävissä pitkä viiveaika. Tätä havaittua viiveaikaa makromolekyyliden vapautumisessa voidaan pienentää nopeuttamalla polyaktidien hajoamisnopeutta. Myös PCL:n nopeampi hajoaminen olisi toivottavaa, sillä PCL valmisteista pienten lääkeaineiden vapautuminen diffuusiolla on selvästi nopeampaa kuin PCL:n hajoaminen. Oksatsoliini-linkkauksen avulla voitiin nopeuttaa oleellisesti sekä PCL:n että PDLLA:n hajoamista.

Viimeaikoina PCL mikropartikkeleita on tutkittu hyödynnettäväksi mm. oraalisten rokotteiden annosteluun. Tämän vuoksi PCL:n ja PCL-O:n hajoaminen tutkittiin keinotekoisessa maha- ja ohutsuolinesteessä. Keinotekoisesta mahaneesteestä pepsini ei nopeuttanut kummankaan kaprolaktonin hajoamista. Keinotekoisesta ohutsuolinesteestä pankreatiini, joka sisältää amylaasi, lipaasi ja proteaasi aktiivisuutta, ei vaikuttanut PCL:n eroosioon, mutta nopeutti PCL:n hajoamista. PCL-O kalvot erodoituivat kokonaan, vaikka PCL-O:n molekyylipainon lasku oli vähäistä. Kuten PCL-O kalvot, niin myös PCL-O mikropartikkelit ja implantaatit hajoivat pintaeroosiolla. Yhteenvedon voidaan todeta, että keinotekoisesta ohutsuolinesteestä PCL:n ja PCL-O:n eroosio mekanismit olivat erilaiset: PCL hajosi bulk eroosiolla, kun PCL-O hajosi pintaeroosiolla.

Lääkeaineiden vapautuminen biohajoavista polymeerivalmisteista

Implantoitavat valmisteet

Polyaktidi filmeistä malliaineiden vapautuminen oli joko kaksivaiheista (guaifenesiini ja timololi) tai kolmivaiheista (natriumsalisylaatti); malliaineilla oli havaittavissa alussa nopea lääkeaineen vapautumisvaihe, jonka jälkeen lääkeaineen vapautuminen hidastui oleellisesti. Natriumsalisylaatilla oli lisäksi lopussa nähtävissä nopea lääkeaineen vapautumisvaihe. Tällainen vaiheittainen lääkeaineen vapautuminen polyaktidi-valmisteista on yleistä. Alun nopea vapautumisvaihe on seurausta malliaineen vapautumisesta valmisteen pinnasta ja sen läheisyydestä. Toisen ja kolmannen vapautumisvaiheen aikana lääkeaine vapautuu diffuusiolla ja polymeerin hajoamisen/eroosion myötä.

Malliaineiden vapautumisprofiilit PEA filmeistä poikkesivat huomattavasti toisistaan. Neutraalin guaifenesiinin vapautuminen oli merkittävästi nopeampaa PDLLA filmeistä kuin PEA filmeistä. PEA:n kohdalla oli havaittavissa pitkä viiveaika guaifenesiinin vapautumisessa, joka selittyy guaifenesiinin heikolla läpäisevyydellä PEA filmin läpi. Viiveajan jälkeen tapahtuva guaifenesiinin nopea vapautuminen aiheutui todennäköisesti PEA filmin hajoamisen seurauksena.

Timololin vapautuminen PDLLA filmeistä oli nopeaa ensimmäisen viikon aikana, jonka jälkeen vapautuminen hidastui oleellisesti. Joidenkin emäksisten lääkeaineiden onkin todettu hidastavan PDLLA hajoamista ja sitä kautta lääkeaineen vapautumista. Timololin vapautumisessa PEA filmeistä oli havaittavissa kolmen päivän viive, jonka jälkeen timololi vapautui noudattaen neliöjuuri-kinetiikkaa. Natriumsalisylaatin vapautumisessa PEA filmeistä oli havaittavissa alussa nopean vapautumisen vaihe, jota seurasi hitaan vapautumisen vaihe.

Kaprolaktonien kohdalla oksatsoliini-linkkauksella ei ollut vaikutusta malliaineina käytettyjen guaifenesiinin, griseofulviinin ja timololin vapautumisnopeuteen. Kyseisten malliaineiden vapautuminen tapahtui diffuusiolla sekä PCL että PCL-O filmeistä. Malliaineiden vapautuminen filmeistä tapahtui muutaman päivän aikana, jonka vuoksi polymeerien hajoamisella ja eroosiolla ei ollut vaikutusta lääkeaineiden vapautumisnopeuksiin.

Esimerkiksi makromolekyylit voivat hajota polymeerivalmisteiden valmistuksen yhteydessä käytettävien orgaanisten liuottimien vaikutuksesta. Liuottimien käyttö voidaan korvata mm. valmistamalla polymeerivalmisteet suulakepuristimella käyttäen mietoa lämpöä. Suulakepuristimen avulla voitiin valmistaa eri kokoisia huokosettomia polymeerivalmisteita.

Mikropartikkelit

Mikropartikkelit valmistettiin vesi-öljy-vesi (v/ö/v) kaksoisemulsio-tekniikalla. Menetelmällä saatiin valmistettua pyöreitä, tasaisia ja huokoisia mikropartikkeleita. Pienen molekyylipainon omaava timololi vapautui diffuusiolla sekä PCL että PCL-O mikropartikkeleista jo yhdessä vuorokaudessa. Tulos oli yhdenmukainen muiden tutkimusryhmien kanssa, sillä pienet lääkeaineet vapautuvat yleensä nopeasti kaprolaktoni-mikropartikkeleista.

Makromolekyylin (FITC-dekstraani, mp. 4400) vapautuminen tutkituista mikropartikkeleista oli huomattavasti hitaampaa, sillä polymeerin hajoaminen ja eroosio vaikuttivat makromolekyylin vapautumiseen. FITC-dekstraanin vapautumisessa PCL, PCL-O, PDLLA ja PEA mikropartikkeleista oli nähtävissä osa tai kaikki neljästä erilaisesta vapautumisvaiheesta, jotka voidaan selittää seuraavanlaisesti; 1) nopean vapautumisen vaihe aiheutui mikropartikkelien pinnalta vapautuvasta lääkeaineesta, 2) tasaisen vapautumisen vaihe oli seurausta mikropartikkelien pinnan läheisyydestä diffuusiolla vapautuvasta lääkeaineesta 3) hitaan vapautumisen vaihe aiheutui lääkeaineen estyneestä diffuusiosta mikropartikkelien sisemmistä osista, sekä 4) lopun nopea vapautumisen vaihe oli seurausta mikropartikkelien eroosiosta. Oksatsoliini-linkkaus nopeutti FITC-dekstraanin vapautumista sekä kaprolaktoni että polylaktidi mikropartikkeleista, koska oksatsoliini-linkkaus nopeutti polymeerin hajoamista ja eroosiota.

Keinotekoisessa ohutsuolinesteessä (sisältää pankreatiinia) FITC-dekstraanin vapautuminen PCL-O ja PCL mikropartikkeleista oli merkittävästi nopeampaa kuin fosfaattipuskurissa. PCL-O mikropartikkelien kohdalla tulos oli odotetun kaltainen, koska PCL-O kalvojen oli huomattu erodoituvan keinotekoisessa ohutsuolinesteessä. Yllättävä FITC-dekstraanin nopea vapautuminen PCL mikropartikkeleista keinotekoisessa ohutsuolinesteessä saattoi aiheutua PCL mikropartikkelien hajoamisesta (polymeerin molekyylipainon pieneneminen) pankreatiinin vaikutuksesta.

YHTEENVETO

Tässä väitöskirjatyössä esiteltiin uusia polymeerejä kontrolloituun lääkeaineen annosteluun. Tulokset osoittivat, että lääkeaineiden adsorptioon ja vapautumiseen pH-sensitiivisestä PAA-PVDF membraanista vaikutti mm. väliaineen pH ja ionivahvuus, sekä lääkeaineen fysikaaliskemialliset ominaisuudet (varaus, rasvaliukoisuus ja molekyyliaino). Lääkeaineiden vapautuminen PAA-PVDF membraanipusseista ei ollut niin pH riippuvaista in vivo kuin in vitro. Perinteisten biohajoavien polymeerien, polylaktidin ja polykaprolaktonin, hajoamisnopeutta voitiin nopeuttaa oksatsoliini-linkkauksella. Lisäksi oksatsoliini-linkkaus vaikutti lääkeaineiden vapautumisprofiileihin sekä PLA ja PCL valmisteista. Uudet biohajoavat polymeerit, PEA ja PCL-O, voivat tarjota hyvän vaihtoehdon lääkeaineen säädelyyn vapautumiseen polylaktidin ja polykaprolaktonin rinnalle.

VÄITÖSKIRJA PERUSTUU SEURAAVIIN JULKAISUIHIN:

- I Tarvainen T, Svarfvar B, Åkerman S, Savolainen J, Karhu M, Paronen P, Järvinen K: Drug release from a porous ion-exchange membrane in vitro. *Biomaterials* 20: 2177-2183, 1999
- II Tarvainen T, Svarfvar B, Säaskilahti M, Urtti A, Paronen P, Järvinen K: Drug release from cation exchange membrane in rabbit eye. *J Ocul Pharm Ther* 15: 497-504, 1999
- III Järvinen K, Åkerman S, Svarfvar B, Tarvainen T, Viinikka P, Paronen P: Drug release from pH and ionic strength responsive poly(acrylic acid) grafted poly(vinylidene fluoride) membrane bags in vitro. *Pharm Res* 15: 802-805, 1998
- IV Tarvainen T, Nevalainen T, Sundell A, Svarfvar B, Hyrsylä J, Paronen P, Järvinen K: Drug release from poly(acrylic acid) grafted poly(vinylidene fluoride) membrane bags in the gastrointestinal tract in the rat and dog. *J Controlled Release* 66: 19-26, 2000
- V Tarvainen T, Karjalainen T, Malin M, Pohjolainen S, Tuominen J, Seppälä J, Järvinen K: Degradation of and drug release from a novel 2,2-bis(2-oxazoline) linked poly(lactic acid) polymer. *J Controlled Release* 81: 251-261, 2002
- VI Tarvainen T, Karjalainen T, Malin M, Peräkorpä K, Tuominen J, Seppälä J, Järvinen K: Drug release profiles from and degradation of a novel biodegradable polymer, 2,2-bis(2-oxazoline) linked poly(ϵ -caprolactone). *Eur J Pharm Sci* 16: 323-331, 2002
- VII Tarvainen T, Malin M, Suutari T, Pöllänen M, Tuominen J, Seppälä J, Järvinen K: Pancreatin enhanced erosion of and macromolecule release from 2,2-bis(2-oxazoline) linked poly(ϵ -caprolactone). *J Controlled Release* 86: 213-222, 2003

MODIFICATION BY SPRAY DRYING OF THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF LACTOSE PARTICLES USED AS CARRIERS IN A DRY POWDER INHALER

Päivi Harjunen

Kuopion yliopisto, Farmasian teknologian ja biofarmasian laitos

Drug delivery by inhalation has traditionally been used for topical action to treat pulmonary diseases but systemic absorption has also been investigated over the past few years. Three main delivery systems have been devised, namely metered dose inhaler (MDI), nebuliser and dry powder inhaler (DPI). Dry powder formulations for inhalation consist of micronized drug alone or of drug blended with some kind of inert coarse carrier particles. A carrier is typically used in DPI to improve the flowability of drugs particles into the inhalation device during the filling process, to increase dispersing property of the cohesive drug particles during emission and to dilute the drug on lower dosing.

Spray drying is extensively used in the pharmaceutical industry to produce solid particles. The spray drying technique transforms liquid feed into dry powder in one step. Typically, a polymorphic change from a crystalline form to an amorphous form occurs during spray drying.

The objective of this study was to evaluate how the physicochemical properties of the carrier particles, such as their amorphous content, particle surface roughness, bulk density and particle size, the drug:carrier ratio and the storage (40°C and 75% RH) of the formulation affect *in vitro* deposition of The drug from multiple dose reservoir based DPI (Taifun®). The physicochemical properties of lactose were modified by spray drying. In the present study mannitol, glucose, α -lactose monohydrate (110M, 325M), spray-dried lactose, crystallized spray-dried lactose, Flowlac-100® with and without crystalline micronized lactose and crystalline lactose were used as the carrier, and salbutamol sulphate and budesonide were used as model drugs. The physicochemical properties of the drugs and carriers were studied by various techniques, including a scanning electron microscope (SEM), a laser light diffraction, a differential scanning calorimetry (DSC), an isothermal microcalorimetry (IMC) and solution calorimetry.

The physicochemical properties of carrier particles strongly affected *in vitro* deposition of budesonide and salbutamol sulphate from the multiple dose reservoir based DPI, and the physical stability of the inhalation powder. Prominent surface roughness, small particle size and high amorphous content of the carrier decrease the respirable fraction (RF) of the drugs. Further, the emitted budesonide dose increased as a function of bulk density of formulation. The effect of the chemical composition of carrier was evident on the RF% values of budesonide; the highest RF% values of budesonide were achieved when mannitol was used as the carrier. In the case of salbutamol sulphate, carrier has no substantial effect on RF% value. The drug:carrier ratio affected the RF% values of budesonide and salbutamol sulphate before and after storage (40°C and 75% RH) period Typically the RF% values increased with an increase in the drug:carrier ratio. The effect of the storage on the RF% values of budesonide

was dependent on the carrier and the drug:carrier ratio. The RfO/0 value of salbutamol sulphate decreased after storage irrespective of the chemical composition of the carrier and irrespective of the drug:carrier ratio.

This study shows that the amorphous content of the spray-dried lactose can vary from 00/0 to 100%, depending on ethanol concentration of the feed solution. When the solubility of lactose in the feed solution was decreased by increasing the ratio of ethanol to water, the amorphous content in the spray-dried lactose decreased. The enthalpy of solution (ΔH_{sol}) and the enthalpy accompanied with an addition of a lactose sample in a saturated aqueous solution (ΔH_{sat}) were determined by solution calorimetry. A linear correlation was observed both between ΔH_{sol} and ΔH_{sat} and amorphous content of the lactose samples.

In conclusion, the present results suggest that highly crystalline carrier particles, which have a smooth surface and optimal size are required to formulate physically stable inhalation powders for multiple dose reservoir based DPI. The present results suggest that the amorphous content of spray-dried lactose can be controlled by selecting the appropriate ethanol concentration in the feed solution. Further, the present study demonstrates that solution calorimetry may be a rapid and simple method for determining the amorphous content also in samples that are not completely dissolved in the solvent.