

KÉT ANTIBIOTIKUMOT TARTALMAZÓ GYÓGYPREMIX GRANULÁLT FORMÁTUMÁNAK ELŐÁLLÍTÁSA

TÓTH JUDIT - GYETVAI BÉLA - GYENIS JÁNOS - RÓZSA LÁSZLÓ

ÖSSZEFOGLALÁS

A vizsgálataik célja volt két hatóanyagot tartalmazó pormentes granulált gyógypremix előállítása. Referencia készítményként a 15 % oxitetraciklin-dihidrát és 7,5 % (feed grade) Zn-bacitracin tartalmú Trierra koncentrált gyógypremix nyulaknak A.U.V. (továbbiakban Trierra A.U.V.) állatgyógyászati készítményt használtak. A finomszemcsés részecskék előfordulásának megszüntetése mellett a kísérlet célja volt még az új kísérleti formulák stabilitási és referencia termékhez viszonyított bioekvivalencia vizsgálata is. A granulálást laboratóriumi méretű fluid granulálóban végezték. A kísérleti formulákban az oxitetraciklin dihidrát hatóanyag tartalmat 15 m/m%-ra, a Zn-bacitracin (pharma grade) tartalmat 0,75 m/m%-ra állították be. Vizsgálataikban bemutatott GTRI1-6 granulátum formula búzakeményítővel és izomalttal készült. Kötőanyagként hidroxipropil-metilcellulózt alkalmaztak. A nedvesítést izomalttal segítették elő, illetve ugyanebből a célból a Zn-bacitracin oldathoz Tween 80-at használtak. A legyártott granulátumok finom részecske frakciója (<100 μm) 0,0 m/m% és 0,8 m/m% között volt. Az elvégzett bioekvivalencia vizsgálat eredményei azt mutatták, hogy az izomalt használatával készült GTRI2, 3 formulák kioldódási profiljai hasonlóak a referencia termékéhez. Az intermedier stabilitási vizsgálatok 6. havi eredményei alapján megállapítható, hogy a kísérleti formulákban a legnagyobb bomlás oxitetraciklin dihidrát esetében 1,66 %, Zn-bacitracin esetében 4,9 %.

SUMMARY

Tóth, J. - Gyetvai, B. - Gyenis, J. - Rózsa, L. PREPARATION OF MEDICATED FEED PREMIX WITH TWO ACTIVE INGREDIENTS IN GRANULAR FORM

The aim was to produce dust free granulated premix containing two antibiotics. Trierra A.U.V. veterinary premix was used as reference with 15 % of oxytetracycline and 7.5 % of bacitracin zinc (feed grade) content. Besides the elimination of fine particle content the preservation of the active ingredients content, the bioequivalence to the reference product and the stability during storage were the prescribed requirements during the development of a new formulation. Granulation was carried out in a laboratory size fluid granulator. The product active ingredient content was adjusted 15 w/w% for oxytetracycline dihydrate and 0.75 m/m% bacitracin zinc (pharma grade). The demonstrated GTRI1-6 granules were prepared on wheat starch and isomalt matrix materials. For binder hydroxypropyl methylcellulose was used. The wettability of the binder was aided by isomalt, and for bacitracin zinc Tween 80 was used for the same propose during the binder solution preparation. The produced granules fine particle size fraction (<100 μm) were between 0.0 and 0.8 m/m%. The active ingredient content was preserved during the formulation, i. e. the decrease comparing to expected content was not exceed 5 %. The bioequivalence test showed similar dissolution profile for both antibiotics to Trierra A.U.V in case of granules were produced on isomalt carrier, that is GTRI2, 3 and 5. During six-month storage all the three granules showed eligible stability, i. e. the sixth moth highest value of active ingredient content decrease was 1.66 % for oxytetracycline and 4.9 % for bacitracin zinc.

BEVEZETÉS

A gyógyszeres premixek széles körben elterjedt állatgyógyászati készítmények, amelyek szerepe az állatok takarmányon keresztül történő tömegkezelése. A gyógyszeres premixekben az egy vagy több hatóanyag koncentráltan található, ezért bekeverési engedéllyel rendelkező takarmánykeverőben történik a gyógyszeres premixből és gyógyszermentes takarmányból a kezelendő állatcsoport részére közvetlenül használatos gyógyszeres takarmány előállítás. Az EU-n belül Magyarországon kívül Portugália, Spanyolország, Egyesült Királyság, Ciprus, Bulgária, Olaszország és Írország használ kiterjedten gyógyszeres premixet állatok kezeléséhez (*ESVAC report*, 2013). A gyógyszeres premixek takarmánykeverő üzemből történő homogén bekeverhetőségét nagymértékben befolyásolják a premixek fizikai tulajdonságai (szemcseméret, gördülékenység, adhézió stb.).

A premixek granulátumok, porok, félszilárd és folyékony formában vannak forgalomban (*VIII. Magyar Gyógyszerkönyv*, 2003). A korszerű szilárd formátumú premixek nem, vagy csak kissé poroznak, jól gördülnek, könnyen keverhetőek és nem tapadnak. A poros formátumok kisebb nagyobb frakcióban tartalmaznak finom szemcseméretű frakciókat. A jellemzően 100 µm alatti szemcseméret frakció hányadot porként határozzák meg (*Ogden*, 1999). A porfrakció jelenléte növeli a gyógyszeres takarmány előállítási költségét a keverő berendezések tisztítása és a szálló por miatt fellépő anyagvesztés miatt. Emellett az aktív hatóanyagot tartalmazó finom porok jelentős egészségügyi kockázatot hordoznak a kezelő személyzet számára. Természetesen rendelkezésre állnak védő öltözetek, porálarok, ismertek nedvesítési eljárások, adalékanyagok alkalmazása a probléma megoldására (*Mellor*, 2003). A porfrakciók elkerülésének korszerűbb megoldását jelentik a granulált premix formátumok előállítása. A granulálás egy méretnövelő művelet, melynek során finom szemcsékből nagyobb méretű granulátumok épülnek fel. A granulálás széles körben elterjedt művelet a legkülönbözőbb iparágakban. A granulálás célja széles spektrumot ölel fel, úgymint hozzáadott érték biztosítása a termék működési paramétereire (pl. instant formátumok), meghatározott alkotók homogén összetételű diszperzióinak létrehozása, folyási tulajdonságok javítása, porfrakciók megszüntetése (*Kaminska és Danko*, 2011). Jellemzően három összetevő szükséges a granulálás kivitelezéséhez: a kiindulási szemcseréteg, a kötőanyag és ezek megfelelő keverésének biztosítása. A kötőanyag természetétől függően a granulálás felosztható száraz és nedves granulálásra. A keverési folyamat lehet mechanikus (forgótányéros, forgódobos, gyorskeverős) vagy pneumatikus (fluidizált, gejzír, rotációs) elven működő (*Moraga és mtsai*, 2015). A fluid ágyas nedves granulálás folyamatában a nedves granuláló (kötő) folyadékot (oldat vagy szuszpenzió formájában) jellemzően porlasztással juttatják a gázárammal fluid állapotban mozgatott réteg felületére. A meleg levegővel biztosított fluidizálás az oldószer párolgását is biztosítja, azaz a réteg száradása is végbemegy a folyamat során.

Az állatgyógyászati premixek gyakran tartalmaznak kétféle antibiotikumot, mely szélesebb hatékonyság spektrumot biztosít, és csökkenti a rezisztencia kialakulásának lehetőségét baktériumtörzseknel. Granulált termékek előállítása két hatóanyag kombinációjával, melyek különböznek alkalmazott koncentrációjukban és szemcse tulajdonságaikban, speciális eljárási megoldásokat igényelnek. A granulálási eljárás hőkezeléssel járó folyamat, ezért - és a premix mátrixanyagával történő kölcsönhatás miatt - az antibiotikum degradációt szenvedhet az előállítás vagy a későbbi tárolás folyamán. Az előállított granulátum fejlesztése során vizsgálni kell termékekben a megfelelő hatóanyag tartalom megőrzését. Az Alpha-Vet Kft. forgalmazásában lévő Trierra koncentrált gyógypremix nyulaknak A.U.V. terméket referenciaként használtuk a fejlesztés során. A Trierra A.U.V. 15 % oxitetraciklin-dihidrátot és 7,5 % Zn-bacitracint (feed grade) tartalmaz, alkalmazása házinyúl epizootiás enterocolitisének gyógykezelése. Célunk volt egy porfrakció mentes granulátum előállítása,

mely bioegyenértékű a referenciaként használt Trierra A.U.V forgalmazott termékkel. A bioegyenértékűség vizsgálata EMEA/CVMP irányelv (2001) alapján történt.

A Trierra A.U.V. referencia termék alapján indított fejlesztési munkák célja volt porfrakció mentes granulált termék előállítása, mely a formálás során megőrzi a Trierra A.U.V. termékben előírt oxitetra-ciklin-dihidrát és cink-bacitracin hatóanyag-tartalmat. Emellett bioegyenértékű kioldást biztosít a referencia A.U.V termékhez képest. Emellett féléves tárolási kísérletek során megőrzi mindkét hatóanyag vonatkozásában hatóanyag-tartalmát.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Anyagok

Az oxitetra-ciklin-dihidrátot (OTC) a Huashu Pharmaceutical Corporation-tól, a Zn-bacitracint (Zn-BC) a Pucheng Lifecome Biochemistry Co., Ltd.-től szereztük be. Az izomalt a Cargill Deutschland GmbH, a hidroxipropil metilcellulóz (Methocel E5) a Colorcon Limited terméke volt. A burgonyakeményítőt (BK) a Pille Cukrász és Sütőipari Nagykereskedéstől, a polietilén-glikol-szorbitán-monooleátot (TWEEN 80) a Sigma-Aldrich Hungary Kft-től szereztük be.

Kísérletek

A kísérleteket mechanikus keverővel ellátott laboratóriumi fluid granuláló berendezésben végeztük ($d = 0,106$ m). A berendezés sematikus vázlatát az *1. ábrán* mutatjuk be.

A kísérletek kivitelezésének rövid leírása:

A sarzsméret BK mátrixanyag esetén 400 g, izomalt mátrixanyag esetén 300 g volt. A megfelelő mennyiségű réteganyagot bemértük a granulálóba. A szemcseréteget előmelegítettük (BK esetén 120 °C-ra, izomalt esetén 80 °C-ra) 5 m³h⁻¹ levegőárammal, 60 rpm keverési sebesség mellett. A bemenő hőmérséklet elérésekor elindítottuk a kötőanyag adagolását 4-5 g perc⁻¹ átlag adagolási sebességgel. A levegő áramlási sebességét folyamatosan emeltük a megfelelő fluid áramlás folyamatos biztosításához (jellemző végső érték 18-20 m³h⁻¹). A granulálás befejezéseként 5 perc utószárítást alkalmaztunk, a keverő sebességét 40 rpm-re állítva. A granulálás során a kimenő hőmérsékletet 30-40 °C között tartottuk a kötőanyag adagolása során. Bevonás esetén a bevonó folyadékot közvetlenül a granulálás befejezése után porlasztottuk a rétegre a granulálással azonos bemenő hőmérsékleten, 3 gperc⁻¹ adagolási sebesség mellett. A terméket kivettük a granulálóból, szemcseméretét elemeztük. Vizsgáltuk az aktív hatóanyag tartalmát, kioldási kinetikát és tárolási stabilitást. A granulált termékek a GTRI jelölést kapták.

1. ábra A laboratóriumi granuláló berendezés vázlata

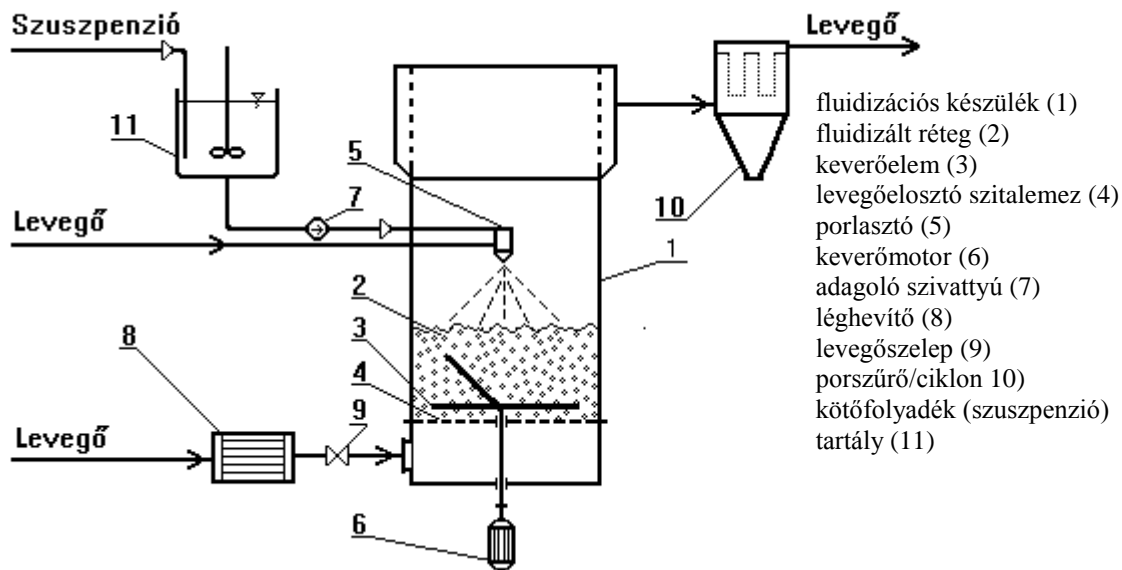


Figure 1. Schematic drawing of the laboratory granulator unit

granulator unit (1); fluid bed (2); mixer (3); air distributor (4); atomizer (5); agitator (6); feeding pump (7); air-heater (8); air valve (9); air filter/cyclone (10); binder solution tank (11)

Elemzések

Szemcseméret elemzés: A finomszemcsés alapanyagok szemcseméretét Mastersizer 2000 lézerdiffrakciós szemcseméret analízátorral elemeztük. BK elemzését vizes diszperzióban, a hatóanyagokat és az izomaltot ciklohexánban diszpergálva vizsgáltuk. A szemcseméretet a $d(0,1)$, $d(0,5)$ és $d(0,9)$ eloszlásadatokkal (mely megadja, hogy a minta 10, 50 és 90 %-a hány μm alatt van) és a $d(4,3)$ térfogati átlagmérettel jellemeztük. A granulátumok szemcseméret eloszlását szitaanalízissel határoztuk meg. 50 g mintát 600 s időtartamig szitáltunk 0,1, 0,2, 0,4, 0,63, 0,8, 1,0, 1,6 and 2,0 mm nyílásméretű szitákon, majd a szitafrakciók tömegszerinti eloszlását számítottuk.

Hatóanyag tartalom meghatározása:

OTC tartalom vizsgálata: A mintákból a hatóanyagot pH = 1,2-n oldottuk, sztenderdként OTC HCl, Council of Europe, European Pharmacopoeia, Lot No.: 4.1, tisztaság: 1000.0 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (megfelel 1000.0 μg per mg OTC dihidrát-nak) alkalmaztunk. Analízis HPLC-UV, 250 x 4,6mm, 5 μm , Nucleosil 100 C18 (MZ Analysentechnik) oszlopon, hullámhossz 353 nm. Izokratikus elemzési módszer, az eluens összetétele: 15 v/v% acetonitril / 5 v/v% metanol / 80 v/v% 0,01 M oxálsav.

Zn-BC tartalom vizsgálata: A mintákból a hatóanyagot pH = 1,2-n oldottuk, sztenderdként Bacitracin Zinc CRS, Council of Europe, European Pharmacopoeia, Lot No.: 2.2, tisztaság: 100.0 %-t alkalmaztunk. Analízis HPLC-UV, Spherisorb ODS-2 (MZ Analysentechnics) hosszúság: 250 mm, belső átmérő: 4,6 mm, szemcseméret: 5 μm oszlopon, hullámhossz 210 nm. Izokratikus elemzési módszer, mobilfázis: 550:50:300:100 = metanol:acetonitril:víz:pH = 6,0 puffer térfogatarányban.

A hatóanyag tartalom eltérést az elvárt hatóanyag tartalomra vonatkoztatva \pm százalékos eltérésként adtuk meg.

Bioegyenértékűség vizsgálat:

A különböző granulátumok és referencia TRIERRA A.U.V. termék összehasonlító kioldási vizsgálatait pH = 1,2-n 0, 0,5, 1, 2, 3, 5, 10, 15, 20 and 30 perc mintavételi idővel végeztük az OTC és Zn-BC hatóanyag tartalom meghatározásával. A granulátumokra és a referencia termékre kapott kioldási profilok összehasonlítására az hasonlósági faktort (similarity factor,

f_2) használtuk (Moore és Flanner, 1996). A különböző kioldási profilok akkor tekinthetők egyenértékűnek, ha f_2 értéke 50-100 között van. Az értékelés az EMEA/CVMP irányelv (2001) alapján történt.

Stabilitás vizsgálatok:

A fejlesztett termékek hatóanyag tartalmának stabilitását intermediér stabilitási vizsgálati program keretében végeztük. A stabilitási programban a tárolás $30\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ -on és $65\text{ RH}\% \pm 2\text{ RH}\%$ páratartalom mellett végeztük. Mintavétel havonta történt, ha hónapon keresztül. A mintákból mindkét hatóanyag tekintetében elvégeztük a tartalom meghatározást EMEA/CVMP irányelv (2008).

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Trierra referencia gyógypremix granulált formátumainak (GTRI) előállítás

A granulátumok forgalomban lévő referencia terméke a Trierra gyógypremix A.U.V. volt, melynek segédanyaga takarmányliszt, két antibiotikumot tartalmaz: oxitetraciklin-dihidrátot (15 %) és Zn-bacitracint (feed grade 7,5%). A fejlesztendő granulátumokban a hatóanyagok a referencia termékkel azonos koncentrációban kerültek be. A állatgyógyászati termékeket szabályozó előírások a jövőben már csak pharma grade minőségű Zn-BC alkalmazását engedélyezi a termékekben, melynek hatékonysága tízszerese a feed grade minőségű antibiotikumnak. A fejlesztendő termékekben a pharma grade minőségű Zn-BC hatóanyag koncentrációja ennek megfelelően 0,75 %-ra lett beállítva. A Trierra A.U.V mátrix anyagaként használt takarmányliszt mikrobiológiai problémákat vet fel, ezért a granulátumok mátrix anyagaként izomaltot és a búzakeményítőt használtunk, melyeknél az előírások szerinti mikrobiológiai tisztaság biztosítható. A granulálási kísérletek tervezéséhez fontos vizsgálni az alapanyagok szemcseméretét. A hatóanyagok és a kiválasztott mátrixanyagok finom szemcsézetűek, eloszlásukat lézeres szemcseméret analízissel határoztuk meg. A két-két ható- és mátrixanyag szemcseméret eloszlását a 2. ábrán mutatjuk be.

2. ábra A granulátumok hatóanyagainak és mátrixanyagainak szemcseméret eloszlásai

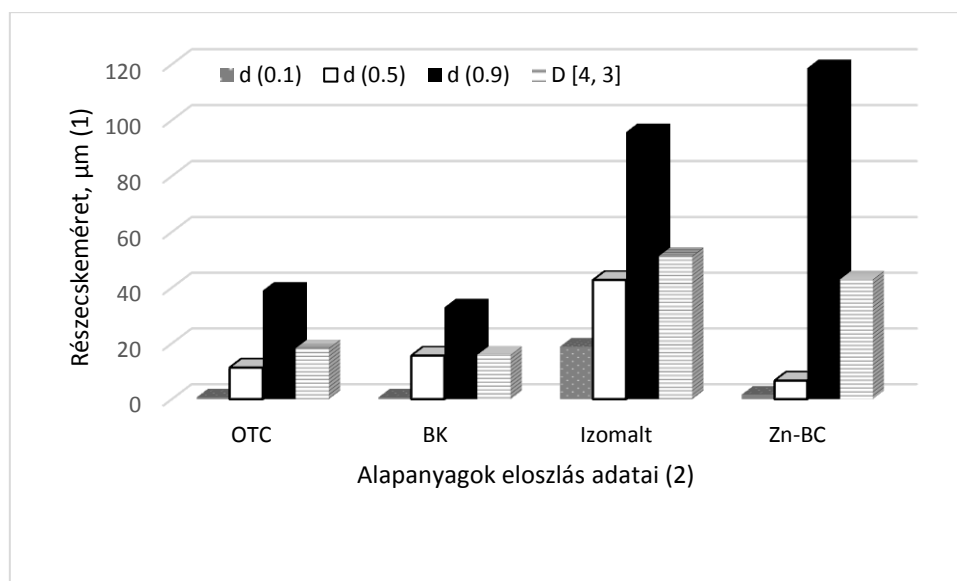


Figure 2. Particle size distribution of active and matrix substances of the granules particle size (1); distribution data of matrix materials (2)

Az OTC és a BK szemcsemérete nagyon hasonló egymáshoz, az izomalt valamivel durvább szemcséket tartalmaz. A Zn-BC nagymennyiségben tartalmaz finom frakciót, d(0,5) értéke 6,65, emellett durva szemcséket is tartalmaz a 100 µm-es tartományban. A nedves granulálás folyamatában a hatóanyagot a nedvességen kívül hőhatás is éri. Az OTC stabilitása részletesen vizsgált az antibiotikumok között. Hőstabilitását vizsgálták, pl. oldatokban (különböző pH-jú pufferekben és hőmérsékleten), különböző állati eredetű húsokban, szövetekben, de tejben és mézben is (Xuan és mtsai, 2010, Doi és Stoskopf, 2000). Magának a por alaknak hőstabilitására vonatkozó adatokat nem találni. A granulálás során a réteghőmérséklet a bemenő (jellemzően 80 – 120 °C) és a kimenő (jellemzően 40 °C) levegő hőmérséklet között van 5-10 % nedvesség tartalom mellett, ahol a hatóanyag jóval kisebb bomlása várható, mint oldatokban hőkezelve. A Zn-bacitracin alkalmazása kétféle problémát is felvetett. Az egyik: ismert adatok szerint a Zn-bacitracin bomlásra hajlamos különböző vivőanyagok jelenlétében a tárolás során (Pavli és Kmete, 2006). Ezért a granulátumok formálásánál szükség volt a hatóanyag védelemmel is foglalkozni. Irodalmi adatok szerint a cellulóz típusú kötőanyaggal való granulálás elősegíti a Zn-bacitracin stabilitásának növekedését (Osborn és mtsai, 1976, Smidt és mtsai, 1996). Másik megoldandó feladat volt a Zn-bacitracin homogén eloszlásának biztosítása a rétegben, ugyanis csak 0,75 %-ban tartalmazza a formátum, ezért közvetlen homogenizálása a rétegben problémát okozhat. Ennek megoldására vizsgáltuk a réteg helyett a cellulóz típusú kötőanyaggal való együttes adagolását is, melynek olyan előnye is lehet, hogy a kötőanyagban oldva egy védőréteg alakulhat ki a Zn-bacitracin felületén. A jellemző kísérleteket az 1. táblázatban foglaltuk össze. Búzakeményítővel végzett kísérleteknél a belépő levegő hőmérséklet 120 °C, izomaltnál 80 °C volt. A búzakeményítő granuláláshoz szükséges a magasabb belépő levegő hőmérséklet alkalmazása, mert a búzakeményítő vízmegkötő képessége nagy, a végeredményben a megcélzott 10 % alatti maradék nedvesség elérése ebben az esetben csak így lehetséges.

1. táblázat

GTRI gyógypremix granulálásának kísérleti paraméterei

Kísérlet jele	T _{be} °C (1)	T _{ki} °C (2)	w' g/perc (3)	c _K m/m% (4)	GTRI granulátumok összetétele, m/m% (5)					
					OTC	Zn-BC	E15	BK	Izomalt	Tween 80
GTRI1	120	36	4,04	10,50	15,0	0,75	4,50	76,00	3,75	0,00
GTRI2	80	31	4,80	15,70	15,0	0,75	2,60	0,00	81,65	0,00
GTRI3 ¹	80	30	5,30	17,08	15,0	0,75	3,10	0,00	81,75	0,50
GTRI4 ¹	120	39	4,04	11,80	15,0	0,75	4,15	74,60	4,15	0,50
GTRI5 ²	80	33	4,46 (2,75 ³)	15,70 (5,80 ⁴)	15,0	0,75	3,10 (0,53 ⁵)	0,00	81,15	0,00
GTRI6 ²	80	34	4,53 (2,86 ³)	15,70 (5,80 ⁴)	15,0	0,75	3,25 (0,66 ⁵)	0,00	81,00	0,00

T_{be}: bemenő hőmérséklet, T_{ki}: kimenő hőmérséklet, w': kötőanyag adagolási sebessége, c_K: kötőanyag koncentrációja. ¹Zn-BC adagolása a kötőanyaggal együtt, ²a granulálás végén bevonás E15 oldattal, ³a bevonó oldat adagolási sebessége, ⁴a bevonó oldat koncentrációja, ⁵a bevonat aránya a granulátumban

Table 1. Parameters of the GTRI granules experiments

inlet temperature (1); outlet temperature (2); feeding rate of the binder solution (3); concentration of the feeding solution (4); composition of the GTRI granules (5). ¹ feeding of Zn-BC together with the binder, ² coating with E15 solution, ³ feeding rate of the coating solution, ⁴ concentration of the coating solution, ⁵ the ratio of the coating in the granules

Az OTC-dihidrát minden kísérletben a rétegben volt, a Zn-bacitracint egy-egy kísérletben a rétegbe mértük be (GTRI1, 2, 5 és 6), ill. a kötőanyaggal adagoltuk (GTRI3 és 4). A granulálási kísérletekhez cellulóz tartalmú kötőanyagot, hidroxipropil-metil-cellulóz (E15) vizes oldatát használtuk a Zn-bacitracin stabilitásának biztosítására. Az E15 rosszul nedvesedik vízben, ezért a kötőanyag oldatát E15:Izomalt = 1:2 arányú keverékével készítettük el. A cukorszármazékok ismert módon elősegítik vizes oldatokban az anyagok nedvesedését. A Zn-bacitracin vízben rosszul oldódik, emellett rosszul is nedvesedik. A GTRI3 és 4 kísérletekben kötőanyagban a Zn-bacitracint felületaktív anyag alkalmazásával diszpergáltuk szuszpenzió formájában. A legkedvezőbbnek a TWEEN 80 bizonyult, végtermékre nézve 0,5 %-ban alkalmazva.

A granulátumok szemcseméretét jellemzően befolyásoló tényezők a réteg fizikai tulajdonságai (szemcseméret, sűrűség), a kötőanyag mennyisége, viszkozitása és adagolási sebessége. Az előállított termékek szemcseméret eloszlását a 3. ábrán mutatjuk be. Az előállított termékek porfrakciója elhanyagolható, 0,0 – 0,8 % között változik.

3. ábra A granulátumok szemcseméret eloszlása

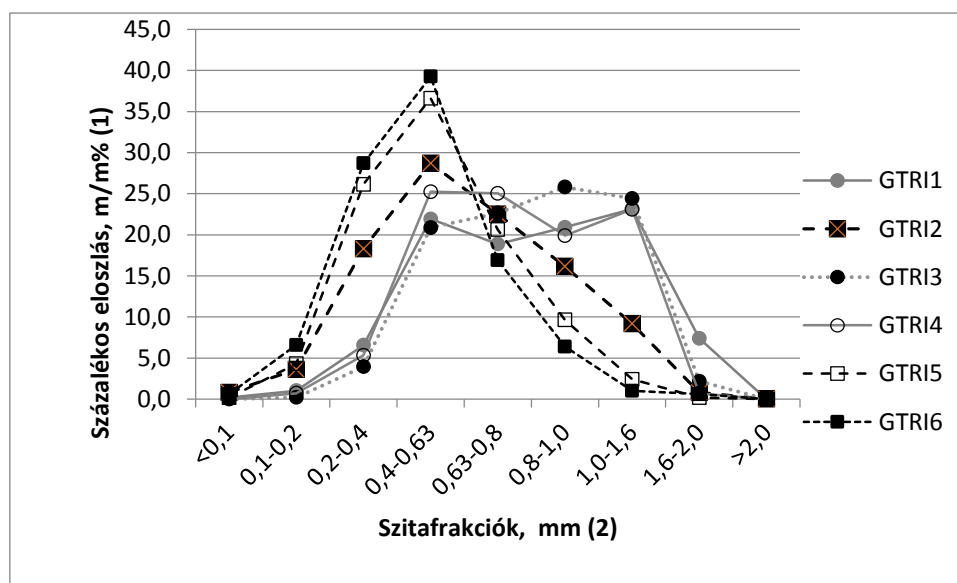


Figure 3. Particle size distribution of the granules distribution in percent (1); sieve fractions (2)

A GTRI1, 3 és 4 granulátumok szemcseméret eloszlása nagyon hasonló. A GTRI1 és 4-et BK mátrixon granuláltuk. A GTRI3 és 4 granulálásánál a kötőanyag oldata egy jellemzően viszkózus emulzió volt. Nagyobb viszkozitású kötőanyag jellemzően erősebb kötéseket alakít ki a szemcsék között, mely elősegítette a szemcsenövekedést a GTR3 granulátum esetében is. A GTRI2, 5 és 6 kísérletekben a kötőanyag koncentrációja azonos, 15,7 m/m % volt. A három termék ennek megfelelően nagyon hasonló eloszlást mutat. A GTRI5 és 6 eloszlása szinte fedi egymást. A granulálás befejeztével hígabb koncentrációjú kötőanyaggal (5,8 m/m %) polimer bevonatot képeztünk a szemcsék felületén, mely folyamatban a GTRI2-es szemcsénél kialakult eloszlás a kisebb szemcseméretre fordult, kompaktabb lett a granulátum.

Hatóanyag tartalom vizsgálatok

A hatóanyagot tartalmazó gyógyhatású készítmények előállítása során fontos szempont a hatóanyag tartalom megőrzése. Emellett az alkalmazhatóságot lényegesen meghatározza, a fejlesztés alatt álló termékben a hatóanyag hatékonysága, az előállított termék stabilitása. Ezek alapján a termékekből a következő vizsgálatokat végeztük el:

- hatóanyag tartalom eltérés a termékben a kívánt értéktől (megengedett eltérés $\pm 5\%$),
- egyszerűsített bioekvivalencia (bioegyenértékűség) vizsgálat a referenciaként alkalmazott forgalmi engedéllyel rendelkező Trierra koncentrált gyógypremix nyulaknak A.U.V. szerrel szemben,
- intermedier stabilitási vizsgálat.

A hatóanyag tartalom vizsgálatok alapján az OTC-dihidrát tartalom minden egyes granulátumban megfelelő értéket mutatott (eltérés $\pm 5\%$ -on belül van), az adatokat a 2. táblázatban foglaltuk össze. A Zn-bacitracin tartalom két termékénél (GTRI3 és 4) magasabbnak adódott, mint a bemérés alapján számítható érték. Ezen két termékénél a Zn-BC-t a granuláló folyadékkal együtt adagoltuk a folyamat során. Mivel a hatóanyag tartalom a Zn-BC esetében csak 0,75 %, kismértékű dúsulás a granulátumban ehhez képest már nagymértékű hatóanyag eltérést eredményezhet százalékos arányban. Általánosan megállapítható, hogy a granulálási művelet során a Zn-BC hatóanyag tartalom nem csökkent a megengedett 5 % alá, tehát a formálás során nem veszített aktivitásából.

2. táblázat

A hatóanyag tartalom és bioegyenértékűségi vizsgálatok eredményei

	GTRI1	GTRI2	GTRI3	GTRI4	GTRI5	GTRI6
Hatóanyag tartalom eltérés, OTC, % (1)	2,53	1,51	3,16	4,18	4,01	2,06
Hatóanyag tartalom eltérés ZnBC, % (1)	-4,93	-2,93	9,07	9,47	1,87	-2,00
Hasonlósági faktor (OTC) (2)	26,04	52,04	54,79	26,82	50,22	26,81
Hasonlósági faktor (Zn-BC) (2)	52,33	64,87	52,61	36,04	65,08	45,77

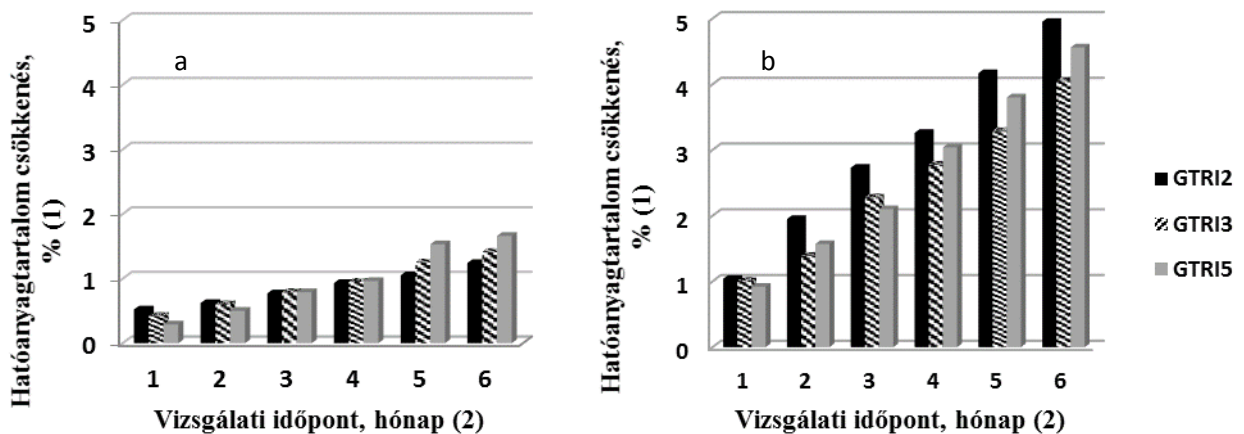
Table 2. Result of the active ingredient and bioequivalence tests
active ingredient difference (1); similarity factor (2)

A hatóanyag tartalom vizsgálatok alapján a GTRI granulátumok közül mind a 6 termék kioldási vizsgálatra került, referencia termékként a Trierra A.U.V. terméket használva. Az eredményeket az 2. táblázat utolsó két sorában összegeztük. A granulátumok közül a búzakeményítő mátrixon előállított GTRI1 és 4 termékek bioegyenértékűsége nem felelt meg a referenciaként alkalmazott terméknek. Emellett a GTRI6 termék sem mutatkozott hatóanyag kioldás szempontjából bioekvivalensnek - egyik hatóanyagára sem – a referencia termékkel. A GTRI2, 3 és 5 termékek mindkét hatóanyag leadását tekintve bioegyenértékűnek tekinthető a referencia Trierra A.U.V termékkel, mivel hasonlósági faktoruk mindkét hatóanyagnál $> 50\%$. Az eltérő leadás a termékek esetében az különböző mátrix anyagok eltérő leadást szabályozó hatásával magyarázható. A GTRI5 és 6 kísérletekben HPMCE15-tel bevonást végeztünk a szemcsék felületén. A GTRI 5 esetében a teljes 3,1 % E15 mennyiségének 17 %-

a, a GTRI6 esetében az 3,15 % E15-ből 20 %-a fordítódott a bevonat kialakítására. A bevonat film vastagsága jelentősen befolyásolja a hatóanyag leadást (Qiu és Zhou, 2011).

A tárolás során hat hónap időtartamon keresztül havi mintavétellel vizsgáltuk a két hatóanyag koncentrációjának változását. A eredmények a 4. ábrán láthatók: a 4a az OTC, a 4b a Zn-BC hatóanyag tartalom %-os csökkenését mutatja be. Az OTC tartalom a 6 hónap tárolás során 0,29 – 1,66 % csökkenést mutatott. A Zn-BC koncentráció csökkenése magasabb volt, 0,92 – 4,95 % között változott. Legmagasabb csökkenés a GTRI2 mintánál alakult ki, de ez az érték is az előírt 5 % alatt maradt.

4. ábra A granulátumok hatóanyag tartalmának csökkenése a tárolás során



a: OTC , b: Zn-BC

Figure 4. Decrease in active ingredient content during storage decrease in active ingredient content, % (1); sampling time, month (2)

KÖVETKEZTETÉSEK

Kísérleteink célja volt a két antibiotikumot tartalmazó Trierra gyógypremix A.U.V granulált formátumának előállítás. A termékkel szemben támasztott leglényegesebb minőségi követelmények voltak:

- pormentes granulált formátum előállítás, mely nem tartalmaz 100 µm alatti frakciót;
- a formálás során mindkét hatóanyag tartalom az előírt értéktől ne térjen el ± 5 %-kal;
- az előállított formátum hatóanyag-kioldódása bioegyenértékűnek tekinthető a TRIERRA A.U.V forgalmi engedéllyel rendelkező termék kioldásával;
- gyorsított 6 hónapig tartó stabilitás vizsgálatok során a termék hatóanyag tartalom csökkenése maximum 5 % értéket érhet el.

A kísérletek során mátrixanyagként búzakeményítőt és izomaltot alkalmaztunk, a granulálás mindkét hordozónál gyakorlatilag pormentes terméket eredményezett. A búzakeményítővel kivitelezett kísérleteknél 40 °C-kal magasabb bemenő hőmérsékletet kellett biztosítani a réteg hőmérsékleti viszonyok megfelelő kialakításához, mint az izomalt mátrixanyag esetében. A GTRI1-6 granulátumokban az OTC hatóanyag tartalom eltérés az előírt érték alatt volt. A Zn-BC hatóanyag tartalom a GTR3 és 4 előállítás során 9,07 és 9,47 % pozitív eltérést mutatott, mely két kísérletben a Zn-BC-t a kötőanyaggal együtt adagoltuk. A hatóanyag tartalom eltérés egyik granulátumban sem

mutatott 5 %-nál nagyobb csökkenést. A termékek bioekvivalencia vizsgálata szerint a búzakeményítő hordozón előállított termékek (GTR1 és 4), ill. a magasabb bevonat tartalmú GTRI6 nem tekinthető bioegyenértékűnek a referencia Trierra A.U.V. termékkel. A GTRI2, 3 és 5 intermedier stabilitási vizsgálatai mindkét hatóanyag esetében az előírt határértéknél kisebb, 5 % alatti csökkenést mutattak.

A fentiek alapján megállapítottuk, hogy a laboratóriumi kísérletek során a GTRI 2, 3 és 5 összetételben és kivitelezéssel előállított termékek megfeleltek az elvárt követelményeknek. További minőségi vizsgálatok, pl. homogenitás, nedvességtartalom, gördülékenység, gazdaságossági megfontolások alapján a GTRI3 termék került kiválasztásra üzemi kísérletek kivitelezésére.

FELHASZNÁLT IRODALOM

- Doi, A. M. - Stoskopf, M. K. (2000): The Kinetics of Oxytetracycline Degradation in Deionized Water under Varying Temperature, pH, Light, Substrate, and Organic Matter. J. Environ. Sci. Health B, 12. 246–253.*
- EMEA/CVMP irányelv, (2001): Guidelines for the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products EMEA/CVMP/016/00-corr-FINAL and CPMP/EWP/QWP/1401/98.*
- EMEA/CVMP irányelv, (2008): Guidelines on stability testing: Stability testing of existing active substances and related finished products EMEA/CVMP/QWP/846/99-Rev-1*
- ESVAC report (2013): Sales of veterinary antimicrobial agents in 26 EU/EEA countries in 2013, Fifth report of European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption (ESVAC)*
- Kaminska, J. - Danko, J. (2011): Analysis of the granulation process mechanism - stand and scope of investigations. MaFE., 37. 81-87.*
- Mellor, S. (2003): A simple additive settles premix dust problems, Feed Tech., 7. 4.*
- Moore, J. W. - Flanner, H. H. (1996): Mathematical comparison of dissolution profiles, Pharm Tech., 20. 64-74.*
- Moraga, S. V. – Villa, M. P. – Bertín, D. E. – Cotabarren, I. M. – Pedernera, M. – Piña, J. – Bucalá, V. (2015): Fluidized-bed melt granulation: The effect of operating variables on process performance and granule properties. Powder Technol., 286. 654–667*
- Ogden, T. L. (1999): Hazard Prevention and Control in the Work Environment: Airborne Dust WHO/SDE/OEH/99.14) Occupational and Environmental Health, Department of Protection of the Human Environment, World Health Organization, Geneva*
- Osborn, E. – Baum, J. L.- Ernst, C. – Koch, P. (1976): The stability of ten antibiotics in artificial tear solutions. Am. J. Ophthalmol., 82. 775-780.*
- Pavli, V. - Kmete, V. (2006): Pathways of Chemical Degradation of Polypeptide Antibiotic Bacitracin, Biol. Pharm. Bull., 29. 2160—2167.*
- Qiu, Y. - Zhou, D. (2011): Understanding Design and Development of Modified Release Solid Oral Dosage Forms, JVT, 17. 23-32.*
- Schmidt, M. – Bomann, W. – Janott, D. W. – Werner, H. (1996) : Feed additive containing zinc bacitracin, US 5,531,994*
- VIII. Magyar Gyógyszerkönyv (2003), Állatgyógyászati premixek (1073), Országos Gyógyszerészeti Intézet és Medicina Kiadó, Budapest*
- Xuan, R. -Arisi, L. – Wang, Q. - Yates, S. R. – Biswas, K. C. (2010): Hydrolysis and photolysis of oxytetracycline in aqueous solution. J. Environ. Sci. Health B., 45. 73–81.*

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A szerzők köszönetet mondanak a KMOP-2009-1.1.1 kódjelű, KMOP-09/1-2009/-0018 azonosító számú, és „Hagyományos formulációjú gyógypremixek granulált gyógyszerformává történő fejlesztése laboratóriumi és pilot batch méretekben” című pályázata támogatásáért.

Érkezett: 2017. április

Szerzők címe: Tóth J.

Author's address: MTA Természettudományi Kutatóközpont
Research Centre for Natural Sciences, HAS
H-1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2.
toth@mukki.richem.hu

Gyetvai B.

Alpha-Vet Állatgyógyászati Kft.
Alpha-Vet Animal Health Ltd.
H-8000 Székesfehérvár, Homokosor 7.
gyetvai.bela@alpha-vet.hu

Gyenis J.

Pannon Egyetem, Bio-nanotechnológiai és Műszaki Kémiai
Kutatóintézet
University of Pannonia, Research Institute of Biomolecular and
Chemical Engineering
H-8200 Veszprém, Egyetem u. 2.
gyenis@mukki.richem.hu

Rózsa L.

NAIK Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet
NARIK Research Institute for Animal Breeding, Nutrition and Meat
Sciences
H-2053 Herceghalom, Gesztenyés út 1.
rozsa.laszlo@atk.naik.hu