



FACULTEIT FARMACEUTISCHE WETENSCHAPPEN

**ONTWIKKELING VAN EEN MULTIPARTICULAIRE
GENEESMIDDELVORM VOOR DE TOEDIENING VAN
PIROXICAM AAN HONDEN**

Ann Debunne

Apotheker

Proefschrift voorgelegd tot het behalen van de graad van
Doctor in de Farmaceutische Wetenschappen

2004

Promotoren:

Prof. Dr. Apr. J.P. Remon

Prof. Dr. Apr. C. Vervaet

Laboratorium Farmaceutische Technologie

DOELSTELLING.....	1
1 NIET-STEROÏDALE ANTI-INFLAMMATOIRE GENEESMIDDELEN BIJ KLEINE HUISDIEREN	3
1.1 Fysiologie van de gastro-intestinale tractus van hond en mens.....	3
1.2 Werkingsmechanisme van niet-steroïdale anti-inflammatoire geneesmiddelen (NSAIDs)	5
1.3 Gastro-intestinale bijwerkingen	8
1.3.1 Pathogenese.....	8
1.3.1.1 Lokaal effect	8
1.3.1.2 Systemisch effect	10
1.3.2 Preventie en behandeling	11
1.3.2.1 Type NSAID	11
1.3.2.2 Concomitante geneesmiddeltodiening	13
1.3.2.3 Geneesmiddelformulatie	15
1.4 Niet-steroïdale anti-inflammatoire geneesmiddelen bij kleine huisdieren ..	16
1.4.1 Algemeen	16
1.4.2 Piroxicam	17
1.4.2.1 Fysische eigenschappen	17
1.4.2.2 Farmacokinetische en farmacologische eigenschappen.....	18
1.4.2.3 Therapeutisch gebruik en bijwerkingen in kleine huisdieren	19
1.4.3 Formulatie bij kleine huisdieren	20
1.5 Conclusie.....	22
1.6 Referenties	22
2 ONTWIKKELING VAN PIROXICAMPELLETS VIA EXTRUSIE-SFERONISATIE	29
2.1 Inleiding	29
2.2 Extrusie-sferonisatie	30
2.3 Materialen en methoden.....	32
2.3.1 Samenstelling van de pellets	32
2.3.2 Productie van de pellets	33
2.3.3 Evaluatie van de pellets	35

2.3.3.1	In vitro dissolutietest.....	35
2.3.3.2	Bepaling van de deeltjesgroottedistributie.....	36
2.3.3.3	Friabiliteit.....	36
2.4	Resultaten.....	36
2.4.1	<i>In vitro</i> vrijstelling van piroxicam uit pellets op basis van MCC	37
2.4.2	Invloed van surfactantia op de <i>in vitro</i> vrijstelling van piroxicam	38
2.4.2.1	Invloed van polysorbaat 60 (Tween® 60)	38
2.4.2.2	Invloed van Cremophor® RH 40.....	40
2.4.3	Invloed van cosolventen op de <i>in vitro</i> vrijstelling van piroxicam.....	41
2.4.4	Invloed van desintegratoren op de <i>in vitro</i> vrijstelling van piroxicam	42
2.4.5	Invloed van het Avicel® type op de <i>in vitro</i> vrijstelling van piroxicam	44
2.4.6	Invloed van cyclodextrines op de <i>in vitro</i> vrijstelling van piroxicam	47
2.4.6.1	Invloed van 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrine (HP-β-CD).....	48
2.4.6.2	Combinaties van cyclodextrines en andere excipiëntia	50
2.4.7	Invloed van L-HPC op de <i>in vitro</i> vrijstelling van piroxicam	54
2.4.8	Besluit	56
2.4.9	Optimalisatie van de pelletformulatie met Avicel® PH 101/CL 611 (1/3).....	56
2.4.9.1	Invloed van de herkomst van piroxicam.....	56
2.4.9.2	Invloed van de hoeveelheid granulatievloeistof	57
2.4.9.3	Invloed van sferonisatieduur en -snelheid	59
2.4.9.4	Invloed van de droogtechniek.....	61
2.4.9.5	Invloed van de pelletgrootte.....	62
2.4.9.6	Reproduceerbaarheid	64
2.5	Besluit	64
2.6	Referenties	65
3	ENTERISCHE OMHULLING VAN PIROXICAMPELLETS VIA DE WERVELBED TECHNIEK	71
3.1	Inleiding	71
3.1.1	Het omhullingsproces	72
3.1.2	Het omhullingsmateriaal.....	75
3.2	Materialen en methoden.....	79

3.2.1	Omhuiling van de pellets	79
3.2.1.1	Optimalisatie omhuilingsproces.....	79
3.2.1.2	Controle van de omhuiling.....	80
3.2.2	Stabiliteitsstudie	81
3.3	Resultaten en discussie	81
3.3.1	Omhuiling van de pellets	81
3.3.1.1	Optimalisatie omhuilingsproces via "top-spray" coating	81
3.3.1.2	Optimalisatie omhuilingsproces via "bottom-spray" coating met behulp van de Würster techniek.....	84
3.3.1.3	Invloed van de samenstelling en de dikte van de omhuiling	86
3.3.1.4	Invloed van de pelletgrootte.....	91
3.3.2	Stabiliteitsstudie	93
3.4	Besluit	97
3.5	Referenties	97
4	COMPACTIE VAN ENTERISCH OMHULDE PIROXICAMPELLETS	101
4.1	Inleiding	101
4.1.1	Compactieproces.....	101
4.1.1.1	Fasen in het compactieproces	102
4.1.1.2	Karakterisatie van de volumereductiemechanismen.....	103
4.1.2	Compactie van pellets	106
4.1.2.1	Invloed van formulatieparameters op compactie	107
4.1.2.1.1	Pelletkern	107
4.1.2.1.2	Polymeeromhuiling.....	110
4.1.2.1.3	Hulpstoffen	112
4.1.2.2	Invloed van procesparameters op compactie	118
4.1.2.2.1	Compactiedruk.....	118
4.1.2.2.2	Stempeldesign.....	119
4.1.2.2.3	Stempelsnelheid	119
4.1.2.3	Besluit	120
4.2	Materialen en methoden.....	120
4.2.1	Samenstelling van de tabletten.....	120
4.2.2	Productie van de tabletten	121
4.2.2.1	Excentrische comprimeermachine	121

4.2.2.2	Compactiesimulator	121
4.2.3	Evaluatie van de tabletten	123
4.3	Resultaten.....	125
4.3.1	Formulatie van een snel-desintegrerende tablet.....	125
4.3.1.1	Keuze van het desintegratiemiddel	125
4.3.2	Invloed van formulatie- en procesparameters op de tablet- eigenschappen	128
4.3.2.1	Statistische proefopzet	128
4.3.2.2	Resultaten.....	130
4.3.2.3	Besluit	135
4.3.3	Invloed van de pelletgrootte op de tableteigenschappen	136
4.3.3.1	Uniformiteit van gewicht en gehalte.....	136
4.3.3.2	Overige tableteigenschappen	138
4.3.3.3	Besluit	138
4.3.4	Opschaling van twee tabletformulaties	139
4.3.4.1	Uniformiteit van gewicht	139
4.3.4.2	Tableteigenschappen.....	141
4.3.4.3	<i>In-vitro</i> vrijstelling	143
4.3.4.4	Besluit	145
4.3.5	Stabiliteitsstudie bij kamertemperatuur	145
4.3.5.1	Tableteigenschappen.....	145
4.3.5.2	<i>In-vitro</i> vrijstelling	147
4.3.5.3	Besluit	148
4.3.6	Invloed van stempelvorm en -diameter op de compressie- en tableteigenschappen	148
4.3.6.1	Elastisch herstel	149
4.3.6.2	Yield pressure	150
4.3.6.3	Tabletsterkte.....	151
4.3.6.4	Strain rate sensitivity index.....	152
4.3.6.5	Besluit	153
4.4	Besluit	154
4.5	Referenties	154

5	IN VIVO EVALUATIE VAN PIROXICAM PELLET- EN TABLETFORMULATIES	162
5.1	Inleiding	162
5.2	Validatie van een HPLC-methode voor de bepaling van piroxicam in plasma van honden.....	164
5.2.1	Materialen en methoden.....	164
5.2.1.1	Materialen	164
5.2.1.2	HPLC-systeem	165
5.2.1.3	Staalvoorbereiding	165
5.2.2	Resultaten.....	166
5.2.2.1	Specificiteit	166
5.2.2.2	Lineariteit.....	168
5.2.2.3	Precisie.....	168
5.2.2.4	Accuraatheid	171
5.2.2.5	Extractierendement	172
5.2.2.6	Detectielimiet.....	172
5.2.2.7	Kwantificatielimiet	173
5.2.2.8	Stabiliteit van piroxicam in plasma.....	173
5.3	Biologische beschikbaarheid van piroxicam na toediening van pellet- en tabletformulaties	174
5.3.1	Materialen en methoden.....	174
5.3.1.1	Materialen	174
5.3.1.2	Eénmalige orale en intraveneuze toediening van piroxicam	174
5.3.1.3	Herhaalde orale toediening van piroxicam	175
5.3.2	Resultaten.....	176
5.3.2.1	Eénmalige orale en intraveneuze toediening van piroxicam	176
5.3.2.2	Herhaalde orale toediening van piroxicam	181
5.4	Besluit	182
5.5	Referenties	182
6	IRRITATIESTUDIE VAN DE PIROXICAMFORMULATIES	187
6.1	Inleiding	187
6.2	Materialen en methodes	190
6.2.1	Screeningtest voor mucosale toxiciteit	190
6.2.1.1	Materialen	190

6.2.1.2	Methode	191
6.2.2	Endoscopische studie	192
6.3	Resultaten.....	195
6.3.1	Screeningtest voor mucosale toxiciteit	195
6.3.2	Endoscopische studie	198
6.4	Conclusie.....	204
6.5	Referenties	204
7	SAMENVATTING EN CONCLUSIE	208
	Summary and conclusion.....	213
	Synthèse et conclusion.....	217

De realisatie van dit proefschrift werd mogelijk gemaakt dankzij de bijdrage van een heleboel mensen. Ik wens dan ook ieder van hen van harte te bedanken.

Mijn dank gaat uit naar Prof. Dr. Apr. J.P. Remon voor de kans die hij me gaf om te doctoreren, voor zijn begeleiding en voor het vertrouwen en de vrijheid, die ik mocht genieten.

Prof. Dr. Apr. C. Vervaeke zou ik willen bedanken voor zijn begeleiding, steun en aanmoediging tijdens het onderzoek en voor de vele uren kritisch nalezen.

Daniël, zonder wie de *in vivo* experimenten niet mogelijk zouden geweest zijn, ben ik dankbaar voor zijn niet aflatend enthousiasme waarmee hij telkens opnieuw vroeg in de ochtend, in weekends en op vrije dagen de verzorging van en de staalnames bij de honden op zich nam.

De diensten van Prof. P. Van Bree (Vakgroep Medische Beeldvorming van de Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, UGent) en Prof. A. De Rick (Vakgroep Geneeskunde en Klinische Biologie van de Kleine Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, UGent) wil ik bedanken voor het ter beschikken stellen van hun honden. Tevens wil ik Prof. Sylvie Daminet (Vakgroep Geneeskunde en Klinische Biologie van de Kleine Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, UGent) bedanken, die er voor zorgde dat we 6 weken lang over de Beagle hondjes konden beschikken.

In het bijzonder gaat mijn dank uit naar Ingrid Gielen (Vakgroep Medische Beeldvorming van de Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, UGent), die naast haar eigen doctoraatswerk de coördinatie van de irritatiestudie bij de honden op zich genomen heeft, naar Stefaan Missine en Annemie Vancaelenberg (Vakgroep Medische Beeldvorming van de Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, UGent), die hem assisteerde, voor het uitvoeren van de endoscopieën, naar Ingeborgh Polis (Vakgroep Geneeskunde en Klinische Biologie van de Kleine Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, UGent), die de anesthesie in goede banen leidde en uiteraard mijn

welgemeende dank aan alle studenten Diergeneeskunde en andere personeelsleden, die meegeholpen hebben met de endoscopiestudie.

Bovendien wil ik Prof. P. De Backer (Vakgroep Farmacologie, Farmacie en Toxicologie, Faculteit Diergeneeskunde, UGent) te bedanken voor het beschikbaar stellen van piroxicam en voor zijn bijdrage tot de endoscopiestudie.

Ik wens Prof. P. Simoens en in het bijzonder Bart De Pauw (Vakgroep Morfologie, Faculteit Diergeneeskunde, UGent) te bedanken voor het maken van de SEM-foto's.

Mijn dank gaat ook uit naar Prof. Massart en Debby Mangelings van de Vrije Universiteit Brussel voor het opstellen van de experimental design en de hulp bij de verwerking van de resultaten.

Verder wens ik alle collega's en ex-collega's te bedanken voor de fijne samenwerking en de aangename sfeer op het labo. In het bijzonder wil ik Els bedanken voor haar schitterende uitleg bij de statistische verwerking van mijn resultaten en voor het testen van mijn formulaties met behulp van de slakkentest, Marijke voor de hulp bij de slakkentest, Filip voor zijn uitleg bij de compactie experimenten en hulp bij de Heckel-analyses, Brenda, mijn bureaugenoot, voor haar enorme bereidwilligheid om te helpen bij allerlei problemen en voor de leuke tijd, en Bruno en Katharine voor de administratieve ondersteuning.

Mijn dank gaat ook uit naar alle studenten, die in de loop van de jaren geholpen hebben bij het uitvoeren van de experimenten in het kader van mijn doctoraatsonderzoek: Patricia Van Herreweghe, An Dewicke, Mario De Decker, Barbara Van Melkebeke, Anne-Sophie Verslype, Tineke van Hooland, Ana Del Cerro (Spanje), Nuno Miguel Lages de Oliveira (Portugal).

En als laatste zou ik mijn familie, vrienden en Nico willen bedanken voor hun steun tijdens mijn onderzoek en in het bijzonder ben ik mijn mama dankbaar voor haar hulp bij het vertalen en Nico voor de "PC-matige" ondersteuning.

Doel van dit onderzoek is de ontwikkeling van een orale geneesmiddelvorm voor de toediening van piroxicam aan honden.

Piroxicam is een niet-steroïdaal anti-inflammatoir geneesmiddel, dat gebruikt wordt in kleine huisdieren voor de behandeling van chronische arthritis (heupdysplasie, vervormingen van het kniegewricht, verschillende vormen van spondylitis) en postoperatief als analgeticum. Gastro-intestinale irritatie is de voornaamste bijwerking bij de hond. Een deel van deze irritatie is te wijten aan lokale irritatie ter hoogte van de mucosale barrière van de maagwand. Om deze lokale irritatie te reduceren, werd geopteerd voor het ontwikkelen van een enterisch omhuld preparaat. Snelle vrijstelling van slecht wateroplosbaar piroxicam uit de pelletkern is daarbij een belangrijke vereiste. Om een reproduceerbare gastro-intestinale transit te verkrijgen, werd gekozen voor een multiparticulair systeem bestaande uit sfeertjes kleiner dan 2 mm. Om deze omhulde sfeertjes gemakkelijk te kunnen toedienen aan de hond, dienden ze gecompriëerd te worden tot tabletten, die snel desintegreren in zuur milieu.

Op basis hiervan wordt tijdens dit project een multiparticulaire geneesmiddelvorm ontwikkeld bestaande uit maagsapresistente sfeertjes, die nadien tot tabletten worden gecompriëerd. De volgende objectieven worden hierbij vooropgesteld:

- De produktie van sfeertjes (pellets) die eenvoudig te omhullen zijn d.w.z. die gekenmerkt worden door een nauwe deeltjesgroottedistributie, een regelmatig oppervlak en een lage friabiliteit.
- De geneesmiddeldosis moet snel en volledig vrijgesteld worden uit de pellets.
- De omhulling moet maagsapresistentie garanderen en voldoende bestand zijn tegen compactie.
- De samenstelling van de tablet moet snelle desintegratie garanderen in zuur midden en moet bovendien de omhulde pellets beschermen tijdens compactie.
- De compactieparameters (kracht, snelheid, stempeldiameter en -vorm) die aanleiding geven tot goede tableteigenschappen moeten worden vastgelegd.
- De stabiliteit van de tabletformulaties moet verzekerd zijn en de productietechniek moet de mogelijkheid tot opschaling bieden.

- De biologische beschikbaarheid van de pellet- en tabletformulaties moet vergelijkbaar zijn met die van het commerciële referentiepreparaat.
- De lokale tolerantie van de piroxicamformulaties moet beter zijn dan deze van het referentiepreparaat.

1.1 Fysiologie van de gastro-intestinale tractus van hond en mens

Het gastro-intestinaal stelsel van mens en hond tonen veel overeenkomsten (Tabel 1.1). In de niet-gevoede toestand is de pH in de maag van hond en mens vergelijkbaar. Na inname van voedsel is er humaan een postprandiale stijging van de pH in de maag waarneembaar gedurende 60 à 90 min na voedselinname, terwijl door de hogere maagzuursecretie deze pH-stijging niet optreedt bij de hond (Dressman, 1986). De intestinale pH ligt in nuchtere toestand 1 pH-eenheid hoger bij de hond, waardoor enterisch omhulde preparaten (waarvan de omhulling in oplossing gaat vanaf een pH van 6 à 6,5) in de hond meer reproduceerbare resultaten geven in vergelijking met de mens (Dressman, 1986). In aanwezigheid van voedsel daalt de intestinale pH van de hond sneller en drastischer (zelfs tot pH 3 na 60 min) dan bij de mens, wat een belangrijke invloed kan hebben op het gedrag van enterisch omhulde preparaten.

Tabel 1.1: Vergelijking van de fysiologische gastro-intestinale parameters van mens en hond (Dressman*, 1986; Davis et al., 1993)

Parameter	Humaan	Hond
Basale maagzuursecretie (mEq/u)	2,2 (vrouw) 3,7 (man)	0,1
Maximale maagzuursecretie (mEq/u)	18 ± 5 (*)	39 ± 5 (*)
Maag pH (nuchter)	1,0-3,2	0,9-2,5
Intestinale pH (nuchter)	5,5-6,5 (*)	6,5-7,5 (*)
Interval fase III IMMC activiteit (min)	113 ± 11	106 ± 8
Duur fase III (min)	19 ± 4	19 ± 2
Cut-off size voor lediging multiple units (mm)	11-13	2-7
Transittijd dunne darm (min)	180 ± 60	111 ± 17

In de maag beschermt de mucosale barrière de maagmucosa tegen de sterk zure inhoud van het maaglumen en tegen de invloed van etsende produkten zoals ethanol en bepaalde geneesmiddelen (Fig. 1.1).

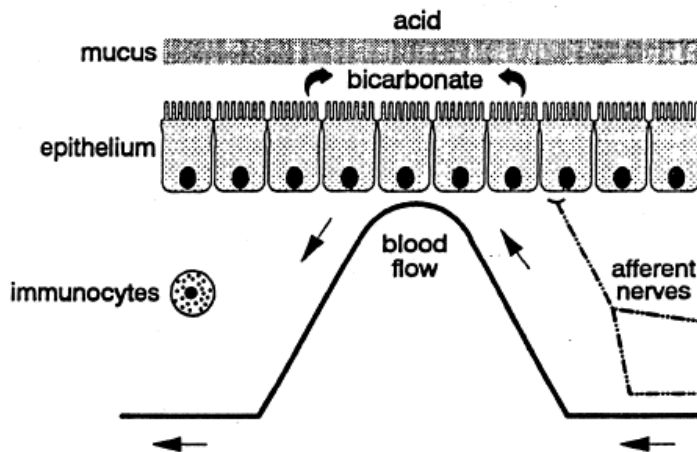


Fig. 1.1: Schematische voorstelling van de mucosale barrière. (Wallace, 2001)

De mucosale barrière kan onderverdeeld worden in pre-epitheliale, epitheliale en postepitheliale factoren (Scheiman, 1996). Pre-epitheliale bescherming bestaat uit cilindrische epitheelcellen aan het oppervlak van de maagwand, die mucus secreteren, en uit een mucuslaag opgebouwd uit mucine en trefoil peptiden (38 à 39 az). De epitheelcellen secreteren bicarbonaat, dat het maagzuur neutraliseert wanneer het doorheen de mucuslaag diffundeert (Bjorkman, 1996). Hierdoor ontstaat een beschermende pH gradiënt en wordt een neutrale pH ter hoogte van de epitheelcellen bekomen (Gyires, 1994) (Fig. 1.2). Bovendien is de mucuscel een belangrijke bron van dipalmitoylfosfatidylcholine, waarvan de secretie nauw samenhangt met de secretie van mucine (Scheiman, 1996). Het oppervlak van de mucuslaag is bedekt met een dunne film bestaande uit hydrofobe fosfolipiden, die de zure inhoud afstoten (Bjorkman, 1996; Rodríguez-Téllez et al., 2001). Epitheliale bescherming bestaat uit mucosale restitutie d.i. een snelle migratie van epitheelcellen zonder celdeling voor het herstellen van kleine epitheliale defecten. Deze restitutie vereist een alkalische micro-omgeving en wordt geblokkeerd door een lage pH. Daarnaast bezitten de epitheelcellen ook een efficiënt mechanisme om de intracellulaire pH in stand te houden. Dit mechanisme is afhankelijk van een adequate bicarbonaat (HCO_3^-) toevoer via de bloedstroom en van Na^+/H^+ en $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ uitwisselaars in de celmembranen. Beschadiging van de gastroduodenale mucosa leidt tot de vorming van een gelatineachtig mengsel van mucus, lipiden, fibrine en cellulaire brokstukken, dat de beschadigde plaats overkoepelt zodat een ideale omgeving voor restitutie en regeneratie ontstaat. De postepitheliale barrière beschermt tegen diepe mucosale

beschadiging en bestaat uit bloedvaatjes, die zorgen voor een evenwicht tussen de lumenale protonconcentratie en de mucosale doorbloeding. (Gyires, 1994; Scheiman, 1996). De microcirculatie zorgt voor buffering en afvoer van de overmaat protonen via de bloedstroom (Bjorkman, 1996). Als er een voldoende hoge doorbloeding is, worden hogere protonconcentraties verdragen (Gyires, 1994). Een daling van de mucosale doorbloeding zorgt echter voor een toename van de beschadiging zelfs bij lage protonconcentraties.

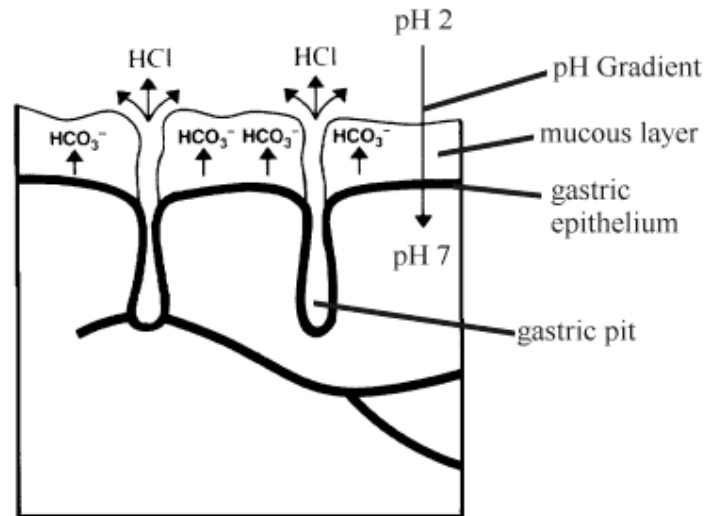


Fig. 1.2 Beschermende pH-gradient ter hoogte van de maagmucosa (ref.: <http://www.elfstrom.com/arthritis/nsaids/crosssection.gif>)

1.2 Werkingsmechanisme van niet-steroïdale anti-inflammatoire geneesmiddelen (NSAIDs)

Inflammatie is een pathologisch proces, dat voor het eerst beschreven werd door Celsus (ca. 25 v. Chr.-ca. 50 na Chr.) aan de hand van de vier belangrijkste symptomen: roodheid (rubor), zwelling (tumor), warmte (calor) en pijn (dolor). Later kwam daar nog een vijfde symptoom bij nl. het verlies van de functie (functio laesa) (Rubin, Papich, 1990a). De inflammatoire respons wordt geïnitieerd door infectieuze organismen en chemische of fysische stoffen, die resulteren in celbeschadiging. Fosfolipase A₂ (een acylhydrolase) wordt geactiveerd door een inflammatoire stimulus (infectie, trauma, koorts of bloedplaatjesaggregatie) en stelt arachidonzuur vrij uit de membraanfosfolipiden van de aangetaste weefsels (Fig 1.3).

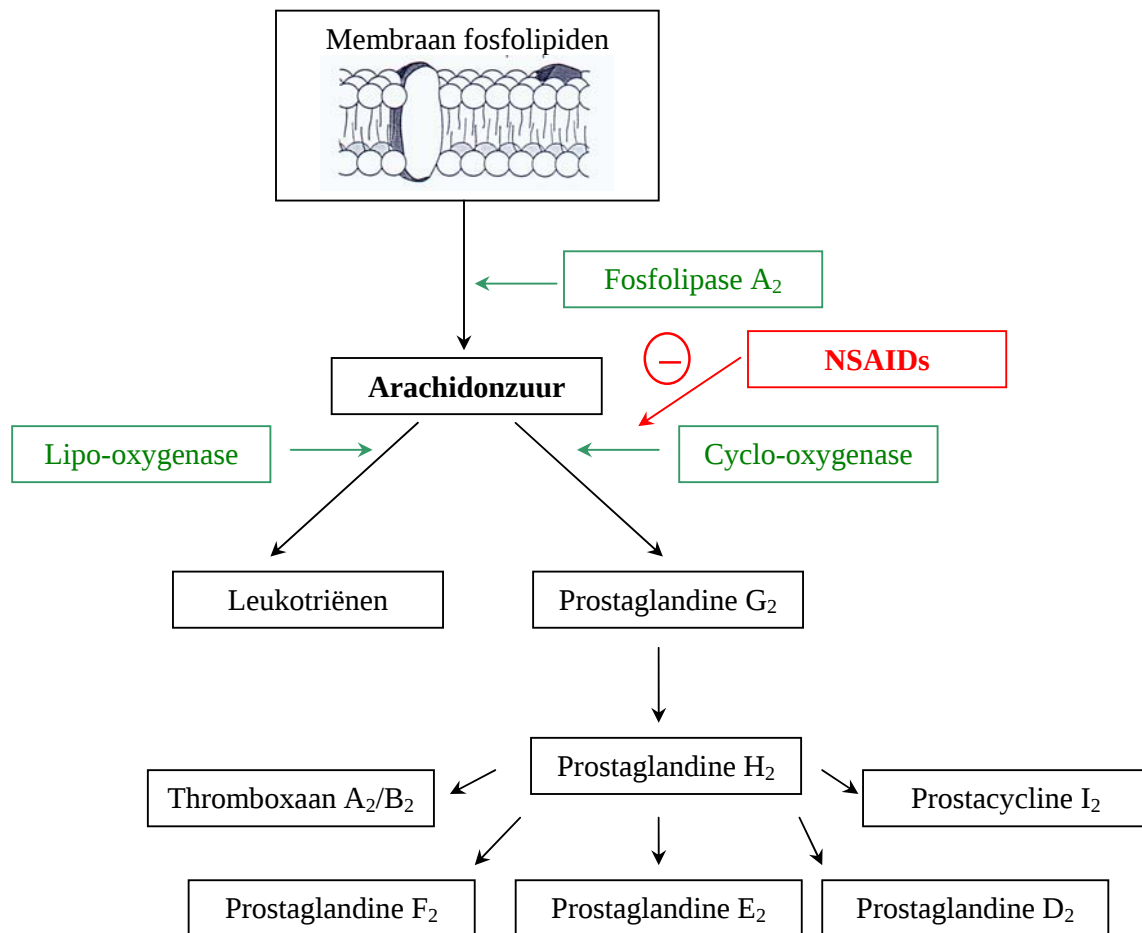


Fig. 1.3: Werkingsmechanisme van de NSAIDs.

Arachidonzuur is een C-20 vetzuur, dat wordt gesynthetiseerd uit de essentiële vetzuren linolzuur en linoleenzuur. Het wordt opgeslagen in de fosfolipidenfractie van de celmembranen van de meeste lichaamscellen. Vrij arachidonzuur heeft geen activiteit, maar dient als substraat voor twee enzymen nl. het cyclo-oxygenase (COX) en het lipo-oxygenase enzym (Lees et al., 1991; Vane, 1996). Het COX-enzym is aanwezig in alle cellen met uitzondering van volgroeide rode bloedcellen. Lipo-oxygenase wordt hoofdzakelijk teruggevonden in de longen, de bloedplaatjes en de witte bloedcellen (Kore, 1990). Het cyclo-oxygenase enzym zet arachidonzuur om naar intermediaire cyclische endoperoxiden (prostaglandinen G₂ en H₂), die op hun beurt worden geconverteerd naar de prostaglandinen D₂, E₂ en F₂, naar prostacycline PGI₂ en naar de thromboxanen TXA₂ en TXB₂ (Rubin, Papich, 1990a) (Fig 1.3). Prostaglandinen regelen of onderdrukken meestal andere regulatorische mechanismen. Ze regelen de intracellulaire calcium-, adenylcyclase en cAMP

(cyclisch adenosyl 3',5' fosfaat)-spiegels. De verschillende prostaglandines hebben soms wel een tegenovergestelde vasculaire werking: zo zorgen prostacycline en PGE₂ voor relaxatie van de gladde spiercellen, terwijl PGF_{2α} en TXA₂ constrictie van de gladde spiercellen veroorzaken. Prostacycline is een potente inhibitor van de bloedplaatjesaggregatie, terwijl TXA₂ de bloedplaatjesaggregatie stimuleert (Kore, 1990). De eicosanoiden vormen een belangrijke groep mediators in de inflammatoire respons. Ze spelen niet enkel een rechtstreekse rol, maar interageren ook met andere mediators zoals vasoactieve amines en bradykinines. Bij inflammatie zorgt een verhoogde PGE₂ productie voor dilatatie van de vasculaire gladde spiercellen, een verhoogde vasculaire permeabiliteit (onder invloed van bradykinine en histamine) (Kore, 1990) met karakteristieke vasodilatatie en erytheem tot gevolg. De vasodilatatie zorgt voor een toename van de doorbloeding van de ontstoken weefsels, waardoor de extravasatie van vloeistof (oedeem) toeneemt. Bovendien heeft PGE₂ een synergistisch pijn-effect d.w.z. dat het zelf geen pijn induceert, maar dat het de pijnreceptoren gevoeliger maakt voor de werking van bradykinine en histamine (Vane, Botting, 1995). De prostaglandines, die vrijgesteld worden vanuit de hypothalamus, veroorzaken koorts (Kore, 1990). Bovendien zijn de eicosanoiden chemotactisch, waardoor leukocyten worden aangetrokken naar de plaats van verwonding. De NSAIDs inhiberen het cyclo-oxygenase enzym en zo de vorming van prostaglandines, prostacyclines en thromboxaan waardoor ze een anti-inflammatoir, analgetisch, antipyretisch en bloedplaatjesaggregatieremmend effect hebben.

1.3 Gastro-intestinale bijwerkingen

1.3.1 Pathogenese

1.3.1.1 Lokaal effect

NSAIDs beschadigen de mucosale epitheelcellen op twee manieren. Enerzijds gebeurt dit door rechtstreeks contact (lokaal effect) en anderzijds is de beschadiging het gevolg van de inhibitie van de prostaglandinesynthese (systemisch effect) (Bjorkman, 1996; Rodríguez-Téllez et al., 2001). De meeste NSAIDs zijn zwakke organische zuren met een pKa waarde tussen 3 en 5 (Scheiman, 1996). In het sterk zure

maagmilieu ($\text{pH} < 2,5$) zijn deze geneesmiddelen niet-geïoniseerd en zullen ze vrij diffunderen doorheen de celmembranen van de epitheelcellen. De neutrale intracellulaire pH zorgt voor dissociatie van het NSAID naar zijn geïoniseerde vorm, waardoor het accumuleert in de cel (Lancaster, 1995; Scheiman, 1996). Aangezien de niet-gedissoceerde vorm in evenwicht blijft langs beide zijden van de celmembraan is de intracellulaire geneesmiddelconcentratie (geïoniseerd en niet-geïoniseerd NSAID) veel hoger dan buiten de cel. Dit fenomeen wordt “ion trapping” genoemd (Scheiman, 1996). Het exacte mechanisme waarmee de hoge NSAID concentraties cellulaire beschadiging veroorzaken is niet gekend. De hoge concentratie aan geneesmiddel en protonen in de cel leidt waarschijnlijk tot een abnormale ionenflux langsheen het epitheel. Na^+ en K^+ ionen komen in het lumenale vocht terecht, terwijl protonen de mucosa binnenkomen vanuit het lumen waardoor degranulatie optreedt van de mastcellen met vrijstelling van histamine tot gevolg. Histamine veroorzaakt constrictie van de venen, verstopping van de capillairen, ischemie, verhoging van de vasculaire permeabiliteit en als gevolg daarvan ernstige weefselbeschadiging (Schrauwen, 1993; Gyires, 1994; Wallace, 1997; Wolfe et al., 1999; Hawkey, 2000). Deze beschadiging is endoscopisch zichtbaar als oppervlakkige gastritis en submucosale hemorragie (Bjorkman, 1996). Naast histamine kunnen ook proteolytische enzymen, leukotriënen en peroxidasen vrijgesteld worden. Pepsine is een proteolytisch enzym, dat aanwezig is in het maaglumen en instaat voor de vertering van voedsel. De slijmvlieslaag in de maag vertraagt de penetratie van pepsine in de mucosa. NSAIDs versterken de proteolytische activiteit van pepsine, waardoor de mucuslaag sneller wordt afgebroken dan gevormd, wat een verlaging van de viscositeit van de mucus en een bevordering van de terugdiffusie van ionen tot gevolg heeft (Gyires, 1994; Rodríguez-Téllez et al., 2001). Directe applicatie van NSAIDs op maag- of duodenale mucosa in diermodellen veroorzaakte onmiddellijke en snelle lokale beschadiging van de epitheelcellen en het microvasculair weefsel en hemorragie in de oppervlakkige mucosale lagen. Deze beschadiging bleek voornamelijk bepaald te worden door de oplosbaarheid van het NSAID in zuur milieu en door zijn ionisatieconstante pK_a . NSAIDs die geprotoneerd zijn bij een zure pH verhoogden de kans op beschadiging (Hollander, 1994). Cellulaire beschadiging is waarschijnlijk het gevolg van ontkoppeling van de oxidatieve fosforylatie ter hoogte van de mitochondriën, verminderde beschikbaarheid van adenosine trifosfaat (ATP), verminderd natrium/kaliumtransport, zwellen van de cellen gevolgd door necrose

(Schrauwen, 1993; Hollander, 1994; Wallace, 1997). Ion trapping heeft een direct effect op de enzymactiviteit en zorgt voor ontkoppeling van de oxidatieve fosforylatie en inhibitie van het vetzuurmetabolisme (Hawkey, 2000).

NSAIDs veroorzaken eveneens een daling van het hydrofobe karakter van de mucusgellaag door binding van het NSAID met de hydrofobe fosfolipidlaag, die in een dunne film op de mucuslaag ligt (Rubin, Papich, 1990b; Scheiman, 1996; Wallace, 1997). Door de gedaalde hydrofobiciteit van de mucuslaag kunnen endogeen maagzuur en pepsine het epitheel gemakkelijker beschadigen (Wolfe et al., 1999).

Op sub-epitheliaal niveau veroorzaken de NSAIDs thrombose in de microcirculatie en vasoconstrictie van de arteriolen van de submucosa (Rodríguez-Téllez et al., 2001). De verstoring van de mucosale doorbloeding zorgt voor epitheliale beschadiging en het ontwikkelen van bloedende letsels. Wanneer de mucosale verdediging faalt, schiet de acute inflammatoire reactie in actie. Immunocyten (mastcellen en macrofagen) in de mucosa stellen vasoactieve en chemotactische factoren (leukotriënen B_4 en bloedplaatjes activerende factor) vrij, die snel een inflammatoire respons kunnen induceren in geval van letsels. Ze zorgen ervoor dat neutrofielen in de circulatie naar de plaats van het letsel worden gebracht om herstel te vergemakkelijken en om het binnendringen van bacteriën in de systemische circulatie te verhinderen. De neutrofielen staan in voor de vorming van granulair weefsel, waarin nieuwe bloedvaten worden gevormd (angiogenese) (Wallace, 2001).

1.3.1.2 Systemisch effect

Prostaglandinen zijn cytoprotectief in de gastro-intestinale tractus. PGE en PGI_2 verminderen het volume, de zuurtegraad en de pepsine-inhoud van de maagsecreties, die geïnduceerd worden door voedselinname, histamine en gastrine. Prostaglandines stimuleren bicarbonaatsecretie en veroorzaken vasodilatatie in de maagmucosa. Daarnaast stimuleren de prostaglandines de turnover en herstel van de gastro-intestinale epitheelcellen (Kore, 1990). Prostaglandines verhogen en/of onderhouden de mucosale doorbloeding, regelen de secretie van mucine en oppervlakte-actieve fosfolipiden en beschermen de maag tegen ulcerogene stoffen (Wallace, 2001).

Inhibitie van de endogene prostaglandinesynthese door NSAIDs veroorzaakt een daling van de epitheliale mucusproductie, van de bicarbonaatsecretie, van de

mucosale doorbloeding, van de epitheliale proliferatie, die belangrijk is voor de genezing van ulcers (Rubin, Papich, 1990b; Wolfe et al., 1999) en van de bloedplaatjesaggregatie, waardoor de kans op bloedingen vergroot (Bjorkman, 1996; Wallace, 1997; Wolfe et al., 1999). Tevens resulteert NSAID toediening in een verhoogde expressie van een belangrijke endotheliale adhesiemolecule in de microcirculatie van de maag. Adhesie van neutrofielen ter hoogte van het vasculaire endotheel wordt vergezeld van een activatie van deze cellen, wat leidt tot de vrijstelling van vrije zuurstofradicalen en proteasen. Daarnaast geeft neutrofieladhesie aanleiding tot capillaire obstructie waardoor de mucosale bloedstroom gereduceerd wordt en de mucosa beschadigd worden (microvasculaire ischemie) (Wallace, 1994; Scheiman, 1996).

Door de reductie van de mucosale barrièrefunctie kan gemakkelijker beschadiging optreden van de maagmucosa door endogene factoren zoals zuur, pepsine en galzouten of door exogene factoren zoals NSAIDs en ethanol. Deze beschadiging resulteert ofwel in oppervlakkige letsels die vanzelf herstellen, ofwel leidt ze tot maagulcers, gastro-intestinale hemorragie en perforatie (Wolfe et al., 1999). Het risico op ulcervorming neemt evenredig met stijgende dosis.

1.3.2 Preventie en behandeling

1.3.2.1 *Type NSAID*

- COX-1/COX-2 inhibitoren

Het cyclo-oxygenase (COX) enzym bestaat in twee isovormen. COX-1 is een constitutioneel enzym, komt voor in de bloedplaatjes, de nieren, het synoviaal vocht van de gewrichten en de maagmucosa en zorgt voor de synthese van kleine hoeveelheden prostaglandinen, die de homeostase in het lichaam bewaren (Rodríguez-Téllez et al., 2001). COX-2 is een induceerbaar enzym, dat tot expressie wordt gebracht in ontstoken weefsel, geactiveerde monocytten en macrofagen als reactie op inflammatoire stimuli. Waarschijnlijk is er in heel beperkte mate in sommige weefsels toch constitutieve expressie van de COX-2 isovorm en is het COX-2 fysiologisch aanwezig in de hersenen, de nieren en de eierstokken (Rodríguez-Téllez et al., 2001).

Er wordt verondersteld dat inhibitie van de COX-1 isovorm verantwoordelijk is voor de ongewenste bijwerkingen en dat inhibitie van de COX-2 isovorm verantwoordelijk is voor het anti-inflammatoire effect (Vane, 1996). Meer selectieve COX-2 inhibitoren zouden dus minder gastro-intestinale bijwerkingen veroorzaken dan de COX-1 selectieve inhibitoren (Bjorkman, 1996). Uit epidemiologische resultaten blijkt dat er een duidelijk verband is tussen de gastro-intestinale bijwerkingen en de COX-2/COX-1 activiteitsratio. Zo worden piroxicam en indomethacine gekenmerkt door een zeer hoge gastro-intestinale toxiciteit en hebben ze een meer uitgesproken activiteit ten opzichte van COX-1. Meloxicam heeft een hoge COX-2/COX-1 ratio en heeft een minimaal beschadigend effect op de gastro-intestinale tractus (Vane, 1996). Deze COX-2/COX-1 selectiviteit werd evenwel enkel aangetoond *in vitro* (Bjorkman, 1996). Momenteel zijn er 2 coxibs (celecoxib en rofecoxib) voor handen die *in vitro* tot 100 keer meer selectief zijn voor COX-2 dan de overige NSAIDs. Ze zijn even doeltreffend voor de behandeling van arthritis als de niet-selectieve NSAIDs en worden geassocieerd met een reductie van de incidentie van acute beschadiging en ulcers.

- NO-NSAIDs

Stikstofoxide (NO) is een kleine molecule, die gesynthetiseerd wordt uit het terminale guanidine stikstofatoom van L-arginine via het stikstofoxide synthase (Barrachina et al., 2001). NO heeft ongeveer dezelfde werking in de gastro-intestinale tractus als de prostaglandines. NO reguleert de mucosale doorbloeding, de mucusproductie en het herstel van mucosale beschadiging. Verder zorgt NO voor een inhibitie van de adhesie van neutrofielen en van de activatie van mastcellen en mastceldegranulatie. Er bestaat een samenwerking tussen de NO en prostaglandine gemedieerde processen. Onderdrukking van de ene route wordt gecompenseerd door een verhoging van de andere. De NO-concentratie is een belangrijke factor in de microvasculaire homeostase. Voldoende hoge NO-spiegels zorgen voor het behoud van de doorbloeding van de mucosa (Rodríguez-Téllez et al., 2001). Exogene NO-toediening beschermt de mucosa en versnelt de herstelling van de ulcers. NO wordt via een esterbinding gekoppeld aan een NSAID waardoor een vertraagde, verlengde NO vrijstelling optreedt (Hawkey, 2000; Barrachina et al., 2001). NO onderhoudt de mucosale doorbloeding in de maag en verhindert de adhesie van de leukocyten in de

microcirculatie van de maag, zodat de nadelige effecten van de COX inhibitie worden tegengegaan en geen mucosale beschadiging optreedt (Wallace, Cirino, 1994). Een voorbeeld van NO-NSAIDs zijn: nitrofenac; afgeleid van diclofenac (Wallace, 1997), flurbiprofen nitroxybutylester afgeleid van flurbiprofen (Wallace, Cirino, 1994; Wolfe et al., 1999), nitroxybutylester van naproxen (Davies et al., 1997), NO-aspirine (Ukawa et al., 1998) of L-arginine-ibuprofen (Jimenez et al., 2002).

- Prodrugs

Esterificatie van de zure groep van het NSAID zou de lokale irritatie reduceren (Gyires, 1994). Droxicam werd ontwikkeld als prodrug voor piroxicam. Palacios et al. (1987) toonden aan dat een éénmalige dosis van piroxicam toegediend aan ratten een groter erosief potentieel had dan eenzelfde dosis droxicam. Piroxicam produceerde lesies, die dieper en groter in aantal waren dan deze ten gevolge van droxicam. Olkkola et al. (1994) en Lancaster (1995) bevestigden dat droxicam dezelfde anti-inflammatoire en analgetische activiteit had als piroxicam, maar met minder gastro-intestinale bijwerkingen in dieren. Pivoxicam (een pivaalzuurester van piroxicam) werd eveneens gesynthetiseerd om de gastro-intestinale irritatie veroorzaakt door piroxicam te vermijden (Olkkola et al., 1994).

- NSAIDs geassocieerd met zwitterionische fosfolipiden

Na orale toediening binden sommige NSAIDs met de fosfolipiden uit de mucuslaag waardoor het hydrofobe karakter van de film daalt en deze meer permeabel wordt. Door NSAIDs vooraf te binden aan fosfolipiden wordt de ulcerogeniteit gereduceerd. De associatie van bv. aspirine of andere NSAIDs met dipalmitoylfosfatidylcholine (DPPC) zorgt voor een daling van het hydrofobe karakter en een toename van de contacthoek, waardoor er geen irriterend effect meer is (Wallace, 1997; Hawkey, 2000; Rodríguez-Téllez et al., 2001).

- Zuivere enantiomeren

Chiraliteit is een chemische eigenschap, die een effect heeft op de farmacologische activiteit van sommige NSAIDs. Chirale moleculen zijn meestal enkel verkrijgbaar als

racemisch mengsel bv. arylpropionzuren zoals ibuprofen, flurbiprofen en naproxen (Rodríguez-Téllez et al., 2001). Het R-enantiomeer van flurbiprofen heeft dezelfde analgetische effecten als het S-enantiomeer, maar heeft minder ulcerogene bijwerkingen. Daarom werd het zuivere R-enantiomeer gesynthetiseerd, maar *in vivo* treedt steeds conversie op van R naar S, waardoor het positieve effect verloren gaat (Wallace, 1997; Soll, 1998; Hawkey, 2000).

1.3.2.2 Concomitante geneesmiddeltoediening

- Prostaglandine analogen

Het gebruik van een synthetisch prostaglandine E analoog zoals misoprostol herstelt de beschermende functie van de mucosale barrière in de maag en in hogere dosissen remt het de maagzuursecretie (Schoenfeld et al., 1999; Wolfe et al., 1999). De mucosale doorbloeding, de mucusproductie en bicarbonaatsecretie worden verhoogd. Na 3 maanden NSAID-therapie daalt de incidentie van maag- en darmzweren tot minder dan 1,5 % door het gebruik van misoprostol. Misoprostol is dan ook het enige geneesmiddel dat door de FDA werd goedgekeurd als profylactisch middel tegen gastroduodenale ulcers ten gevolge van NSAID inname (Wolfe et al., 1999). Arthrotec[®] is een gecommmercialiseerd preparaat dat bestaat uit een associatie van diclofenac met 200 µg misoprostol en zorgt voor een daling van de incidentie van het optreden van ulcers in vergelijking met diclofenac alleen (Wright, 1993).

- Protonpompinhibitoren

Protonpompinhibitoren zoals omeprazole remmen de maagzuursecretie (Bjorkman, 1996; Wallace, 1997) door inhibitie van de waterstof-kaliumpomp in de pariëtale cellen van de maag (Hollander, 1994). Protonpompinhibitoren zijn meer doeltreffend dan H₂-receptor antagonisten voor de genezing van ulcers in patiënten, die continue NSAID therapie nodig hebben (Schoenfeld et al., 1999). Zo gaf omeprazole een betere verlichting van de gastro-intestinale symptomen dan ranitidine (Wolfe et al., 1999; Hawkey, 2000).

- H₂-receptor antagonisten

H₂-receptor antagonisten zoals famotidine, ranitidine en cimetidine genezen ulcers op voorwaarde dat de patiënt stopt met inname van het NSAID (Schoenfeld et al., 1999). Bij concomitante toediening zijn ze enkel efficiënt in hoge dosissen (Bjorkman, 1996; Wallace, 1997; Schoenfeld et al., 1999). Hoewel H₂-receptor antagonisten doeltreffend zijn voor het reduceren van NSAID gerelateerde dyspepsie, wordt het routinematig toedienen niet aangeraden omwille van een studie die aantoonde dat het gelijktijdig toedienen van H₂-antagonisten een significant hoger risico inhield voor de ontwikkeling van gastro-intestinale complicaties (Wolfe et al., 1999; Hawkey, 2000)

- Sucralfaat

Sucralfaat of het basisch aluminiumzout van sucrose octasulfaat bindt pepsine en galzouten. Omwille van het vermogen om proteïnen te binden in ulcers en de bicarbonaat- en mucusproductie te stimuleren worden cytoprotectieve eigenschappen toegeschreven aan sucralfaat (Kore, 1990). Sucralfaat heeft echter geen gunstig effect op de preventie van ulcers veroorzaakt door NSAID inname (Hollander, 1994; Scheiman, 1996; Wolfe et al., 1999)

- Zinkacexamaat:

Bulbena et al. (1993) onderzochten de beschermende werking van zinkacexamaat op de ontwikkeling van maaglesies in ratten, geïnduceerd door drie verschillende NSAIDs waaronder piroxicam. Piroxicam veroorzaakte beschadiging van het maagepitheel variërend van de vorming van caviteiten in het oppervlak van epitheliale cellen tot diepe erosies van de maagmucosa. De mucuslaag, die normaal gezien de maagmucosa bedekt, verdween of werd gereduceerd. Door een voorbehandeling met zinkacexamaat daalde de ernst van de lesies, werd de diepte van de mucosale erosies gereduceerd, verhoogde de hoeveelheid glycoproteïne in de mucus en stegen de gastrische PGE₂ spiegels.

1.3.2.3 Geneesmiddelformulatie

Het gebruik van buffers, die de pH van de geneesmiddelformulatie verhogen, reduceerde de irritatie ter hoogte van de maag. Bruistabletten met acetylsalicylzuur vormden in aanwezigheid van water koolstofdioxide, natriumcitraat en natriumacetylsalicylaat. De pH van deze oplossing bedroeg 5,5 à 6,5 en veroorzaakte niet meer gastro-intestinale intolerantie dan het placebo preparaat (Elfstrom et al., 1999). Ook diclofenac bruistabletten bleken minder mucosale lesies te veroorzaken (Wildgrube et al., 2002). Enterische omhulling van de geneesmiddelvorm verhindert vrijstelling in zuur milieu, waardoor het contact met en de toxiciteit van het geneesmiddel ter hoogte van de maagmucosa wordt gereduceerd (Bjorkman, 1996; Wallace, 1997). Op deze manier zou het gebruik van enterisch omhulde preparaten het lokaal irriterend effect kunnen omzeilen.

Systemen met vertraagde vrijstelling bv. door micro-encapsulatie van het geneesmiddel in matrixen bestaande uit harsen, wassen of polymeren zorgen voor een daling van het rechtstreekse toxische effect (Janjikhel et al., 1999), maar hebben soms een negatief effect op de biologische beschikbaarheid van het geneesmiddel. Encapsulatie in β -cyclodextrine zorgt voor een betere tolerantie en een verhoogde absorptie van piroxicam (Muller, Simon, 1997) en indomethacine (Skiba et al., 1995).

1.4 Niet-steroïdale anti-inflammatoire geneesmiddelen bij kleine huisdieren

1.4.1 Algemeen

De primaire therapeutische indicaties voor NSAIDs in kleine huisdieren zijn onderdrukking van pijn, inflammatie en bloedplaatjesaggregatie (Rubin, Papich, 1990a). Ze worden gebruikt voor de behandeling van arthritis (degeneratieve gewrichtsaandoening), myositis, tendinitis, postoperatieve inflammatie en andere inflammatoire aandoeningen van zachte weefsels en beenderen. Ze zijn efficiënt in het opheffen van pijn ten gevolge van acute musculoskeletale aandoeningen, maar ze zijn niet doeltreffend voor de behandeling van ernstige somatische of viscerale pijn (Rubin, Papich, 1990b). In geval van inflammatie van zachte weefsels kunnen ze

zwellings van de gewrichten reduceren (Lees et al., 1991). Doeltreffendheid bij gebruik in osteoarthritis is niet helemaal duidelijk. De NSAIDs hebben wel een analgetisch effect, maar geen effect op de inflammatie zelf (Lees et al., 1991).

NSAIDs kunnen gebruikt worden omwille van het antithrombotisch effect. Bij katten wordt thrombo-embolisme vermeden door om de dag 5 à 10 mg aspirine/kg lichaamsgewicht toe te dienen (Lees et al., 1991). Inhibitie van de bloedplaatjesaggregatie wordt gebruikt in de behandeling van thrombo-embolie geassocieerd met cardiomyopathie bij katten, pulmonaire bloedvatenbeschadiging geassocieerd met dirofilariasis (hartworminfectie) bij honden en bij allerlei andere thrombo-embolische aandoeningen (Rubin, Papich, 1990b).

Daarnaast kunnen NSAIDs ook aangewend worden voor de behandeling van endotoxische shock in honden (Lees et al., 1991). In honden met septische shock zijn de TXB₂ en 6-keto-prostaglandine F_{1α} (stabiele vorm van prostacycline) concentraties gestegen, met een enorme bloeddrukdaling tot gevolg. Toediening van NSAIDs houdt de stijging van deze prostanoiden tegen, waardoor de bloeddruk niet daalt (Rubin, Papich, 1990b).

1.4.2 Piroxicam

Piroxicam of 4-hydroxy-2-methyl-N-(2-pyridyl)-2H-1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-dioxide is een niet-steroïdaal anti-inflammatoir geneesmiddel (NSAID), dat behoort tot de N-heterocyclische carboxamiden of oxicams (Fig. 1.4).

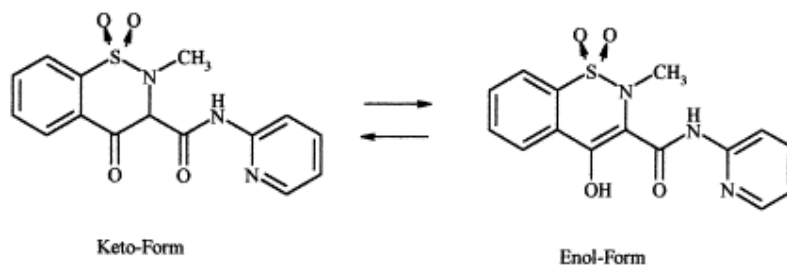


Fig. 1.4: Tautomere vormen van piroxicam (Bartsch et al., 1999).

1.4.2.1 Fysische eigenschappen

Piroxicam is een anhydrisch, wit tot lichtgeel, kristallijn, geurloos poeder. Het vormt een geel monohydraat in water (Martindale, 1995). Piroxicam is slecht oplosbaar in water, verdunde zuren en de meeste organische solventen (Merck Index, 1996; Eur. Farm., 2002). Het is weinig oplosbaar in alcohol en verdunde alkalische oplossingen (Martindale, 1995). Het is oplosbaar in methyleenchloride (Eur. Farm., 2002). Piroxicam heeft zwak zure eigenschappen door een enolische 4-hydroxy-substituent (pK_a 5,1) en heeft een zwak basisch pyridylstikstofatoom (pK_a 1,8) (Pfizer, 1999). De molecule kan onder twee tautomere vormen voorkomen, nl. een keto- en enolvorm (Bartsch et al., 1999) (Fig 1.4) en het moleculair gewicht bedraagt 331,3 (Clarke's, 1986). Het belangrijkste afbraakproduct van piroxicam is 2-aminopyridine (Eur. Farm., 2002).

1.4.2.2 Farmacokinetische en farmacologische eigenschappen

Piroxicam wordt na orale toediening bij de hond goed en volledig (± 100 %) geresorbeerd. Eens het geneesmiddel in de bloedbaan terechtkomt, bindt het voor 99 % aan de plasma-eiwitten. Het distributievolume is klein en bedraagt $\pm 0,29$ l/kg lichaamsgewicht. Zowel humaan als in honden wordt piroxicam gekenmerkt door een lange halfwaardetijd (± 45 uur) (Galbraith, McKellar, 1991; Woolf, Radulovic, 1989) waardoor één toediening per dag volstaat als doseringsinterval. Na éénmalige toediening worden de maximale spiegels bereikt na 2 tot 5 uur. Steady-state plasmaspiegels worden bereikt na 7 tot 8 dagen. (Galbraith, McKellar, 1991). De aanbevolen dosering van piroxicam bij honden bedraagt 0,3 mg/kg lichaamsgewicht (Galbraith, McKellar, 1991), waarbij de farmacokinetische data een doseringsschema van 0,3 mg/kg lichaamsgewicht per 48 uur suggereren, aangezien na 48 uur nog steeds de helft van de maximale piroxicamplasmaconcentratie aanwezig was en het serum thromboxaan nog steeds voor meer dan de helft geïnhibeerd was (Galbraith, McKellar, 1991). Na herhaalde toediening treedt accumulatie op (Clarke's, 1986; Pfizer, 1999). Piroxicam wordt kwalitatief op dezelfde wijze gemetaboliseerd in de hond als in de mens. Welke het aandeel is van de verschillende metabolieten verschilt voor beide species (Hobbs, Twomey, 1981). Humaan is 5'-hydroxypiroxicam de

belangrijkste metaboliet: ongeveer 50 % van de dosis wordt omgezet naar deze metaboliet, terwijl dit in de hond slecht 2,5 % is. Hydroxylatie op de 5' positie van de pyridylring wordt gevolgd door conjugatie met glucuronzuur en uitscheiding via de urine. Bij de hond wordt slechts 2,5 % van de dosis onveranderd uitgescheiden in de urine en de belangrijkste metaboliet is een gedehydrogeneerde, gecycliseerde vorm van piroxicam. De belangrijkste metabolisatieweg bij de hond is cyclodehydrogenatie met de vorming van een metaboliet bestaande uit 4 ringen. Daarnaast wordt piroxicam in de hond ook gemetaboliseerd via hydrolyse van de amidebinding gevolgd door decarboxylatie, ringcontractie en N-demethylering (Hobbs, Twomey, 1981). Het belang van deze laatste twee routes in de mens is niet gekend.

Piroxicam werd *in vitro* getest op zijn relatieve activiteit ten opzichte van COX-1 en COX-2. Piroxicam was 250 keer aktiever ten opzichte van COX-1 dan ten opzichte van COX-2 terwijl dit voor aspirine en indomethacine respectievelijk 166 en 60 keer meer was. Deze moleculen zijn gekend voor het veroorzaken van maagbloedingen (Vane, Botting, 1995).

1.4.2.3 *Therapeutisch gebruik en bijwerkingen in kleine huisdieren*

Piroxicam (Feldene[®], Pfizer) is niet geregistreerd voor veterinaire, maar wel voor humane gebruik (Rubin, Papich 1990b). In kleine huisdieren wordt piroxicam gebruikt wanneer een chronisch anti-inflammatoir protocol nodig is zoals bij chronische arthritis (heupdysplasie, vervormingen van het kniegewricht, verschillende vormen van spondylitis). Bij chronische pijn is piroxicam bij de hond een doeltreffender analgeticum dan aspirine of codeïne (Sumano, De Vizcaya, 1996) en wordt het dikwijls postoperatief gebruikt (Galbraith, McKellar, 1991). Een mogelijk voordeel van piroxicam ten opzichte van andere NSAIDs is het geringer degeneratief effect op het kraakbeen, waardoor het de effecten van osteoartrrose niet versterkt (McKellar et al., 1991).

Recent werd piroxicam erkend als waardevol chemopreventief en antitumoraal middel. Het exacte antitumoraal mechanisme van piroxicam is niet gekend, maar er wordt verondersteld dat de inhibitie van het COX-enzym en de prostaglandinesynthese een rol spelen (Heeb et al., 2003). Mohammed et al. (2002) toonden echter aan dat in het geval van urineblaaskanker bij honden (TCC =

transitional cell carcinoma) piroxicam weliswaar een reductie van het tumorvolume (partiële of complete remissie) in 12 van de 18 honden veroorzaakte, maar dat er geen significante correlatie was tussen de verandering van de PGE₂-concentratie en de tumorrespons op piroxicam. Bovendien was ook de COX-2 expressie niet gecorreleerd aan de tumorremissie. Daarnaast rapporteerden Knapp et al. (1992) een partiële remissie van mammair adenocarcinoom in 3 honden en toonden Knapp et al. (1994) een antitumoraal effect aan wanneer 0,3 mg piroxicam/kg lichaamsgewicht gedurende 56 dagen werd toegediend aan 34 honden met urineblaaskanker. Zes van de 34 honden ontwikkelden als bijwerking van piroxicam gastro-intestinale irritatie, die verdween wanneer de piroxicam toediening werd stopgezet.

Gastro-intestinale toxiciteit werd gerapporteerd in honden, die oraal meer dan 20 mg piroxicam toegediend kregen per dag (Nap, 1993). McKellar et al. (1991) meldden gastro-intestinale ulceratie en hemorragie na toediening van 0,8 mg piroxicam/kg lichaamsgewicht om de 48 uur gedurende 10 dagen. Toediening van piroxicam gedurende 12 maanden aan 1 mg/kg lichaamsgewicht gaf aanleiding tot gastro-intestinale lesies en renale papillaire necrose (Dahl, Ward, 1982). Een klinische studie waarbij in een eerste fase 24 gezonde honden 0,6 mg piroxicam per kg lichaamsgewicht en in een tweede fase 20 honden met spondylitis of aanverwante aandoeningen van de gewrichten gedurende 169 dagen piroxicam toegediend kregen, toonde een incidentie van 10 % ernstige bijwerkingen aan. In beide fasen van het experiment moesten telkens twee honden uit het experiment gehaald worden omwille van de ontwikkeling van ulcers ten gevolge van de piroxicamtoediening. In de eerste fase van het experiment werd verder geen statistisch significante verandering waargenomen in de hematologische parameters en endoscopisch onderzoek toonde geen veranderingen aan in de maag. In de tweede fase kwamen diarree, braken, verlies van eetlust, melena, abdominale pijn en gedragswijzigingen voor in 18 van de 20 honden, maar werden geen effecten op de nier- en leverfunctie waargenomen (Sumano, De Vizcaya, 1996).

1.4.3 Formulatie bij kleine huisdieren

Nap et al. (1993) toonden aan dat herhaalde toediening van grote (13 mm diameter) enterisch omhulde tabletten aanleiding gaf tot accumulatie van deze tabletten in de maag met braken tot gevolg. Het maagledigingspatroon of het “interdigestive migrating motor complex” (IMMC) bestaat uit verschillende fasen (Liaw et al., 1990). De cyclus start met een rustige fase waarin slechts weinig contracties worden waargenomen, vervolgens start de tweede fase met onregelmatige contracties die geleidelijk toenemen in kracht en frequentie. Fase III start wanneer de contracties overgaan naar maximale kracht en frequentie, wat aanleiding geeft tot het uitstoten van de volledige maaginhoud naar de dunne darm (Dressman, 1986). Na fase III valt de maag terug naar de eerste fase. Inname van voedsel zorgt ervoor dat de maag overgaat van het cyclisch interdigestief motiliteitspatroon naar regelmatige, tonische contracties, die de maaginhoud mengen met de maagsecreties en ze in de richting van de pylorus duwen. De pylorus laat vloeistof en heel kleine partikels passeren, terwijl de grotere deeltjes teruggestuurd worden naar het maaglumen. Van zodra de vertering van het voedsel stopt, start het interdigestieve patroon opnieuw. De verblijftijd van een geneesmiddelvorm, die ingenomen werd in nuchtere toestand, is afhankelijk van het optreden van de “housekeeperwave”, d.i. fase III in het gastro-intestinale motiliteitspatroon. De maaglediging van monolithische vormen zoals enterisch omhulde tabletten en “single-unit controlled release” systemen wordt bepaald door de tijd tussen toediening en het optreden van de volgende fase III. Bij de hond wordt deze fase geassocieerd met een abrupte toename van de pH in de maag. Vóór fase III is de pylorusopening minimaal en kunnen slechts vloeistoffen en kleine deeltjes de maag verlaten. Itoh et al. (1986) toonden aan dat in de interdigestieve toestand kleine deeltjes (deeltjesgrootte 1 à 3 mm) de maag van de hond verlieten vóór het optreden van de housekeeperwave, terwijl grotere tabletten (5-10 mm) de maag pas verlieten tijdens fase III. De inname van voedsel stelde het optreden van de housekeeperwave uit met een aantal uur waardoor de maagledigingstijd van de grotere partikels in de gevoede toestand significant groter was dan in de nuchtere toestand, in tegenstelling tot de maagledigingstijd van partikels kleiner dan 3 mm. De enterisch omhulde tabletten in de maag werden beschouwd als onverteerbare vaste deeltjes groter dan 3 mm, die de maag pas konden verlaten op het moment van de housekeeperwave. Bij iedere voedselinname werd deze housekeeperwave uitgesteld waardoor tabletten

accumuleerden in de maag. Wanneer echter tabletten werden gebruikt, die opgebouwd waren uit enterisch omhulde microgranulen, werd geen accumulatie waargenomen en werden bovendien stabielere plasmaspiegels verkregen (Nap et al., 1993). Bijkomend voordeel van de tabletten op basis van enterisch omhulde microgranulen was dat ze gemakkelijk te halveren waren waardoor correcte dosering per kg lichaamsgewicht mogelijk was. Invloed van voedsel op de maaglediging van tabletten en granulen werd ook door Aoyagi et al. (1992) bevestigd. Voedselinname zorgde voor een extreme vertraging van de maaglediging van enterisch omhulde bariumsulfaatabletten (6 mm) (tot 20 uur na toediening), terwijl de maaglediging van enterisch omhulde granulen (1 mm) weinig werd beïnvloed (tot 4 uur na toediening). Ook Hinder en Kelly (1977) stelden vast dat stukken lever van 1 cm eerst moesten verkleind worden tot 2 mm vooraleer ze de maag konden verlaten, terwijl grote onverteerbare plastic sfeertjes (7 mm) in de maag aanwezig bleven tot de vertering beëindigd was en ze via de housekeeperwave verwijderd werden. Marvola et al. (1986) toonden aan dat grote enterisch omhulde monolithische systemen (tabletten en capsules) niet geschikt waren voor de toediening van pancreasenzymen aan honden. De omhulde tabletten en capsules bleven gedurende 6 à 8 uur in de maag van de hond achter wanneer ze samen met voedsel werden ingenomen waardoor de enzymes nooit in contact kwamen met het voedsel. In een daaropvolgend onderzoek bestudeerden Heinämäki et al. (1988) de transit van enterisch omhulde granules doorheen de gastro-intestinale tractus waaruit zij concludeerden dat de aanwezigheid van voedsel de maaglediging van de enterisch omhulde granules (1-1,7 mm) toch vertraagde.

1.5 Conclusie

Aangezien uit de literatuur duidelijk blijkt dat piroxicaminname aanleiding geeft tot gastro-intestinale irritatie bij de hond en een deel van deze irritatie waarschijnlijk te wijten is aan lokale irritatie ter hoogte van de mucosale barrière van de maagwand, werd geopteerd voor het ontwikkelen van een enterisch omhuld preparaat. Om accumulatie in de maag van de hond te vermijden en een snelle maaglediging te bekomen werd gekozen voor een multiparticulair systeem bestaande uit sfeertjes

kleiner dan 2 mm. Om deze omhulde sfeertjes gemakkelijk te kunnen toedienen, dienen ze gecompriëerd worden tot tabletten, die snel desintegreren in zuur milieu.

1.6 Referenties

Aoyagi N., Ogata H., Kaniwa N., Uchiyama M., Yasuda Y., Taniola Y., 1992. Gastric emptying of tablets and granules in humans, dogs, pigs and stomach-emptying controlled rabbits. *J. Pharm. Sci.* 81, 1170-1174.

Barrachina M.D., Panés J., Esplugues J.V., 2001. Role of nitric oxide in gastrointestinal inflammatory and ulcerative diseases: perspective for drugs development. *Curr. Pharm. Design* 7, 31-48.

Bartsch H., Eiper A., Kopelent-Frank H., 1999. Stability indicating assays for the determination of piroxicam-comparison of methods. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 20, 531-541.

Bjorkman D.J., 1996. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastrointestinal injury. *Am. J. Med.* 101, 25S-32S.

Bulbena O., Escolar G., Navarro C., Bravo L., Pfeiffer C.J., 1993. Gastroprotective effect of zinc acexamate against damage induced by nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Dig. Dis. Sci.* 38, 730-739.

Clarke's Identification and isolation of drugs 2nd edition, 1986. Clarke, E.G.C.; Salter, J.; Moffat, A.C. (Eds), Pharmaceutical Press, Londen, pp 911.

Dahl S. L., Ward J.R., 1982. Pharmacology, clinical efficacy, and adverse effects of piroxicam, a new nonsteroidal anti-inflammatory agent. *Pharmacotherapy* 2, 80-89.

Davies N.M., Roseth A.G., Appleyard C.B., McKnight W., DelSoldato P., Calignano A., Cirino G., Wallace J.L., 1997. NO-naproxen vs naproxen: Ulcerogenic, analgesic and anti-inflammatory effects. *Aliment. Pharm. Therap.* 11, 69-79.

Davis S.S., Wilding E.A., Wilding I.R., 1993. Gastrointestinal transit of a matrix tablet formulation – comparison of canine and human data. *Int. J. Pharm.* 94, 235-238.

Dressman J.B., 1986. Comparison of canine and human gastrointestinal physiology. *Pharm. Res.* 3, 123-131.

Elfstrom C., Amin D., Nilsson L.G., Grahnen A., Rolfsen W., Loose I., 1999. Subjective gastrointestinal tolerability of acetylsalicylic acid and paracetamol after single dose treatment. *Eur. J. Pharm. Sci.* 8, 141-145.

European Pharmacopoeia 4th Edition, Piroxicam Monography, 2002. pp 1771-1773.

Galbraith E.A., McKellar Q.A., 1991. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of piroxicam in dogs. *Vet. Rec.* 128, 561-65.

Gyires K., 1994. Some of the factors that may mediate or modify the gastrointestinal mucosal damage induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Agents Actions* 41, 73-79.

Hawkey C.J., 2000. Nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy. *Gastroenterology* 119, 521-535.

Heeb H.L., Chun R., Koch D.E., Goatley M.A., Hunter R.P., 2003. Single dose pharmacokinetics of piroxicam in cats. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 26, 259-263.

Heinämäki J., Marvola M., Happonen I., Westermarck E., 1988. The fate of multiple-unit enteric-coated formulations in the stomach of the dog. *Int. J. Pharm.* 42, 105-115.

Hinder R.A., Kelly K.A., 1977. Canine gastric emptying of solids and liquids. *Am. J. Physiol.* 233, E335-E340.

Hobbs D.C., Twomey T.M., 1981. Metabolism of piroxicam by laboratory animals. *Drug Metab. Dispos.* 9, 114-118.

Hollander D., 1994. Gastrointestinal complications of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: prophylactic and therapeutic strategies. *Am. J. Med.* 96, 274-281.

Itoh T., Higuchi T., Gardner C.R., Caldwell L., 1986. Effect of particle size and food on gastric residence time of non-disintegrating solids in beagle dogs. *J. Pharm. Pharmacol.* 38, 801-806.

Janjikhel R.K., Bricker J.D., Borochovit D., Adeyeye C.M., 1999. Stereoselective disposition of sustained release microspheres of ibuprofen enantiomers in rats: II. Acute gastrointestinal toxicity. *Drug Deliv.* 6, 163-170.

Jimenez D., Martin M.J., Pozo D., Alarcon C., Esteban J., Bruseghini L., Esteras A., Motilva V., 2002. Mechanisms involved in protection afforded by L-arginine in ibuprofen-induced gastric damage-Role of nitric oxide and prostaglandins. *Dig. Dis. Sci.* 47, 44-53.

Knapp D.W., Richardson R.C., Bottoms G.D., Teclaw R., Chan T.C.K., 1992. Phase-I trial of piroxicam in 62 dogs bearing naturally occurring tumors. *Cancer Chemoth. Pharm.* 29, 214-218.

Knapp D.W., Richardson R.C., Chan T.C.K., Bottoms G.D., Widmer W.R., DeNicola D.B., Teclaw R., Bonney P.L., Kuczek T., 1994. Piroxicam therapy in 34 dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *J. Vet. Intern. Med.* 8, 273-278.

Kore A.M., 1990. Toxicology of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Vet. Clin. N. Am.* 20, 419-430.

Lancaster C., 1995. Effective nonsteroidal anti-inflammatory drugs devoid of gastrointestinal side effects: do they really exist ? *Dig. Dis.* 13 (suppl), 41-47.

Lees P., May S.A., McKellar Q.A., 1991. Pharmacology and therapeutics of non-steroidal anti-inflammatory drugs in dog and cat: 1 General pharmacology. *J. Small Anim. Pract.* 32, 183-193.

Liaw J., Rubinstein A., Robinson J.R., 1990. Bioavailability study of Theo-dur tablets in the fasted cannulated dog. *Int. J. Pharm.* 59, 105-114.

Martindale: The Extra Pharmacopoeia 30th edition, 1995. Martindale, W.; Parfitt, K.; Parsons, A.V.; Sweetman, S.C. (Eds.), Pharmaceutical Press, Londen, pp 30-31.

Marvola M., Heinämäki J., Happonen I., Westermarck E., 1986. The fate of single-unit enteric-coated drug products in the stomach of the dog. *Acta Pharm. Fenn.* 95, 59-70.

McKellar Q.A., May S.A., Lees P., 1991. Pharmacology and therapeutics of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the dog and cat: 2 Individual agents. *J. Small Anim. Pract.* 32, 225-235.

Mohammed S.I., Bennett P.F., Craig B.A., Glickman N.W., Mutsaers A.J., Snyder P.W., Widmer W.R., Degortari A.E., Bonney P.L., Knapp D.W., 2002. Effects of the cyclooxygenase inhibitor, piroxicam, on tumor response, apoptosis and angiogenesis in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. *Cancer Res.* 62, 356-358.

Muller P., Simon B., 1997. Endoscopic study comparing gastroduodenal tolerability of piroxicam-beta-cyclodextrin vs. piroxicam. *Z. Rheumatol.* 56, 76-79.

Nap R.C., 1993. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in companion animal medicine. *Tijdschr Diergeneesk* 118, 6S-8S.

Nap R.C., Breen D.J., Lam T.J.G.M., Peters I.O.M., Willemsen A., De Bruyne J.J., 1993. Pijnstillers; het gebruik van aspirine bij de hond; invloeden van tablettype en voeropname op de plasma-salicylaatconcentratie. *Tijdschr Diergeneesk* 118, 439-442.

Olkkola K.T., Brunetto A.V., Mattila M.J., 1994. Pharmacokinetics of oxicam nonsteroidal anti-inflammatory agents. Clin. Pharmacokinet. 26, 107-120.

Palacios G., Castell O., Colombo M., Roser R., Esteve J., 1987. Comparative light and electron microscopic observations of the lesive effects of two non-steroid anti-inflammatory drugs plus stress on rat gastric mucosa. Method Find. Exp. Clin. 9, 353-370.

Pfizer, 1999. US Product Prescribing Information: Feldene (piroxicam) capsules 10 mg and 20 mg for oral use.

Rodríguez-Téllez M., Argüelles F., Herrerías J.M., Ledro D., Esteban J., Herrerías J.M., 2001. Antiinflammatory agents less dangerous for gastrointestinal tract. Curr. Pharm. Design 7, 951-976.

Rubin S.I., Papich M.G., 1990a. Clinical uses of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in companion animal practice. Part I: The inflammatory response and mechanism of action. Canine Pract 15 (1), 29-33.

Rubin S.I., Papich M.G., 1990b. Clinical uses of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in companion animal practice. Part II: Drugs, therapeutic uses and adverse effects. Canine Pract. 15 (2), 27-32.

Scheiman J.M., 1996. NSAIDs, gastrointestinal injury, and cytoprotection. Gastroenterol. Clin. N. 25, 279-297.

Schoenfeld P., Kimmey M.B., Scheiman J., Bjorkman D., Laine L., 1999. Review article: nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated gastrointestinal complications-guidelines for prevention and treatment. Aliment. Pharm. Therap. 13, 1273-1285.

Schrauwen E., 1993. Risico's bij het gebruik van niet-steroïdale anti-inflammatoire farmaca bij hond en kat. Vlaams Diergen. Tijds. 62, 20-21.

Skiba M., Morvan C., Duchêne D., Puisieux F., Wouessidjewe D., 1995. Evaluation of gastrointestinal behaviour in the rat of amphiphilic beta-cyclodextrin nanocapsules, loaded with indomethacin. *Int. J. Pharm.* 126, 275-279.

Soll A., 1998. Pathogenesis of nonsteroidal anti-inflammatory drug-related upper gastrointestinal toxicity. *Am. J. Med.* 105, 10S-16S.

Sumano H., De Vizcaya A., 1996. Tolerance and clinical evaluation of piroxicam in dogs. *Canine Pract.* 21, 16-19.

The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, 12th Edition, 1996. Budavari, S.; O'Neil, M.J.; Smith, A.; Heckelman, P.E.; Kinneary, J.F. (Eds), Merck & Co., Whitehouse Station, NJ, USA, pp 1292.

Ukawa H., Yamakuni H., Kato S., Takeuchi K., 1998. Effects of cyclooxygenase-2 selective and nitric oxide-releasing nonsteroidal antiinflammatory drugs on mucosal ulcerogenic and healing responses of the stomach. *Dig. Dis. Sci.* 43, 2003-2011.

Vane J.R., 1996. Introduction: Mechanism of action of NSAIDs. *Br. J. Rheumatol.* 35, 1-3.

Vane J.R., Botting R.M., 1995. New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. *Inflamm. Res.* 44, 1-10.

Wallace J.L., Cirino G., 1994. The development of gastrointestinal-sparing nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Trends Pharmacol. Sci.* 15, 405-406.

Wallace J.L., 1994. Mechanisms of nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) induced gastrointestinal damage-potential for development of gastrointestinal tract safe NSAIDs. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 72, 1493-1497.

Wallace J.L., 1997. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and gastroenteropathy: The second hundred years. *Gastroenterology* 112, 1000-1016.

Wallace J.L., 2001. Mechanism of protection and healing: current knowledge and future research. *Am. J. Med.* 110, 19S-23S.

Wildgrube H.J., Kierschke G., Nowak H., Weigmann I., Terhaag B., 2002. Application of quantifying scoring systems for the determination of changes of the mucosa of the upper gastrointestinal tract - A comparative study of a diclofenac effervescent tablet with conventional diclofenac preparations and acetylsalicylic acid after repeated administration. *Arznei-Forschung* 52, 264-272.

Wolfe M., Lichtenstein D.R., Singh G., 1999. Gastrointestinal toxicity of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *N. Engl. J. Med.* 340, 1888-1897.

Woolf T.F., Radulovic L.L., 1989. Oxicams: Metabolic disposition in man and animals. *Drug Metabol. Rev.* 21, 255-276.

Wright V., 1993. Arthrotec – A review of a new concept in NSAID therapy. *J. Orthop. Rheumatol.* 6, 129-133.

2.1 Inleiding

Multiparticulaire geneesmiddelvormen zoals pellets verspreiden zich na orale inname over de gastro-intestinale tractus waardoor dose-dumping (d.i. de ongewenste vrijstelling van de totale hoeveelheid toegediend geneesmiddel) en lokaal hoge concentraties aan geneesmiddel worden vermeden. Bovendien verloopt de maaglediging van partikels kleiner dan 1 mm na orale inname op dezelfde manier als vloeistoffen nl. onafhankelijk van het al of niet gevoed zijn van het individu (zowel humaan als bij de hond) (Itoh et al., 1986). In vergelijking met monosystemen zorgt de minder variabele maaglediging van multiple unit systemen daarenboven voor een geringere variatie in de plasmaconcentratietijdsprofielen (Aoyagi et al., 1992).

Piroxicam wordt in het Biopharmaceutical Classification System (BCS) beschouwd als een klasse II verbinding, gekarakteriseerd door een slechte wateroplosbaarheid en een goede permeabiliteit. Aangezien de wateroplosbaarheid van het geneesmiddel de vrijstellingssnelheid uit een doseringsvorm beïnvloedt, zal de ontwikkeling van een pelletformulatie, waaruit piroxicam onmiddellijk wordt vrijgesteld, voornamelijk gebaseerd zijn op het zoeken naar hulpstoffen die in staat zijn de oplosbaarheid en dissolutiesnelheid van piroxicam gunstig te beïnvloeden (Ragnarsson, 1992). Verschillende technieken werden reeds aangewend om de oplosbaarheid en oplossnelheid van piroxicam te verbeteren: verbetering van de bevochtiging (door het toevoegen van hydrofiele polymeren of oppervlaktetensionsverlagende producten) (Swaenepoel et al., 2000), het formuleren van “solid dispersions” op basis van polyvinylpyrrolidone (PVP) (Tantishaiyakul et al., 1999; Ingkatawornwong et al., 2001) en op basis van polyethyleenglycol (PEG) 4000 (Fernández et al., 1992, Fernández et al., 1993, Bhattacharaya et al., 1993, Martinez-Ohárriz et al., 1999, Pan et al., 2000) of van “solid depositions” (Barzegar-Jajali et al., 2002). Daarnaast kunnen ook inclusiecomplexen van piroxicam met cyclodextrines (Backensfeld et al., 1991; Loftsson et al., 1994; Loftsson, Brewster, 1996; Cavallari et al., 2002) gevormd worden, waardoor de oplosbaarheid van piroxicam verhoogd, de *in vivo* absorptiesnelheid bevordert en bovendien de irritatie van de maagmucosa gereduceerd worden.

Doel van dit onderzoek is de ontwikkeling en de *in vitro* evaluatie van pellets op basis van piroxicam. Van zodra de pellets de maag verlaten hebben, moet piroxicam onmiddellijk vrijgesteld worden uit de pelletformulatie, in oplossing gaan in het intestinale vocht en geresorbeerd worden ter hoogte van de dunne darm. Op basis van deze vereisten zal voor het verdere onderzoek een formulatie geoptimaliseerd worden, die zorgt voor een snelle piroxicamvrijstelling bij pH 6,8.

2.2 Extrusie-sferonisatie

Pelletisatie is een agglomeratieproces waarbij fijn materiaal wordt omgezet tot kleine sferische partikels met een deeltjesgrootte tussen 0.5 en 1.5 mm (Ghebre-Sellassie, 1989). Er zijn verschillende methoden beschikbaar voor de productie van pellets zoals extrusie-sferonisatie, oplossing- en suspensielayering, sproeidrogen en –stollen en meltpelletisatie.

In tegenstelling tot de andere technieken worden via extrusie-sferonisatie pellets verkregen met een nauwe deeltjesgroottedistributie, goede vloeieigenschappen, een lage friabiliteit en een hoge sfericiteit (Reynolds, 1970). Hierdoor zijn deze pellets bijzonder geschikt voor verdere omhulling en compactie. Het extrusie-sferonisatieproces bestaat uit 5 stappen. In een eerste stap worden de verschillende bestanddelen droog gemengd, om vervolgens met behulp van een granulatievloeistof bevochtigd te worden tot een plastische massa. Een homogene verdeling van de vloeistof doorheen het poedermengsel en een aangepaste hoeveelheid granulatievloeistof zijn noodzakelijk om pellets te verkrijgen met een uniforme deeltjesgroottedistributie en sfericiteit. Deze vochtige massa wordt doorheen de perforaties van het extrusiescherm geperst met densificatie van het materiaal en vorming van cilindervormige extrudaten tot gevolg (Fig 2.1).

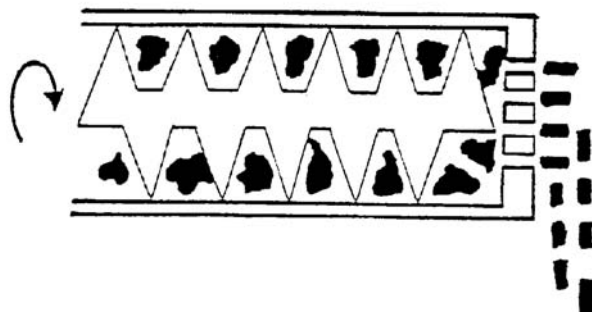


Fig. 2.1: Schematische voorstelling van een screw-extruder (Newton, 2002)

Deze extrudaten worden vervolgens opgebroken tot kleinere fragmenten en afgerond tot sfeertjes op een draaiende frictieplaat (Vervaet et al., 1995) (Fig 2.2).

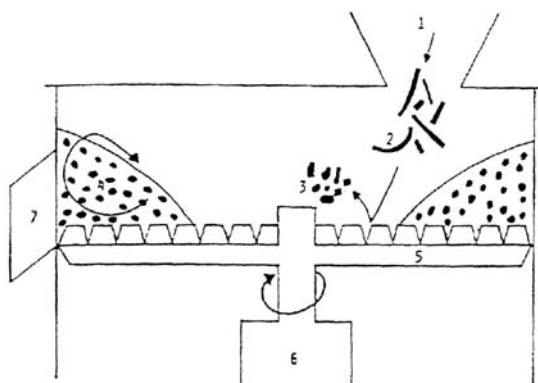


Fig. 2.2: Schematische voorstelling van een sferoniser: 1. voeding; 2. extrudaat; 3. opbreken van extrudaat; 4. afronden van het extrudaat; 5. frictieplaat; 6. aandrijving van de plaat; 7. uitlaatpoort (Remon, 2003).

In functie van de sferonisatietijd gebeurt de transformatie van de cilindervormige fragmenten tot sfeertjes via verschillende tussenstadia. Een eerste model (A in Fig. 2.3) werd beschreven door Rowe (1985) waarbij uitgaande van een cilinder, over een afgeronde cilinder naar halters (dumb-bells) en ellipsvormige deeltjes, uiteindelijk sfeertjes worden bekomen. Baert en Remon (1993) stelden een tweede model voor (B in Fig.2.3), waarbij torsie van het cilindervormige extrudaat optreedt, wat resulteert in twee afzonderlijke deeltjes elk met een vlak uiteinde en een afgerond uiteinde. De sfeertjes worden gevormd door het dichtplooiën van de randen van het vlakke uiteinde.

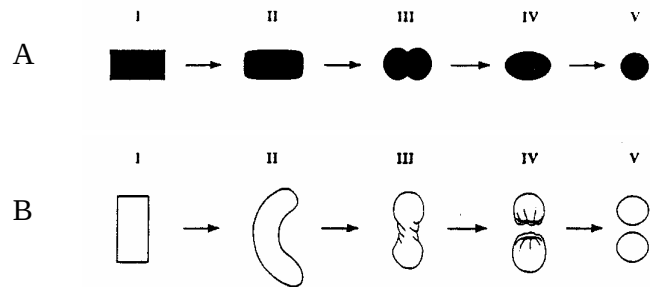


Fig. 2.3: Vormingsmechanisme van pellets: A.: I cilinder, II cilinder met afgeronde uiteindes, III dumb-bell, IV ellips, V sfeer (Rowe, 1985); B.: I cilinder, II touw, III dumb-bell, IV sfeer met een vlak en afgerond uiteinde, V sfeer. (Baert, Remon, 1993) (Vervaet et al., 1995)

In een laatste stap worden de pellets gedroogd bij kamertemperatuur of bij verhoogde temperatuur in een oven of een wervelbed.

2.3 Materialen en methoden

2.3.1 Samenstelling van de pellets

Piroxicam (Sagran, Milaan, Italië) werd gebruikt als slecht wateroplosbaar actief bestanddeel. Microkristallijne cellulose (MCC) wordt beschouwd als een essentiële component voor het extrusie-sferonisatie proces omwille van zijn gunstige invloed op de rheologische eigenschappen van de vochtige granulaatmassa (Shah et al., 1995). Twee modellen die de functie van MCC omschrijven, werden voorgesteld in de literatuur. Fielden et al. (1988) veronderstelden dat MCC fungeerde als een moleculaire spons, die na bevochtiging in staat is grote hoeveelheden vrij water vast te houden en die na droging terug zal krimpen. Kleinebudde (1997) stelde een alternatief model voor waarbij MCC fragmenteert in kleinere colloïdale deeltjes die door opname van water een gel vormen.

MCC (Avicel® PH 101) werd verkregen bij FMC (Cork, Ireland) en werd gebruikt als pelletvormend bestanddeel. Daarnaast werden bestanddelen aan de pelletformulatie toegevoegd om de vrijstellingssnelheid van piroxicam uit de pellets gunstig te beïnvloeden. Zo werd de invloed nagegaan van:

Surfactantia:

- Polysorbaat 60 (Tween[®] 60, Federa, Brussel, België)
- Polyoxyethyleenglyceroltrihydroxystearaat (Cremophor[®] RH 40, BASF, Ludwigshafen, Duitsland)

Cosolventen:

- PEG 400 (Federa, Brussel, België)

Cyclodextrines:

- β -cyclodextrine (Cerestar, Vilvoorde, België)
- Hydroxypropyl- β -cyclodextrine (Janssen Pharmaceutica, Beerse, België)

Hydrofiele polymeren:

- Hydroxypropylmethylcellulose (Methocel[®] E15 LV, Colorcon, Kent, UK)
- Low substituted hydroxypropylcellulose L-HPC (LH 21, Shin-Etsu, Tokio, Japan)

Desintegratoren:

- Vernet natriumcarboxymethylzetmeel (Explotab[®], Penwest, Patterson, New York, USA)
- Natriumcroscarmellose (Ac-Di-Sol[®], FMC, Brussel, België)
- Natriumcarboxymethylcellulose (NaCMC, 450 mPa.s, substitutiegraad 0,65) (Blanose[™] 7MF, Hercules, Dusseldorf, Duitsland)

Type Avicel[®]:

- Avicel[®] RC 581 (MCC + 8,3-13,8 % NaCMC)
- Avicel[®] CL 611 (MCC + 11,3-18,8 % NaCMC)

2.3.2 Productie van de pellets

Voor de bereiding van de pellets werden loten gemaakt van 200 g. 5 g (2,5 %) piroxicam werd gemengd met de verschillende bestanddelen met behulp van een planetaire menger, voorzien van een K-vormige arm (Kenwood Chief, Hampshire, Groot-Brittannië), gedurende 10 minuten aan 60 tpm. Vervolgens werd gedemineraliseerd water als granulatievloeistof toegevoegd onder mengen. De hoeveelheid granulatievloeistof was afhankelijk van de samenstelling van de pelletformulatie. Na toevoegen van de vloeistof werd nog 5 minuten gemengd aan 60 tpm om een gelijkmatige verdeling van de granulatievloeistof te verkrijgen. Het

granulaat werd geëxtrudeerd met behulp van een dome-extruder (Dome Extruder Labo, Model DG-L1; Fuji Paudal Co., Tokio, Japan) (Fig 2.4). Een dome-extruder is voorzien van één Archimedes schroef, die de vochtige massa vanuit het voedingsgedeelte naar het koepelvormige, axiale extrusiescherm voert. De snelheid van de schroef bedroeg 45 tpm en de diameter van de perforaties in het extrusiescherm bedroeg 1 mm.



Fig. 2.4: Extrusie met behulp van een dome-extruder (Dome Extruder Labo, Model DG-L1; Fuji Paudal Co., Tokio, Japan)

Na extrusie werd het extrudaat afgerond in een sferoniser (Caleva Model 15, Sturminster Newton, Groot-Brittannië). De sferonisatieplaat had een “cross-hatch” geometrie. De sferonisatiesnelheid en -duur werden bepaald door de formulatie. In eerste instantie werd uitgegaan van een sferonisatiesnelheid van 750 tpm. De resulterende pellets werden gedroogd tot constant gewicht (watergehalte van de pellets ± 4 %) bij 40 °C in een droogoven en werden vervolgens gezeefd met een zeefstoren (VE 1000, Retsch, Haan, Duitsland) (amplitude: 2 mm, 10 min) zodat de pelletfractie 800-1250 μm werd afgezonderd.

2.3.3 Evaluatie van de pellets

2.3.3.1 *In vitro* dissolutietest

De pelletformulatie zal in een later stadium van het onderzoek voorzien worden van een maagsapresistente omhulling. De algemene eis voor maagsapresistente geneesmiddelen in de United States Pharmacopoeia (USP XXIV, 2000) stelt dat het omhulde preparaat na 2 uur in 0,1 N HCl niet meer dan 10 % van de totale hoeveelheid geneesmiddel mag vrijstellen en dat vervolgens na overbrengen van het preparaat in fosfaatbuffer pH 6,8 de geneesmiddelvrijstelling moet voldoen aan de eis gespecificeerd in de respectievelijke monografie. Voor piroxicam wordt in de USP geëist dat voor piroxicam capsules minstens 75 % van de totale hoeveelheid geneesmiddel moet vrijgesteld zijn na 45 min. Elke pelletformulatie werd getest in fosfaatbuffer pH 6,8 en enkel deze formulaties met een vrijstelling van minstens 75 % piroxicam na 45 min werden weerhouden.

De *in vitro* dissolutietesten op de pelletfractie 800-1250 μm werden uitgevoerd met behulp van een USP dissolutie apparaat 2 (paddle) (100 tpm) (VanKel, Edison, NJ, USA). Om “sink” condities (geneesmiddelconcentratie kleiner dan 10 % van de maximale oplosbaarheid) te waarborgen werd in eerste instantie de maximale oplosbaarheid van piroxicam bepaald in fosfaatbuffer pH 6,8 en in 0,1 N HCl. Daarvoor werd uitgegaan van verzadigde piroxicamoplossingen, die gedurende 48 uur werden gemengd op een magneetroerder. Vervolgens werd de bovenstaande vloeistof afgezonderd en gefilterd en de piroxicamconcentratie in het supernatans werd spectrofotometrisch bepaald (Lambda 12, Perkin Elmer, Norwalk, USA). Voor elke dissolutie werd aan 900 ml dissolutiemedium ($37 \pm 0,5$ °C) een hoeveelheid piroxicampellets toegevoegd en gedurende 150 min getest. Een pH waarde van 6,8 komt overeen met de pH in de dunne darm waar piroxicam na het in oplossing gaan van de maagsapresistente omhulling moet vrijgesteld en opgenomen worden. Op vastgestelde tijdstippen werd 5 ml staal genomen en de absorbantie werd spectrofotometrisch bepaald bij λ_{max} (353 nm in fosfaatbuffer pH 6,8 en 333 nm in 0,1 N HCl). Aan de hand van de vergelijking, bekomen door lineaire regressie van de absorbantie/concentratie-gegevens voor de standaardoplossingen, werd de hoeveelheid piroxicam vrijgesteld op een bepaald tijdstip berekend. Rekening

houdende met de hoeveelheid piroxicam die op elk staalnametijdstip verwijderd werd, werd de cumulatieve hoeveelheid piroxicam vrijgesteld in functie van de tijd bepaald.

2.3.3.2 Bepaling van de deeltjesgroottedistributie

Via zeven werd de zeeffractie 800-1250 μm afgezonderd en werd nagegaan hoeveel percent deze fractie vertegenwoordigde ten opzichte van de totale hoeveelheid geproduceerde pellets en dit werd beschouwd als het rendement.

Daarnaast werd gebruik gemaakt van de laserdiffractiemethode (Mastersizer S, Malvern Instruments, Worcestershire, UK) om de deeltjesgroottedistributie te bepalen.

2.3.3.3 Friabiliteit

Tijdens de verdere behandeling van pellets (omhulling, compactie, transport of verpakking) zijn deze dikwijls onderhevig aan wrijvingen, waardoor kleine fragmenten kunnen loskomen. De mechanische stabiliteit van de pellets wordt bepaald met behulp van een friabilator (Pharma Test Friabilator, PTFE, Hamburg, Duitsland). De friabilator bestaat uit een plexiglasschijf, aangebracht op een as aangedreven door een motor. 10 g pellets van de fractie 800-1250 μm wordt in de friabilator gebracht samen met 200 glaspereels (diameter: 4 mm), dit om de mechanische belasting van de pellets te verhogen (Shah et al., 1995). Na 10 minuten roteren (25 tpm) worden de glaspereels en de fractie kleiner dan 250 μm afgezonderd door zeven. De resterende pellets worden opnieuw gewogen. Het gewichtsverschil voor en na de test wordt berekend en procentueel uitgedrukt ten opzichte van het initiële gewicht. De friabiliteit van de pellets moet lager zijn dan 0.2 %.

2.4 Resultaten

De maximale oplosbaarheid van piroxicam bedroeg 43,8 en 112 $\mu\text{g/ml}$ in 0,1 N HCl en fosfaatbuffer pH 6,8, respectievelijk. Om tijdens de dissolutietest “sink” condities

te waarborgen, werd de hoeveelheid pellets per bokaal vastgelegd op 72 mg (= 1,8 mg piroxicam).

2.4.1 *In vitro* vrijstelling van piroxicam uit pellets op basis van MCC

De initiële pelletformulatie bestond uit piroxicam (2,5 %, g/g) en microkristallijne cellulose en stelde slechts 30 % piroxicam vrij na 45 min. Na 150 min was nog steeds niet meer dan 50 % van de totale piroxicam hoeveelheid vrijgesteld (Fig 2.5). De pelletmatrix vertoonde geen tekenen van erosie of zwellen, waardoor de geneesmiddelvrijstelling gebeurde via het binnendringen van het dissolutiemedium in de poriën van de inerte microkristallijne cellulose matrix alvorens het geneesmiddel in oplossing ging en weg diffundeerde. Deze formulatie werd gebruikt als referentieformulatie.

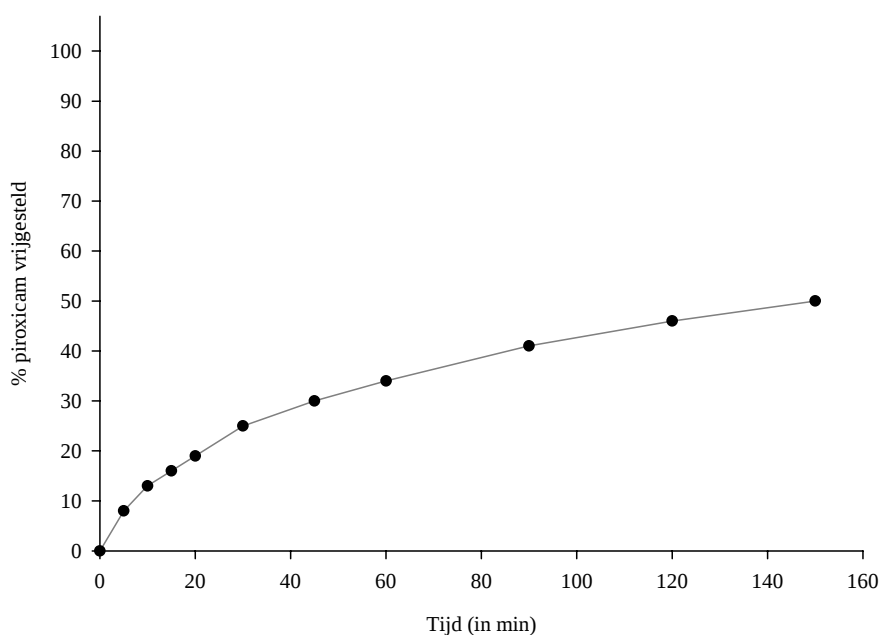


Fig. 2.5: Vrijstellingsprofiel van piroxicam (2,5 %, g/g) uit pellets op basis van MCC in fosfaatbuffer pH 6,8.

2.4.2 Invloed van surfactantia op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam

Swaenepoel et al. (2000) toonden aan dat de dissolutieresultaten van capsules op basis van piroxicam werden beïnvloed door het bevochtigen van de poedermassa en door de deeltjesgrootte en het bevochtigen van het geneesmiddel. Zij suggereerden dat het gebruik van hydrofiele vulstoffen, die daarenboven over bevochtigende eigenschappen beschikken, aanleiding geeft tot een verbetering van de dissolutie van het hydrofobe piroxicam.

Door het toevoegen van oppervlaktespanningsverlagende bestanddelen werd in dit onderzoek getracht om -via een betere bevochtiging van het geneesmiddel- de wateroplosbaarheid van piroxicam te verbeteren en aldus de dissolutiesnelheid te verhogen. De surfactantia werden via verwarmen bij 40°C opgelost in 100 ml van de granulatievloeistof. In Tabel 2.1 wordt een overzicht gegeven van de samenstelling van de verschillende formulaties.

Tabel 2.1: Samenstelling van de pelletformulaties met surfactantia.

	Tween [®] 60			Cremophor [®] RH 40		
	2,5 %	5 %	10 %	5 %	10 %	20 %
Piroxicam	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g
Surfactans	5 g	10 g	20 g	10 g	20 g	40 g
MCC	190 g	185 g	175 g	185 g	175 g	155 g
Water	190 ml	190 ml	120 ml	190 ml	180 ml	110 ml

2.4.2.1 Invloed van polysorbaat 60 (Tween[®] 60)

Polysorbaat of Tween[®] 60 is een hydrofiele niet-ionogene oppervlakactieve component, die de bevochtiging van slecht wateroplosbare geneesmiddelen kan verbeteren. Uit Fig. 2.6 wordt afgeleid dat de toevoeging van Tween[®] 60 aan de pelletformulatie zorgde voor een toename van de vrijstelling van piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8. Na 45 minuten nam de hoeveelheid vrijgesteld piroxicam toe van 30 % voor de referentie (●) tot 50 %, 57 % en 93 % voor de formulaties met

respectievelijk 2,5 (○), 5 (▲) en 10 % (△) (g/g) Tween[®] 60, waardoor deze laatste voldeed aan de vooropgestelde eis (minstens 75 % vrijstelling na 45 min). Bovendien was de formulatie met 10 % Tween[®] 60 de enige die binnen de testduur van 150 min een volledige vrijstelling van de hoeveelheid piroxicam garandeerde. Tabel 2.2 toont echter dat niettegenstaande de lage friabiliteit (0,10 %), deze formulatie niet werd weerhouden omwille van het lage rendement van de zeeffractie 800-1250 µm (34,1 %).

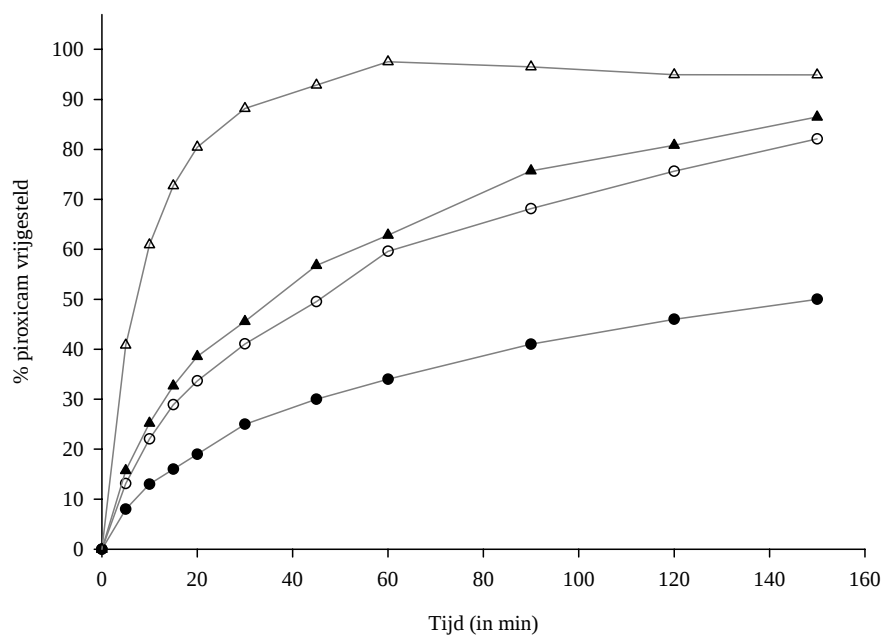


Fig. 2.6: Invloed van polysorbaat 60 (Tween[®] 60) op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8. ● Avicel PH 101 (referentie); Tween[®] 60 concentraties: ○ 2,5 % (g/g), ▲ 5 % (g/g); △ 10 % (g/g)

Tabel 2.2: Friabiliteit en rendement van de pelletformulaties met Tween[®] 60

	Tween [®] 60		
	2,5 % (g/g)	5 % (g/g)	10 % (g/g)
Friabiliteit	0,68 %	0,17 %	0,10 %
Zeeffractie 800-1250 µm	71,2 %	58,6 %	34,1 %

2.4.2.2 Invloed van Cremophor® RH 40

Cremophor® RH 40 is een niet-ionogene solubilisator voor essentiële oliën, vetoplosbare vitaminen en verschillende geneesmiddelen. Uit Fig. 2.7 wordt afgeleid dat het toevoegen van Cremophor® RH 40 aan de pelletformulatie een gunstig effect had op de vrijstelling van piroxicam. Na 45 minuten werd voor de formulaties met 5 (○), 10 (▲) en 20 % (△) Cremophor® RH 40 respectievelijk 55 %, 66 % en 76 % van de totale hoeveelheid piroxicam vrijgesteld. Enkel deze laatste pelletformulatie voldeed aan de vooropgestelde eis voor de piroxicamvrijstelling, hoewel uiteindelijk geen 100 % vrijstelling werd verkregen.

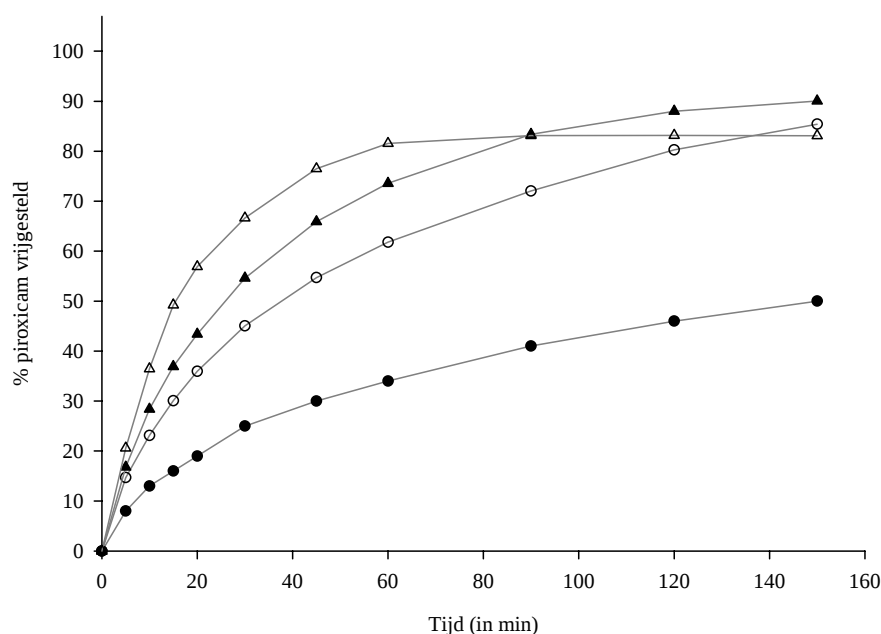


Fig. 2.7: Invloed van Cremophor® RH 40 op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8. ● Avicel® PH 101 (referentie); Cremophor® RH 40 concentraties: ○ 5 %, ▲ 10 %; △ 20 %

Bovendien had de formulatie met 20 % Cremophor® RH 40 een te hoge friabiliteit (0,32 %) en een laag rendement (59,8 %) (Tabel 2.3). Vandaar dat ook het toevoegen van Cremophor® RH 40 als solubilisator niet aangewend werd voor de formulatie van pellets met een snelle piroxicamvrijstelling.

Tabel 2.3: Friabiliteit en rendement van de pelletformulaties met Cremophor® RH 40

	Cremophor® RH 40		
	5 %	10 %	20 %
Friabiliteit	0,13 %	0,12 %	0,32 %
Zeeffractie 800-1250 µm	81,4 %	90,6 %	59,8 %

2.4.3 Invloed van cosolventen op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam

Polyethyleenglycol 400 (PEG 400) kan gebruikt worden als bevochtiger en cosolvent om de dissolutie van slecht wateroplosbare geneesmiddelen te verbeteren (Vervaeke, Remon, 1997).

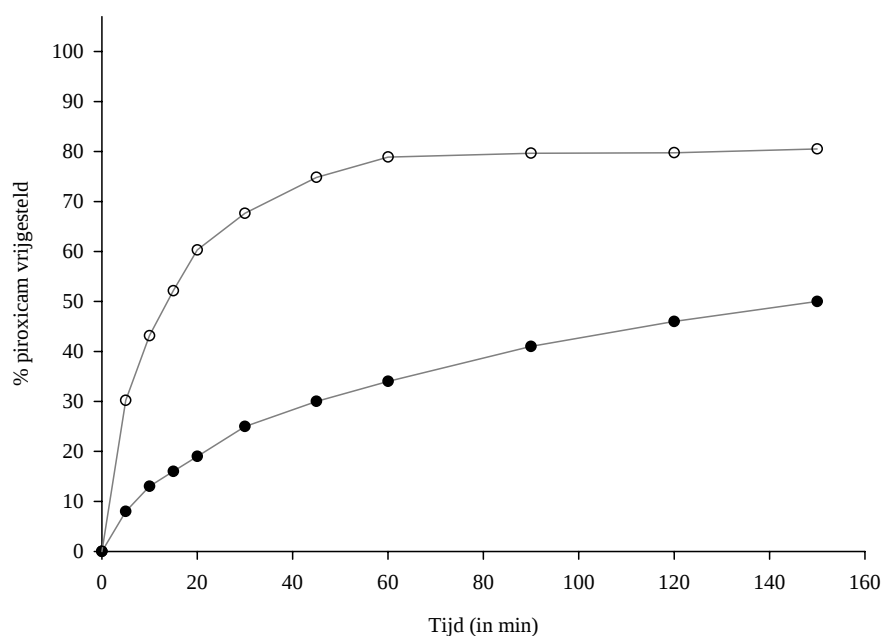


Fig. 2.8: Invloed van polyethyleenglycol 400 (PEG 400) op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8. ● Avicel® PH 101 (referentie); ○ PEG 400 30 %

PEG 400 werd koud gemengd met een deel van de granulatievloeistof. In de pelletformulatie werd 30 % (g/g) PEG 400 aangewend.

Uit Fig 2.8 blijkt dat na 45 minuten ongeveer 75 % piroxicam werd vrijgesteld, waardoor aan de vooropgestelde eis werd voldaan. Maar net zoals voor de formulatie met 20 % Cremophor® RH 40 werd slechts 80 % van de totale hoeveelheid geneesmiddel vrijgesteld. Ondanks de lage friabiliteit (0,05 %) en het hoge rendement (91,7 %) werd ook deze formulatie niet weerhouden omwille van de te trage en onvolledige vrijstelling.

2.4.4 Invloed van desintegratoren op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam

De microkristallijne cellulose pelletmatrix is inert en geneesmiddelvrijstelling gebeurt via diffusie. Een desintegrator wordt in tabletten en harde gelatinecapsules verwerkt om vochtinfiltratie in de matrix en dispersie van de matrix in het dissolutiemedium te bevorderen. “Super desintegratoren” zoals vernet natriumcarboxymethylzetmeel en natriumcroscarmellose zijn hydrofiele, maar wateronoplosbare polymeren die in lage concentraties gebruikt worden. Als werkingsmechanisme van deze desintegratoren worden voornamelijk capillaire aantrekking van water en zwelling voorgesteld. Onder dit capillair effect wordt het vermogen verstaan om water in een poreus netwerk te absorberen en dit hoeft niet noodzakelijk gepaard te gaan met een volumetoename (zwelling). Het meest aanvaarde mechanisme voor desintegratie is evenwel zwelling. Hoe groter de zwelkrachten, hoe sneller de desintegratie. De beste zwelling wordt verkregen in onoplosbare matrixen en een lage interne porositeit is nodig voor de efficiënte werking van de desintegrator (Augsburger et al., 2002).

Tabel 2.4: Samenstelling van de pelletformulaties met desintegratoren

	Explotab® (11 %) ^a	Ac-Di-Sol® (11 %) ^b	Blanose® 7MF (11 %) ^c
Piroxicam	5 g	5 g	5 g
Desintegrator	22 g	22 g	22 g
MCC ^d	173 g	173 g	173g
Water	185 ml	150 ml	180 ml

^a vernet natriumcarboxymethylzetmeel, ^b natriumcroscarmellose, ^c natrium carboxymethylcellulose 300-600 mPa.s, ^d Avicel® PH 101

Er werd verondersteld dat incorporatie van een desintegrator in de pelletformulatie de mate waarin en de snelheid waarmee de pellets zwellen en eventueel desintegreren zou verbeteren en bovendien het binnendringen van water in de pellets zou vergemakkelijken, met een versnelde piroxicamvrijstelling tot gevolg. In Tabel 2.4 wordt de samenstelling weergegeven van de pellets op basis van microkristallijne cellulose en 11 % desintegrator.

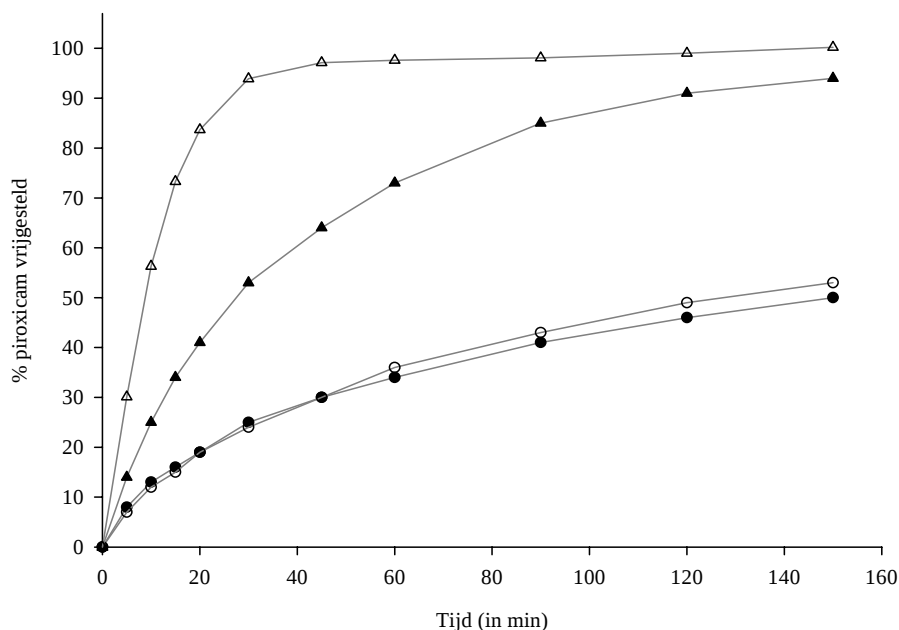


Fig. 2.9: Invloed van desintegratoren op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8. ● Avicel® PH 101 (referentie); ○ 11 % Ac-Di-Sol®, ▲ 11 % Explotab®; △ 11 % Blanose™ 7MF.

In Fig. 2.9 wordt aangetoond dat het toevoegen van hydrofiele, maar wateronoplosbare superdesintegratoren zoals natriumcroscarmellose (Ac-Di-Sol®) geen invloed had op de vrijstelling van piroxicam (○), terwijl natriumcarboxymethylzetmeel (Explotab®) de hoeveelheid piroxicam vrijgesteld na 45 minuten meer dan verdubbelde van 30 tot 65 % (▲). Geen van deze formulaties desintegreerde echter of stelde minstens 75 % piroxicam vrij na 45 min. Hoewel natriumcarboxymethylcellulose (NaCMC 450 mPa.s, Blanose™ 7MF) wateroplosbaar is en over minder uitgesproken desintegrerende eigenschappen beschikt dan de vernette vorm, zorgde de incorporatie van 11 % (g/g) NaCMC toch voor een bijna volledige vrijstelling van de totale hoeveelheid piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8 na 45 min (△). Deze enorme verbetering van de piroxicamvrijstelling werd wellicht

veroorzaakt door de volledige desintegratie van de pellets na 15 min, waardoor het totale vrije oppervlak waarover piroxicam werd vrijgesteld, toenam.

Aangezien NaCMC een gunstige invloed had op de piroxicamvrijstelling, werd in een volgende stap gekeken of in plaats van het fysische mengsel MCC en NaCMC dezelfde vrijstelling werd verkregen met de gecommmercialiseerde gesproeidroogde MCC/NaCMC mengsels (Avicel[®] RC 581 en CL 611).

2.4.5 Invloed van het Avicel[®] type op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam

Avicel[®] RC 581 en CL 611 bestaan uit microkristallijne cellulose en respectievelijk 8,3-13,8 % (meestal $\pm$ 11 %) en 11,3-18,8 % (meestal $\pm$ 15 %) NaCMC. De aanwezigheid van NaCMC verbetert de plasticiteit tijdens extrusie-sferonisatieprocessen en houdt het vochtgehalte tijdens extrusie en sferonisatie constant doordat grote hoeveelheden water geabsorbeerd worden (Tuleu, Chaumeil, 1998). Tuleu en Chaumeil (1998) toonden aan dat Avicel[®] CL 611 in staat was het extrusiegedrag van vochtige poedermassa's te verbeteren.

Tabel 2.5: Samenstelling van de pelletformulaties op basis van verschillende Avicel[®] types

	<i>Ref</i>	Avicel [®] RC 581			Avicel [®] CL 611		
		48,75 % (1/1) ^a	73,1 % (1/3) ^a	97,5 %	48,75 % (1/1) ^a	73,1 % (1/3) ^a	97,5 %
Piroxicam	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g
Avicel [®] type	-	97,5 g	146,2 g	195 g	97,5 g	146,2 g	195 g
MCC ^b	195 g	97,5 g	48,8 g	-	97,5 g	48,8 g	-
Water	200 ml	235 ml	230 ml	240 ml	180 ml	160 ml	195 ml
% NaCMC	-	5,4	8,0	10,7	7,3	11,0	14,6

^aAvicel[®] PH 101/RC 581 of CL 611 ratio, ^bAvicel[®] PH 101

De invloed van de verhouding Avicel[®] PH 101/RC 581 of CL 611, en dus van variërende hoeveelheden NaCMC, op de *in vitro* piroxicamvrijstelling werd onderzocht en vergeleken met het vrijstellingsprofiel dat verkregen werd wanneer een

fysisch mengsel van microkristallijne cellulose en NaCMC werd gebruikt. De samenstelling van de verschillende pelletformulaties wordt weergegeven in Tabel. 2.5.

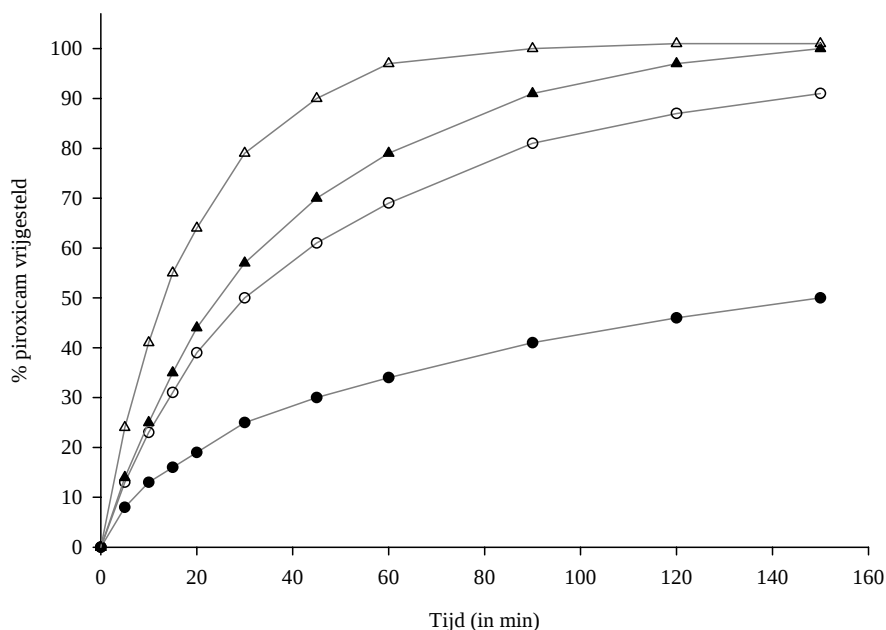


Fig. 2.10: Invloed van het Avicel[®] type op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8. ● Avicel[®] PH 101 (referentie); ○ Avicel[®] PH 101/RC 581 (1/1), ▲ Avicel[®] PH 101/RC 581 (1/3), △ Avicel[®] RC 581

In Fig. 2.10 en 2.11 wordt duidelijk aangetoond dat naarmate de hoeveelheid Avicel[®] RC 581 of CL 611 toenam, de piroxicamvrijstelling steeg van 30 % (●) na 45 min tot respectievelijk 60 en 80 % voor de 1:1 mengsels (○) en tot 70 en 95 % voor de 1:3 mengsels (▲). Wanneer uitsluitend Avicel[®] RC 581 of CL 611 werd gebruikt (zonder de aanwezigheid van Avicel[®] PH 101) (△) bereikte de piroxicamvrijstelling zijn maximale capaciteit, maar zorgden het verstoppert van de perforaties van het extrusiescherm en het kleven van materiaal aan de schroef en aan de sferoniser voor problemen tijdens de productie. Een zekere hoeveelheid Avicel[®] PH 101 bleek noodzakelijk om vlotte extrusie-sferonisatie mogelijk te maken.

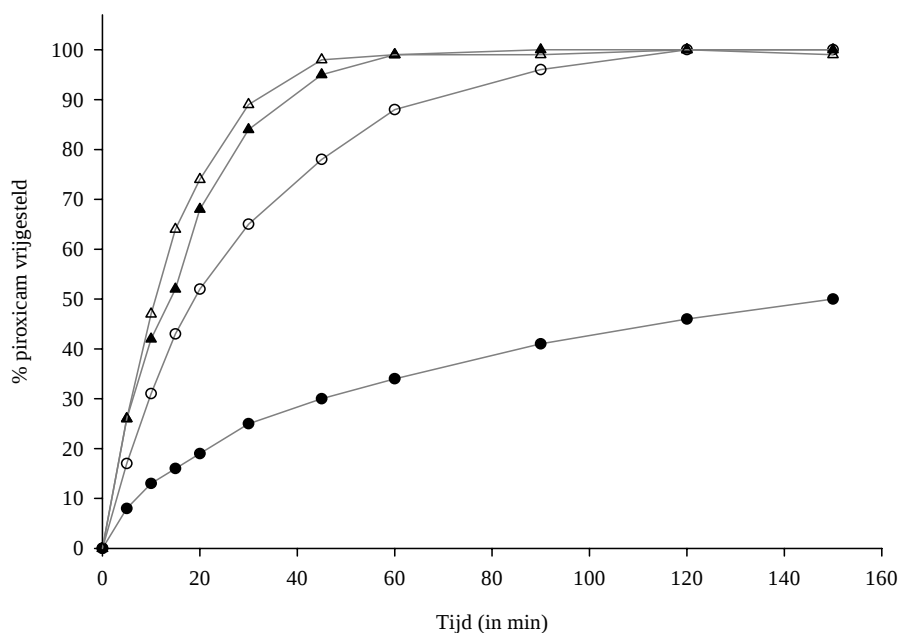


Fig. 2.11: Invloed van het Avicel[®] type op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8. ● Avicel[®] PH 101 (referentie); ○ Avicel[®] PH 101/CL 611 (1/1), ▲ Avicel[®] PH 101/CL 611 (1/3), △ Avicel[®] CL 611.

Herman et al. (1988) toonden echter aan dat het gebruik van MCC-NaCMC mengsels aanleiding gaf tot een daling van de geneesmiddelvrijstelling (hydrochlorothiazide, slecht wateroplosbaar) uit pellets ten gevolge van zwellen. Voor de piroxicampellets bleek dat een hogere NaCMC concentratie meer zwellen induceerde, met als gevolg een betere wateropname in de pelletmatrix en een snellere piroxicamvrijstelling. De formulaties op basis van Avicel[®] CL 611 gaven allemaal aanleiding tot een vrijstelling van minstens 75 % piroxicam na 45 min. Het beste vrijstellingsprofiel werd verkregen met de formulatie waarin Avicel[®] PH 101 en CL 611 in een verhouding van 1 op 3 (gelijk aan een NaCMC concentratie van 11 % (g/g)) werden gebruikt (95 % vrijstelling na 45 min). Bovendien vertoonde deze formulatie dezelfde vrijstelling als de formulatie waarin 11 % Blanose[™] 7MF werd verwerkt, hoewel de pellets niet desintegreerden. Hieruit werd besloten dat niet het desintegreren van de pellets aan de basis lag van de toename van de vrijstelling van piroxicam, maar dat voornamelijk de betere bevochtiging de vrijstelling regelde. Het niet desintegreren van de pellets op basis van de gesproeidroogde mengsels was waarschijnlijk te wijten

aan het productieproces van deze mengsels, waarbij MCC en NaCMC (viscositeit 300-600 mPa.s) eerst tot een slurry verwerkt en vervolgens gespreidroogd worden. Tijdens dit proces worden waterstofbruggen gevormd tussen de niet-gesubstitueerde hydroxylgroepen van NaCMC en de individuele cellulose microkristallen, die na wateropname het uiteenvallen van de pellets verhinderen (Durand et al., 1970).

2.4.6 Invloed van cyclodextrines op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam

Cyclodextrines zijn cyclische oligosacchariden, die bestaan uit α -D-glucopyranose eenheden die via α -1,4 glucosidebindingen met elkaar verbonden zijn. De natuurlijk voorkomende cyclodextrines α , β , γ verschillen in ringgrootte en solubilisatie-eigenschappen en bevatten respectievelijk 6, 7 en 8 glucopyranose-eenheden (Loftsson et al., 1996). De molecule is konisch van vorm waarbij de holte apolaire, hydrofobe eigenschappen heeft, terwijl de buitenwand van de kegel hydrofiel is door de aanwezigheid van polaire hydroxylgroepen (Rajewski, Stella, 1996). β -cyclodextrines zijn geschikt voor het vormen van inclusiecomplexen met moleculen met een fenylgroep en een moleculair gewicht tussen 200 en 800 g/mol (Loftsson et al., 1996). De wateroplosbaarheid van β -cyclodextrines bedraagt 1,85 g/ml. Door substitutie van de hydroxylgroepen kan de wateroplosbaarheid van de natuurlijke cyclodextrines verhoogd worden. Substitutie van een hydroxylgroep van β -cyclodextrine met vorming van 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP- β -CD) verhoogt de wateroplosbaarheid tot 50 g/ml (Duchêne, Wouessidjewe, 1990).

Backensfeld et al. (1991) onderzochten de interactie tussen niet-steroïdale anti-inflammatoire geneesmiddelen en HP- β -CD met als doel het verhogen van de wateroplosbaarheid en de stabiliteit van o.a. piroxicam. De vorming van niet-covalente moleculaire inclusiecomplexen tussen piroxicam en cyclodextrinederivaten gaf aanleiding tot solubilisatie van het geneesmiddel en een verbetering van de oplosbaarheid en de dissolutiesnelheid. Cyclodextrines moeten echter in relatief grote hoeveelheden gebruikt worden om kleine hoeveelheden geneesmiddel te complexeren (Gazzaniga et al., 1998) (bv. een molaire verhouding van 1:2,5 piroxicam: β -cyclodextrine) zodat het bulkvolume van de formulatie groot is en de kostprijs hoog. Er werd onderzocht of cyclodextrines kunnen verwerkt worden in de pelletformulatie

en of dit resulteerde in een verbetering van de vrijstelling van piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8.

2.4.6.1 Invloed van 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP- β -CD)

Er werden stijgende concentraties aan HP- β -CD in de pelletformulatie met MCC verwerkt. De samenstelling van de verschillende formulaties staat vermeld in Tabel 2.6.

Tabel 2.6: Samenstelling van de pelletformulaties met 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP- β -CD).

	HP- β -CD						
	22,5 % (1:1,9) ^a	20 % (1:1,7) ^a	18 % (1:1,6) ^a	16 % (1:1,4) ^a	14 % (1:1,2) ^a	11,6 % (1:1) ^a	7,5 % (1:0,6) ^a
Piroxicam	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g
HP- β -CD	45 g	40 g	36 g	32 g	28 g	23,2 g	15 g
MCC ^b	150 g	155 g	159 g	163 g	167 g	171,8 g	180 g
Water	120 ml	150 ml	130 ml	130 ml	155 ml	180 ml	185 ml

^a Molare verhouding piroxicam:HP- β -CD, ^b Avicel[®] PH 101

Naarmate de concentratie aan HP- β -CD (MG $\approx$ 1500) in de formulatie steeg, nam de dissolutiesnelheid en de hoeveelheid vrijgesteld piroxicam toe ten opzichte van de referentiepellets (Fig. 2.12). Het toevoegen van 7,5 % (g/g) HP- β -CD (○) zorgde voor een verdubbeling van de hoeveelheid piroxicam, die werd vrijgesteld na 45 min (van 30 % naar 60 %), maar na 150 min was nog geen plateauwaarde bereikt m.a.w. de vrijstelling was nog niet volledig (slechts 90 % vrijgesteld). Formulaties met 11,6 (▲) en 14 % (g/g) (△) HP- β -CD (molaire verhouding resp. 1:1 en 1:1,2) vertoonden een snellere en volledige vrijstelling van piroxicam (resp. 66 en 74 % na 45 min). De vrijstelling van pellets waarin 16 (■) en 18 % (□) HP- β -CD (g/g) (molaire verhouding resp. 1:1,4 en 1:1,6) werd verwerkt, was voor beide formulaties gelijklopend nl. 89 % piroxicamvrijstelling na 45 min.

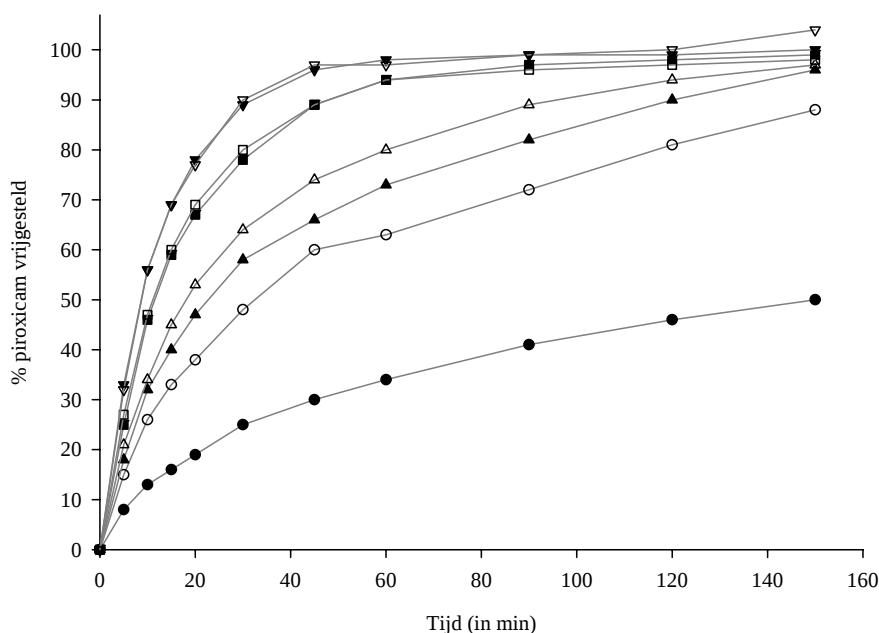


Fig. 2.12: Invloed van 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrine (HP-β-CD) op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8. ● Avicel PH 101 (referentie); HP-β-CD concentratie: ○ 7,5 %, ▲ 11,6 %, △ 14 %, ■ 16 %, □ 18 %, ▼ 20 %, ▽ 22,5 %.

Deze formulaties waren de eerste op basis van cyclodextrines, die voldeden aan de vooropgestelde eis van minstens 75 % geneesmiddelvrijstelling na 45 min. Verdere toevoeging van HP-β-CD tot concentraties van 20 (▼) en 22,5 % (▽) (molaire verhouding van resp. 1:1,7 en 1:1,9) zorgde uiteindelijk voor een piroxicamvrijstelling van 96 % na 45 min. De vrijstelling uit deze formulatie is vergelijkbaar met die van de formulatie op basis van Avicel® PH 101/CL 611 (1/3) en bood geen extra voordeel naar *in vitro* vrijstelling toe. *In vivo* zouden cyclodextrines eventueel de gastro-intestinale irritatie kunnen reduceren (Santucci et al., 1992) en daarom werd de formulatie op basis van Avicel® PH 101 en 20 % HP-β-CD weerhouden.

Gezien de hoge kostprijs van HP-β-CD als excipiënt werd verder gezocht naar een mogelijke verlaging van de HP-β-CD concentratie door het combineren van excipiëntia, die een synergistisch effect hebben op het dissolutiegedrag van piroxicam.

2.4.6.2 Combinaties van cyclodextrines en andere excipiëntia

Loftsson en Brewster (1996) toonden aan dat wateroplosbare polymeren zoals carboxymethylcellulose en hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) het solubiliserend effect van HP- β -CD versterken. Gelijktijdige toediening van HPMC in combinatie met cyclodextrines, verhoogde het solubiliserend effect van de cyclodextrines ten opzichte van glibenclamide waardoor de hoeveelheid cyclodextrine significant gereduceerd werd (Savolainen et al., 1998).

Het synergistisch effect zou in het geval van de piroxicampellets ofwel een verdere verbetering van de geneesmiddelvrijstelling teweegbrengen, ofwel ervoor zorgen dat met een kleinere hoeveelheid HP- β -CD toch hetzelfde vrijstellingsprofiel als voor de pellets met 20 % HP- β -CD verkregen wordt.

Daarnaast werd de vorming en de bereiding van een inclusiecomplex van piroxicam met β -cyclodextrine reeds beschreven door Chiesi en Servadio (US patent 1,603,123, 1986). Het vrijstellingsprofiel uit pellets beladen met dit complex werd eveneens bestudeerd en vergeleken met een formulatie waarin het fysisch mengsel van piroxicam en β -cyclodextrine werd verwerkt. Het piroxicam- β -cyclodextrine complex (Chiesi, Parma, Italië) bevatte 10,25 % piroxicam.

De samenstelling van de pelletformulaties wordt weergegeven in Tabel 2.7.

Tabel 2.7: Samenstelling van de pelletformulaties met verschillende cyclodextrinederivaten in combinatie met Avicel[®] mengsels

	<i>Avicel[®] PH 101</i>			<i>Avicel[®] PH 101/CL 611 (1/3)</i>		
	Ref	HP- β -CD 20 %	P- β -CD complex	HP- β -CD 20 %	P- β -CD complex	β -CD 20 %
Piroxicam	5 g	5 g	48,8 g*	5 g	48,8 g	5 g
CD derivaat		40 g		40 g		40 g
Avicel [®] PH 101	195 g	155 g	151,2 g	38,75 g	37,8 g	38,75 g
Avicel [®] CL 611				116,25 g	113,4 g	116,25 g
Water	200 ml	150 ml	230 ml	135 ml	152 ml	140 ml

* dit komt overeen met 5 g piroxicam en 43,8 g β -CD (= 22 % (g/g) in de pellets)

Uit Fig. 2.13 wordt afgeleid dat de incorporatie van cyclodextrinederivaten voor alle formulaties in vergelijking met de referentieformulatie een verbetering gaf van de piroxicamvrijstelling. Voor de Avicel® PH 101 pellets beladen met 20 % HP- β -CD nam de piroxicam vrijstelling na 45 min toe van 30 (●) tot 96 % (○). Het toevoegen van 20 % HP- β -CD veroorzaakte een stijging van de piroxicamvrijstelling van 96 (▼) tot 100 % (▲) voor de Avicel® PH 101/CL 611 matrix. Het additionele effect van HP- β -CD op de piroxicamvrijstelling uit de Avicel® PH 101/CL 611 matrix is zodanig beperkt dat het gebruik van het dure HP- β -CD in de pellets niet verantwoord kon worden.

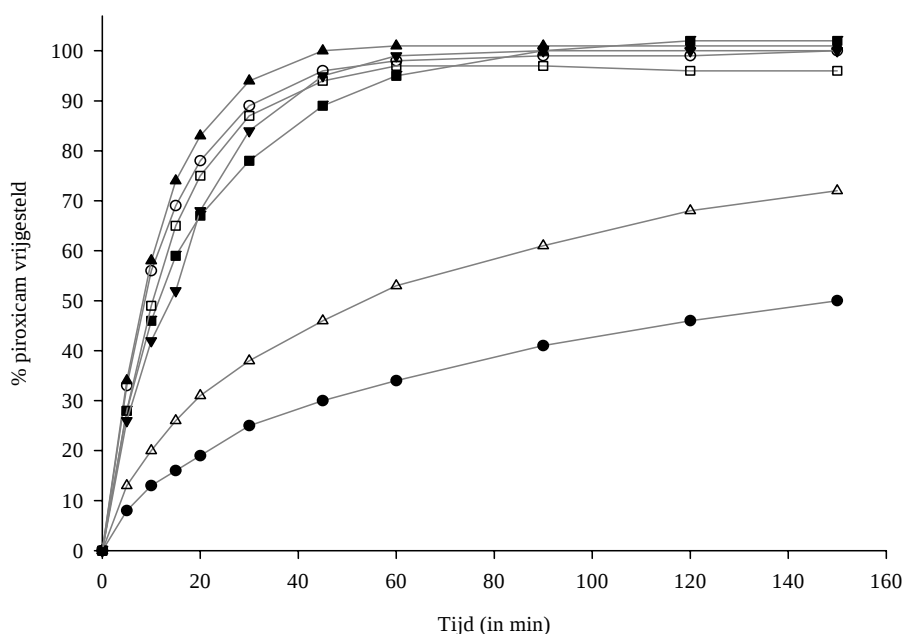


Fig. 2.13: Invloed van cyclodextrinederivaten in combinatie met Avicel® mengsels op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8. ● Avicel® PH 101 (referentie); ○ 20 % HP- β -CD + Avicel® PH 101, ▲ 20 % HP- β -CD + Avicel® PH 101/CL 611, △ Piroxicam- β -CD complex + Avicel® PH 101, ■ Piroxicam- β -CD complex + Avicel® PH 101/CL 611, □ 20 % β -CD + Avicel® PH 101/CL 611; ▼ Avicel® PH 101/CL 611 (1/3)

Ook het gebruik van het piroxicam- β -CD complex gaf aanleiding tot een verbeterde piroxicamvrijstelling, maar dit effect was omwille van de lagere wateroplosbaarheid van β -CD ten opzichte van HP- β -CD minder uitgesproken (van 30 % tot 46 % (△) voor de Avicel® PH 101 matrix) of zelfs onbestaande (■) (voor de Avicel® PH

101/CL 611 matrix). Bovendien werd onderzocht of er een verschil was tussen de pellets beladen met het gepreformuleerde complex en deze met het fysisch mengsel van β -CD en piroxicam. Uit Fig. 2.13 blijkt dat het gebruik van het gepreformuleerde complex (■) of het *in situ* mengen van β -CD en piroxicam tijdens de produktie (□) resulteerden in vergelijkbare dissolutieprofielen. Het gebruik van β -CD werd verder niet weerhouden.

Voor de pellets beladen met 20 % HP- β -CD werd verder onderzocht of het gebruik van hydrofiele polymeren zoals HPMC en superdesintegratoren invloed had op de piroxicamvrijstelling. Deze formulaties werden telkens vergeleken met de formulatie waaraan geen HP- β -CD werd toegevoegd. De samenstelling van de pellets wordt weergegeven in Tabel 2.8.

Tabel 2.8: Samenstelling van de pelletformulaties beladen met hydrofiele polymeren in combinatie met 20 % HP- β -CD

	zonder HP- β -CD 20 %			met HP- β -CD 20 %		
	HPMC 2 %	Ac-Di-Sol 10 %	Explotab 10 %	HPMC 2 %	Ac-Di-Sol 10 %	Explotab 10 %
Piroxicam	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g
HP- β -CD	-	-	-	40 g	40 g	40 g
Avicel [®] PH 101	191 g	175 g	175 g	151 g	135 g	135 g
Polymeer	4 g	20 g	20 g	4 g	20 g	20 g
Water	150 ml	190 ml	200 ml	130 ml	140 ml	220 ml

In Fig. 2.14 wordt aangetoond dat het gebruik van HPMC (Methocel[®] E 15 LV, hydroxypropoxyl gehalte: 7-12 %, methoxyl gehalte: 28-30 %, viscositeit: 15 mPa.s) in combinatie met HP- β -CD (▽) geen synergistisch effect had op de piroxicamvrijstelling, maar dat er integendeel zelfs een vertraging van de geneesmiddelvrijstelling optrad. Bovendien bleek de incorporatie van HPMC in Avicel[®] PH 101 (▼) geen verandering in het vrijstellingsprofiel teweeg te brengen. Een hogere HPMC belading (5 % (g/g)) gaf aanleiding tot een totaal verlies van plasticiteit, waardoor na sferonisatie geen pellets werden gevormd maar cilindervormige extrudaten, die als dusdanig bleven bestaan.

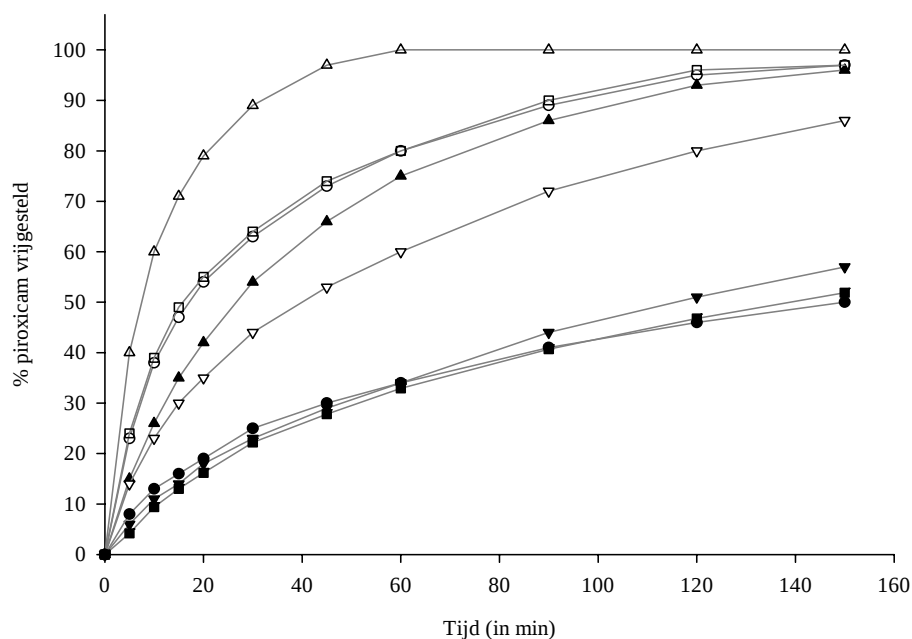


Fig. 2.14: Invloed van hydrofiele polymeren al of niet in combinatie met 20 % HP-β-CD op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam uit Avicel® PH 101 matrix in fosfaatbuffer pH 6,8. ● Avicel® PH 101, ○ 20 % HP-β-CD; ▲ 10 % Explotab®, △ 20 % HP-β-CD + 10 % Explotab®, ■ 10 % Ac-Di-Sol®, □ 20 % HP-β-CD + 10 % Ac-Di-Sol®, ▼ 2 % HPMC, ▽ 20 % HP-β-CD + 2 % HPMC,

Er werd geen synergistisch effect aangetoond van Ac-Di-Sol® met 20 % HP-β-CD (□). De dissolutie van piroxicam bleef ongeveer 74 % na 45 min. Zoals vroeger reeds werd aangetoond, had ook het toevoegen van 10 % Ac-Di-Sol® aan microkristallijne cellulose pellets (■) geen invloed op de piroxicamvrijstelling.

In tegenstelling met Ac-Di -Sol® had het gebruik van Explotab® in de pellets wel een gunstige invloed op de vrijstelling van piroxicam. In combinatie met 20 % HP-β-CD werd een toename van de piroxicamvrijstelling na 45 min waargenomen. Deze steeg van 66 % vrijgesteld piroxicam na 45 min voor de pellets zonder HP-β-CD (▲) tot 97 % (△) voor deze met HP-β-CD.

Uit deze experimenten werd geconcludeerd dat het gebruik van cyclodextrinederivaten in geen van de formulaties aanleiding gaf tot een vrijstellingsprofiel dat superieur was aan het vrijstellingsprofiel bekomen met de pellets op basis van Avicel® PH 101/CL 611 (1/3). Op basis van de *in vitro* dissolutieresultaten werd dan ook de voorkeur gegeven aan deze laatste formulatie.

De toepassing van pellets beladen met 20 % HP- β -CD werd echter wel verder onderzocht *in vivo* omwille van hun potentieel voordeel naar de verbetering van de biologische beschikbaarheid van piroxicam (Deroubaix et al., 1995) en de reductie van mucosale irritatie toe (Santucci et al., 1992).

2.4.7 Invloed van L-HPC op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam

Low-substituted hydroxypropylcellulose (L-HPC) is een hydroxypropylether van cellulose met een klein aantal hydroxypropyl groepen per glucose eenheid. HPC (molaire substitutiegraad MS = 3) is oplosbaar in water en alcohol, terwijl L-HPC (MS= 0,2-0,4) zwelt in water en onoplosbaar is. Het wordt gebruikt als bindmiddel en desintegrator in vaste geneesmiddelvormen. Kleinebudde (1993) bestudeerde de invloed van L-HPC op de extrusie- en de pelleteigenschappen. Het gebruik van L-HPC LH 20 gaf aanleiding tot pellets met een hoge porositeit en een toename van de dissolutiesnelheid van het geneesmiddel. Bovendien toonde Kleinebudde (1994) aan dat pellets op basis van microkristallijne cellulose en L-HPC zwellen wanneer ze in waterig milieu worden gebracht en op deze manier de vrijstelling van sommige geneesmiddelen (zoals paracetamol, coffeïne en propyfenazon) versnellen.

Tabel 2.9: Samenstelling van de pelletformulaties met L-HPC in combinatie met Avicel® PH 101 en Avicel® PH 101/CL 611 (1/3) mengsel.

	Avicel® PH 101 matrix	Avicel® PH 101/CL 611 matrix	
Piroxicam	5 g	5 g	5 g
L-HPC	20 g (10 %)	20 g (10 %)	40 g (20 %)
Avicel® PH 101	175 g	43,75 g	38,75 g
Avicel® CL 611	-	131,25 g	116,25 g
Water	300 ml	200 ml	200 ml

Er werd onderzocht of het gebruik van L-HPC in de pelletformulatie aanleiding gaf tot een versnelde vrijstelling van piroxicam. Voor het onderzoek werd gebruik gemaakt van het L-HPC LH 21 type, d.i. L-HPC met een hydroxypropoxylgehalte van

10-12,9 % en een deeltjesgrootte waarbij minder dan 1 % van de deeltjes groter is dan 106 μm en meer dan 90 % van de deeltjes kleiner is dan 75 μm . De samenstelling van de pelletformulaties wordt weergegeven in Tabel 2.9.

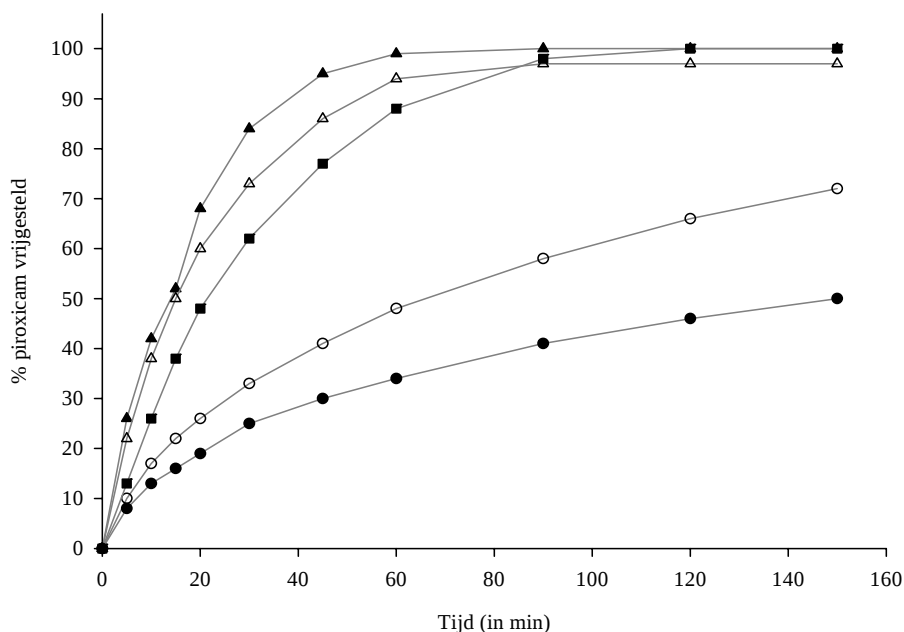


Fig. 2.15: Invloed van L-HPC op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8. ● Avicel® PH 101; ○ Avicel® PH 101 + 10 % L-HPC, ▲ Avicel® PH 101/CL 611 (1/3), △ Avicel® PH 101/CL 611 (1/3) + 10 % L-HPC, ■ Avicel® PH 101/CL 611 (1/3) + 20 % L-HPC.

Uit Fig. 2.15 kan besloten worden dat het toevoegen van 10 % L-HPC aan microkristallijne cellulose pellets (○) zorgde voor een geringe toename van de piroxicamvrijstelling na 45 min (van 30 % tot 41 %), maar dat deze nog steeds ruim beneden het vrijstellingsprofiel van de Avicel® PH 101/CL 611 (1/3) pellets (▲) lag. Het toevoegen van resp. 10 (△) of 20 % (■) L-HPC aan deze laatste formulatie zorgde zelfs voor een daling van de vrijstelling van 95 % naar 86 en 77 %. Deze daling was te wijten aan de reductie van de hoeveelheid Avicel® CL 611 in de formulatie, waarvan het effect op de piroxicamvrijstelling niet gecompenseerd werd door L-HPC.

2.4.8 Besluit

Uit de voorgaande formulatiestudie werd geconcludeerd dat de pellets op basis van een mengsel van Avicel® PH 101 en CL 611 in een verhouding van 1 op 3 aanleiding gaven tot een vrijstelling van 95 % piroxicam na 45 min in fosfaatbuffer pH 6,8. Bovendien liet deze formulatie zich vlot extruderen en gaf ze aanleiding tot pellets met een nauwe deeltjesgroottedistributie en lage friabiliteit. Deze formulatie werd geselecteerd voor verdere omhullings-, compactie- en *in vivo*-experimenten.

2.4.9 Optimalisatie van de pelletformulatie met Avicel® PH 101/CL 611 (1/3)

2.4.9.1 Invloed van de herkomst van piroxicam

Om na te gaan of de herkomst van het actieve bestanddeel een invloed had op de vrijstellingssnelheid uit de pellets, werd piroxicam afkomstig van 2 verschillende fabrikanten in de pellets verwerkt.

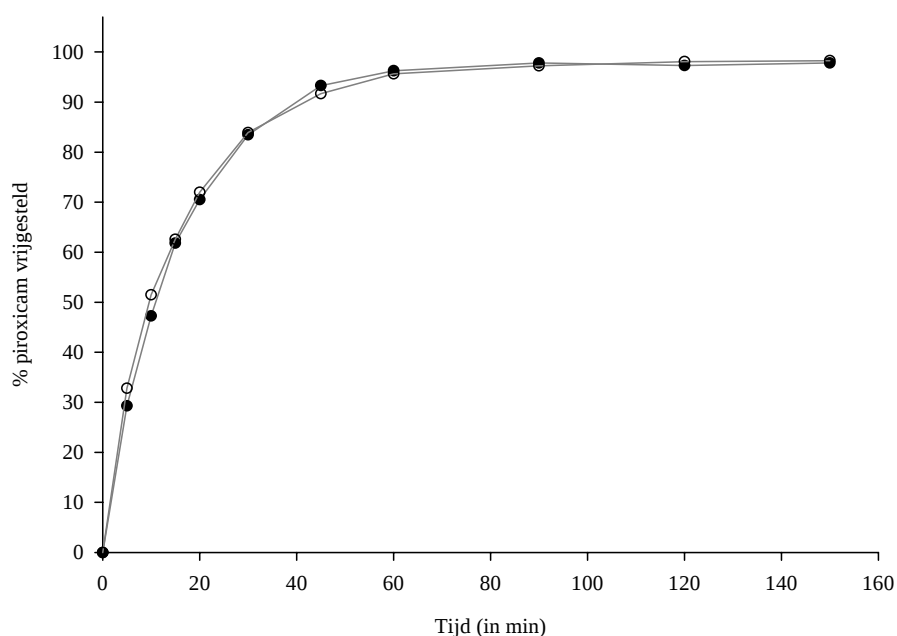


Fig. 2.16: Invloed van de herkomst van piroxicam op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8. Avicel® PH 101/CL 611 + 2,5 % (g/g) ● Px Sagan; ○ Px Certa.

Het eerste lot piroxicam (Px) was afkomstig van de firma Sagra (Milaan, Italië). Het tweede lot werd aangekocht bij firma Certa (Braine-l'Alleud, België). Beide grondstoffen waren gemicroniseerde poeders en hadden een deeltjesgrootte kleiner dan 20 µm. In Fig. 2.16 worden de dissolutieprofielen weergegeven van de beide formulaties. Er werd geen verschil in vrijstelling gedetecteerd.

2.4.9.2 Invloed van de hoeveelheid granulatievloeistof

Sousa et al. (1996) toonden aan dat de hoeveelheid granulatievloeistof, meer bepaald water, niet alleen een invloed had op de fysische eigenschappen van de resulterende pellets maar ook op de vrijstelling van het geneesmiddel uit de pellets. Baert en Remon (1993) onderzochten de invloed van de hoeveelheid granulatievloeistof op de eigenschappen en het geneesmiddelvrijstellingsprofiel van pellets geproduceerd via extrusie-sferonisatie. De MCC pellets werden beladen met theofylline monohydraat en sulfamethoxazole als modelgeneesmiddelen en variërende hoeveelheden water werden gebruikt als granulatievloeistof. De geneesmiddelvrijstelling vertraagde naarmate meer granulatievloeistof werd toegevoegd en dit kwam overeen met een toename van de hardheid en de densiteit van de pellets.

Er werd onderzocht of de hoeveelheid water gebruikt als granulatievloeistof voor de productie van piroxicampellets op basis van Avicel® PH 101/CL 611, een invloed had op de vrijstelling van piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8. Wanneer minder dan 150 ml water werd gebruikt, was de vochtige massa te droog en konden de extrudaten niet afgerond worden. Meer dan 180 ml water gaf aanleiding tot agglomeratie van de vochtige pellets in de sferoniser.

Uit Fig 2.17 kan afgeleid worden dat in tegenstelling tot wat reeds in de literatuur werd vermeld, de gebruikte hoeveelheid granulatievloeistof geen invloed had op de piroxicamvrijstelling uit de pellets. Uit de bepaling van de deeltjesgroottedistributie bleek dat de hoeveelheid granulatievloeistof wel een invloed had op de gemiddelde deeltjesgrootte van de pellets. De hoeveelheid pellets > 1000 µm nam toe van 61,5 % naar 75,1 % voor respectievelijk 150 en 180 ml granulatievloeistof.

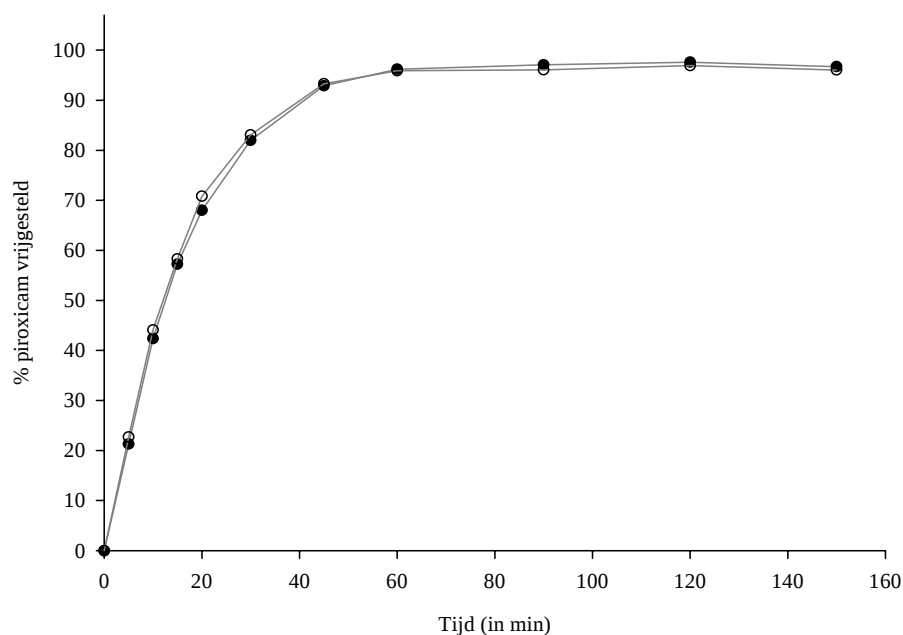


Fig. 2.17: Invloed van de hoeveelheid granulatievloeistof op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8. Avicel® PH 101/CL 611 + ● 150 ml water; ○ 180 ml water

Bij opschaling bleek de benodigde hoeveelheid granulatievloeistof niet lineair toe te nemen. De minimale en maximale hoeveelheid granulatievloeistof welke extrusie/sferonisatie toelieten, werden bepaald voor 200 g, 1 kg en 2 kg droog materiaal en de resultaten worden weergegeven in Tabel 2.10. De sferoniser werd telkens beladen met 500 g extrudaat.

Tabel 2.10: Overzicht benodigde hoeveelheid granulatievloeistof bij opschaling

Batchgrootte	Granulatievloeistof	
	Theoretische hoeveelheid	Experimenteel
200 g	-	150 – 180 ml
1 kg	750 – 900 ml	650-680 ml
2 kg	1500- 1800 ml	1280 – 1350 ml

2.4.9.3 *Invloed van sferonisatieduur en -snelheid*

Baert et al. (1993) bestudeerden welke parameters belangrijk waren in het sferonisatieproces. De hoeveelheid granulatievloeistof, sferonisationsnelheid en –duur werden getest op 3 niveaus en er werd geconcludeerd dat het rendement van de pelletfractie 710-1400 μm toenam naarmate meer granulatievloeistof of een lagere sferonisationsnelheid werd gebruikt. Anderzijds zorgde een langere sferonisatieduur voor rondere sfeertjes. Ook Hasznos et al. (1992) concludeerden dat de sferonisatieduur, -snelheid en de hoeveelheid water de grootste impact hadden op de eigenschappen van de resulterende pellets.

Twee loten van respectievelijk 2 en 1 kg droog materiaal werden gebruikt voor het onderzoek naar de invloed van de sferonisatieduur en –snelheid op de vorming van pellets. Voor het eerste lot werd uitgegaan van de minimale hoeveelheid granulatievloeistof nl. 1280 ml (zie Tabel 2.10), voor het tweede lot werd uitgegaan van de maximale hoeveelheid granulatievloeistof nl. 680 ml (zie Tabel 2.10). Voor elke sferonisationsnelheid werd de sferoniser beladen met 500 g extrudaat. Er werd een staal genomen na 5, 10 en 15 min. Bovendien werden 2 sferonisationsnelheden gecombineerd door in eerste instantie 5 min te sferoniseren aan 1250 tpm, gevolgd door sferonisatie aan 1000 tpm gedurende 5, 10 of 15 min. De pellets werden gedroogd in een droogoven bij 40 °C en vervolgens met behulp van een beeldanalysesysteem (Olympus Optical, analySIS 3.0 software) visueel beoordeeld. De deeltjesgroottedistributie werd bepaald via laserdiffractie.

Op basis van Tabel 2.11 werd geconcludeerd dat enkel de hogere sferonisationsnelheden aanleiding gaven tot sferische pellets. Sferoniseren bij een snelheid van 750 tpm was onvoldoende om de extrudaten op te breken en af te ronden en resulteerde zelfs na 15 min sferonisatie in korte extrudaatjes met lichtjes afgeronde uiteinden (Fig. 2.18 A).

Tabel 2.11: Invloed van sferonisatieduur en –snelheid op pelleteigenschappen: visuele beoordeling van de vorm en pelletfractie (%) tussen 750 en 1400 μm (batchgrootte: 2 kg, hoeveelheid granulatievloeistof 1280 ml)

Sferonisatie	Duur (min)					
Snelheid	5		10		15	
	Vorm	Fractie	Vorm	Fractie	Vorm	Fractie
750 tpm	Haltertjes	55,4 %	Haltertjes	60,1 %	Haltertjes	64,7 %
					(Fig. 2.18A)	
1000 tpm	Haltertjes	63,4 %	Haltertjes	65,7 %	Haltertjes	71,3 %
1250 tpm	Haltertjes	66,2 %	Haltertjes	73,0 %	Haltertjes	74,1 %
5 min aan 1250 tpm+	Haltertjes	71,1 %	Haltertjes	71,8 %	Pellets	75,2 %
1000 tpm	+ pellets		+ pellets		(Fig. 2.18B)	



A.: 750 tpm, 15 min



B: 5 min aan 1250 tpm en 15 min aan 1000 tpm

Fig. 2.18: Invloed van de sferonisationsnelheid en –duur op het eindproduct

Toename van de sferonisationsnelheid zorgde uiteindelijk voor de vorming van pellets en bovendien bleek een langere sferonisatietijd de sfericiteit van de pellets te bevorderen. Tevens zorgde een grotere hoeveelheid granulatievloeistof voor een toename van het aandeel van de pelletfractie 750-1400 μm (Tabel 2.11 en 2.12). De beste resultaten werden echter verkregen door 2 sferonisationsnelheden te combineren waarbij een hogere sferonisationsnelheid werd gebruikt om de extrudaten initieel op te breken, waarna vervolgens een lagere sferonisationsnelheid zorgde voor voldoende afronding en groei van de partikels onder invloed van de centrifugale krachten. De

combinatie van 5 min aan 1250 tpm, gevolgd door 15 min sferoniseren aan 1000 tpm werd in het verder onderzoek gebruikt.

Tabel 2.12: Invloed van sferonisatieduur en –snelheid op pelleteigenschappen: visuele beoordeling van de vorm en pelletfractie (%) tussen 750 en 1400 µm (batchgrootte: 1 kg, hoeveelheid granulatievloestof 680 ml)

Sferonisatie	Duur (min)					
	5		10		15	
Snelheid	Vorm	Fractie	Vorm	Fractie	Vorm	Fractie
1000 tpm	Haltertjes	75,1 %	Haltertjes	79,5 %	Haltertjes	70,8 %
1250 tpm	Haltertjes	80,7 %	Haltertjes	82,2 %	Haltertjes	80,2 %
5 min aan 1250 tpm+	Haltertjes	76,1 %	Haltertjes	80,1 %	Pellets	81,4 %
1000 tpm	+ pellets		+ pellets			

2.4.9.4 Invloed van de droogtechniek

De laatste stap in het extrusie-sferonisatie proces is het drogen van de vochtige pellets. Pellets worden gedroogd via een dynamische methode in een wervelbed of via een statische methode in een circulerende hete lucht oven. Dyer et al. (1994) toonden aan dat voor een bepaalde pelletformulatie de droogtechniek een significant effect had op de mechanische eigenschappen van de via extrusie-sferonisatie geproduceerde pellets. Bovendien werd ook de *in vitro* vrijstellingssnelheid van het geneesmiddel beïnvloed door de manier van drogen. Ook Sousa et al. (1996) toonden via een experimentele proefopzet aan dat niet alleen het watergehalte en het extrusieproces maar ook het droogproces een belangrijke invloed hadden op de fysische eigenschappen en het geneesmiddelvrijstellingspatroon van de resulterende pellets. De piroxicampellets op basis van Avicel® PH 101/CL 611 (1/3) werden enerzijds gedroogd tot constant gewicht in een droogoven bij 40 °C en anderzijds in een wervelbed bij 40 °C gedurende 20 min. Er werd onderzocht of het droogproces een invloed had op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8.

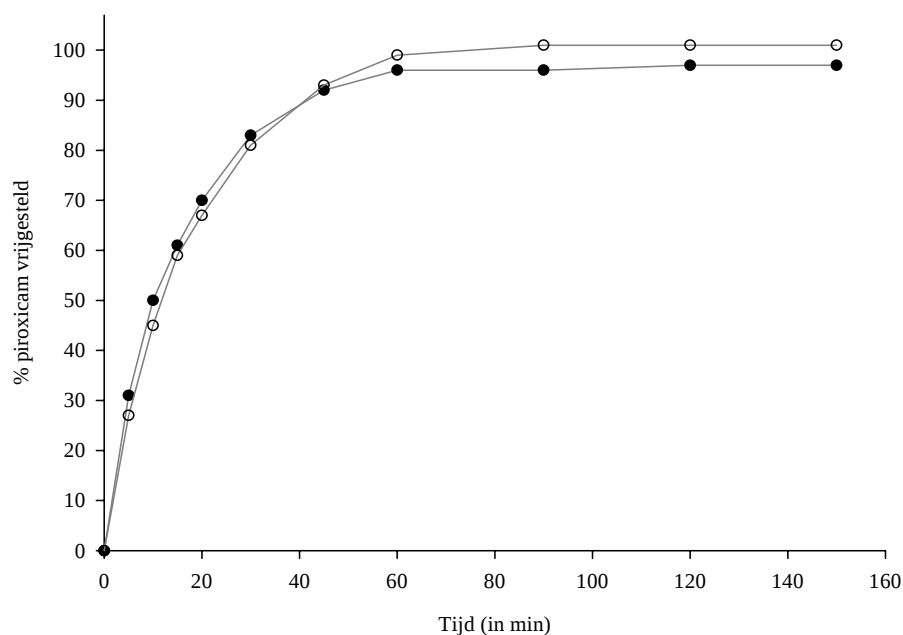


Fig. 2.19: Invloed van de droging van de pellets op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam in fosfaatbuffer pH 6,8. ● wervelbed droging, ○ oven droging

Uit Fig. 2.19 wordt geconcludeerd dat de manier waarop het droogproces werd uitgevoerd geen invloed had op de piroxicamvrijstelling. De friabiliteit van de formulatie (0,6 % voor wervelbed drogen en 0,0 % voor oven drogen) werd echter wel beïnvloed door het droogproces, waarbij wervelbeddrogen aanleiding gaf tot pellets, die minder bestand waren tegen wrijving (friabiliteit > 0,2 %), wat een negatieve invloed zal hebben op het verdere coatingsproces. Vandaar dat de voorkeur werd gegeven aan drogen in de oven.

2.4.9.5 Invloed van de pelletgrootte

Avicel® PH 101/CL 611 (1/3) pellets werden geproduceerd met behulp van een Dome extruder voorzien van een Dome-die met perforaties van respectievelijk 0,4 mm, 0,6 mm en 1 mm diameter. Vijf pelletfracties werden door zeven geïsoleerd: 315-500 µm, 500-710 µm, 710-900 µm, 910-1120 µm en 800-1250 µm. Deze 5 pelletfracties werden onderworpen aan een *in vitro* dissolutietest, waarbij de invloed van de deeltjesgrootte op de piroxicamvrijstelling werd nagegaan.

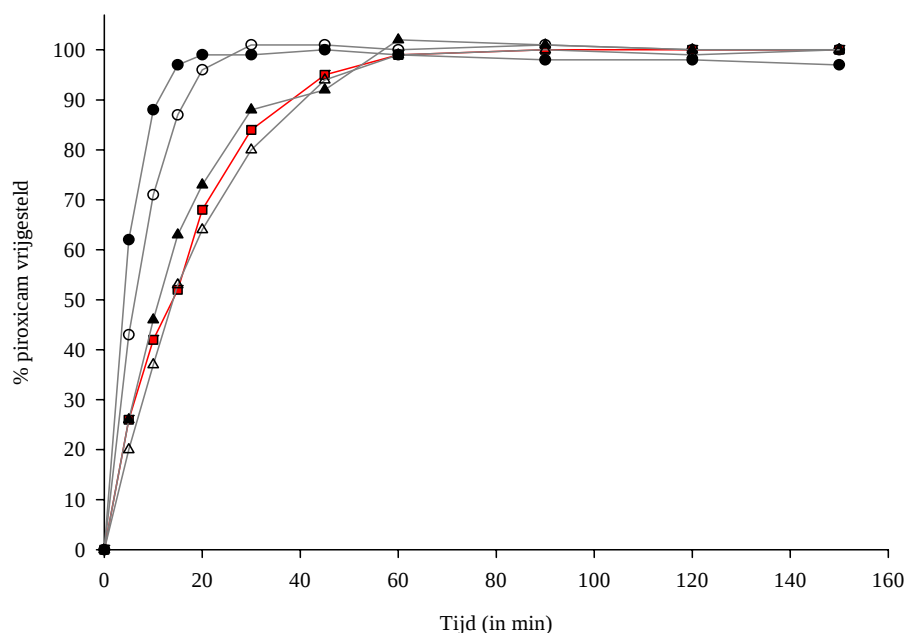


Fig. 2.20: Invloed van de deeltjesgrootte op de *in vitro* piroxicamvrijstelling: ● 315-500 µm, ○ 500-710 µm; ▲ 710-900 µm, △ 900-1120 µm, ■ 800-1250 µm

Uit Fig. 2.20 werd afgeleid dat voor elke pelletgrootte minstens 75 % piroxicam werd vrijgesteld na 45 min. Hoe kleiner de pellets, hoe sneller de totale hoeveelheid piroxicam vrijkwam uit de pellets. Voor de pelletfractie 315-500 µm (●) is de vrijstelling compleet na 15 min, terwijl deze voor de andere fracties pas na respectievelijk 30 (500-710 µm) (○) tot 60 minuten (710-900, 900-1120 en 800-1250 µm) (▲, △ en ■) voltooid is. Husson et al. (1992) beschreven een gelijkaardig fenomeen bij het onderzoek naar de invloed van een polydisperse deeltjesgroottedistributie op de geneesmiddelvrijstelling uit pellets. Zij concludeerden dat de diameter van de sfeertjes een significante invloed had op de vrijstellingskinetiek en dat kleinere deeltjes het geneesmiddel inderdaad sneller vrijstelden dan de grotere pellets. Ook Pinto et al. (1997) toonden aan dat naarmate de grootte van de pellets toenam de vrijstellingssnelheid van het geneesmiddel daalde ten gevolge van een daling van het vrije oppervlak beschikbaar voor geneesmiddelvrijstelling.

2.4.9.6 Reproduceerbaarheid

Op verschillende tijdstippen en door verschillende operatoren werden pellets op basis van Avicel® PH 101/CL 611 (1/3) geproduceerd en de fractie 800-1250 µm werd onderworpen aan een dissolutietest in fosfaatbuffer pH 6,8 om na te gaan of het vrijstellingsprofiel van deze pelletformulatie reproduceerbaar was. In Fig 2.21 worden de dissolutieprofielen weergegeven voor vier verschillende loten en uit deze figuur werd besloten dat de pelletformulatie op basis van Avicel® PH 101 en CL 611 (1/3) aanleiding gaf tot een reproduceerbaar vrijstellingsprofiel.

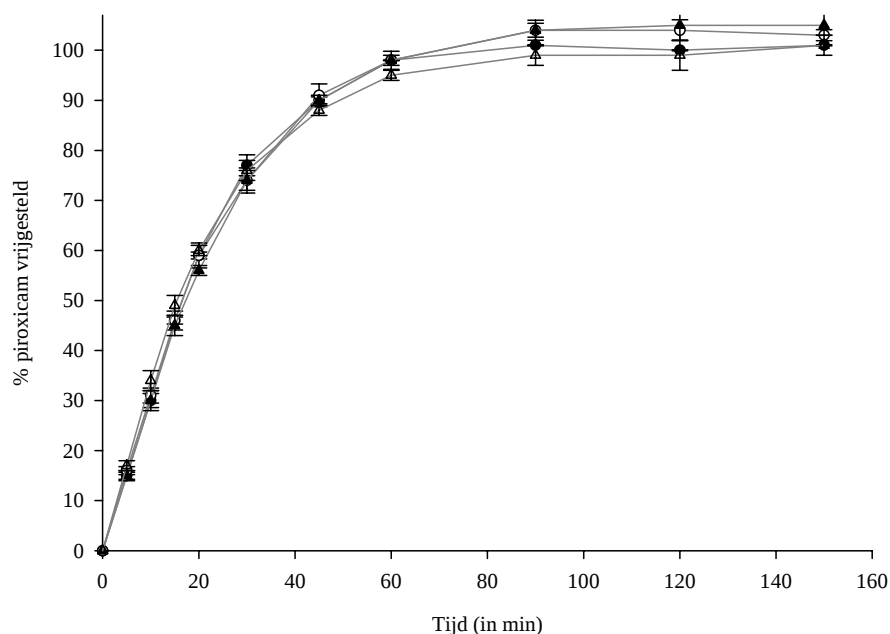


Fig. 2.21: ● Lot 1, ○ Lot 2; ▲ Lot 3, △ Lot 4

2.5 Besluit

Uit het formulatieonderzoek, waarbij de invloed van een uitgebreid gamma hulpstoffen werd nagegaan, werd op basis van de *in vitro* dissolutieprofielen in fosfaatbuffer pH 6,8 uiteindelijk één formulatie weerhouden. Pellets beladen met 2,5 % piroxicam op basis van Avicel® PH 101/CL 611 in een verhouding van 1 op 3,

geproduceerd via extrusie-sferonisatie, gaven aanleiding tot een snelle, reproduceerbare vrijstelling van piroxicam en werden gekenmerkt door een lage friabiliteit en een nauwe deeltjesgroottedistributie. Daarnaast werd eveneens de pelletformulatie op basis van 20% HP- β -CD weerhouden voor *in vivo* onderzoek.

2.6 Referenties

Aoyagi N., Ogata H., Kaniwa N., Uchiyama M., Yasuda Y., Tanioka Y., 1992. Gastric emptying of tablets and granules in humans, dogs, pigs and stomach-emptying-controlled rabbits. *J. Pharm. Sci.* 81, 1170-1174.

Augsburger L.L., Brzeczko A.W., Shah U.S., Hahm H.A., 2002. Superdisintegrants: Characterization and function. In: Swarbrick, J.; Boylan, J.C. (Eds), *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* second edition, Marcel Dekker Inc., New York, volume 3, pp. 2623-2638.

Backensfeld T., Müller B.W., Kolter K., 1991. Interaction of NSA with cyclodextrins and hydroxypropylcyclodextrin derivatives. *Int. J. Pharm.* 74, 85-93.

Baert L., Remon J.P., 1993. Influence of amount of granulation liquid on the drug release rate from pellets made by extrusion spheronisation. *Int. J. Pharm.* 95, 135-141.

Baert L., Vermeersch H., Remon J.P., Smeyers-Verbeke J., Massart D.L., 1993. Study of parameters important in the spheronisation process. *Int. J. Pharm.* 96, 225-229.

Barzegar-Jajali M., Maleki N., Garjani A., Khandar A.A., Haji-Hosseinloo M., Jabbari R., Dastalmachi S., 2002. Enhancement of dissolution rate and anti-inflammatory effects of piroxicam using solvent deposition technique. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 28, 681-686.

Bhattacharaya M., Basu S.K., Gupta B.K., Ghosal S.K., Mandal S.C., Chattaraj S.C., 1993. Formulation and in vitro-in vivo characterization of solid dispersions of piroxicam. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1993, 739-747.

Cavallari C., Abertini B., González-Rodríguez M.L., Rodriguez L., 2002. Improved dissolution behaviour of steam-granulated piroxicam. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 54, 65-73.

Chiesi P., Servado V., 1986. U.S. Patent 4,603,123. Compounds having anti-inflammatory activity, obtained by complexation of piroxicam with β -cyclodextrin, and pharmaceutical compositions containing them.

Deroubaix X., Stockis A., Allemon A.M., Lebacq E., Acerbi D., Ventura P., 1995. Oral bioavailability of CHF1194, an inclusion complex of piroxicam and β -cyclodextrin, in healthy subjects under single dose and steady-state conditions, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 47, 531-536.

Duchêne D., Wouessidjewe D., 1990. Physicochemical characteristics and pharmaceutical uses of cyclodextrinderivatives, Part I. *Pharm. Tech.*, 26-34.

Durand H.W., Fleck E.G., Raynor G.E., 1970. U.S. Patent 3,539,365. Dispersing and stabilizing agent comprising β -1,4 glucan and CMC and method for its preparation.

Dyer A.M., Khan K.A., Aulton M.E., 1994. Effect of the drying method on the mechanical and drug release properties of pellets prepared by extrusion-spheronisation. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 20, 3045-3068.

Fernández M., Margarit M.V., Rodríguez I.C., Cerezo A., 1993. Dissolution kinetics of piroxicam in solid dispersions with polyethylene glycol 4000. *Int. J. Pharm.* 98, 29-35.

Fernández M., Rodríguez I.C., Margarit M.V., Cerezo A., 1992. Characterization of solid dispersions of piroxicam/polyethylene glycol 4000. *Int. J. Pharm.* 84, 197-202.

Fielden K.E., Newton J.M., O'Brien P., Rowe R.C., 1988. Thermal studies on the interaction of water and microcrystalline cellulose. *J. Pharm. Pharmacol.* 40, 674-678.

Gazzaniga A., Sangalli M.E., Bruni G., Zema L., Vecchio C., Giordano F., 1998. The use of beta-cyclodextrin as a pelletization agent in the extrusion/spheronization process. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 24, 869-873.

Ghebre-Sellassie I., 1989. Pellets: A general overview. In: Ghebre-Sellassie, I. (Ed.) *Pharmaceutical Pelletization Technology*, Dekker, New York, pp 1-13.

Hasznos L., Langer I., Gyarmathy M., 1992. Some factors influencing pellets characteristics and moisture content decrease of pellets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 18, 409-437.

Herman J., Remon J-P, Lefebvre R., Bogaert M., Klinger G.H., Schwartz J.B., 1988. The dissolution rate and bioavailability of hydrochlorothiazide in pellet formulations. *J. Pharm. Pharmacol.* 40, 157-160.

Husson I., Leclerc B., Spenlehauer G., Veillard M., Puisieux F., Couarraze G., 1992. Influence of size polydispersity on drug release from coated pellets. *Int. J. Pharm.* 86, 113-121.

Ingkatawornwong S., Kaewnopparat N., Tantishaiyakul V., 2001. Studies on aging piroxicam-polyvinylpyrrolidone solid dispersions. *Pharmazie* 56, 227-230.

Itoh T., Higuchi T., Gardner C., Caldwell L., 1986. Effect of particle size and food on gastric residence time of non-disintegrating solids in beagle dogs. *J. Pharm. Pharmacol.* 38, 801-806.

Kleinebudde P., 1993. Application of low substituted hydroxypropylcellulose (L-HPC) in the production of pellets using extrusion-spheronization. *Int. J. Pharm.* 96, 119-128.

Kleinebudde P., 1994. Shrinking and swelling properties of pellets containing microcrystalline cellulose and low substituted hydroxypropylcellulose 2. Swelling properties. *Int. J. Pharm.* 109, 221-227.

Kleinebudde P., 1997. The crystallite-gel-model for microcrystalline cellulose in granulation, extrusion and spheronisation. *Pharm. Res.* 14, 804-809.

Loftsson T., Brewster M.E., 1996. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *J. Pharm. Sci.* 85, 1017-1025.

Loftsson T., Friðriksdóttir H., Sigurðardóttir A., Ueda H., 1994. The effect of water-soluble polymers on drug-cyclodextrin complexation. *Int. J. Pharm.* 110, 169-177.

Loftsson T., Guðmundsdóttir T.K., Friðriksdóttir H., 1996. The influence of water-soluble polymers and pH on hydroxypropyl- β -cyclodextrin complexation of drugs. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 22, 401-405.

Martinez-Ohárriz M.C., Martín C., Goñi M.M., Rodríguez-Espinosa, Tros-Ilduya M.C., Zornoza A., 1999. Influence of polyethyleenglycol 4000 on the polymorphic forms of diflunisal. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 8, 127-132.

Newton J.M., 2002. Extrusion and extruders. In: Swarbrick, J.; Boylan, J.C. (Eds), *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* second edition, Marcel Dekker Inc., New York, volume 2, pp 1220-1236.

Pan R-N., Chen J-H., Chen R. R-L., 2000. Enhancement of dissolution of piroxicam in solid dispersion systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 26, 989-994.

Pinto J.F., Podczek F., Newton J.M., 1997. The use of statistical moment analysis to elucidate the mechanism of release of a model drug from pellets produced by extrusion and spheronisation. *Chem. Pharm. Bull.* 45, 171-180.

Ragnarsson G., 1992. In vitro release characteristics of a membrane-coated pellet formulation-influence of drug solubility and particle size. *Int. J. Pharm.* 79, 223-232.

Rajewski R.A., Stella V.J., 1996. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 2. In vivo drug delivery. *J. Pharm. Sci.* 85, 1142-1169.

Remon J.P., 2003. *Cursus Farmaceutische Technologie*, Story Scientia, Gent, pp. 32.

Reynolds A.D., 1970. A new technique for the production of spherical particles. *Man. Chem. Aeros. News* 41, 40-43.

Rowe R.C., 1985. Spheronization: a novel pill-making process? *Pharm. Int.* 6, 119-123.

Santucci L., Fiorucci S., Chiucchiu S., Sicilia A., Bufalino L., Morelli A., 1992. Placebo-controlled comparison of piroxicam- β -cyclodextrin, piroxicam and indomethacin on gastric potential difference and mucosal injury in humans. *Digest. Dis. Sci.* 37, 1825-1832.

Savolainen J., Järvinen K., Taipale H., Jaro P., Loftsson T., Järvinen T., 1998. Co-administration of a water-soluble polymer increases the usefulness of cyclodextrins in solid oral dosage forms. *Pharm. Res.* 15, 1696-1701.

Shah R.D., Kabadi M., Pope D.G., Augsburger L.L., 1995. Physico-mechanical characterization of the extrusion-spheronisation process. Part II: Rheological determinants for successful extrusion and spheronisation. *Pharm. Res.* 12, 496-507.

Sousa J.J., Sousa A., Podczek F., Newton J.M., 1996. Influence of process conditions on drug release from pellets. *Int. J. Pharm.* 144, 159-169.

Swaenepoel E., Liebenberg W., de Villiers M.M., Dekker T.G., 2000. Dissolution properties of piroxicam powders and capsules as a function of particle size and the agglomeration of powders. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 26, 1067-1076.

Tantishaiyakul V., Kaewnopparat N., Ingkatawornwong S., 1999. Properties of solid dispersions of piroxicam in polyvinylpyrrolidone. *Int. J. Pharm.* 181, 143-151.

Tuleu C., Chaumeil J.C., 1998. Small-scale characterization of wet powder masse suitable for extrusion-spheronization. *Drug Dev. Ind. Pharm* 24, 423-429.

Vervaet C., Remon J.P., 1997. Bioavailability of hydrochlorothiazide from pellets, made by extrusion/spheronisation, containing polyethylene glycol 400 as a dissolution enhancer. *Pharm. Res.* 14, 1644-1646.

Vervaet C., Baert L., Remon J.P., 1995. Extrusion-spheronisation: A literature review. *Int. J. Pharm.* 116, 131-146.

3.1 Inleiding

Het filmcoatingproces bestaat uit het aanbrengen van een dunne polymeerfilm op een oppervlak, waarbij tabletten, capsules, pellets, granules of andere deeltjes fungeren als substraat. De aangebrachte omhulling kan verschillende functies uitoefenen. Ze kan het substraat beschermen tegen omgevingsfactoren zoals licht, lucht en vocht om op die manier de fysische en chemische stabiliteit van het substraat te verbeteren. Bovendien kan de aangebrachte film gebruikt worden om een onaangename kleur, geur, smaak of textuur te maskeren. Daarnaast kan de polymeerfilm een mechanische barrière vormen om interactie van of incompatibiliteit tussen verschillende componenten te omzeilen. Uiteindelijk kan met behulp van een filmcoating een gecontroleerde of gewijzigde vrijstelling van het geneesmiddel beoogd worden (Radebaugh, 1992).

Wanneer het geneesmiddel afgebroken wordt door maagenzymen of -zuur, wanneer het geneesmiddel gastro-intestinale irritatie veroorzaakt of wanneer absorptie van het geneesmiddel hoofdzakelijk ter hoogte van de dunne darm gebeurt, kan voor een enterische of maagsapresistente omhulling geopteerd worden. Maagsapresistentie wordt verkregen door het aanbrengen van een omhulling, die intact blijft in het zure milieu ter hoogte van de maag, maar die zeer snel in oplossing gaat van zodra de dunne darm wordt bereikt (Hogan, 1995). Aangezien er geen geneesmiddelvrijstelling is zolang de enterisch omhulde geneesmiddelvorm in de maag aanwezig is, wordt de opname van het geneesmiddel volledig bepaald door de maagledigingstijd. Multiparticulaire systemen zoals pellets en granules verlaten de maag op dezelfde wijze als vloeistoffen, dit wil zeggen onafhankelijk van het al of niet gevoed zijn van het individu waardoor ze beschouwd worden als de ideale geneesmiddelvorm voor enterische omhulling.

3.1.1 Het omhullingsproces

De omhulling van farmaceutische vormen gebeurt via “pan coating” of via wervelbed coating (“fluidised bed”). Deze laatste techniek, waarbij een vloeistof op het te omhullen, opwarrelende materiaal wordt gesproeid, werd oorspronkelijk gebruikt voor drogen en granuleren, maar wordt ook angewend voor het aanbrengen van omhullingsmateriaal (oplossing, suspensie, emulsie, latex en hot melt) op tabletten, capsules, pellets, granulen en kristallen (Jones, 1994; Christensen, Bertelsen, 1997). Een schematische voorstelling van een wervelbedsysteem wordt weergegeven in Fig. 3.1.

Het omhullen van materiaal met behulp van een wervelbedsysteem wordt opgesplitst in 3 fasen namelijk de opstartfase, de omhullingsfase en de droog/afkoelfase (Christensen, Bertelsen, 1997). In de opstartfase worden het toestel en het te omhullen materiaal op de gewenste temperatuur gebracht. De binnenkomende lucht (inlet air) wordt gefilterd en verwarmd zodat bij de start van het omhullen het solvent voldoende snel verdampt.

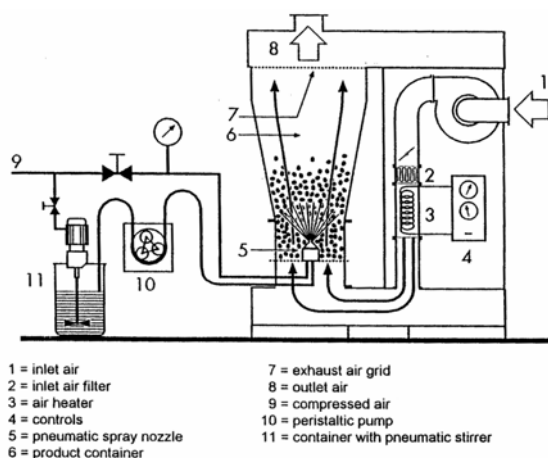


Fig. 3.1: Schematische voorstelling van een wervelbedsysteem (Lehmann, 2000)

Met behulp van een peristaltische pomp wordt de polymeervloeistof met een bepaald debiet (spray rate) tot aan de sproeikop (spray nozzle) gebracht, waar de atomisatie van de vloeistof plaatsvindt. Hierbij doen zich simultaan een aantal processen voor: verneveling van de coatingvloeistof, transport van de vloeistofdruppels naar het substraat, botsen met en adhesie van de druppels aan het te omhullen materiaal,

bevochtigen van en verspreiden over het oppervlak van het materiaal, gevolgd door coalesceren van de druppels en drogen van de film (Fig. 3.2).

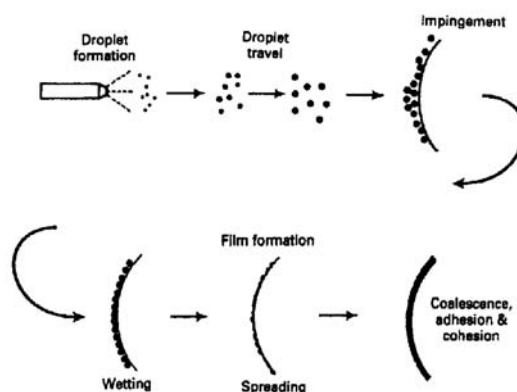


Fig. 3.2: Schematische voorstelling van de verschillende stadia in het coatingproces (Aulton, Twitchell., 1995)

In de finale droogstap worden de pellets gedroogd enerzijds om de solventresten te verwijderen en anderzijds om aaneenkleven van de pellets te vermijden. De droogstap bestaat uit het drogen in het wervelbed en verdere “curing”. Tijdens curing wordt de coating gedurende een bepaalde periode onderworpen aan een temperatuur, die hoger is dan de glastransitietemperatuur van het polymeer zodat volledige coalescentie wordt bereikt (= FGC: further gradual coalescence) (Lippold, Pagés, 2001).

In wervelbedsystemen wordt gebruik gemaakt van een sproeikop met een intern kanaal waarlangs de vloeistof wordt aangevoerd met daarrond een kanaal voor de perslucht, die zorgt voor de verneveling van de vloeistof. De sproeikop kan zich boven, onder of tangentieel ten opzichte van het te omhullen materiaal situeren en men spreekt respectievelijk over “top-spray”, “bottom-spray” of “tangential spray”.

In de “top-spray” en “Würster” coatingsystemen kunnen deeltjes tot minimum 100 µm omhuld worden zonder dat agglomeratie optreedt (Jones, 1994). Belangrijke voordelen van de “top spray” techniek zijn dat het coatingproces visueel kan gevolgd worden, eventuele verstopping van de sproeikop tijdig kan gedetecteerd en verholpen worden, zonder dat voor dit laatste het substraat uit het toestel hoeft verwijderd te worden. Nadeel van deze techniek is dat de afstand tussen het substraatbed en de sproeikop niet gewijzigd kan worden, waardoor ingeboet wordt aan coatingefficiëntie (sproeidroging van de vloeistofdruppels en vorming van “fines”) (Teunou, Poncelet,

2002). Bovendien beweegt het product volledig arbitrair in het wervelbedtoestel (Christensen, Bertelsen, 1997) waardoor een belading van meer dan 50 % van de capaciteit van het toestel noodzakelijk is om een adequaat wervelpatroon te verkrijgen.

Würster ontwikkelde in de jaren '60 de zogenaamde “insert bottom-spray coater”, ook het Würstersysteem genoemd. Hij combineerde de wervelbedtechniek met een sproeikop, die bevestigd zat op een geperforeerde bodemplaat en waarrond een in de hoogte verstelbare cilinder werd aangebracht. Deze opstelling zorgde voor een enorme toename in botsingsfrequentie tussen de te omhullen partikels en de vloeistofdruppels waardoor de coatingefficiëntie toenam (minder sproeidroging en dus minder stofvorming). Bovendien zorgde de gecontroleerde circulatie van de deeltjes voor een snelle droging waardoor agglomeratie werd verhinderd en de deeltjes omhuld werden met een uniforme film (Teunou, Poncelet, 2002). Het Würster systeem wordt ingedeeld in vier zones: de “upbed” zone, de afremzone (in de expansiekamer), de “downbed” zone en de horizontale transport zone (Christensen, Bertelsen, 1997) (Fig. 3.3). Het substraat wordt tijdens het proces opgestuwd via de “upbed” zone tot in de expansiekamer. Daar verliest het substraat aan snelheid (de afremzone) en valt het via de wand van het toestel (de “downbed” zone) in de horizontale transportzone. Via de transportzone komen de pellets terug in de “upbed” zone. Op deze manier maakt het materiaal een soort fonteinbeweging. De sproeikop bevindt zich in de “upbed” zone. De vloeistof wordt gespreid in dezelfde richting als de opwervelende partikels en de afstand die een vloeistofdruppel moet afleggen om op een partikel te botsen is minimaal. Het grote nadeel van het Würstersysteem is dat het coatingproces vrij complex is en dat tijdens het coaten de sproeikop niet toegankelijk is, zodat het proces ook niet visueel kan gevolgd worden.

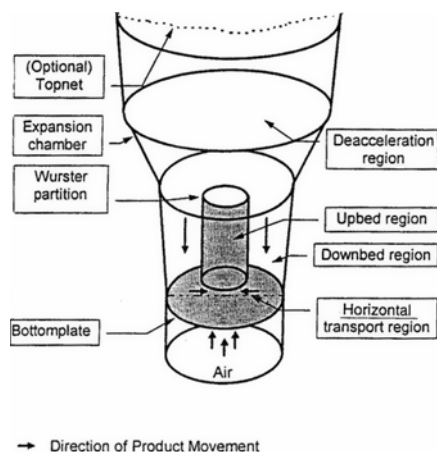


Fig. 3.3: Belangrijkste zones in het Würster systeem (Christensen, Bertelsen, 1997)

De optimalisatie van een Würster coatingproces bestaat uit optimalisatie van de circulatie van het product, aanpassing van het sproeidebiet en het verzekeren van een aangepaste druppelgrootte. De productcirculatie wordt bepaald door de gekozen bodemplaatconfiguratie en de luchtstroom (combinatie van inkomende lucht voor opwerveling en de perslucht van de sproeikop) doorheen het systeem. De eigenschappen van het substraat spelen ook een belangrijke rol in het optimalisatieproces. De dichtheid van de partikels, de deeltjesgrootte en hun neiging tot kleven bepalen de in te stellen procesparameters (Christensen, Bertelsen, 1997).

3.1.2 Het omhullingsmateriaal

De coatingvloeistof bestaat uit één of meerdere filmvormende polymeren en een aantal excipiëntia, die opgelost of gedispergeerd zijn in een solvent (Christensen, Bertelsen, 1997).

Omwille van de steeds hogere aankoop prijs en de milieu- en toxiciteitsproblematiek worden de systemen op basis van organische solventen (Wan, Lai, 1991; Rekhi et al., 1989) vervangen door waterige polymeeroplossingen of -dispersies (Maejima, McGinity, 2001). Het belangrijkste verschil tussen de systemen gebaseerd op organische solventen en de waterige latex/pseudolatex-systemen is het mechanisme van filmvorming (Wu et al., 2000). Bij de coatingvloeistoffen op basis van organische solventen gebeurt de filmvorming door vorming van polymeergelen na evaporatie van het solvent (Wu et al., 2000), terwijl bij de waterige dispersies filmvorming

plaatsvindt door coalescentie van de individuele colloïdale latexpartikels (Petereit, Weisbrod, 1999; Maejima, McGinity, 2001). Ten gevolge van de verdamping van water aanwezig tussen de latexpartikels neemt de oppervlaktespanning toe en leveren de resulterende capillaire aantrekkingskrachten de energie nodig voor het overwinnen van de partikel-partikel afstotingskrachten bij coalescentie en filmvorming (Wu et al., 2000; Maejima, McGinity, 2001; Lippold, Pagés, 2001).

Het belangrijkste bestanddeel van de coatingformulatie is uiteraard het filmvormend polymeer. Enterische polymeren bezitten ioniseerbare zure groepen, meestal vrije carboxylfuncties, die ervoor zorgen dat de oplosbaarheid van het polymeer pH-afhankelijk is. Een ideale enterische omhulling moet een pKa waarde hebben die aanleiding geeft tot het oplossen van de omhulling bij pH 5 tot 7. Bovendien mag het in oplossing gaan niet beïnvloed worden door veranderingen in ionensterkte van het dissolutiemedium. De omhulling moet gekenmerkt worden door een lage permeabiliteit en het moet mogelijk zijn weekmakers, pigmenten en andere additieven in de omhulling te verwerken zonder dat de maagsapresistente eigenschappen verloren gaan (Hogan, 1995). Voor de op water gebaseerde systemen worden pH-afhankelijke oplosbare polymeren aangewend voor enterische omhulling. Deze polymeren worden ofwel gesolubiliseerd via pH-aanpassing van de coatingvloeistof, ofwel gesuspenderd in waterig midden en aangebracht als onoplosbare polymeerpartikels (Seitz, 1988). De meest gebruikte polymeren voor enterische omhulling worden weergegeven in Tabel 3.1.

Filmcoatings verkregen met polymethacrylaten zijn stabiel dan deze met cellulosederivaten. De cellulose-ethers zijn immers gevoelig voor hydrolyse door zuren en basen, terwijl de polymethacrylaten bestaan uit een chemisch zeer stabiel, coherent koolstofskelet. Lippold en Lippold (1973) toonden aan dat in een vrije film van hydroxypropylmethylcelluloseftalaat (HPMCP) na 90 dagen bij kamertemperatuur 1,5 % hydrolyse optrad, terwijl Petereit en Weisbrod (1999) concludeerden dat de Eudragit® (polymethacrylaat) polymeren uiterst stabiel waren in waterig midden (na 4 jaar bij pH 3 slechts 0,3 % hydrolyse van ethylestergroepen van Eudragit® L 30 D-55, terwijl de methylestergroepen intact bleven over een periode van 10 jaar).

Tabel 3.1: Overzicht polymeren voor enterische omhulling

Polymeer	Type	Voorkomen	Oplosbaar vanaf pH
Methacrylzuur copolymeer type C	Eudragit® (Röhm)	L 30 D-55	waterige dispersie 30 %
		L 100-55	gesproeidroogd poeder van L 30 D-55
	Acryl-EZE® (Colorcon)		poeder
	Eastacryl®	30 D	waterige dispersie 30 %
Methacrylzuur copolymeer type A	Eudragit® (Röhm)	L 100	poeder
Methacrylzuur copolymeer type B	Eudragit® (Röhm)	S 100	poeder
	Eudragit® (Röhm)	FS 30 D	waterige dispersie 30 %
Cellulose acetoftalaat	Aquacoat® CPD (FMC)		waterige dispersie 30 %
Hydroxypropylmethylcelluloseacetosuccinaat	Aqoat® (Shin-Etsu)	LF	poeder (fine particle grade: 5 µm)
		MF	poeder (fine particle grade: 5 µm)
		HF	poeder (fine particle grade: 5 µm)
Polyvinylacetoftalaat	Sureteric® (Colorcon)		poeder

Als excipiëntia worden zowel onoplosbare (pigmenten, opaficeermiddelen) als oplosbare (zouten, suikers, weekmakers) vulstoffen in de polymeervloeistof geïncorporeerd (Radebaugh, 1992).

De coatingvloeistof moet een lage viscositeit en oppervlaktespanning hebben zodat de gevormde druppels voldoende klein zijn.

Films, die enkel uit polymeren bestaan, zijn broos en scheuren tijdens drogen. Om de polymeerfilm flexibeler te maken wordt een weekmaker of plasticizer geïncorporeerd in de coatingvloeistof. Een weekmaker is een substantie met een laag moleculair gewicht en een lage dampdruk, die de polymeer-polymeer interacties beïnvloedt met een daling van de glanstransitietemperatuur (T_g) van het polymeer en de minimum filmvormende temperatuur (MFT) van de corresponderende dispersie tot gevolg (Seitz, 1988; Thoma, Bechtold, 1999; Lippold, Pagés, 2001). Incorporatie van een weekmaker in de omhullingsvloeistof zorgt met andere woorden voor een verbetering van de coalescentie van de latexpartikels, voor een daling van de rigiditeit van de polymeerketens en een verhoging van de flexibiliteit van de film (Petereit, Weisbrod, 1999). Door toevoeging van weekmakers daalt de MFT van de Eudragit[®] polymeren tot 5 à 15 °C. Homogene films worden gevormd wanneer omhuld wordt bij een temperatuur, die ongeveer 20°C hoger ligt dan de MFT. Typische voorbeelden van weekmakers zijn polyolen, polyethers (bv. glycerol, PEG) en organische esters (bv. citroenzuur- of ftaalzuuresters). Triëthylcitraat (TEC) is een voorbeeld van een stabiele, hydrofiele weekmaker, die dikwijls gebruikt wordt in combinatie met de polymethacrylaatverbindingen (Thoma, Bechtold, 1999; Petereit, Weisbrod, 1999).

Om te verhinderen dat het omhulde materiaal aan elkaar kleeft, wordt een antiadhesiemiddel verwerkt in de coatingvloeistof. Glycerylmonostearaat is bruikbaar in concentraties van 2 tot 5 % en blijkt meer efficiënt te zijn dan talk (Maejima, McGinity, 2001).

3.2 Materialen en methoden

3.2.1 Omhulling van de pellets

3.2.1.1 Optimalisatie omhullingsproces

De pellets werden enterisch omhuld met een mengsel van twee Eudragit[®] acrylzuurpolymeren, aangewend in verschillende verhoudingen. Eudragit[®] L 30 D-55 of poly(methacrylzuur, ethylacrylaat) (1:1) is een anionogeen polymeer dat in oplossing gaat vanaf pH 5,5 en gekenmerkt wordt door een lage waterpermeabiliteit. Eudragit[®] FS 30 D of poly(methacrylzuur, methacrylaat, methylmethacrylaat) (1:9 zuur:ester ratio) is een recent ontwikkeld anionogeen polymeer dat zeer flexibel is (rek bij breuk voor een filmlaag van 150 µm dik bedraagt 90 %, terwijl dit voor Eudragit[®] L minder dan 10 % is) en kan gebruikt worden voor specifieke toepassingen zoals de compressie van enterisch omhulde deeltjes tot desintegrerende tabletten. Eudragit[®] FS 30 D bestaat uit een 30 % waterige dispersie en het polymeer gaat in oplossing vanaf een pH van 7,0. De samenstelling van de omhullingsvloeistof wordt weergegeven in Tabel 3.2 en werd opgegeven door de producent van de Eudragit[®] polymeren (Röhm Pharma Polymers, Darmstadt, Duitsland).

Tabel 3.2: Samenstelling van de coatingvloeistof

Bestanddeel		Hoeveelheid
Polymeer	Eudragit [®] L 30 D-55	0-100 %
	Eudragit [®] FS 30 D	100-0 %
Glijmiddel	Glycerylmonostearaat (GMS)	8 % (tov droog polymeer)
Weekmaker	Triëthylcitraat	20% (tov droog polymeer)
Andere	Tween [®] 80* (33 % g/v in water)	40 % (tov GMS)
Solvent	Water	tot 20% vast materiaal in dispersie

*polysorbaat 80

Om het coatingproces op punt te stellen werd uitgegaan van pellets met een deeltjesgrootte van 800-1250 µm en een coatingvloeistof op basis van Eudragit[®] L 30

D-55/FS 30 D in een verhouding van 60/40. Voor de bereiding van de coatingvloeistof werd eerst een waterige oplossing van Tween[®] 80 gemaakt. Vervolgens werden beide Eudragit[®] polymeerdispersies in een beker gemengd met een magneetroerder. Ondertussen werd de dispersie met de hulpstoffen afzonderlijk bereid waarbij water, triëthylcitraat en polysorbaat 80 met behulp van een rotor-stator mixer (Silverson, Bucks, UK) gedurende 10 minuten werden gehomogeniseerd. Aan dit mengsel werd uiteindelijk GMS toegevoegd en gedurende 10 minuten verder gehomogeniseerd met de rotor-stator. Uiteindelijk werd de dispersie met hulpstoffen aan het Eudragit[®] mengsel toegevoegd, waarna gedurende minstens 30 minuten werd gemengd met behulp van de magneetroerder vooraleer het omhullingsproces te starten. Dit mengen werd aangehouden tijdens het omhullingsproces om sedimentatie te vermijden.

De filmcoating werd in het eerste deel van het onderzoek uitgevoerd met behulp van de “top spray” techniek in een Uniglatt wervelbedsysteem (Glatt, Binzen, Duitsland). Dit systeem liet geen meting van de pelletbedtemperatuur toe, maar de temperatuur van de uitgaande lucht werd gebruikt als indicatie voor de bedtemperatuur. Later werd gewerkt in een GPCG-1 systeem (Glatt, Binzen, Duitsland) waarbij de temperatuur van zowel de in- en uitgaande lucht als van het pelletbed gemeten werd.

De pellets werden gedurende 5 minuten voorverwarmd bij een “outlet” temperatuur van 28°C. Nadat de coatingvloeistof volledig was aangebracht, werd gedurende 10 minuten gedroogd in het wervelbed en vervolgens werden de pellets gedurende 48 uur bij kamertemperatuur bewaard vooraleer ze werden onderworpen aan een dissolutietest.

3.2.1.2 Controle van de omhulling

De omhulde pellets werden getest door de vrijstelling van piroxicam in 0,1 N HCl na te gaan. Volgens de USP XXIV (2000) moeten enterisch omhulde preparaten aan de volgende eisen voldoen. Na twee uur mag in geen enkele bokaal meer dan 10 % van de totale hoeveelheid piroxicam vrijgesteld worden. Vervolgens werden deze omhulde preparaten getest in fosfaatbuffer pH 6.8 waarbij vooropgesteld werd (naar analogie met de monografie voor piroxicam harde gelatinecapsules) dat binnen de 45

minuten minstens 75 % van de totale hoeveelheid piroxicam vrijgesteld moet zijn (USP XXIV, 2000).

Om zeker te zijn dat een slechte kwaliteit van de aangebrachte omhulling werd gedetecteerd, werd eveneens de piroxicamvrijstelling in 0,1 N HCl uit niet-omhulde pellets gecontroleerd.

3.2.2 Stabiliteitsstudie

Omhulde (Eudragit® L 30 D-55/FS 30 D (60/40) 10 %) en niet-omhulde pellets werden gedurende 6 maanden bewaard onder geconditioneerde omstandigheden bij 25°C en 60 % relatieve luchtvochtigheid (RV) en bij 40°C en 75 % RV.

Via dissolutie werd getest of het vrijstellingsprofiel van de niet-omhulde en de omhulde pelletformulatie onveranderd bleef in functie van de tijd en bewaaromstandigheden. De omhulde pellets werden getest door de vrijstelling van piroxicam na te gaan in 0.1 N HCl, waarbij niet meer dan 10 % van de totale hoeveelheid mocht worden vrijgesteld na 2 uur (USP XXIV, 2000). De omhulde en de niet-omhulde pellets werden eveneens getest in fosfaatbuffer (FB) pH 6.8, waarbij na 45 min minstens 75 % van de totale hoeveelheid geneesmiddel moet vrijgesteld zijn. Het vochtgehalte in de pellets werd bepaald via Karl-Fischer titratie.

3.3 Resultaten en discussie

3.3.1 Omhulling van de pellets

3.3.1.1 *Optimalisatie omhullingsproces via "top-spray" coating*

In Tabel 3.3 worden de procesparameters weergegeven voor de experimenten met de "top spray" techniek in het Uniglatt wervelbedsysteem.

De functionaliteit en de stabiliteit van de film worden bepaald door de procesparameters ingesteld tijdens het omhullen. De belangrijkste parameter om een homogene film te verkrijgen is de produktbedtemperatuur. Deze moet ongeveer 20 °C hoger liggen dan de minimum filmvormende temperatuur (MFT) en wordt bepaald

door de sproeisnelheid en de temperatuur van de inkomende lucht (Petereit, Weisbrod, 1999). Om de procestemperatuur zo laag mogelijk te houden, moet de MFT zo laag mogelijk zijn. Wanneer de temperatuur tijdens het omhullen in de buurt van de MFT komt, gaat de filmvorming onvolledig door. Wanneer bij hogere temperaturen wordt gewerkt, verdampt het water te snel zodat de polymeerketens geen tijd hebben om gedeeltelijk te coalesceren. Meer zelfs, er kunnen gespreidroogde deeltjes geïncorporeerd worden in de film, waardoor de kwaliteit negatief beïnvloed wordt (Petereit, Weisbrod, 1999). Voor de aangewende Eudragit[®] types wordt een produkttemperatuur tussen 25 en 30 °C aanbevolen (Lehman, 2000). In experiment A (Tabel 3.3) trad agglomeratie op van de pellets met vorming van pelletclusters en kleaving aan de wand (Fig. 3.4).

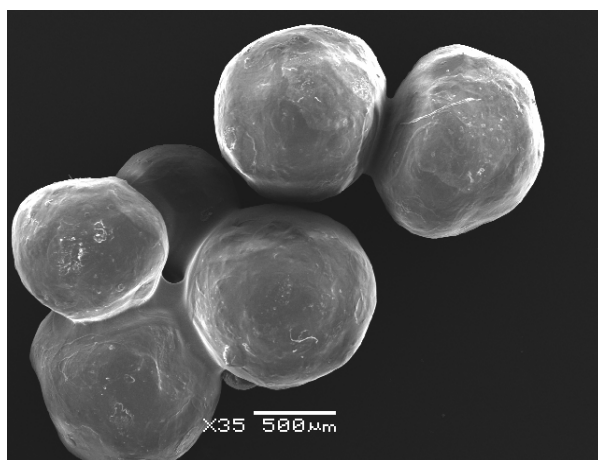


Fig. 3.4: SEM foto van een cluster van pellets omhuld met Eudragit[®] L 30 D-55/FS 30 D (60/40)

Wanneer de gespreide coatingvloeistof onvoldoende snel droogt op het substraattoepervlak, treedt overbevochtiging van het materiaal op, waardoor de pellets aan elkaar en aan de wand van het toestel kleven. Dit fenomeen wordt “sticking” genoemd. Door de verdere opwarreling kunnen deze pellets losgescheurd worden van elkaar of van de wand, waardoor een deel van de aangebrachte film verloren gaat en onregelmatigheden in het oppervlak worden gevormd (Aulton, Twitchell, 1995; Seitz, 1988). Dit fenomeen wordt “picking” genoemd. “Sticking” en “picking” doen zich voor wanneer de sproeisnelheid te hoog is in vergelijking met de droogcapaciteit van het proces.

Tabel 3.3: Parameters voor de omhulling via “top spray” coating

Coatingparameters	A	B	C	D	E	F	G	H
<u>Produkt:</u>								
Belading (g)	200	200	200	200	200	500	750	1000
<u>Sproeikop:</u>								
Diameter (mm)	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
<u>Leiding:</u>								
Interne diameter	4	4	4	4	4	4	4	4
Sproeisnelheid (g/min)	5	2,8	2,8	3,5	3,5	3,5	5,5	5,5
Atomisatie druk (bar)	2	2	1	1	1	1	1	1
Luchtsnelheid (m/s)	30	35	30	30	30	30	30	30
<u>Temperatuur:</u>								
Inkomende lucht (°C)	35	40	40	40	35	35	35	35
Uitgaande lucht (°C)	25	30	30	30	25	25	25	25

Door het verlagen van de sproeisnelheid en het verhogen van de temperatuur en het debiet van de inkomende lucht (B) werd “sticking” vermeden, maar werd na ongeveer 15 min sproeidroging waargenomen (Tabel 3.3). Sproeidroging is het gevolg van een te snelle verdamping van het water, waardoor de druppels drogen voor ze het oppervlak van de pellets bereikt hebben. Het gesproeidroogde materiaal verhinderde adequate luchtcirculatie in het wervelbedsysteem en het bleef tevens kleven aan de bevochtigde pellets, waardoor een ruw pelletoppervlak ontstond. Door de atomisatie druk en het debiet van de inkomende lucht te verlagen (C) werd getracht grotere vloeistofdruppels te vormen, maar dit stelde het sproeidrogen enkel uit (Tabel 3.3). Verhogen van de sproeisnelheid (D) of verlagen van de temperatuur (E) kon evenmin sproeidroging verhinderen (Tabel 3.3). Verhoging van de pelletbelading (500-750-1000 g) (F, G, H) zorgde uiteindelijk voor het verdwijnen van het sproeidroogeffect door een verhoogde kans op interactie tussen de pellets en de vloeistof, maar in de loop van het proces verstopte de sproeikop. Dit fenomeen treedt voornamelijk op wanneer het sproeien in de tegenovergestelde richting van het opwerpen van het materiaal gebeurt.

Uiteindelijk werd besloten om over te stappen op een “bottom-spray” coating techniek, waarbij het sproeien en de beweging van de pellets in dezelfde richting plaatsvinden zodat de kans op botsing van de vloeistofdruppels met de pellets toenam.

3.3.1.2 Optimalisatie omhullingsproces via “bottom-spray” coating met behulp van de Würster techniek

Het “bottom-spray” coatingproces werd uitgevoerd in een GPCG 1 wervelbed (Glatt, Binzen, Duitsland).

Op basis van de parameters die voor het “top-spray” coatingproces werden geoptimaliseerd, werden de optimale instellingen voor het Würster coatingproces bepaald.

De parameters nodig voor een coatingproces zonder sproeidroging van het materiaal en zonder afzetting van een polymeerfilm op de wanden van het toestel worden weergegeven in Tabel 3.4. Er werd een sproeikop gebruikt met een kleinere diameter en de atomisatie druk werd simultaan aangepast met de sproeisnelheid.

Tabel 3.4: Parameters voor het Würster omhullingsproces.

Belading	750-1000 g pellets (diameter 800-1250 µm)
Tubing diameter	4 mm
Sproeikop diameter	0,8 mm
Afstand interne cilinder-bodemplaat	1,5 cm
Atomisatie druk/Sproeisnelheid	1,2 bar/3,5 g/min -1,75 bar/5,0 g/min
Temperatuur inkomende lucht	31 °C
uitgaande lucht	27 °C
pelletbed	28 °C
Droging	10 min bij 28°C (pelletbed)
Curing	24 u bij kamertemperatuur

In Fig. 3.5 wordt een SEM afbeelding getoond van pellets omhuld met Eudragit® L 30 D-55/FS 30 D (60/40) via het geoptimaliseerde Würster proces.

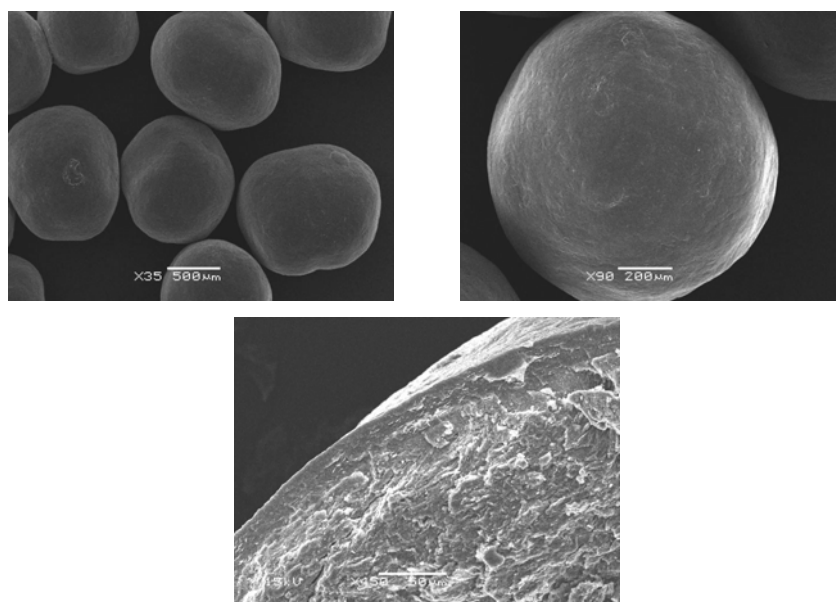


Fig. 3.5: SEM afbeelding (oppervlak en dwarsdoorsnede) van pellets omhuld met Eudragit® L 30 D-55/FS 30 D (60/40) via het geoptimaliseerde Würster proces.

3.3.1.3 Invloed van de samenstelling en de dikte van de omhulling

Piroxicampelletts (800-1250 µm) werden omhuld met mengsels van Eudragit® L 30 D-55 en FS 30 D in verschillende verhoudingen (Tabel 3.5). Hierbij werd nagegaan of de samenstelling van de coatingvloeistof een invloed had op de piroxicamvrijstelling in 0,1 N HCl en in FB pH 6,8. Bovendien werd onderzocht of de hoeveelheid aangebracht polymeer een invloed had op de dissolutieprofielen.

Naarmate de hoeveelheid Eudragit® FS 30 D toenam, werd de hoeveelheid weekmaker gereduceerd aangezien de omhulling kleefde (“stickiness”) bij hogere concentraties (Tabel 3.5).

Tabel 3.5: Samenstelling van de coatingvloeistoffen met verschillende verhoudingen aan Eudragit® L 30 D 55 en FS 30 D (15% gewichtstoename na coating)

Samenstelling	Verhouding Eudragit® L 30 D-55/FS 30 D				
	100/0	70/30	60/40	40/60	0/100
Eudragit® L 30 D-55	375 g	262,5 g	225 g	150 g	---
Eudragit® FS 30 D	---	112,5 g	150 g	225 g	375 g
GMS	9 g	9 g	9 g	9 g	9 g
Triëthylcitraat	22,5 g	22,5 g	22,5 g	16,9 g	5,6 g
Tween 80 (33 % oplossing)	10,9 g	10,9 g	10,9 g	10,9 g	10,9 g
Water	190,1 g	190,1 g	190,1 g	195,7 g	207,0 g
Tot. (20 % vast materiaal)	607,5 g	607,5 g	607,5 g	607,5 g	607,5 g

Uit Fig. 3.6 werd geconcludeerd dat de aanwezigheid van Eudragit® FS 30 D in de coatingformulatie zorgde voor een vertraging van de piroxicamvrijstelling in fosfaatbuffer pH 6,8 gedurende de eerste 30 min van de dissolutietest. De omhulling bestaande uit 100 % Eudragit® FS 30 D ging onvoldoende snel in oplossing bij pH 6,8. In het verdere onderzoek werd deze omhulling niet meer gebruikt.

Daarnaast werd ook onderzocht of de hoeveelheid polymeer een invloed had op de piroxicamvrijstelling (Figs. 3.7-3.10). Hiervoor werden de pellets omhuld tot een gewichtstoename van 5, 10 en 15 % werd verkregen.

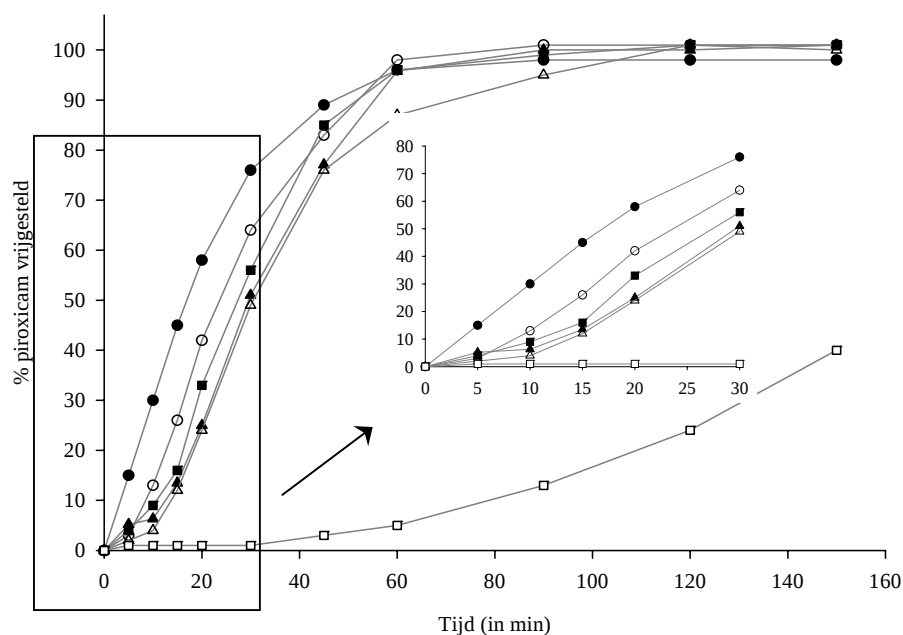


Fig. 3.6: Invloed van de samenstelling van de omhulling op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam uit omhulde pellets (15 % polymeer) in fosfaatbuffer pH 6,8. ● niet-omhulde Avicel® PH 101/CL611 1/3 pellets; Eudragit® L 30 D-55/FS 30 D verhouding ○ 100/0, ▲ 70/30, △ 60/40, ■ 40/60, □ 0/100.

Uit Fig. 3.7 werd besloten dat het aanbrengen van een omhulling op basis van 100 % Eudragit® L 30 D-55 de piroxicamvrijstelling vertraagde gedurende de eerste 30 min. Na 45 min was de vrijstelling voor de verschillende coatingniveau's echter gelijkaardig en voldeden de formulaties aan de eis van de USP (minstens 75 % vrijstelling na 45 min). In Fig. 3.8 had de hoeveelheid coating een meer uitgesproken invloed op de vrijstelling. Naarmate de dikte van de polymeerlaag toenam, daalde de snelheid waarmee piroxicam werd vrijgesteld. Na 45 min was echter uit alle formulaties minstens 75 % van het geneesmiddel vrijgesteld. Dezelfde conclusies gelden voor de pellets omhuld met Eudragit® L 30 D-55/FS 30 D in een verhouding 60/40 en 40/60 (Fig. 3.9 en 3.10).

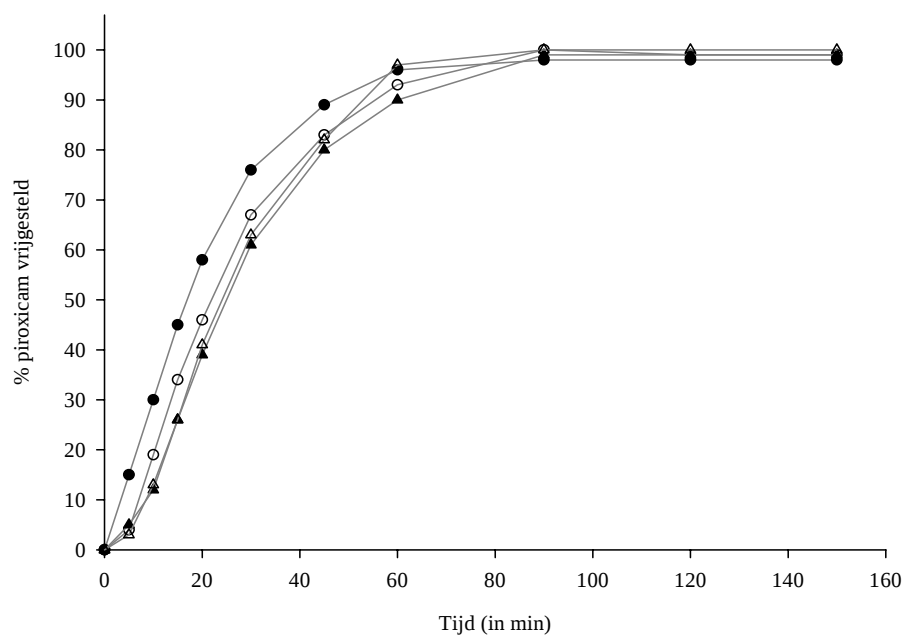


Fig. 3.7: Invloed van de hoeveelheid Eudragit® L 30 D-55 (100 %) op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam uit omhulde pellets in fosfaatbuffer pH 6,8. ● niet-omhulde Avicel® PH 101/CL 611 1/3 pellets; gewichtstoename ○ 5 % , ▲ 10 %, △ 15 %

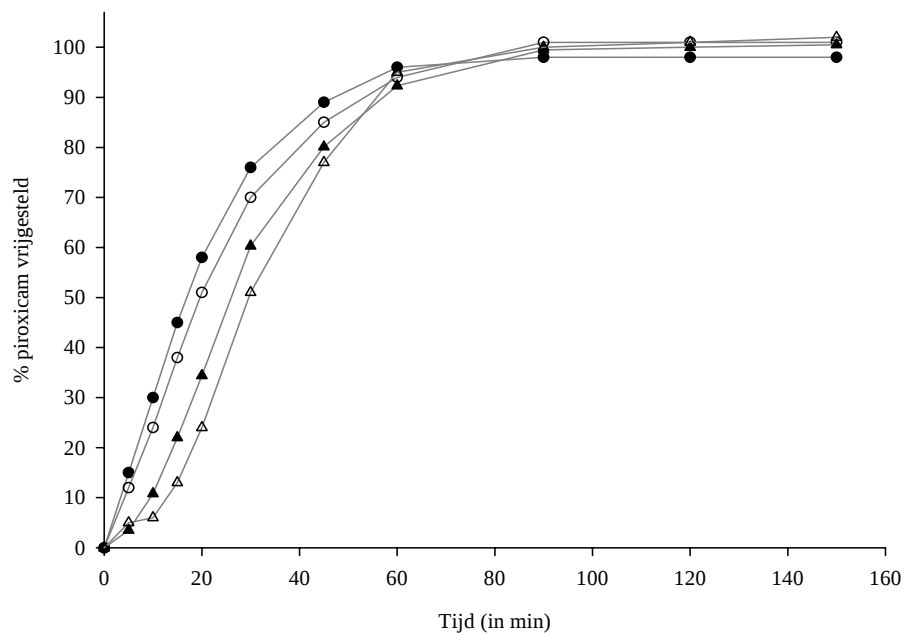


Fig. 3.8: Invloed van de hoeveelheid Eudragit® L 30 D-55/FS 30 D (70/30) op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam uit omhulde pellets in fosfaatbuffer pH 6,8. ● niet-omhulde Avicel® PH 101/CL 611 1/3 pellets; gewichtstoename ○ 5 % , ▲ 10 %, △ 15 %.

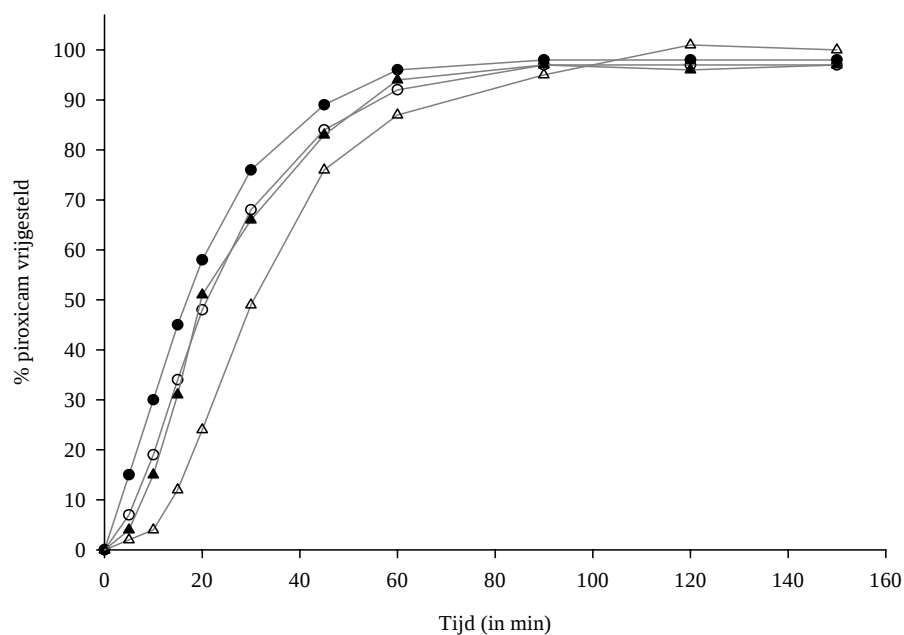


Fig. 3.9: Invloed van de hoeveelheid Eudragit® L 30 D-55/FS 30 D (60/40) op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam uit omhulde pellets in fosfaatbuffer pH 6,8. ● niet-omhulde Avicel® PH 101/CL 611 1/3 pellets; gewichtstoename ○ 5 % , ▲ 10 % , △ 15 %.

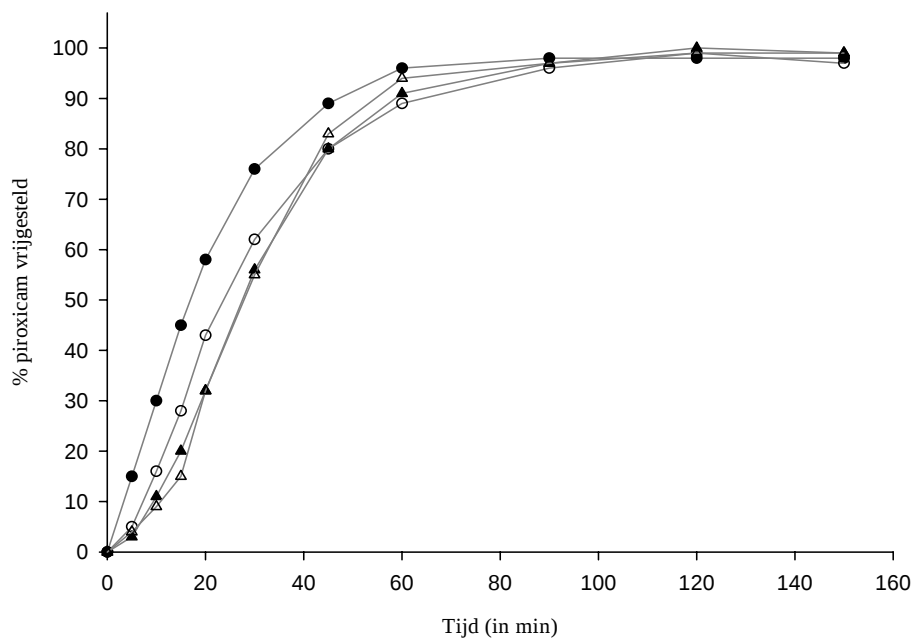


Fig. 3.10: Invloed van de hoeveelheid Eudragit® L 30 D-55/FS 30 D (40/60) op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam uit omhulde pellets in fosfaatbuffer pH 6,8. ● niet-omhulde Avicel® PH 101/CL 611 1/3 pellets; ○ 5 % twg., ▲ 10 % twg., △ 15 % twg.

Uiteraard werd ook gecontroleerd of deze verschillende filmdiktes en samenstellingen maagsapresistentie garandeerden, met andere woorden of er na 2 uur in 0,1 N HCl niet meer dan 10 % piroxicam werd vrijgesteld. Uit de dissolutietesten bleek dat na 2 uur zelfs bij een polymeerbelading van slechts 5 % geen of een geringe piroxicamvrijstelling werd gedetecteerd. In Fig. 3.11 wordt een voorbeeld gegeven van een vrijstellingsprofiel in 0,1 N HCl van niet-omhulde en pellets omhuld met 5 en 10 % Eudragit® L 30 D-55/FS 30 D (60/40).

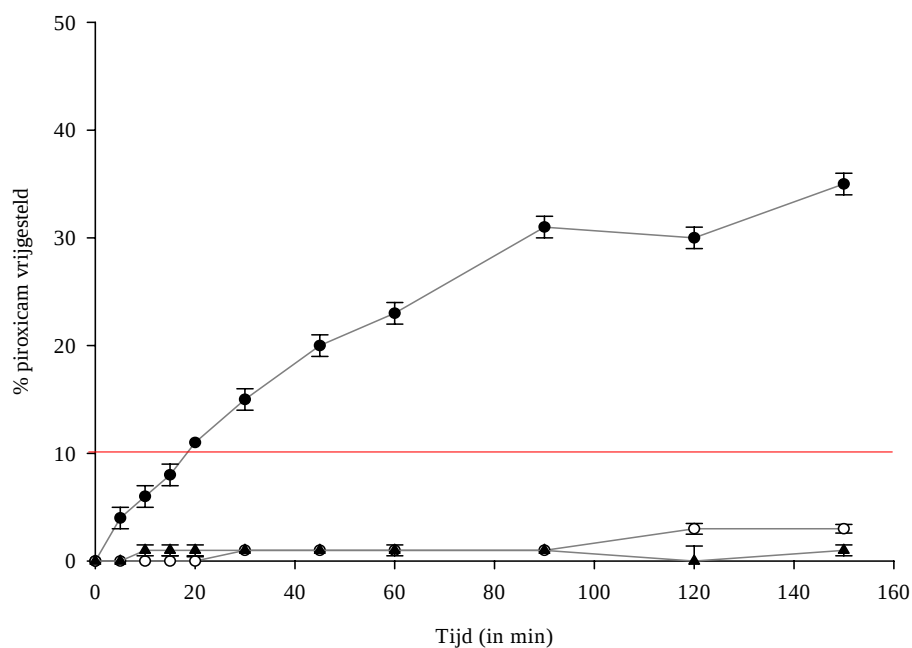


Fig. 3.11: Invloed van de hoeveelheid Eudragit® L 30 D-55/FS 30 D 60/40 op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam uit omhulde pellets in 0,1 N HCl. ● niet omhuld; ○ 5 % twg, ▲ 10 % twg

Er werd geconcludeerd dat een omhulling, die uitsluitend bestond uit Eudragit® FS 30 D geen snelle vrijstelling in fosfaatbuffer verzekerde. Omhullen van pellets met mengsels van Eudragit® FS 30 D en L 30 D-55 of deze laatste als dusdanig gaven aanleiding tot maagsapresistentie en een vrijstelling van minstens 75 % piroxicam na 45 min in fosfaatbuffer pH 6,8 en dit onafhankelijk van de hoeveelheid polymeer.

3.3.1.4 Invloed van de pelletgrootte

Pellets met een deeltjesgrootte van 315-500 μm en 800-1250 μm werden omhuld met 10 % Eudragit[®] L 30 D-55/FS 30 D (60/40) en onderworpen aan dissolutietesten in 0,1 N HCl.

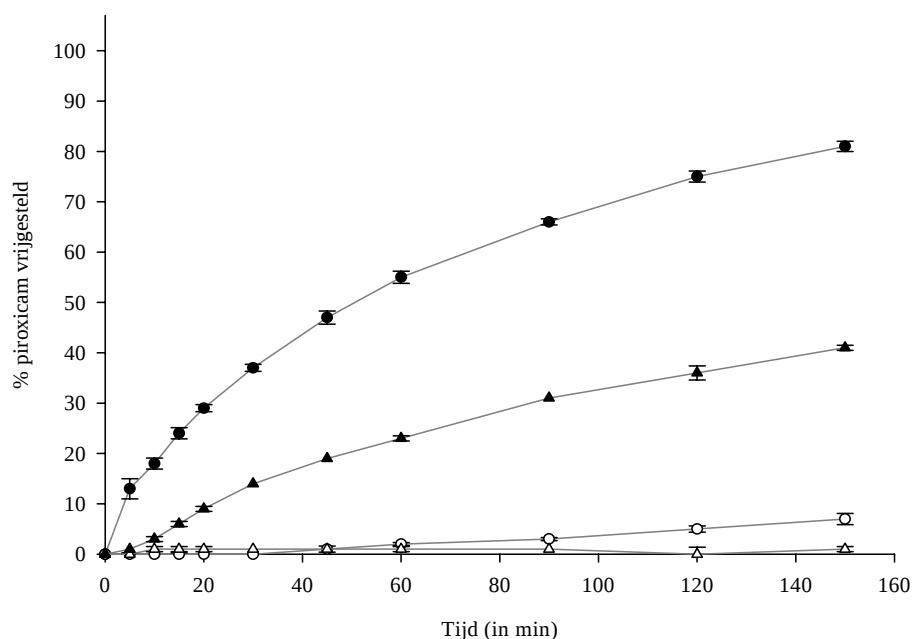


Fig. 3.12: Invloed van de pelletgrootte op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam uit pellets in 0,1 N HCl. ● niet-omhuld 315-500 μm , ○ omhuld 315-500 μm , ▲ niet-omhuld 800-1250 μm , △ omhuld 800-1250 μm

Zoals reeds eerder werd aangetoond (*Hoofdstuk 2*), zorgde een kleinere pelletgrootte voor een snellere piroxicamvrijstelling. Ook in 0,1 N HCl steeg de piroxicamvrijstelling uit de niet-omhulde pellets na 45 min van 20 % voor de fractie 800-1250 μm (▲) tot 47 % voor de 315-500 μm fractie (●) (Fig 3.12). Dit wil zeggen dat eventuele beschadiging of slechte kwaliteit van de omhullingslaag detecteerbaar was in 0,1 N HCl. De piroxicamvrijstelling in 0,1 N HCl verliep trager dan in fosfaatbuffer pH 6.8. Dit was enerzijds te wijten aan de lagere oplosbaarheid van piroxicam in zuur milieu (43,8 $\mu\text{g/ml}$ in tegenstelling tot 112 $\mu\text{g/ml}$ in FB pH 6,8). De pKa waarde van de zwak zure enolische hydroxylgroep bedraagt immers 5,1 waardoor de enolische hydroxylgroep bij de zure pH van de dissolutietest

voornamelijk in de niet-geïoniseerde vorm voorkwam. Bovendien werd Avicel® CL 611 als excipiënt gebruikt in de pellets. Avicel® CL 611 bestaat uit een combinatie van microkristallijne cellulose en natriumcarboxymethylcellulose (NaCMC) waarbij het NaCMC door zwellen en bevochtiging de piroxicamvrijstelling versnelt. In zuur milieu verliest NaCMC echter zijn zwelcapaciteit (Augsburger et al., 2002).

Op de twee pelletfracties werd dezelfde hoeveelheid polymeer aangebracht (eenzelfde % gewichtstoename), maar gezien het verschil in oppervlak was de uiteindelijke dikte van de aangebrachte laag verschillend. Zhang et al. (1991) beschreven het verband tussen het percent gewichtstoename en de dikte van de omhulling voor sfeertjes aan de hand van de volgende formule:

$$L = \frac{r \cdot \rho_b \cdot C}{3 \cdot \rho_c}$$

met L de dikte van de omhullingslaag (mm), r de straal van het sfeertje (mm), ρ_b de dichtheid van het sfeertje (g/ml), C het omhullingsniveau (gewicht van de omhulling/gewicht van de pelletkern) en met ρ_c de omhullingsdichtheid (g/ml). Deze vergelijking toont aan dat voor eenzelfde gewichtstoename de coatingdikte afneemt naarmate de sfeertjes kleiner zijn. Immers, hoe kleiner de sfeertjes, hoe groter het aantal sfeertjes en hoe groter het te omhullen oppervlak voor eenzelfde massa sfeertjes (Zhang et al., 1991).

Dit verklaarde waarom er na 2 u geen vrijstelling in 0,1 N HCl werd gedetecteerd voor de 800-1250 μ m fractie, maar voor de 315-500 μ m fractie een vrijstelling van 5 % na 2 uur werd gemeten (Fig. 3.12). Het aanbrengen van minder dan 10 % polymeer zal in het geval van de kleinere pelletfractie geen maagsapresistentie geven.

Deze resultaten werden bevestigd tijdens de dissolutietesten in FB pH 6,8, waaruit bleek dat de piroxicamvrijstelling uit de kleinere pellets minder vertraagd werd door de aangebrachte omhulling (Fig. 3.13).

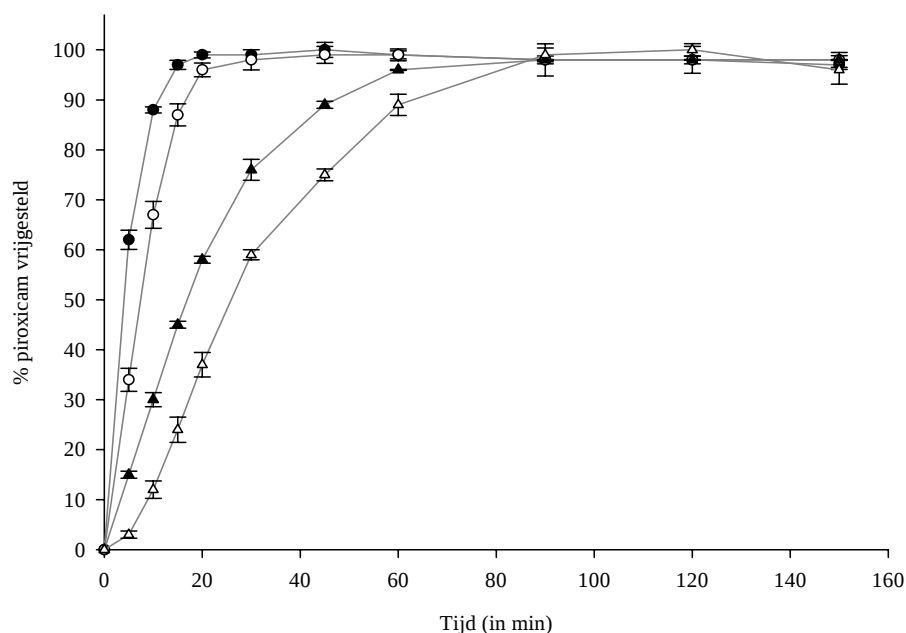


Fig. 3.13: Invloed van de pelletgrootte op de *in vitro* vrijstelling van piroxicam uit pellets in FB pH 6,8. ● niet-omhuld 315-500 µm, ○ omhuld 315-500 µm, ▲ niet-omhuld 800-1250 µm, △ omhuld 800-1250 µm

3.3.2 Stabiliteitsstudie

De pellets werden na 3 en 6 maanden bewaring in petri-platen onderworpen aan dissolutietesten in fosfaatbuffer pH 6,8 en 0,1 N HCl. Bewaring van de omhulde pellets bij 40 °C en 75 % relatieve luchtvochtigheid gaf reeds na 1 maand aanleiding tot volledige agglomeratie van de pellets waarbij deze niet konden verwijderd worden uit de petri-plaat zonder de omhulling te beschadigen. Deze fusie van de pellets was irreversibel en werd enerzijds veroorzaakt door de verhoogde temperatuur en anderzijds door de hoge relatieve luchtvochtigheid. Wesseling et al. (1999) rapporteerden gelijkaardige waarnemingen voor pellets omhuld met Eudragit® RS 30 D, die een curingfase ondergingen bij verhoogde temperatuur. Irreversibele kleving trad op na 8 u bij 50 °C en na 1 uur bij 60°C. Petereit en Weisbrod (1999) trekken het nut van het uitvoeren van stresstesten bij 40°C en 75 % RV voor geneesmiddelen omhuld met methacrylaatcopolymeren dan ook in twijfel. Zij veronderstellen dat de resultaten verkregen bij verhoogde temperatuur en relatieve luchtvochtigheid geen

indicatie zijn voor het gedrag van het omhulde materiaal onder normale omstandigheden. Immers, wanneer de glastransitietemperatuur (T_g) van het polymeer wordt overschreden, zal de mobiliteit van de polymeerketens significant veranderen, waardoor de structuur van de omhulling wijzigt en kleving optreedt. Daarnaast toonden Bodmeier en Paeratakul (1994) aan dat opname van water uit de atmosfeer tijdens bewaring een invloed had op de mechanische eigenschappen van films verkregen uit waterige dispersies van cellulose- en acrylzuurpolymeren. Volgens Aulton en Abdul-Razzak (1981) leidde de blootstelling aan een hoge relatieve luchtvochtigheid van films zonder weekmaker tot een significante verandering van de mechanische eigenschappen, vergelijkbaar met een weekmakend effect. Uit een studie van Wu en McGinity (2000) werd eveneens besloten dat pellets omhuld met een acrylzuurpolymeer en methylparabeen als weekmaker, bij een lage relatieve luchtvochtigheid dienden bewaard te worden om veranderingen in de mechanische eigenschappen en de vrijstelling van geneesmiddel te vermijden.

In Tabel 3.6 wordt opname van water tijdens het bewaringsproces aangetoond en in combinatie met de verhoogde temperatuur gaf dit aanleiding tot het agglomereren van de individuele pellets. In het verdere verloop van de stabiliteitsstudie werden dan ook geen gegevens meer verzameld van de omhulde pellets bij 40°C en 75 % RV.

Tabel 3.6: Watergehalte van de pellets tijdens bewaring onder geconditioneerde omstandigheden

Tijd (maand)	Watergehalte (%)		
	A	B	C
0	$2,1 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,1$	$2,1 \pm 0,2$
1	$3,5 \pm 0,1$	$3,9 \pm 0,1$	$4,8 \pm 0,1$
3	$4,0 \pm 0,2$	$4,1 \pm 0,2$	
6	$4,0 \pm 0,3$	$4,3 \pm 0,2$	

A: niet-omhulde pellets bij 25°C/60% RV, B: omhulde pellets bij 25°C/60% RV, C: niet-omhulde pellets bij 40°C/75% RV

In Fig. 3.14 worden de vrijstellingsprofielen weergegeven van de niet-omhulde pellets, die bewaard werden bij 25°C en 60 % RV. Tabel 3.6 toont dat het

watergehalte in de niet-omhulde pellets in functie van de bewaartijd steeg van 2,1 % naar ongeveer 4 % na 3 en 6 maanden. De vrijstellingsprofielen werden gecorrigeerd voor deze toename van het watergehalte in de pellets. Op basis van deze resultaten blijkt duidelijk dat er na 6 maanden bewaring bij 25°C en 60 % RV geen significante veranderingen optraden in de piroxicamvrijstelling uit de niet-omhulde pellets en dat de volledige hoeveelheid geneesmiddel werd vrijgesteld.

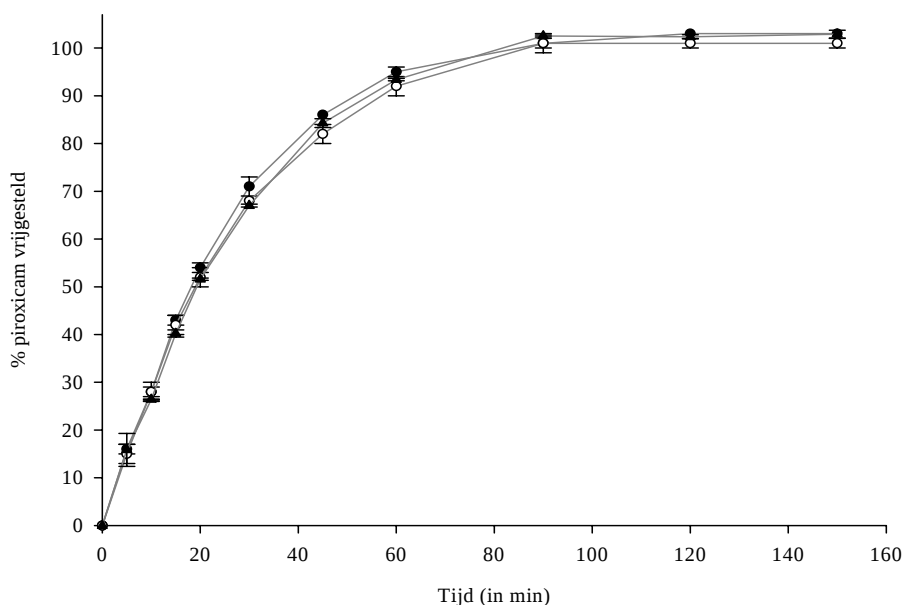


Fig. 3.14: *In vitro* vrijstelling van piroxicam uit niet-omhulde pellets bewaard bij 25°C / 60 % RV in FB pH 6,8 ● tijdstip 0, ○ 3 maanden, ▲ 6 maanden.

Bovendien bleef ook de vrijstelling uit de niet-omhulde pellets in 0,1 N HCl ongewijzigd na 6 maanden (Fig. 3.15). Voor de omhulde pellets bleven de gastroresistente eigenschappen behouden na bewaring bij 25 °C en 60 % RV. In 0,1 N HCl werd in geen enkele dissolutiebokaal vrijstelling van piroxicam gedetecteerd. De vrijstelling in fosfaatbuffer pH 6.8 uit omhulde pellets veranderde niet na 6 maand bewaring bij 25 °C en 60 % RV. Bovendien bleef na 6 maanden bewaring van niet-omhulde pellets bij verhoogde temperatuur en RV (40 °C en 75 % RV) de piroxicamvrijstelling in FB pH 6,8 ongewijzigd (Fig. 3.16).

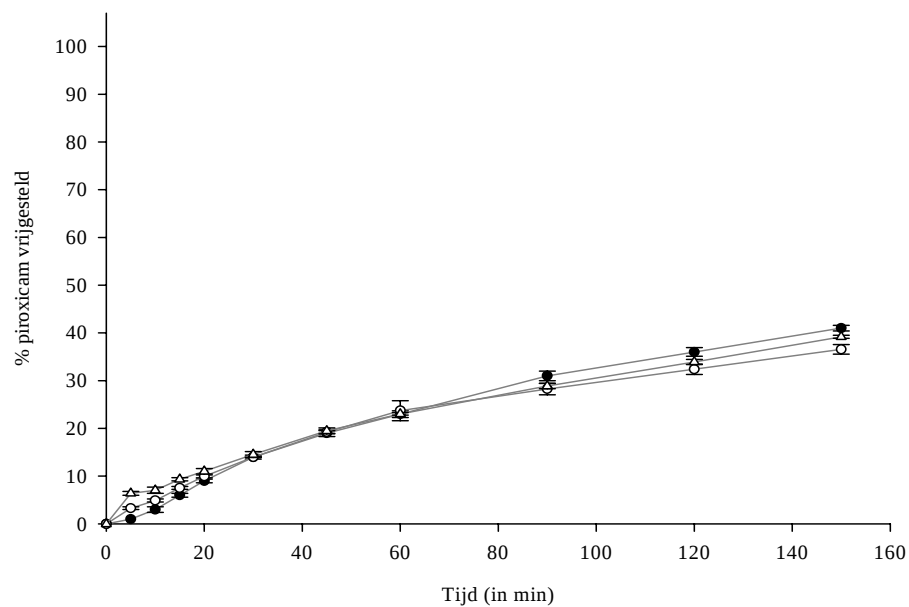


Fig. 3.15: *In vitro* vrijstelling van piroxicam uit niet-omhulde pellets bewaard bij 25°C / 60 % RV in 0,1 N HCl. ● tijdstip 0, ○ 3 maanden, △ 6 maanden

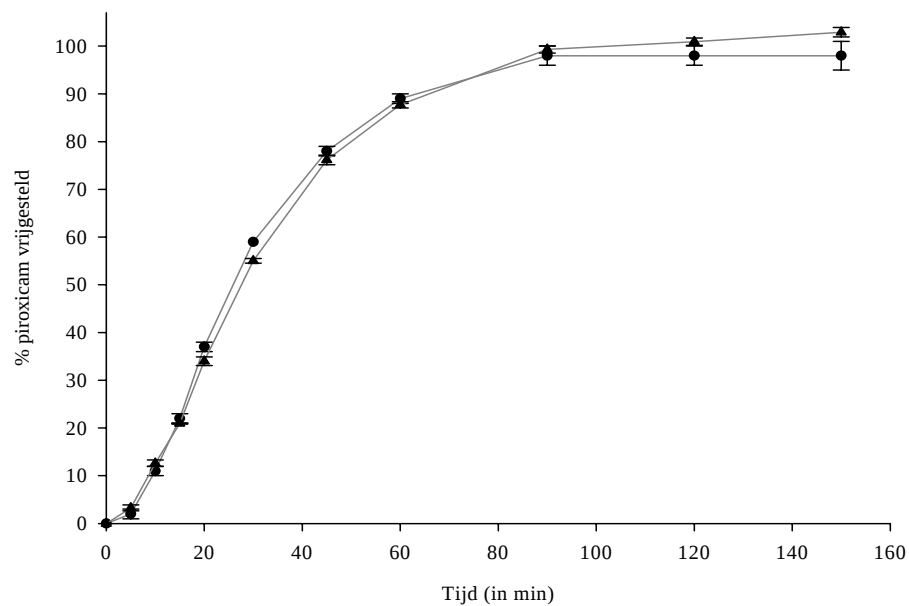


Fig. 3.16: *In vitro* vrijstelling van piroxicam uit niet-omhulde pellets bewaard bij 40°C / 75 % RV in FB pH 6,8. ● tijdstip 0, ▲ 6 maanden

3.4 Besluit

Deze studie toonde aan dat combinaties van Eudragit® L 30 D-55 en FS 30 D in verschillende verhoudingen aanleiding gaven tot maagsapresistente omhullingen. Bovendien verzekerden deze omhullingen een geneesmiddelvrijstelling van minstens 75 % in fosfaatbuffer pH 6,8 na 45 min, ongeacht de dikte van de polymeerlaag. Bij bewaring van niet-omhulde en omhulde piroxicampellets (Eudragit® L 30 D-55 /FS 30 D 60/40) bij 25 °C en 60 % RV gedurende een periode van 6 maand trad er geen verandering op in de vrijstelling van piroxicam. Onder stressomstandigheden (40 °C en 75 % RV) bleef de vrijstelling van piroxicam uit de niet-omhulde pellets ongewijzigd, terwijl de verhoogde temperatuur en RV zorgden voor het aaneenkleven van de omhulde pellets omwille van de weekmakende eigenschappen van water.

3.5 Referenties

Augsburger L.L., Brzezko A.W., Shah U.S., Hahm H.A., 2002. Superdisintegrants: Characterization and function. In: Swarbrick, J.; Boylan, J.C. (Eds), Encyclopedia of Pharmaceutical Technology second edition, Marcel Dekker Inc., New York, volume 3, pp. 2623-2638.

Aulton M.E., Abdul-Razzak M.H., 1981. The mechanical properties of hydroxypropylmethylcellulose films derived from aqueous systems. Part I: The influence of plasticizers. Drug Dev. Ind. Pharm. 7, 649-668.

Aulton M.E., Twitchell A.M., 1995. Solution properties and atomisation in film coating. In: Cole, G (Ed.), Pharmaceutical Coating Technology. Taylor & Francis, Londen, pp 65.

Bodmeier R., Paeratakul O., 1994. Mechanical properties of dry and wet cellulosic and acrylic films prepared from aqueous colloidal polymer dispersions used in coating of solid dosage forms. Pharm. Res. 11, 882-888.

Christensen F.N., Bertelsen P., 1997. Qualitative description of the Wurster-based fluid-bed coating process. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 23, 451-463.

Hogan J.E., 1995. Modified release coatings. In: Cole, G (Ed.), *Pharmaceutical coating technology*. Taylor & Francis, London, pp 427-437.

Jones D., 1994. Air suspension coating for multiparticulates. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 20, 3175-3206.

Lehmann K., 2000. Practical course in filmcoating of pharmaceutical dosage forms with Eudragit®. pp 170.

Lippold B.C., Lippold B.H., 1973. Physicochemical properties of poly(methacrylic acid) derivatives. II. Hydrolytic reactions, ion exchange and dissociation properties. *Pharm. Ind.* 35, 854.

Lippold B.C., Pagés R.M., 2001. Film formation, reproducibility of production and curing with respect to release stability of functional coatings from aqueous polymer dispersions. *Pharmazie* 56, 5-17.

Maejima T., McGinity J.W., 2001. Influence of film additives on stabilizing drug release rates from pellets coated with acrylic polymers. *Pharm. Dev. Tech.* 6, 211-221.

Petereit H-U., Weisbrod W., 1999. Formulation and process considerations affecting the stability of solid dosage forms formulated with methacrylate copolymers. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 47, 15-25.

Radebaugh G.W., 1992. Film coatings and film-forming materials: evaluation. In: Swarbrick, J. and Boylan, J.C. (Eds.), *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* volume 6. Marcel Dekker, New York, pp 1-28.

Rekhi G.S., Mendes R.W., Porter S.C., Jambhekar S.S., 1989. Aqueous polymeric dispersions for controlled drug delivery-Wurster process. *Pharm. Tech.* 13, 112-125.

Seitz J.A., 1988. Aqueous film coating. In: Swarbrick, J. and Boylan, J.C. (Eds.), *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* volume 1. Marcel Dekker, New York, pp 337-349.

Teunou E., Poncelet D., 2002. Batch and continuous fluid bed coating - review and state of the art. *J. Food Eng.* 53, 325-340.

Thoma K., Bechtold K., 1999. Influence of aqueous coatings on the stability of enteric coated pellets and tablets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 47, 39-50.

Wan L.S.C., Lai W.F., 1991. Factors affecting drug release from drug-coated granules prepared by fluidised-bed coating. *Int. J. Pharm.* 72, 163-174.

Wesseling M., Kuppler F., Bodmeier R., 1999. Tackiness of acrylic and cellulosic polymer films used in the coating of solid dosage forms. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 47, 73-78.

Wu C., McGinity J.W., 2000. Influence of relative humidity on the mechanical and drug release properties of theophylline pellets coated with an acrylic polymer containing methylparaben as a non-traditional plasticizer. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 50, 277-284.

Wu T., Weisan P., Chen J., Zhang R., 2000. Studies of the drug permeability and mechanical properties of free films prepared by cellulose acetate pseudolatex coating system. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 26, 95-102.

Zhang G., Schwartz J.B., Schnaare R.L., Wigent R.J., Sugita E.T., 1991. Bead coating: II. Effect of spheronization technique on drug release from coated spheres. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 17, 817-830.

USP XXIV, 2000. Delayed-release (enteric-coated) articles - General drug release standard. pp. 1947.

4.1 Inleiding

Orale vormen voor gecontroleerde geneesmiddeltoediening worden opgesplitst in 2 groepen, namelijk de “single unit” vormen zoals tabletten of capsules en de “multiple unit” vormen zoals pellets, granulen en micropartikels (Bodmeier, 1997). Deze multiparticulaire vormen worden afgevuld in harde gelatinecapsules of gecompriemd tot tabletten, waarbij compactie steeds meer de voorkeur geniet omwille van de lagere productiekost en de grotere productiecapaciteit van de tabletteermachines. Bovendien kunnen tabletten grotere poedervolumes bevatten dan capsules zodat een hogere geneesmiddelbelading mogelijk is, waardoor in het algemeen de therapietrouw verbetert. Tevens kunnen tabletten met breukvlakken geformuleerd worden, wat een flexibele dosering toelaat. Om de voordelen van een multiparticulaire doseringsvorm te behouden is het van belang dat de tabletten in de gastro-intestinale tractus desintegreren tot de individuele deeltjes en dat er geen fusie van de partikels optreedt tijdens compressie (Bodmeier, 1997). Wanneer reservoirpellets (pellets omhuld met een geneesmiddel-vrijstellingsregulerende membraan) worden gecompacteerd, moet de polymeerfilm voldoende weerstand bieden tegen de krachten uitgeoefend tijdens de compactie zodat na desintegratie de individuele en intacte pellets worden vrijgesteld. Immers, indien de omhulling onvoldoende flexibel is, scheurt de omhulling waardoor de vrijstellingsregulerende eigenschappen verloren gaan (Aulton et al., 1994).

4.1.1 Compactieproces

Compactie van materiaal gebeurt via volumereductie (compressie) en de vorming van bindingen (consolidatie).

4.1.1.1 Fasen in het compactieproces

Het uitoefenen van een kracht op een poeder- of pelletbed resulteert in de vorming van een poreus compact waarbij verschillende fasen worden onderscheiden in het compactieproces.

In een eerste fase treedt door het uitoefenen van een kracht een herschikking van de deeltjes in de matrijs op. Bij verdere compressie van het materiaal is op een zeker ogenblik interparticulaire beweging niet meer mogelijk en is verdere volumereductie enkel mogelijk door elastische (reversibele) of plastische (irreversibele) deformatie van de deeltjes. Deformatie wordt dikwijls gevolgd door fragmentatie, dit is het opbreken van een partikel in een aantal kleinere deeltjes, waarna opnieuw herschikking en verdere volumereductie optreden. Verdere verhoging van de druk kan opnieuw deformatie van de gefragmenteerde deeltjes veroorzaken. (Nyström et al., 1993; Çelik, Maganti, 1994). Het compressiegedrag van de meeste farmaceutische grondstoffen is vrij complex en wordt gekenmerkt door een combinatie van bovenstaande mechanismen. Welk deformatiemechanisme domineert, wordt bepaald door de snelheid, de grootte en de duur van de uitgeoefende druk en door de fysische eigenschappen van het materiaal (Çelik, Maganti, 1994). Wanneer elastische deformatie het overheersende mechanisme is worden gelamineerde compacten ("capping" fenomeen) gevormd of compacten met een zeer lage hardheid (Nyström et al., 1993).

Consolidatie gaat pas door van zodra de partikels voldoende dicht bij elkaar komen waardoor bindingen tussen de deeltjes ontstaan. Enerzijds zorgen een onregelmatige vorm en een ruw oppervlak voor mechanische vernesteling van de deeltjes. Anderzijds kan de druk heel hoog worden ter hoogte van de interparticulaire contactpunten, waardoor de temperatuur plaatselijk stijgt boven het smeltpunt van het materiaal. Dit zorgt voor het vervloeien van het materiaal (fasetransitie) ter hoogte van deze contactpunten, waardoor binding mogelijk wordt. Uiteindelijk staan intermoleculaire krachten zoals van der Waalskrachten, H-bindingen en ionenbindingen ook in voor de consolidatie van de partikels (Nyström et al., 1993; Çelik, Maganti, 1994).

4.1.1.2 Karakterisatie van de volumereductiemechanismen

Tijdens compactie wordt het materiaal in eerste instantie aan krachten onderworpen, die leiden tot een volumereductie van het materiaal. Verschillende methodes worden gerapporteerd in de literatuur voor de kwalitatieve of kwantitatieve karakterisatie van de volumereductiemechanismen van farmaceutische grondstoffen, waarbij Heckel analyse de meest gebruikte methode is voor de wiskundige analyse van compactieprofielen (Antikainen et al., 2003). Heckel analyse waarbij de porositeit van het poederbed in de matrijs in functie van het verloop van het compactieproces wordt gevolgd, laat toe deeltjesfragmentatie en de graad van plastische deformatie te bepalen. Heckel beschreef in 1961 het verband tussen de relatieve densiteit tijdens compressie en de uitgeoefende druk aan de hand van de volgende vergelijking:

$$\ln\left(\frac{1}{1-D}\right) = K \cdot P + A$$

waarbij D de relatieve densiteit van het compact is bij een compressiedruk P en 1-D gelijk is aan de porositeit E. A is functie van het oorspronkelijke poedervolume en is gerelateerd aan de densificatie, die optreedt tijdens het vullen van de matrijs en bij deeltjesherschikking. K is een materiaalconstante en wordt verkregen uit de helling van het lineaire gedeelte van de $\ln(1/E)$ versus P curve. De reciproque waarde van K is de “mean yield pressure” P_y van het materiaal en is een maat voor het compressiemechanisme (Habib et al., 2002).

Morris en Schwartz (1995) verdeelden de compressiecyclus aan de hand van de Heckelcurve in 5 fasen (Fig. 4.1).

Fase 1: densificatie bij vullen en herschikken

Fase 1 begint van zodra de bovenstempel de matrijs penetreert. Op het moment dat de bovenstempel contact maakt met het poederbed start herschikking van de deeltjes. De hoogte van het deeltjesbed wordt gereduceerd en de porositeit daalt. Initieel gebeurt de daling van de porositeit enkel door deeltjesherschikking. Dit vereist een heel lage kracht, die niet accuraat meetbaar is. Fase 1 eindigt wanneer de eerste kracht, die accuraat kan gemeten worden op de stempel wordt geregistreerd.

Fig. 4.1: Heckelcurve verdeeld in 5 fasen voor de evaluatie van volumereductiemechanismen van farmaceutische materialen (Morris, Schwartz, 1995)

Fase 2: compressiefase I

Fase 2 begint bij de eerste waarneming van kracht op de stempel en eindigt op het moment dat de bovenstempel de maximale kracht bereikt (= **Stempel Positie bij Maximale kracht**).

Wanneer de stempel een kracht uitoefent op het poederbed, zullen de deeltjes zich herschikken en vervolgens deformeren en/of fragmenteren. Indien ze fragmenteren ontstaan er nieuwe, kleinere deeltjes die op hun beurt kunnen deformeren of fragmenteren. Indien de weerstand tegen densificatie veel groter is dan de toenemende druk, betekent dit dat het materiaal broos is en dat het voornamelijk fragmenteert. Wanneer het materiaal echter zacht is, wordt het gemakkelijk gedensifieerd, zodat het eerder deformeert. Hoe steiler de curve, hoe groter de hellingsgraad, hoe lager de yield pressure, hoe meer deformatie (Fig. 4.2).

Fase 3: compressiefase II

Fase 3 begint op het moment dat de bovenstempel een maximale kracht uitoefent op het poederbed en eindigt op het moment dat de stempel zijn maximale penetratiediepte bereikt heeft in de matrijs (= **Maximale Stempel Positie**).

Het verschil in tijdstip tussen het optreden van de maximale compressiekracht en de minimale porositeit (maximale stempelverplaatsing) wordt beschouwd als een maat

voor de plastische deformatie, die omwille van zijn tijdsafhankelijk karakter blijft doorgaan, zelfs wanneer de druk wordt weggenomen (Nyström et al., 1993).

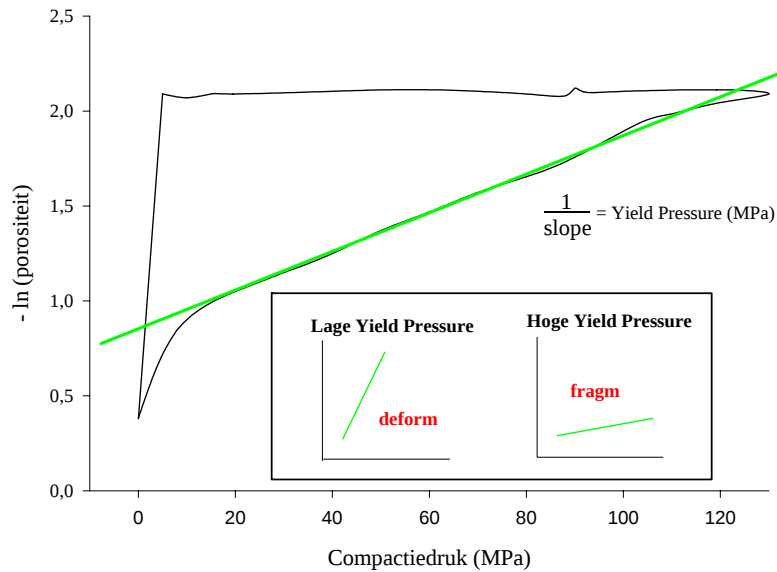


Fig. 4.2: Bepaling en betekenis van de “mean yield pressure” uit Heckelcurve

Fase 4: decompressiefase I

Fase 4 begint met de MSP en eindigt wanneer de stempel geen contact meer maakt met het tabletoppervlak, m.a.w. wanneer de kracht op de bovenstempel volledig wegvalt. Deze fase beschrijft de decompressie waarbij de bovenstempel opwaarts beweegt en is karakteriserend voor het elastisch herstel van het materiaal. Wanneer geen elastische deformatie optreedt, verloopt de decompressiecurve ongeveer horizontaal. Op het moment dat de stempel omhoog beweegt, zet het compact niet meer uit, de porositeit verandert niet meer en het compact drukt niet meer tegen de stempel.

Fase 5: decompressiefase II

Fase 5 begint wanneer de kracht daalt tot de minimale kracht die geregistreerd kan worden door de sensor en dit tot de stempel de matrijs verlaat. De drukken tijdens deze fase zijn laag, variabel en gecorreleerd met eventueel verdere elastische relaxatie van het materiaal.

Via regressie-analyse van het lineaire oplopende deel van de Heckel plot kan de yield pressure P_y bepaald worden. Verschillende materialen kunnen met elkaar vergeleken worden op voorwaarde dat de experimentele omstandigheden gestandaardiseerd worden.

4.1.2 Compactie van pellets

Johansson en Alderborn (1996) beschrijven het compactieproces van pellets in functie van een stijgende druk als volgt:

- Fase 1: volumereductie van het pelletbed door herschikking van de pellets. Er ontstaan contactpunten tussen de pellets.
- Fase 2: volumereductie van het pelletbed door elastische deformatie van het oppervlak. Er ontstaan zwakke intergranulaire bindingen.
- Fase 3: volumereductie van het pelletbed door bulkdeformatie en densificatie van de pelletkernen, waardoor een groter bindingsoppervlak ontstaat. Er ontstaan sterke intergranulaire bindingen die aanleiding geven tot coherente compacten.
- Fase 4: volumereductie vermindert en stopt omwille van de lage inter- en intragranulaire porositeit

Bij compactie van reservoirpellets is het van belang dat de omhulling rond de pellets intact blijft zodat het geneesmiddelvrijstellingsprofiel na compactie gelijk is aan dat vóór compactie. Bovendien moet segregatie vermeden worden, zodat de uniformiteit van tabletgewicht en –gehalte worden gegarandeerd.

De volgende formulatieparameters bepalen de compacteerbaarheid van omhulde pellets:

1. De vorm, grootte, porositeit en oppervlakte-eigenschappen van de pelletkern
2. De fragmentatie- en deformatie-eigenschappen van de pelletkern
3. De eigenschappen en de hoeveelheid aangebrachte polymeercoating
4. De eigenschappen en de hoeveelheid hulpstoffen gebruikt voor compactie

Daarnaast kunnen ook procesparameters zoals compactiesnelheid en –kracht (Sarisuta, Punpreuk, 1994; Çelik, Maganti, 1994; Maganti, Çelik, 1994) of stempeldiameter en -vorm (Pinto et al., 1997a; Pinto et al., 1997b; Wagner et al., 2000b) een invloed hebben op de beschadiging van de omhulling en aanleiding geven tot segregatie.

4.1.2.1 Invloed van formulatieparameters op compactie

4.1.2.1.1 Pelletkern

De pelletkern moet sterk en weinig elastisch zijn en deformeren onder druk zonder fragmentatie of breken (Aulton et al., 1994; Schwartz et al., 1994).

Pelletisatie verandert de compactie-eigenschappen van het oorspronkelijke poedermateriaal (Maganti, Çelik, 1993; Wang et al., 1995) aangezien door extrusie en sferonisatie de plastische eigenschappen van microkristallijne cellulose (MCC) verloren gaan en niet langer sterke compacten worden gevormd. In vergelijking met de kleine onregelmatige poederpartikels hebben grote sferische pellets een lage oppervlakte/volume verhouding, waardoor het aantal potentiële bindingsplaatsen tijdens compactie gereduceerd wordt. Compactie van MCC pellets gebeurde hoofdzakelijk via deformatie (verandering van de pelletvorm) en densificatie (reductie van de pelletporositeit). Weinig of geen fragmentatie werd waargenomen (Johansson et al., 1995; Johansson, Alderborn, 1996).

De samenstelling van de pelletkern heeft een invloed op de comprimeerbaarheid (mate van volumereductie bij een bepaalde druk) en compacteerbaarheid (het vermogen om tabletten te vormen). Pellets bestaande uit mengsels van MCC en lactose (80/20 en 20/80) werden in verschillende verhoudingen met elkaar gecompacteerd (Wang et al., 1995). Pellets rijk aan MCC bezitten slechte compactie-eigenschappen, terwijl lactoserijke pellets wel goede compactie-eigenschappen hebben. Door hun ruwer oppervlak bevorderden ze het interparticulair contact en bovendien zorgde fragmentatie bij lagere drukken voor de vorming van bruggen tussen de MCC-rijke pellets, die bij deze druk intact bleven. De verhouding lactoserijke ten opzichte van MCC-rijke pellets moest minstens 2 op 1 bedragen om tabletten te produceren met een aanvaardbare mechanische sterkte. Volgens Schwartz

et al. (1994) waren MCC pellets in tegenstelling tot pellets op basis van MCC/lactose en MCC/dicalciumfosfaat (DCP) niet te comprimeren omdat plastische deformatie slechts optrad bij onrealistisch hoge drukken (550 MPa). Voor DCP en lactose startte deformatie vanaf respectievelijk 100 en 400 MPa, terwijl DCP pellets eveneens fragmenteerden. Ook Nicklasson et al. (1999a) onderzochten of het incorporeren van een hard, broos bestanddeel in de MCC pellets (zoals dicalciumfosfaat) de kans op fragmentatie verhoogde in vergelijking met de zuivere MCC pellets. Het compressiegedrag van pellets met alleen MCC werd volgens zowel Schwartz als Nicklasson gekenmerkt door deformatie en geen fragmentatie. Toevoegen van DCP veroorzaakte volgens Schwartz et al. (1994) fragmentatie, waardoor de DCP pellets goed comprimeerbaar waren wat resulteerde in sterkere tabletten dan bij compactie van MCC pellets. Volgens Nicklasson et al. (1999a) bezaten de MCC/DCP pellets deze fragmenterende eigenschappen niet en werd compressie hoofdzakelijk gekenmerkt door deformatie en densificatie. In een volgende studie toonden Nicklasson et al. (1999b) echter aan dat de manier van deformeren anders was voor de pellets met DCP dan voor deze met alleen MCC. Hierdoor waren de MCC/DCP pellets toch minder comprimeerbaar dan de MCC pellets, wat resulteerde in zwakkere tabletten. Deformatie van pellets door compressie gebeurde volgens Nicklasson et al. (1999a) door herschikking van de primaire deeltjes in de pellet, waaruit bovendien volgde dat een hogere pelletporositeit de comprimeerbaarheid verhoogde. De minder goede comprimeerbaarheid van de MCC/DCP pellets weten zij aan een meer rigide structuur voor deze pellets waardoor ze minder densifieerden dan de MCC pellets. Ze veronderstelden dat voor de hardere MCC/DCP pellets deformatie ter hoogte van het oppervlak optrad in plaats van bulkdeformatie. Naast hard, fragmenterend materiaal (DCP) onderzochten Nicklasson en Alderborn (1999) ook de verwerking van zacht, wasachtig materiaal (polyethyleenglycol 6000) in MCC pellets. Deze pellets vertoonden net zoals de MCC/DCP pellets voornamelijk lokale deformatie ter hoogte van het pelletoppervlak zonder gelijktijdige veranderingen in de afmetingen van pellets en dit bij een relatief lage compactiedruk. Salako et al. (1998) toonden aan dat harde pellets minder deformeerden dan zachte pellets (bariumsulfaat/MCC/glycerylmonostearaat, 50/20/30). Bovendien fragmenteerden deze zachte pellets bij een lage compressiedruk en vormden ze bij hogere drukken een netwerk van deformeerbaar materiaal in de tabletten.

De oorspronkelijke porositeit van de MCC pellets en niet de pelletsterkte bepaalde de graad van deformatie, die op haar beurt de poriënstructuur en de treksterkte van het gevormde compact controleerde (Johansson et al., 1995; Johansson, Alderborn, 1996). Hoe hoger de porositeit, hoe meer de pellets deformeerden, waardoor de vorming van sterke intergranulaire bindingen werd bevorderd. Tunón et al. (2003) bereidden pellets met een lage, gemiddelde en hoge porositeit op basis van salicylzuur:MCC (1:9) door water-ethanol mengsels in variërende verhoudingen te gebruiken als granulatievloeistof. Tijdens compactie van de pellets werd deformatie en densificatie maar geen fragmentatie van de omhulde pellets waargenomen, waarbij deformatie en densificatie meer uitgesproken waren bij een hogere originele porositeit van de pellets en toenamen met stijgende compactiedruk. De geneesmiddelvrijstelling uit poreuze pellets werd minder beïnvloed door compactie in vergelijking met harde niet-poreuze pellets en na compactie werd het geneesmiddelvrijstellingsprofiel behouden (Tunón et al., 2003).

Een nauwe deeltjesgroottedistributie van de pelletkernen zorgde voor een minimale variatie in dikte van de polymeeromhulling en beperkte de kans op segregatie (Çelik, Maganti, 1994). Verschillende studies (Li, Peck, 1990; Riepma et al., 1993) hebben aangetoond dat een reductie van de deeltjesgrootte van de granulen de resulterende tabletsterkte verhoogde. Johansson et al. (1998) bestudeerden het effect van de deeltjesgrootte op de compacteerbaarheid van MCC pellets en concludeerden dat de compacteerbaarheid van de pellets bij een druk kleiner dan 160 MPa onafhankelijk was van de deeltjesgrootte en dat een druk groter dan 160 MPa voor de grotere (1250-1400 µm) pellets aanleiding gaf tot tabletten met een hogere treksterkte in vergelijking met de kleinere (425-500 µm) pellets.

Daarnaast bestudeerden Johansson en Alderborn (2001) de invloed van de vorm van de deeltjes op het compressiegedrag van granulen (onregelmatige vorm) en pellets (sferisch). De oorspronkelijke intragranulaire porositeit en de granulevorm hadden geen invloed op de totale tabletporositeit, maar bepaalden wel de mate waarin deformatie optrad en de treksterkte van de tabletten. Tabletten op basis van granulen met een onregelmatige vorm vertoonden een dichtere poriënstructuur en hadden een hogere treksterkte doordat de grotere ruimtes tussen de granulen meer deformatie toelieten.

4.1.2.1.2 Polymeeromhulling

De polymeerfilm moet voldoende plastisch zijn zodat het geneesmiddelvrijstellingsprofiel uit de pellets onveranderd blijft na compactie (Schwartz et al., 1994). De flexibiliteit en deformeerbaarheid van de polymeeromhulling worden bepaald door het type en de hoeveelheid weekmaker (Aulton et al., 1994; Felton et al., 1997), door de rek bij breuk (“elongation at break”) van de polymeerfilm (Beckert et al., 1996) en door de dikte van de polymeerlaag (Wagner et al., 2000a).

Hydrofobe weekmakers zoals tributylcitraat waren in vergelijking met de wateroplosbare weekmakers triacetine en triëthylcitraat slechts beperkt mengbaar met Eudragit® L 30 D-55, waardoor minder interactie met de acrylzuurpolymeerketens mogelijk was en broze films verkregen werden, die tijdens compactie gemakkelijk beschadigd werden (Felton et al., 1997). Hogere concentraties aan weekmaker leidden tot meer deformatie van de omhulling en dus een betere bescherming van de omhulling tijdens compactie (Felton et al., 1997). Heinämäki et al. (1995) concludeerden echter dat voor pellets omhuld met een organische Eudragit® RS/RL film of met een waterige Eudragit® NE 30D dispersie de hoeveelheid weekmaker (propyleenglycol) in de omhulling weinig of geen invloed had op het verhinderen van beschadiging van de omhulling door compactie. De maagsapresistente eigenschappen van enterisch omhulde pellets na compactie werden volgens Lehmann et al. (1993) en Beckert et al. (1996) het best gewaarborgd door polymeren met een hoge rek bij breuk te gebruiken en door het aanbrengen van dikkere films. Op die manier volgde de elastische omhulling de deformatie van de pellets zonder scheuren. Lehmann et al. (1993) toonden aan dat het mengen van Eudragit® L 30 D (rek bij breuk= 20 %) met Eudragit® NE 30 D (rek bij breuk= 600 %) resulteerde in een film, die bestand was tegen beschadiging onder invloed van compactie. De mechanische sterkte van een Eudragit® FS 30 D polymeeromhulling werd niet alleen verbeterd door extra weekmaker toe te voegen, maar ook door een toename van de dikte van de polymeerlaag (Wagner et al., 2000a). Een verdubbeling van de hoeveelheid triëthylcitraat (van 5 naar 10 %) verhoogde de rek bij breuk van 50 naar 300 %.

Voor een omhulling op basis van een waterige polymethacrylaat-dispersie zorgde een hogere polymeerbelading voor minder beschadiging (Aulton et al., 1994). Béchard en

Leroux (1992) benadrukten het belang van de dikte van de aangebrachte polymeerlaag. Ze ontwikkelden een pelletformulatie voor chloorfeniraminemaleaat en omhulden de pellets met een waterige ethylcellulose pseudolatexdispersie. Na compactie werden kleinere pellets (250-420 μm) gemakkelijker beschadigd dan de grotere (590-840 μm) omwille van een dunnere omhullingslaag (15 μm tot 25 μm). Kleinere pellets hebben immers een groter specifiek oppervlak, waardoor in vergelijking met de grotere pellets eenzelfde hoeveelheid polymeer zorgt voor een dunnere omhullingslaag (Altaf et al., 1999). Ook voor pellets omhuld met Eudragit[®] L 30 D-55 zorgde een toename van de polymeerbelading voor een groter aantal polymeerketens, die meer energie absorbeerden tijdens compactie, wat meer deformatie toeliet alvorens te scheuren (Felton et al., 1997).

Tunón et al. (2003) concludeerden dat een ethylcellulose omhulling het compressiegedrag van pellets niet beïnvloedde, terwijl volgens Maganti en Çelik (1994) het aanbrengen van een ethylcelluloselaag op broze pellets plastische deformatie veroorzaakte in tegenstelling tot de niet-omhulde pellets die eerder fragmenteerden. Een toename van de hoeveelheid ethylcellulose reduceerde de treksterkte van de tabletten, terwijl het elastisch herstel (elastic recovery) na compressie toenam (Maganti, Çelik, 1994). Volgens Tunón et al. (2003) volgde de ethylcellulose omhulling tijdens compactie volledig de deformatie van de pellets en bleef de film vastgehecht aan de pelletkern.

Een andere mogelijkheid om beschadiging van de polymeeromhulling tijdens compactie te voorkomen, is het aanbrengen van een extra beschermende omhullingslaag. Om een microporeuze celluloseacetobutyrat omhulling te beschermen tijdens compactie werd een extra beschermingslaag aangebracht op basis van wateroplosbaar HPMC, die snel in oplossing gaat, niet interfereert met de functionele omhulling en deformeert onder druk (Haslam et al., 1998). Een toename van de dikte van deze laag verhoogde het beschermende effect, dat bovendien meer uitgesproken was voor pellets met een kleinere deeltjesgrootte (0,5 mm > 0,7 mm > 1 mm). Een andere manier om pellets omhuld met ethylcellulose te beschermen was het sproeien van een polyethyleenoxide (PEO) laag op de omhulde pellets waardoor bij contact met het dissolutiemedium zwelling optrad van het PEO polymeer. Hierdoor werden scheurtjes of poriën, eventueel ontstaan tijdens compactie, opgevuld en veranderde het geneesmiddelvrijstellingsprofiel niet (Altaf et al., 1999).

4.1.2.1.3 Hulpstoffen

Compactie van omhulde pellets zonder toevoeging van hulpstoffen kan aanleiding geven tot de vorming van niet-desintegrerende matrixtabletten ten gevolge van fusie van de omhullingslagen door intensief contact tijdens compactie (Lehmann, 1984; López-Rodríguez et al., 1993; Yao et al., 1997). Om de omhulde pellets gescheiden te houden, worden vulstoffen en desintegratiemiddelen toegevoegd, maar het risico bestaat dat hierdoor beschadiging van de omhulling optreedt. Beschadiging van de omhulling wordt nagegaan door het vrijstellingsprofiel van het geneesmiddel te bepalen via dissolutietesten (López-Rodríguez et al., 1993; Torrado, Augsburger, 1994; Beckert et al. 1996). De excipiëntia moeten een snelle desintegratie van de tablet toelaten en een minimaal effect hebben op de geneesmiddelvrijstellingskinetiek (Aulton et al., 1994). Segregatie, en dus variatie in tabletgewicht en -gehalte aan actief product, wordt beperkt door hulpstoffen te gebruiken met dezelfde deeltjesgrootte en densiteit als de omhulde sfeertjes (Aulton et al., 1994; Flament et al., 1994). Hiertoe wordt ofwel de grootte van de omhulde pellets aangepast aan de excipiëntia ofwel de deeltjesgrootte van het excipiënt aan de omhulde pellets, d.w.z. dat zowel poeders, granulen als placebopellets kunnen gebruikt worden als hulpstof. Voor poedervormige excipientia is het van belang dat ze plastisch deformeren (Beckert et al., 1996), terwijl granulen en placebopellets mechanisch zwakker moeten zijn dan de omhulde pellets. Op die manier treedt tijdens compactie initieel fragmentatie op met vrijstelling van de oorspronkelijke poederpartikels, gevolgd door plastische deformatie, zodat de ruimte tussen de te beschermen pellets opgevuld wordt (Çelik, Maganti, 1994). Torrado en Augsburger (1994) suggereerden dat de hulpstoffen in de tablet een matrix vormen, die de energie van compactie absorbeert, waardoor de matrix sneller en gemakkelijker deformeert dan de omhulde pellets.

Bij omhulde pellets is de geneesmiddelvrijstelling na compactie afhankelijk van het type hulpstof dat gecombineerd wordt met deze omhulde pellets. Yuasa et al. (2001) onderzochten voor 14 excipiëntia de mate waarin ze de spanning, die in de tablet ontstaat tijdens compactie, verdelen. De Eudragit® L 30 D-55 polymeeromhulling rond de acetylsalicylzuurpartikels werd het best beschermd door poreus calciumsilicaat en het meest beschadigd door maïszetmeel. Yuasa et al. (2001) concludeerden dat een goede bescherming van de omhulling werd verkregen door een

excipiënt dat gemakkelijk en snel plastische deformatie onderging (poreus calciumsilicaat) en waarvan de plastische energie een hoog percentage uitmaakte van de totale compressie-energie zodat de spanning in de tablet goed verdeeld werd. Torrado en Augsburg (1994) rangschikten een aantal vulstoffen op basis van hun yield pressure (P_y) waarden. Een duidelijke overeenkomst werd waargenomen tussen de yield pressure en het beschermende effect dat de hulpstoffen hadden op de omhulde pellets tijdens compactie. In dalende orde van beschermende effect gaf dit: P_y van polyethyleenglycol 3350 < microkristallijne cellulose < crospovidone < lactose < dicalciumfosfaat m.a.w. deformerende hulpstoffen beschermden beter. Minimale beschadiging werd verkregen met een mengsel van MCC/PEG 3350/crospovidone (50/25/25).

De deeltjesgrootte van de hulpstoffen bepaalde het beschermende effect en het optreden van segregatie. Het gebruik van hulpstoffen (Avicel[®] PH 200: $d_{50} = 200 \mu\text{m}$; Meggle lactose EP D10: $d_{50} = 500 \mu\text{m}$) met een deeltjesgrootte groter dan de klassieke excipientia zorgde voor een betere bescherming van de functionele omhulling (Haslam et al. 1998). Ook Aulton et al. (1994) mengden omhulde ibuprofen pellets met Avicel[®] PH 200 en Meggle lactose EP D10, maar compactie met lactose resulteerde in tabletten met een lage hardheid, die tijdens de friabiliteitstest uiteenvielen. Door toevoeging van Avicel[®] PH 200 werden sterkere tabletten verkregen met een lagere friabiliteit. Het ideale excipientmengsel bestond uit gelijke delen Avicel[®] PH 200 en lactose EP D10 en gaf een goede bescherming van de met Eudragit[®] RS/RL 30 D omhulde ibuprofen pellets. Enkel een lichte beschadiging ter hoogte van het oppervlak werd waargenomen, terwijl geen segregatie optrad. Wagner et al. (2000b) toonden aan dat na compactie van een mengsel van 70 % enterisch omhulde pellets en 30 % Avicel[®] PH 101 poeder ($d_{50} = 53 \mu\text{m}$) of granules ($d_{50} = 194 \mu\text{m}$) meer pelletdeformatie optrad in de tablet in aanwezigheid van de granules, maar dat desondanks het geneesmiddelvrijstellingsprofiel onveranderd bleef. Dit wees er volgens hen op dat de beschadiging van de omhulling hoofdzakelijk aan het oppervlak van de tablet plaatsvond en niet binnenin de tabletmatrix. Echter, bij hogere tabletteersnelheden trad bij gebruik van deze granules als vulstof segregatie op. Yao et al. (1997) vergeleken het beschermende effect van Avicel[®] PH 102 ($d_{50} = 100 \mu\text{m}$) en chitosan tijdens compactie van de theofylline-partikels omhuld met ethylcellulose. Avicel[®] PH 102 veroorzaakte beschadiging van de omhulling (zelfs bij lagere

drukken), wat resulteerde in een versnelde theofyllinevrijstelling uit de tabletten. Chitosan had een beschermend effect op voorwaarde dat een type chitosan werd gebruikt met een gemiddelde deeltjesgrootte van 6 μm . Chitosan met een deeltjesgrootte van 60 of 210 μm beschadigde het membraan. De kleine chitosandeeltjes bedekten het oppervlak van de omhulde partikels en verhinderden zo contact tussen de partikels. De compressiekracht/porositeitscurve toonde aan dat enkel plastische deformatie optrad en geen fragmentatie. Bovendien werd het beschermend effect niet beïnvloed door de compressiedruk. Het gebruik van andere Avicel[®] types (PH-M06, M15, M25 en PH102 met een respectievelijke deeltjesgrootte van 9, 14, 24 en 101 μm) toonde aan dat een kleinere deeltjesgrootte de omhulling van partikels tijdens compactie beter beschermde (Yao et al., 1998). Hetzelfde effect werd waargenomen bij verschillende L-HPC (low substituted hydroxypropylcellulose) (LH-31: 16 μm ; LH-21: 44 μm ; LH-11: 59 μm en gemicroniseerd LH-11: 15 μm) en lactose-types (32 μm en gemicroniseerd lactose: 5 μm). Uiteindelijk werden de omhulde partikels gecompriëerd zonder mechanische beschadiging zolang de deeltjesgrootte van de hulpstoffen beneden de kritische waarde van 20 μm bleef. Uit het voorgaande werd besloten dat het beschermend effect van de hulpstoffen niet enkel toegeschreven kon worden aan de deeltjesgrootte, maar dat ook de samenstelling van de omhulling (polyacrylaat dispersies of ethylcellulose) en van de pelletkern bepalen of bescherming verkregen werd.

Volgens Altaf et al. (1999) fungeerde een kleine hoeveelheid MCC als bindmiddel wanneer het in een dunne laag werd gespreid op pellets omhuld met ethylcellulose. Door deze pellets te comprimeren zonder toevoeging van excipiëntia werden segregatieproblemen vermeden. Om een desintegrerende matrix te verkrijgen kon ook geopteerd worden voor een extra omhullingslaag met bv. vernet natriumcarboxymethylzetmeel (Altaf et al., 1999).

Ter bescherming van theofylline-pellets omhuld met Eudragit[®] NE 30 D stelden Flament et al. (1994) placebopellets voor op basis van gelijke delen microkristallijne cellulose (bindmiddel) en maiszetmeel (desintegratiemiddel). De resulterende tabletten desintegreerden snel, maar de geneesmiddelvrijstelling was veel groter dan uit de niet-gecomprimeerde pellets, wat wees op beschadiging van de omhulling. Habib et al. (2002) ontwikkelden pellets met lage yield pressure waarden op basis van MCC, lactose en superdesintegratiemiddelen met de bedoeling deze te gebruiken als

“cushioning” pellets. Het gebruik van overwegend MCC en de incorporatie van natriumcroscarmellose (superdesintegratiemiddel) verhoogden de hoeveelheid granulatievloeistof nodig voor extrusie-sferonisatie en resulteerden na vriesdrogen in pellets met een hoge porositeit en een goede compacteerbaarheid en comprimeerbaarheid (lage yield pressure waarden). De tabletten desintegreerden snel (< 5 s) en de desintegratiemiddelen hadden geen invloed op de comprimeerbaarheid. Pinto (1994) stelde een tabletformulatie voor op basis van 3 soorten pellets, zijnde omhulde geneesmiddelpellets, zachte deformeerbare pellets op basis van glycerylmonostearaat en pellets op basis van anorganische desintegratiemiddelen. Op basis van deze formulatie onderzochten Lundqvist et al. (1997) de invloed van het type desintegratiemiddel, de hoeveelheid geneesmiddel- en desintegratorpellets op de hardheid, desintegratie en friabiliteit van de tabletten. Tijdens compactie hielden de zachte deformerende pellets de tablet samen en een reductie van de hoeveelheid zachte pellets leidde tot een toename van de friabiliteit en een daling van de tabletsterkte en de desintegratietijd. Een toename van de hoeveelheid desintegratorpellets veroorzaakte dezelfde effecten. Veertig procent desintegratorpellets zorgde voor een adequate desintegratietijd en tabletten met een goede hardheid werden enkel verkregen wanneer maximum 30 % geneesmiddelpellets werden geïncorporeerd. Deze resultaten werden bevestigd door Lundqvist et al. (1998) via een experimental design waarbij het effect van het type desintegratiemiddel, de relatieve hoeveelheid van geneesmiddel- en desintegratorpellets, de variatie van de compactiedruk en de dikte van de polymeerlaag op de tabletsterkte, friabiliteit en desintegratie van de tabletten op basis van desintegrator-, geneesmiddel- en zachte pellets werd onderzocht. De tabletsterkte en de desintegratietijd daalden wanneer de hoeveelheid geneesmiddelpellets toenam en gelijktijdig de hoeveelheid zachte pellets daalde. Een hogere compactiedruk resulteerde in een grotere tabletsterkte en langere desintegratietijd gecombineerd met een lagere friabiliteit. Toename van de dikte van de omhullingslaag resulteerde in een lagere friabiliteit, maar had geen invloed op de tabletsterkte of desintegratietijd. Na compactie trad in alle omstandigheden een wijziging op van het geneesmiddelvrijstellingsprofiel. Een optimale formulatie bestond uit 40 % geneesmiddelpellets en een gewichtstoename van minstens 8 % polymeer op de geneesmiddelpellets. Filmbeschadiging werd voorkomen door enerzijds de sterkte van de film te verhogen (via het aanpassen van het type polymeer en de dikte van de

polymeerlaag) en anderzijds door pelletdeformatie te verhinderen door gebruik te maken van “cushioning” pellets. Vergote et al. (2002) ontwikkelden eveneens placebopellets op basis van paraffinewas (Paracera[®] P), gepregelatiniseerd zetmeel (drum dried corn starch, DDCS) en natriumzetmeelglycolaat (Explotab[®]) zodat tijdens compactie de diltiazempellets (omhuld met Eudragit[®] NE 30 D) werden beschermd. De geneesmiddelpellets deformeerden niet waardoor het geneesmiddelvrijstellingsprofiel vóór en na compactie niet wijzigde. α -Lactose monohydraat-granules en MCC-pellets boden geen bescherming, waardoor de geneesmiddelvrijstelling versnelde na compactie.

Tunón en Alderborn (2001) onderzochten of deformatie en densificatie van pellets werd beïnvloed door de porositeit van de omringende granules. De densificatie van de pellets was onafhankelijk van de porositeit van omringende pellets, maar het deformatiegedrag werd wel degelijk bepaald door deze porositeit. Pellets met een lage porositeit veroorzaakten inkepingen in het oppervlak van de ingesloten pellets, waardoor onregelmatige gevormde pellets ontstonden. Pellets met een hogere porositeit zorgden enkel voor een afplatting van het oppervlak van de pellets. Voor de bescherming van de omhulling van reservoirpellets werd dus best beroep gedaan op poreuze granules.

Het gebruik van een lubrifieermiddel zoals magnesiumstearaat is niet aan te raden omwille van de mogelijke vorming van een hydrofobe laag rond de pellets, waardoor geen coherente compacten werden gevormd (Maganti, Çelik, 1993). Het toevoegen van MCC als externe vulstof aan de pellets resulteerde in hardere tabletten dan wanneer uitsluitend pellets werden gecompriëerd, terwijl gepregelatiniseerd zetmeel een verdere daling van de mechanische sterkte veroorzaakte. Heinämäki et al. (1995) toonden aan dat het toevoegen van 50 % MCC aan een mengsel van omhulde en niet-omhulde pellets tijdens compactie enerzijds de mechanische eigenschappen van de resulterende tabletten sterk verbeterde maar anderzijds een enorme beschadiging van de omhulling veroorzaakte. Ten gevolge van segregatie tussen de pellets en het poeder werd een grote variatie in gewicht en gehalte waargenomen. Ook Haubitz et al. (1996) kozen voor MCC als vulstof voor de compactie van omhulde theofylline-pellets. In tegenstelling tot Cellactose[®] (cellulose/lactose 25/75 mengsel voor directe compressie) werden bij lage compactiedrukken tabletten verkregen met een hoge hardheid en trad weinig of geen segregatie op. De scanning electron microscopy-

foto's toonden geen beschadiging van de pelletomhulling. Dit laatste was ook te danken aan de elasticiteit van het Eudragit[®] NE polymeer. Bovendien was het geneesmiddelvrijstellingsprofiel van de tabletten gelijk aan dat van de originele pellets. Mount en Schwartz (1996) comprimeerden theofylline-pellets op basis van MCC en omhulde met 10 % Eudragit[®] L 30 D-55 alsdusdanig met een sterke beschadiging van de omhulling tot gevolg. De vrijstelling in 0,1 N HCl nam toe van minder dan 1 % tot ± 70 % theofylline na 1 uur. Het gebruik van 90 % MCC poeder als vulstof tijdens tableteren gaf een goede bescherming (slechts 7 % vrijstelling na 1 uur). Ook pellets op basis van MCC en glycerylpalmitostearaat (1:1 verhouding) beperkten de vrijstelling van theofylline tot minder dan 10 % na 1 uur. Palmieri et al. (1996) benadrukten het belang van de verhouding tussen de omhulde partikels en het excipient, in dit geval Avicel[®] PH 101. Naarmate de hoeveelheid met Eudragit[®] RS 30D omhulde partikels in de tablet steeg, nam de geneesmiddelvrijstelling toe en ging de gecontroleerde vrijgave van het geneesmiddel verloren. Met een hoeveelheid omhulde partikels kleiner dan 40 % werden geen significante verschillen gedetecteerd in de vrijstellingsprofielen. López-Rodríguez et al. (1993) comprimeerden met Eudragit[®] RS omhulde salicylzuur pellets en toonden aan dat minstens 15 % Avicel[®] PH 101 (MCC) nodig was om te verhinderen dat een matrixtablet werd gevormd. Beckert et al. (1996) beschreven dat bij een toename van het aandeel omhulde pellets in de tablet een groter aantal pellets met de stempels en met elkaar in contact kwamen, waardoor pelletdeformatie uiteindelijk aanleiding gaf tot scheurtjes in de omhulling. Een mengsel van Avicel[®] PH 101 en gesproeidroogd β -lactose beschermd tijdens de compactie van ketoprofen-pellets de Eudragit[®] NE- en guargom-omhulling van de pellets (El-Mahdi, Deasy, 2000). Toename van de hoeveelheid hulpstoffen tot 70 % van het tabletgewicht leidde tot meer variabiliteit in het geneesmiddelgehalte door segregatie van de omhulde pellets. Placebopellets gemaakt via extrusie en sferonisatie beperkten inderdaad de segregatie, maar de desintegratietijd en de treksterkte van de tabletten daalde sterk.

De invloed van de verhouding omhulde pellets en hulpstoffen op segregatie en dus op de uniformiteit van massa en gehalte van de tabletten werd door Beckert et al. (1998) bevestigd. Als excipiëntia werden fijne poeders (Avicel[®] PH 101 en 102, resp. d_{50} = 50 en 100 μ m), grove poeders (Avicel[®] PH 200 en Cellactose[®], resp. d_{50} = 200 en 238 μ m) en granules op basis van Avicel[®] PH 102 (0,5-1,0 mm) en anhydrysch

dicalciumfosfaat (0,5-1,0 mm) gebruikt. Uniformiteit van gehalte werd verkregen met alle excipientia op voorwaarde dat minstens 30 % (v/v) of 50 % (g/g) geneesmiddelpellets of een mengsel van pellets en granules een cluster vormden doorheen de volledige lengte, breedte en hoogte van de tablet (“percolating” cluster). Bij 30 % (g/g) pellets trad segregatie op met de poeders (fijn en grof) en bij 10 % (g/g) kon met geen enkel excipient een goede uniformiteit van gehalte verkregen worden. Vervolgens werd voor een tablet met 70 % (g/g) omhulde (Eudragit® FS 30D) pellets nagegaan wat de invloed was van 5 verschillende types MCC op de pelletdistributie in de tablet na compactie op een rotatieve tabletteermachine (Wagner et al., 1999). Enkel een vulstof met een groot oppervlak en een vezelige oppervlaktestructuur zoals Avicel® PH 101 was geschikt voor de productie van een desintegrerende tablet met een homogene pelletdistributie en dit onafhankelijk van de machinesnelheid. De enterische omhulling van deze pellets werd echter beschadigd tijdens compactie (Wagner et al., 2000a). Een verhoging van de elasticiteit en van de dikte van de polymeerfilm verhoogde de weerstand tegen beschadiging niet, maar een reductie van de hoeveelheid omhulde pellets in de tablet van 70 % (g/g) naar 60 % (g/g) resulteerde in tabletten, die voldeden aan de eisen voor enterische preparaten uit de USP XXIV.

4.1.2.2 Invloed van procesparameters op compactie

4.1.2.2.1 Compactiedruk

Inerte pelletkernen, die via layering beladen werden met diltiazem en vervolgens omhuld werden met ethylcellulose (EC), vertoonden een gewijzigd vrijstelingsprofiel door compactie. Volgens Sarisuta en Punpreuk (1994) was dit niet te wijten aan beschadiging van de EC omhulling, maar aan veranderingen van een aantal fysieke eigenschappen van de omhulling zoals porositeit en permeabiliteit, waardoor de diffusie van geneesmiddel doorheen het membraan wijzigde.

Beschadiging van de enterische omhulling (op basis van Eudragit® polymeren) van bisacodyl-pellets werd volgens Beckert et al. (1996) niet beïnvloed door variatie van de compactiekrachten tijdens tableteren.

4.1.2.2.2 Stempeldesign

Aangezien de deformatie van enterisch omhulde pellets ter hoogte van het tabletoppervlak de belangrijkste oorzaak was van een verhoogde geneesmiddelvrijstelling, zorgde een reductie van de oppervlakte/volume ratio (gebruik makend van concave stempels in plaats van vlakke stempels) voor minder beschadiging van de omhulling (Wagner et al., 2000b).

Pinto en Newton (1998) onderzochten de invloed van de diameter en de vorm van de stempel op de eigenschappen van een tablet bestaande uit indomethacine-pellets, desintegrator pellets (bariumsulfaat en MCC) en zachte pellets (glycerylmonostearaat, bariumsulfaat en MCC). Concave stempels gaven aanleiding tot zwakkere tabletten met een hogere porositeit en lagere densiteit, die tijdens de friabiliteitstest uiteen vielen waarbij in eerste instantie materiaal loskwam ter hoogte van de kromming van de tablet. De desintegratietijd nam toe naarmate de diameter van de tablet kleiner werd.

4.1.2.2.3 Stempelsnelheid

De invloed van de stempelsnelheid op compactie van farmaceutische materialen wordt beschreven aan de hand van de “strain-rate sensitivity” (SRS) index (Roberts, Rowe, 1985).

$$SRS = \frac{P_{y2} - P_{y1}}{P_{y2}} \times 100$$

waarbij P_{y1} de yield pressure bij een lage stempelsnelheid is en P_{y2} de yield pressure bij een hoge stempelsnelheid. Voor een plastisch deformerend materiaal nam de yield pressure toe met stijgende snelheid van de stempel, terwijl voor fragmenterend materiaal de yield pressure niet veranderde onder invloed van de stempelsnelheid. Maganti en Çelik (1993) bevestigden dat de compactiesnelheid de compactie van plastisch deformerend materiaal beïnvloedde. Compactie van MCC poeder en van MCC pellets bij twee verschillende snelheden (1 en 100 mm/s) toonde immers aan dat voor het poeder de treksterkte van het compact daalde bij een hogere snelheid, terwijl onder dezelfde experimentele omstandigheden geen effect van de compactiesnelheid op de sterkte van de tabletten op basis van de pellets werd waargenomen. Hieruit

concludeerden Maganti en Çelik (1993) dat het poeder plastische deformatie onderging en de pellets fragmentatie. Tijdens compactie van met ethylcellulose omhulde pellets had een toename van de hoeveelheid ethylcellulose, in combinatie met een toename van de snelheid waarmee de stempels bewogen, een negatieve invloed op de consolidatie van de pellets (Maganti en Çelik, 1994).

Bij compactie van een mengsel van 70 % (w/w) pellets en MCC-granules op een rotatieve machine veroorzaakten hoge productiesnelheden een verticale segregatie van de pellets in de tablet (Wagner et al., 1999).

4.1.2.3 Besluit

Compactie van omhulde pellets tot tabletten met dezelfde vrijstellingseigenschappen als de oorspronkelijke niet-gecompacteerde pellets vereist het optimaliseren van een aantal formulatie- en procesparameters, waarbij het belang van elke parameter moet onderzocht worden.

In dit hoofdstuk wordt een tabletformulatie op basis van enterisch omhulde piroxicampellets ontwikkeld en wordt de invloed van de polymeeromhulling, de hulpstoffen, de pelletkern en een aantal procesparameters op de tablet- en vrijstellingseigenschappen onderzocht.

4.2 Materialen en methoden

4.2.1 Samenstelling van de tabletten

Piroxicam 2,5 % (g/g) pellets (Avicel® PH 101/CL 611; 1/3) werden geproduceerd via extrusie en sferonisatie en omhuld in een wervelbed-systeem zoals beschreven in *Hoofdstuk 2* en *3*.

Placebowaspellets op basis van Paracera® P (smeltpunt: 58-62 °C) (Paramelt, Heerhugowaard, Nederland), gepregelatiniseerd zetmeel (drum dried corn starch DDCS, Cerestar Pharma, Vilvoorde, België) en Kollidon® CL (crospovidone, BASF, Ludwigshafen, Duitsland) of Explotab® (natriumzetmeelglycolaat, Penwest, New York, NY, USA) in een verhouding 50/33,3/16,7 (g/g/g) werden geproduceerd via

meltpelletisatie (Gral-10, Collette, Wommelgem, België). Na afkoelen wordt de pelletfractie met de gewenste deeltjesgrootte afgezonderd via zeven.

Als desintegratiemiddel voor de tabletten werden Starch 1500 (gepregelatiniseerd zetmeel; Colorcon, West Point, PA, USA), Ac-Di-Sol[®] (natriumcroscarmellose; FMC, Brussel, België), Explotab[®] en Kollidon[®] CL getest. Het effect van Kollidon[®] CL/MCC (50/50, g/g) of bariumsulfaat (Federa, Brussel, België)/MCC (80/20) pellets op de desintegratie van de tabletten werd eveneens onderzocht.

Het tabletmengsel werd als volgt aangemaakt: de vereiste hoeveelheden omhulde pellets en waspellets werden afgewogen in een afsluitbaar glazen recipiënt. Dit recipiënt werd in de Turbula[®] menger geplaatst en de pellets werden gedurende 10 minuten gemengd. Indien een poeder (zoals Kollidon[®] CL als desintegratiemiddel) aan de formulatie werd toegevoegd, werd eerst het pelletmengsel aangemaakt, vervolgens werd de juiste hoeveelheid poeder toegevoegd en werd het mengsel opnieuw gedurende 10 minuten gemengd.

4.2.2 Productie van de tabletten

4.2.2.1 *Excentrische comprimeermachine*

De excentrische tabletteermachine bestaat uit één matrijs en één stempelpaar. Tijdens compactie blijft de onderstempel onbeweeglijk en volgt de bovenstempel een sinusoïdaal pad (Fig. 4.4).

4.2.2.2 *Compactiesimulator*

Een compactiesimulator (PCS, Puuman, Kuopio, Finland) bestaat uit één matrijs en één stempelpaar. Het toestel is uitgerust met rekstrookjes (“force transducers” of “strain gauges”) (registratie van de kracht) en verplaatsingsmeters (“displacement transducers”) (registratie van de verplaatsing van de stempels). Een rekstrookje bestaat hoofdzakelijk uit een netwerk van draden, waar een elektrische stroom doorheen gaat. Deze bedrading wordt vastgemaakt ter hoogte van de stempels. Wanneer een kracht wordt uitgeoefend op de stempels treedt deformatie op van het rekstrookje waardoor de elektrische weerstand verandert. Bij incorporatie in een

Wheatstone brug geeft dit aanleiding tot een verandering in voltage, die evenredig is met de uitgeoefende kracht. Verplaatsingsmeters geven ook een elektrisch signaal waarvan de grootte wordt bepaald door de positie van een sensor ten opzichte van een referentiepunt en op deze manier kan de stempelverplaatsing gemeten worden (Armstrong, 2002). In Fig. 4.3 wordt een schematische voorstelling gegeven van de Puuman compactiesimulator.

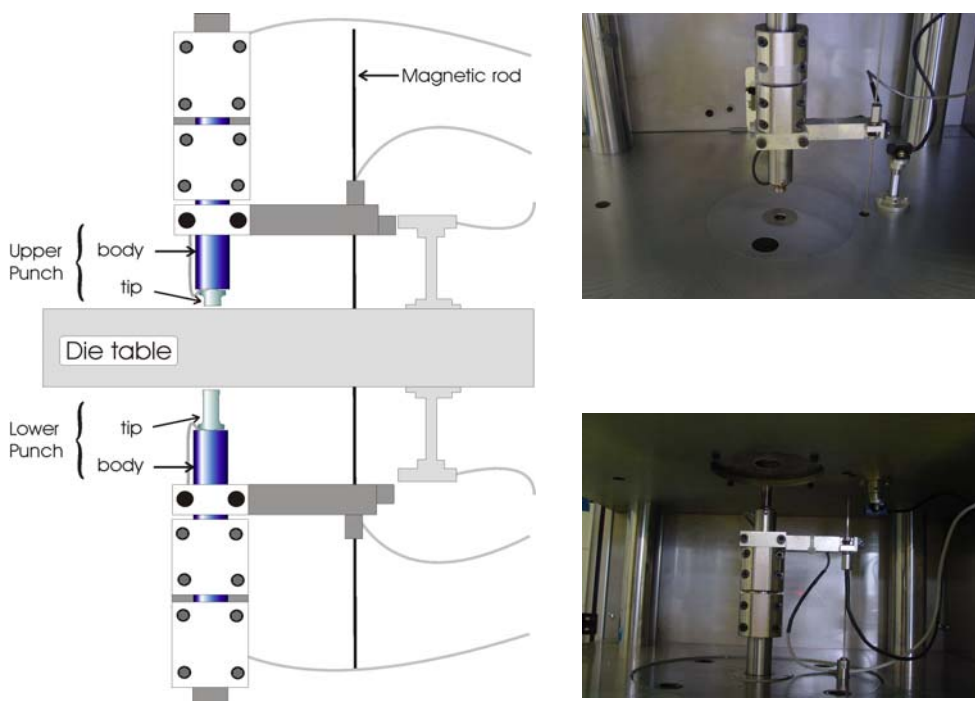


Fig. 4.3: Voorstelling van de compactiesimulator PCS (Puuman, Kuopio, Finland) (Kiekens et al.).

Op basis van de kracht- en verplaatsingsmetingen kan het compactieproces gekarakteriseerd worden via:

- mechanische tabletsterkte in functie van de compactiekracht als indicatie voor het vormen van aanvaardbare tabletten.
- verband tussen tabletporositeit en compactiekracht of –druk als basis voor Heckelanalyse.

Voor de formulatie van een snel desintegrerende tablet werd de matrijs van de compactiesimulator (Puuman, Finland) manueel gevuld met 600 mg mengsel. Een enkelzijdig sinusoidaal compactieprofiel (simulatie van een excentrische

tabletteermachine) werd ingesteld met een compactieduur van 50 ms en een stempelverplaatsing, die aanleiding geeft tot een compactiekracht van 20 kN. Er werd gebruik gemaakt van vlakke stempels met een diameter van 12 mm. Dezelfde instellingen worden gebruikt voor de statistische proefopzet.

Voor het onderzoek naar de invloed van stempelvorm en -diameter bij verschillende drukken werd gebruik gemaakt van een zaagtandprofiel (Fig. 4.4) zodat met een constante stempelsnelheid wordt gecomprimeerd tijdens de volledige cyclus en het mogelijk is bij elke druk met dezelfde compactiesnelheid te werken. Çelik en Okutgen (1993) raadden het gebruik van een zaagtandprofiel aan voor functionaliteitstesten omdat een constante snelheid wordt behouden ongeacht het type of de dikte van het te compacteren materiaal.

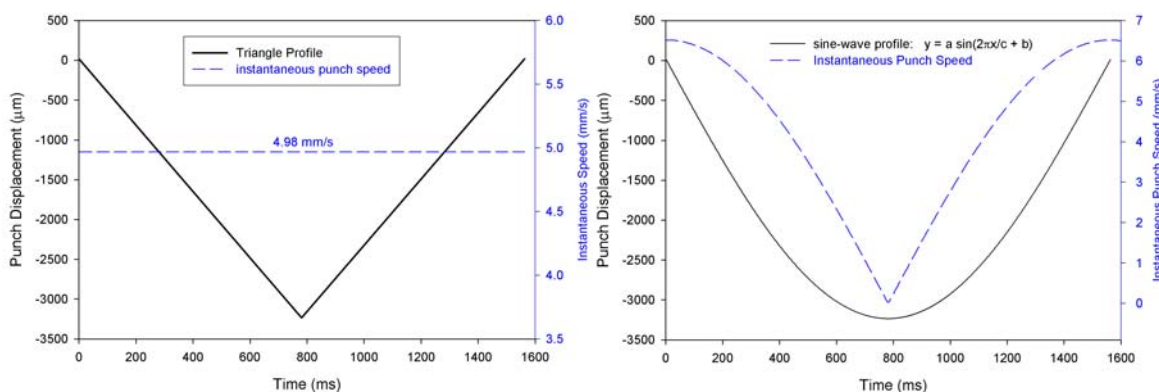


Fig. 4.4: Stempelverplaatsing en -snelheid bij zaagtand- en sinusoidaal compactieprofiel

4.2.3 Evaluatie van de tabletten

Tabletgewicht en -dikte worden bepaald na compactie en gebruikt voor de berekening van de apparente tablet densiteit.

De mechanische sterkte van de tablet wordt getest via een breukvastheidstest. Hierbij wordt een gecontroleerde druk op het compact uitgeoefend waarbij de kracht nodig om het compact te breken wordt gemeten. In de klassieke hardheidstest wordt de tablet diametraal gebroken. De sterkte van de tablet wordt uitgedrukt als de hardheid

(N) of als de treksterkte (σ) (MPa), die wordt berekend aan de hand van de volgende formule:

Voor vlakke tabletten (Armstrong, 2002):

$$\sigma(MPa) = \frac{2F}{\pi \cdot D \cdot t}$$

met F de kracht nodig om de tablet te breken (N), D de tabletdiameter (mm) en t de tabletdikte (mm).

Voor convexe tabletten (Pitt et al., 1989):

$$\sigma(MPa) = \frac{10F}{\pi \cdot D^2} \times \left(2,84 \cdot \frac{t}{D} - 0,126 \cdot \frac{t}{W} + 3,15 \cdot \frac{W}{D} + 0,01 \right)^{-1}$$

met F de kracht nodig om de tablet te breken (N), D de tabletdiameter (mm) en t de totale tabletdikte (mm), W de dikte van de centrale cilinder (mm)

De weerstand van de tabletten tegen wrijving werd bepaald met behulp van een friabilator (Pharma test, Mainburg, Duitsland). Zes tabletten werden terzelfdertijd getest door deze 100 toeren te laten maken in de friabilatorschijf (25 tpm), waarbij de friabiliteit wordt uitgedrukt als het procentuele gewichtsverlies van de tabletten na de test ten opzichte van het startgewicht. De friabiliteit moet lager zijn dan 1 % (Europese Farmacopee, 24^{ste} editie, 2002).

De desintegratietijd van de tabletten in 0,1 N HCl (37 °C ± 0,5 °C) werd onderzocht met behulp van een desintegratietoestel (Pharma test, Mainburg, Duitsland). Een tablet voldeed aan de eis van de Europese Farmacopee (4^{de} editie, 2002) indien ze na 15 minuten uiteengevallen was in water. Dezelfde eis werd overgenomen voor de tabletten in 0,1 N HCl.

Om te onderzoeken of de enterische omhulling van de pellets door compactie beschadigd werd, werd de geneesmiddelvrijstelling uit de tabletten bepaald via een dissolutietest in 0,1 N HCl. Na twee uur in 0,1 N HCl mocht in geen enkele bokaal meer dan 10 % geneesmiddel vrijgesteld zijn.

De reële dichtheid van mengsels en tabletten werd bepaald via heliumpycnometrie (Accupyc 1330 pycnometer, Micromeritics, Georgia, USA). Uit de apparente (ρ_a) en de reële (ρ_t) dichtheid werd de porositeit $\varepsilon = 100 \times (1 - \rho_a / \rho_t)$ van de tablet berekend.

4.3 Resultaten

4.3.1 Formulatie van een snel-desintegrerende tablet

4.3.1.1 Keuze van het desintegratiemiddel

Vergote et al. (2002) toonden aan dat het gebruik van 50 % “cushioning” waspellets (Paracera[®] P/DDCS/Explotab[®]; 50/33,3/16,7) voor de compactie van omhulde diltiazem pellets (800-1200 μm) een goede bescherming gaf van de omhulling en bovendien resulteerde in een tablet, die na 32 min desintegreerde in water.

Wanneer de piroxicampellets (800-1250 μm), omhuld met 10 % Eudragit[®] L 30 D-55/FS 30D (60/40), werden gemengd met diezelfde waspellets (800-1250 μm) in een verhouding omhulde piroxicampellets/waspellets (CoP/CuP) 40/60 desintegreerden de resulterende tabletten niet in 0,1 N HCl. Het extern toevoegen van Starch 1500 en superdesintegratoren zoals Ac-Di-Sol[®] en Explotab[®] (tot 10 %) had geen invloed op de desintegratie van de tabletten en na 1 uur in 0,1 N HCl waren ze nog steeds intact. Dit was te wijten aan de zure pH van het medium waarbij beide natriumzouten (Ac-Di-Sol[®] en Explotab[®]) niet geïoniseerd waren en hun zweleigenschappen verloren (Khare et al., 1992; Bussemer et al., 2003). Ook het zwelvermogen van gepregelatiniseerd zetmeel (Starch 1500) daalde in zuur milieu.

Kollidon[®] CL (vernet polyvinylpyrrolidone) is een wateronoplosbaar desintegratiemiddel, dat zwelt onafhankelijk van de pH. De optimale Kollidon[®] CL concentratie werd gezocht door 2; 5; 7,5 en 10 % (g/g) Kollidon[®] CL ten opzichte van het tabletgewicht (600 mg) toe te voegen. Bovendien werd onderzocht of het vervangen van het interne desintegratiemiddel in de waspellets (Explotab[®]) door Kollidon[®] CL een synergistisch effect had op de desintegratietijd van de tabletten. Uit Tabel 4.1 wordt afgeleid dat minstens 7,5 % Kollidon[®] CL nodig was om een

significante daling van de desintegratietijd van de tabletten te veroorzaken voor beide types waspellets. De hardheid van de tabletten werd niet beïnvloed door toevoeging van Kollidon® CL, terwijl de friabiliteit steeg van zodra Kollidon® CL in de tabletten werd geïncorporeerd, maar binnen de eisen van de Europese Farmacopee bleef. Aangezien een beperkt synergistisch effect werd waargenomen indien Kollidon® CL eveneens intern in de waspellets werd geïncorporeerd, werd in het verdere onderzoek gebruik gemaakt van deze waspellets (type B).

Het mengen van poeder en pellets met uiteenlopende deeltjesgroottes zoals Kollidon® CL ($x_{50} = 50 \mu\text{m}$) in een mengsel van was- en omhulde pellets (800-1250 μm) verhoogde het risico op segregatie. Om ontmenging te verhinderen werden 2 types desintegrerende pellets gemaakt. Enerzijds werden pellets geformuleerd op basis van 25 of 50 % Kollidon® CL (gebruik makend van MCC als vulstof) met dezelfde deeltjesgrootte als de waspellets. Anderzijds werden desintegrerende pellets geformuleerd op basis van 80 % bariumsulfaat en 20 % MCC (Lundqvist et al., 1997). Door 10 % van de waspellets te vervangen door deze desintegratorpellets veranderde de mechanische sterkte van de tabletten niet, maar steeg de friabiliteit zodat voor de tabletten met desintegratorpellets op basis van 25 % Kollidon en met de bariumsulfaatpellets de eisen van de Europese Farmacopee niet meer werden gehaald. Bovendien was enkel een gunstige invloed op de desintegratietijd waar te nemen voor tabletten met Kollidonpellets en waspellets type B. Desintegratorpellets met bariumsulfaat zorgden in geen geval voor een snellere desintegratie van de tabletten. Uiteindelijk werd besloten dat minstens 10 % Kollidon® CL (toegevoegd onder poedervorm) nodig was als desintegratiemiddel om een tablet te verkrijgen, die snel desintegreerde in 0,1 N HCl met vrijstelling van de oorspronkelijke omhulde pellets.

Tabel 4.1: Invloed van intern en extern toegevoegd Kollidon® CL op de tableteigenschappen

		Waspellets type A*			Waspellets type B**		
Desintegratiemiddel		Hardheid (N)	Friabiliteit (%)	Desintegratietijd (min)	Hardheid (N)	Friabiliteit (%)	Desintegratietijd (min)
Geen		25,9 ± 3,9	0,0	> 60	24,3 ± 3,6	0,1	> 60
Poeder	Kollidon® CL 2 %	21,6 ± 4,7	0,6	> 60	20,9 ± 2,6	-	> 60
	Kollidon® CL 5 %	24,5 ± 0,9	0,0	> 60	24,0 ± 3,1	0,4	> 60
	Kollidon® CL 7,5 %	23,6 ± 2,0	0,3	15	25,3 ± 3,5	0,3	12
	Kollidon® CL 10 %	21,5 ± 2,1	0,2	6	25,2 ± 6,3	0,5	3
Pellets	Kollidon® CL 25 %	25,5 ± 5,9	1,1	> 60	18,8 ± 4,0	1,5	30
	Kollidon® CL 50 %	21,1 ± 4,7	0,6	> 60	19,1 ± 2,1	0,9	30
	BaSO ₄ 80 %	23,2 ± 2,5	0,9	> 60	22,2 ± 3,4	1,7	> 60

* Waspellets type A: Paracera® P/DDCS/Explotab® (50/33,3/16,7)
** Waspellets type B: Paracera® P/DDCS/Kollidon® CL (50/33,3/16,7)

4.3.2 Invloed van formulatie- en procesparameters op de tableteigenschappen

4.3.2.1 Statistische proefopzet

De invloed van drie formulatieparameters (de samenstelling en de dikte van de enterische omhulling en de verhouding omhulde piroxicampelleten/waspelleten) en één procesparameter (de compactiekracht) op de tableteigenschappen werd nagegaan via een statistische proefopzet (experimental design). De invloed van de volgende vier variabelen werd nagegaan:

- X_1 : verhouding Eudragit[®] L 30 D-55/ FS 30 D op zeven niveaus (40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10 en 100/0)
- X_2 : procent gewichtstoename na polymeeromhulling op vijf niveaus (5; 7,5; 10; 12,5 en 15 % (g/g))
- X_3 : verhouding omhulde piroxicampelleten/waspelleten op zeven niveaus (30/70, 35/65, 40/60, 45/55, 50/50, 55/45 en 60/40)
- X_4 : compressiekracht op drie niveaus (10 kN, 20 kN en 30 kN)

De volledige ontwerpmatrix bestaat uit 735 experimenten. Dit is het aantal experimenten bekomen door alle mogelijke niveaus van de variabelen met elkaar te combineren. Via een “D-optimal design” (Massart et al., 1997) werd het optimale aantal uit te voeren experimenten bepaald met behulp van het softwarepakket NEMROD-W versie 9901 (LPRAI, Marseille, Frankrijk). Een proefopzet met 29 experimenten waarbij het centrale punt in viervoud werd uitgevoerd werd voorgesteld (Tabel 4.2).

Tabel 4.2: D-optimality proefopzet ontwerpmatrix met X₁: Eudragit® L 30 D-55/FS 30 D ratio, X₂: gewichtstoename na omhulling, X₃: omhulde pellets/waspellets ratio and X₄: compressiekracht

N° exp	X ₁	X ₂ (%)	X ₃	X ₄ (kN)
1	40/60	5	30/70	10
7	100/0	5	30/70	10
21	100/0	10	30/70	10
29	40/60	15	30/70	10
32	70/30	15	30/70	10
109	70/30	5	45/55	10
140	100/0	15	45/55	10
211	40/60	5	60/40	10
217	100/0	5	60/40	10
225	40/60	10	60/40	10
239	40/60	15	60/40	10
245	100/0	15	60/40	10
246	40/60	5	30/70	20
280	100/0	15	30/70	20
365	40/60	10	45/55	20
368 ^a	70/30	10	45/55	20
462	100/0	5	60/40	20
487	70/30	15	60/40	20
491	40/60	5	30/70	30
497	100/0	5	30/70	30
508	70/30	10	30/70	30
519	40/60	15	30/70	30
525	100/0	15	30/70	30
602	100/0	5	45/55	30
624	40/60	15	45/55	30
701	40/60	5	60/40	30
704	70/30	5	60/40	30
721	100/0	10	60/40	30
729	40/60	15	60/40	30
735	100/0	15	60/40	30

^acentraal punt (n=4)

4.3.2.2 Resultaten

Het uitvoeren van de experimenten gebeurde gerandomiseerd. De resultaten voor de mechanische sterkte, de friabiliteit en de desintegratietijd van de tabletten worden weergegeven in Tabel 4.3 als het gemiddelde en de standaarddeviatie van 6 tabletten.

Tabel 4.2: Resultaten voor de responswaarden uit de D-optimality proefopzet

Nr exp.	Kracht (kN)	Mech. sterkte (N)	Friabiliteit (%)	Desintegratie (min)
1	9,7 ± 0,9	17,7 ± 5,7	0,0	5,0
7	11,2 ± 1,3	21,2 ± 7,4	0,2	2,0
21	10,2 ± 0,8	16,4 ± 5,5	0,1	2,0
29	11,4 ± 1,0	19,6 ± 4,5	0,0	4,5
32	10,2 ± 1,3	21,3 ± 1,2	0,0	6,3
109	10,5 ± 1,4	11,2 ± 6,5	3,6	2,0
140	11,7 ± 1,0	10,7 ± 2,2	2,1	3,0
211	10,5 ± 1,5	*	*	<1
217	10,2 ± 1,3	*	*	<1
225	11,0 ± 0,6	*	*	1,0
239	9,8 ± 2,8	5,6 ± 0,2	*	2,0
245	10,3 ± 1,3	*	*	1,0
246	27,2 ± 1,1	26,9 ± 4,0	0,0	4,0
280	19,7 ± 1,8	17,6 ± 1,5	0,1	3,0
365	20,3 ± 1,8	12,4 ± 3,7	*	2,0
368a	19,5 ± 1,0	11,0 ± 2,4	2,8	1,0
368b	19,7 ± 1,2	8,4 ± 1,9	1,8	1,5
368c	19,9 ± 1,2	8,8 ± 3,6	*	2,1
368d	20,5 ± 1,7	12,0 ± 3,2	1,0	1,9
462	18,9 ± 3,4	5,7 ± 0,9	*	2,0
487	19,4 ± 1,4	*	*	3,1
491	22,5 ± 1,7	21,3 ± 5,4	0,0	4,0
497	29,9 ± 2,1	21,0 ± 4,2	0,1	2,5
508	30,6 ± 1,7	16,2 ± 3,3	0,0	4,7
519	29,8 ± 1,5	18,2 ± 2,0	0,5	3,5
525	31,1 ± 1,2	20,4 ± 1,2	0,0	4,0
602	29,4 ± 2,4	14,2 ± 3,3	0,6	3,0
624	29,5 ± 1,7	12,8 ± 4,8	0,5	3,2

Nr exp.	Kracht (kN)	Mech. sterkte (N)	Friabiliteit (%)	Desintegratie (min)
701	30,8 ± 2,7	4,5 ± 3,5	*	<1
704	30,3 ± 1,5	*	*	<1
721	29,5 ± 1,9	*	*	1,0
729	30,1 ± 2,1	8,7 ± 1,0	*	2,1
735	31,2 ± 2,0	*	*	1,0

* te lage waarde voor hardheid, tablet valt uiteen tijdens bepaling van de friabiliteit

Voor iedere responswaarde werd na statistische evaluatie een model voorgesteld (Tabel 4.4) uitgaande van een kwadratische responsfunctie $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{14}X_1X_4 + b_{23}X_2X_3 + b_{24}X_2X_4 + b_{34}X_3X_4 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + b_{44}X_4^2$. Via meervoudige lineaire regressie met stapsgewijze achterwaartse (backward) eliminatie werd voor elke respons een model met significante parameters opgesteld. Hiervoor werd gebruik gemaakt van het SPSS v. 10 softwarepakket (SPSS, Chicago, USA). Een probabiliteit $P < 0,05$ werd aanvaard als significantieniveau (Tabel 4.4).

Tabel 4.4: Resultaten van de meervoudige lineaire regressie analyse van tabletsterkte, friabiliteit en desintegratietijd bekomen via de D-optimality design

Responswaarde Y	Predictors ^a	Regressie coëfficiënt b	Sign ^b	R ² ^c
Tabletsterkte		10,127 (b ₀)	0,000	0,879
	X ₃	-7,156	0,000	
	X ₂ ²	2,966	0,000	
Friabiliteit		1,781 (b ₀)	0,000	0,876
	X ₄	-1,315	0,000	
	X ₃ X ₄	-1,353	0,000	
	X ₃ ²	-1,698	0,000	
Desintegratietijd		1,908 (b ₀)	0,000	0,633
	X ₁	-0,406	0,047	
	X ₃	-1,090	0,000	
	X ₂ ²	0,892	0,019	

^amet X₁: Eudragit L 30 D-55/FS 30 D ratio, X₂: gewichtstoename na omhulling, X₃: omhulde pellets/waspellets ratio and X₄: compactiekracht; ^bsignificantieniveau $P < 0,05$; ^cdeterminatiecoëfficiënt

Een toename van de dikte van de polymeerlaag (X_2^2) verhoogde de mechanische tabletsterkte, terwijl een stijging van de hoeveelheid omhulde pellets (X_3) resulteerde in een daling van de mechanische tabletsterkte (Tabel 4.4). Deze correlatie tussen de mechanische tabletsterkte en de hoeveelheid omhulde pellets werd bevestigd in Fig. 4.5.

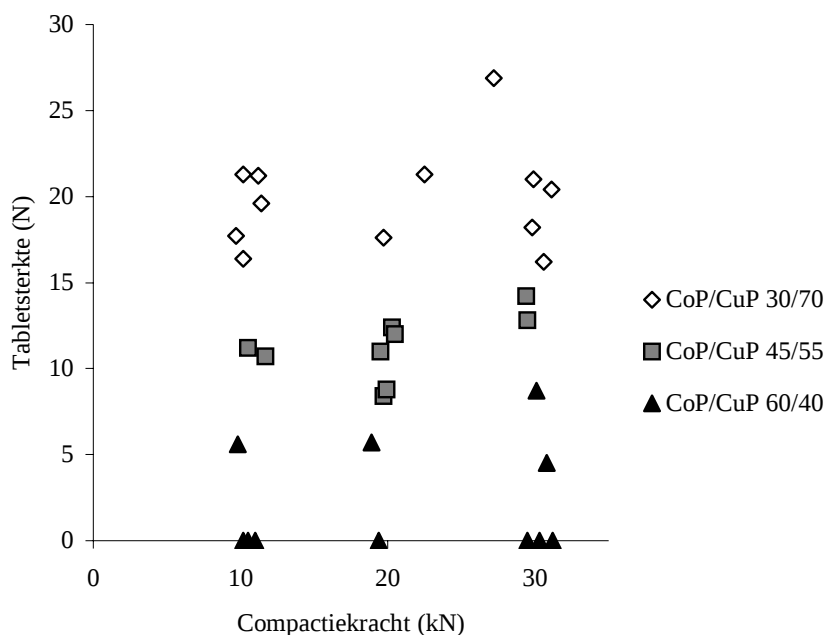


Fig. 4.5: Invloed van de compactiekracht en de verhouding omhulde pellets/waspellets (CoP/CuP) op de tabletsterkte

In vergelijking met klassieke tabletformulaties (zonder incorporatie van zacht deformeelbaar materiaal) was de mechanische sterkte van alle tabletten laag, maar vergelijkbaar met de waarden geciteerd voor tabletten, die eveneens geformuleerd werden met zachte materialen (Beckert et al. 1996; Lundqvist et al., 1998; Vergote et al., 2002). Een toename van de compactiekracht had geen invloed op de tabletsterkte, maar de friabiliteit van tabletten op basis van een verhouding omhulde pellets/waspellets 45/55 verbeterde wel onder invloed van een stijgende compactiekracht (X_4) (Fig. 4.6).

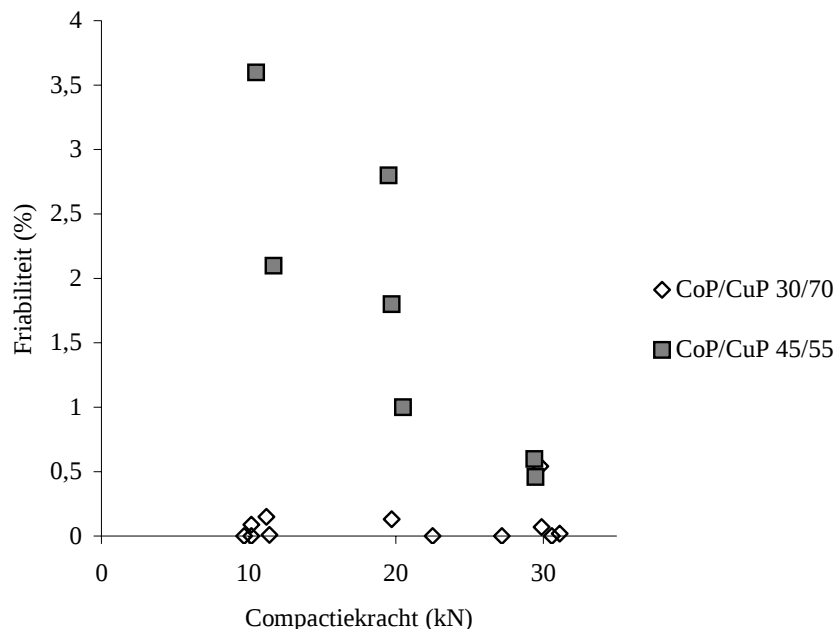


Fig. 4.6: Invloed van de compactiekracht en de verhouding omhulde pellets/waspellets (CoP/CuP) op de tabletfriabiliteit

Bovendien bevestigde het model voor de friabiliteit (Tabel 4.4) dat de compactiekracht (X_4) en de interactiefactor tussen de compactiekracht en de CoP/CuP verhouding (X_3X_4) een significante invloed hadden op de friabiliteit. Een toename van de hoeveelheid waspellets tot 70/30 gaf aanleiding tot een daling van de friabiliteit tot 0 % en dit onafhankelijk van de compactiekracht. Anderzijds vielen tabletten geformuleerd met een CoP/CuP-verhouding van 40/60 tijdens de friabiliteitstest volledig uiteen. Voor de desintegratietijd van de tabletten werd de verhouding van omhulde pellets ten opzichte van waspellets (X_3) geïdentificeerd als de meest significante factor, terwijl de hoeveelheid (X_2^2) en de samenstelling van het omhullingsmateriaal (X_1) een minder significant effect hadden. Een toename van de hoeveelheid omhulde piroxicampellets zorgde voor een daling van de desintegratietijd, terwijl een toename van de dikte van de omhullingslaag of een grotere hoeveelheid Eudragit® FS 30 D een stijging van de desintegratietijd veroorzaakte. De compressiekracht (X_4) had geen invloed op de desintegratietijd. Desalniettemin desintegreerden alle tabletformulaties in 0,1 N HCl in minder dan 6 minuten (Tabel 4.3) en voldeden ze allemaal aan de eis van de Europese Pharmacopee

(desintegratie in minder dan 15 min). De desintegratietijd werd hoofdzakelijk bepaald door de aanwezigheid van 10 % Kollidon® CL als desintegratiemiddel. Uiteindelijk werd besloten dat de eigenschappen (mechanische sterkte, friabiliteit en desintegratietijd) van tabletten op basis van gecompacteerd enterisch omhulde pellets en waspellets hoofdzakelijk bepaald werden door de hoeveelheid zacht, deformeerbaar materiaal dat aanwezig was in de tablet. De deformerende waspellets vormden een continue matrix waarin de omhulde pellets ingebed zaten (Fig. 4.7). Het incorporeren van harde omhulde piroxicampellets verstoorde deze matrix (mechanische tabletsterkte van gecompacteerd waspellets (20 kN, punch diameter 12 mm): $44 \pm 0,3$ N) waardoor de sterkte en het aantal bindingen ter hoogte van deze pellets werd gereduceerd. Dit verklaarde de daling van de tabletsterkte, desintegratietijd en de stijging van de friabiliteit wanneer het aandeel van de omhulde piroxicampellets in de tablet steeg. Een overmaat waspellets ten opzichte van de omhulde pellets was noodzakelijk om voldoende sterke tabletten te verkrijgen. Lundqvist et al. (1997, 1998) rapporteerden vergelijkbare resultaten na compactie van geneesmiddelpellets met “zachte” pellets op basis van 50 % bariumsulfaat, 20 % microkristallijne cellulose en 30 % glycerylmonostearaat. Deze zachte pellets stonden ook in voor de mechanische sterkte van de tabletten waarin maximaal 30 à 40 % geneesmiddelpellets konden verwerkt worden.

De dissolutietesten in 0,1 N HCl toonden voor geen enkele tabletformulatie piroxicamvrijstelling aan. Volgens Schwartz et al. (1994) moet een filmomhulling een zekere graad van plasticiteit bezitten om weerstand te bieden aan compressiekrachten. Flexibiliteit en deformatie-eigenschappen worden bepaald door het type en de hoeveelheid weekmaker (Aulton et al., 1994; Felton et al., 1997), de rek bij breuk (elongation at break) van het polymeer (Beckert et al., 1996) en de dikte van de polymeerlaag (Wagner et al., 2000a). Eudragit® FS 30 D werd geïncorporeerd in de omhulling omwille van zijn hogere rek bij breuk (tot 300 % in combinatie met 10 % triëthylcitraat, Lehman et al., 1993) in vergelijking met de rek bij breuk van Eudragit® L 30 D-55 (20 %). Hoewel Wagner et al. (2000b) aantoonde dat het gebruik van een voldoende dikke Eudragit® FS 30 D laag de beschadiging van de omhulling beperkte, bleef de integriteit van de enterische film op de piroxicampellets tijdens compactie behouden ongeacht de dikte of de aanwezigheid van een flexibele component in de omhulling. Blijkbaar beschikten de deformeerbare waspellets over excellente

beschermende “cushioning” eigenschappen, die zelfs broze en dunne polymeerfilms beschermen tijdens compactie. De wasmatrix was in staat de compactiekracht te absorberen en zelf te deformeren, waardoor de omhulling van de pellets intact bleef.

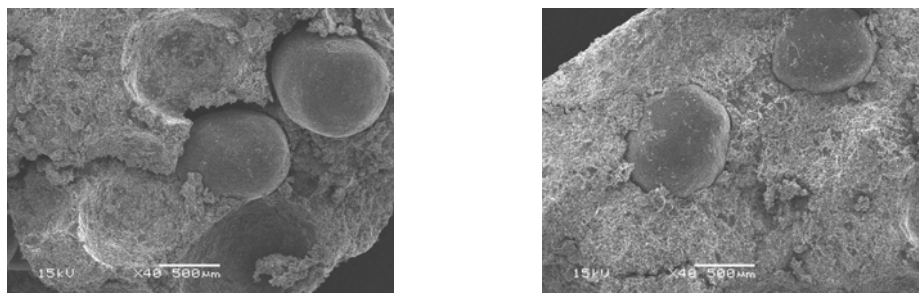


Fig. 4.7: SEM-foto's van een tablet met omhulde pellets (10 % Eudragit L 30 D-55/ FS 30 D) ingebed in de wasmatrix

De yield pressure (P_y) van de waspellets werd bepaald door de pellets alsdusdanig te compacteren en de yield pressure waarde van $3,9 \pm 0,2$ MPa bevestigde het deformerende gedrag van de waspellets. Hoewel Flament et al. (1994) aantoonde dat de geneesmiddelvrijstelling toenam door een daling van de filmdikte of door een stijging van de compactiekracht van 6 tot 12 kN, leidde het variëren van de compactiekracht niet tot beschadiging van de omhulde piroxicampellets.

4.3.2.3 Besluit

Het gebruik van waspellets als vulstof in tabletten op basis van omhulde piroxicampellets zorgde voor voldoende bescherming van de omhulling, onafhankelijk van de aanwezigheid van een flexibel polymeer of van de dikte van de polymeerlaag. Bovendien werden de eigenschappen van tabletten op basis van omhulde pellets en deformeerbare pellets hoofdzakelijk bepaald door de hoeveelheid zacht deformerend materiaal aanwezig in de tablet. Uiteindelijk werden voor verder onderzoek twee tabletformulaties geselecteerd: mengsels met een verhouding omhulde pellets versus waspellets van 40/60 of van 30/70. Als enterische omhulling (Eudragit[®] L 30 D-55/FS 30 D (60/40)) werd voor een gewichtstoename van 10 % gekozen.

4.3.3 Invloed van de pelletgrootte op de tableteigenschappen

El-Mahdi en Deasy (2000) toonden aan dat wanneer 70 % van het tabletgewicht uit hulpstoffen bestond, dit leidde tot grotere variabiliteit in tabletgewicht en geneesmiddelgehalte omwille van ontmenging tussen de hulpstoffen en de omhulde pellets. Dit fenomeen werd eveneens waargenomen door Beckert et al. (1998), die besloten dat segregatie van pellets en poeders kon vermeden worden door minstens 30 % (v/v) pellets te incorporeren. Aangezien minimale segregatie essentieel is om tabletten met een uniform gewicht en gehalte te verkrijgen (Aulton et al., 1994) en aangezien deeltjesgrootte een bepalende parameter is voor het optreden van segregatie (Aulton et al., 1994; Wagner et al., 1999), werd de invloed van de pelletgrootte (315-500 μm en 800-1250 μm) op de tableteigenschappen nagegaan. Ondanks het feit dat steeds geneesmiddel- en waspellets met dezelfde deeltjesgrootte met elkaar werden gecombineerd, was segregatie mogelijk door het verschil in densiteit tussen de waspellets (1,08 g/cm^3) en de omhulde piroxicampellets (1,54 g/cm^3) (Çelik, Maganti, 1994).

Compactie werd uitgevoerd op de excentrische comprimeermachine (EK0, Korsch; 20 kN) waarbij de matrijs werd afgevuld via een vulschoen. Batchgrootte bedroeg 45 tabletten. Elke batch werd in 3 reeksen (A, B, C) verdeeld om veranderingen in functie van de tijd te detecteren. Uniformiteit van gewicht en gehalte van de tabletten, mechanische sterkte en friabiliteit werden bepaald. De desintegratietijd en integriteit van de omhulling werden onderzocht in 0,1 N HCl.

4.3.3.1 Uniformiteit van gewicht en gehalte

Voor elke tabletformulatie werden alle tabletten gewogen en werden de 3 groepen onderling vergeleken via een one-way ANOVA test om na te gaan of in functie van de tijd significante veranderingen optraden. Dit zou immers wijzen op ontmenging. In Tabel 4.5 worden de P-waarden weergegeven. $P < 0.05$ werd aangenomen als significantieniveau. Voor de tabletten op basis van pellets met een deeltjesgrootte 800-1250 μm werd een significante verandering in gewicht gedetecteerd en deze resultaten werden bevestigd door de resultaten van de uniformiteit van gehalte (Tabel 4.5).

Volgens de USP XXIV moet het piroxicamgehalte in harde gelatinecapsules gelegen zijn tussen 92,5 en 107,5 % van het theoretische gehalte.

Tabel 4.5: P-waarden van de one-way ANOVA test op de tabletgewichten.

Pelletgrootte	315-500 µm		800-1250 µm	
CoP/CuP ratio	40/60	30/70	40/60	30/70
Gewicht A ↔ B	0,211	0,946	0,357	0,057
Gewicht A ↔ C	0,178	0,991	< 0,001	< 0,001
Gewicht B ↔ C	0,995	0,981	0,005	< 0,001

De tabletten op basis van de kleinere pellets voldeden aan deze eis, terwijl in het geval van de grotere pellets het vooral de tabletten met een verhouding CoP/CuP 30/70 waren waarvoor de afwijkingen werden gedetecteerd (Tabel 4.6). Deze afwijking was te wijten aan het kleiner aantal pellets met een deeltjesgrootte 800-1250 µm per tablet in vergelijking met de 315-500 µm pellets. Variatie van het aantal pellets in de matrijs zal bovendien meer uitgesproken zijn wanneer slechts 30 % van de pelletmassa bestaat uit omhulde geneesmiddelpellets.

Tabel 4.6: Piroxicamgehalte in de tabletten van reeks A, B en C uitgedrukt als percentage ten opzichte van het theoretische gehalte.

Pelletgrootte	315-500 µm		800-1250 µm	
CoP/CuP ratio	40/60	30/70	40/60	30/70
Gehalte A 1	96 %	100 %	100 %	98 %
A 2	96 %	98 %	99 %	124 %
Gehalte B 1	96 %	96 %	112 %	84 %
B 2	97 %	94 %	97 %	112 %
Gehalte C 1	101 %	96 %	97 %	98 %
C 2	94 %	103 %	95 %	89 %

4.3.3.2 Overige tableteigenschappen

Binnen hetzelfde lot werd geen verandering waargenomen in mechanische sterkte, friabiliteit of desintegratietijd. De tabletsterkte en porositeit worden in Tabel 4.8 weergegeven als het gemiddelde van 6 tabletten met de overeenkomstige standaarddeviatie. Voor de bepaling van de friabiliteit en desintegratietijd werden eveneens 6 tabletten gebruikt.

De mechanische sterkte van de tabletten werd bepaald door de deeltjesgrootte van de pellets (Tabel 4.7). Door hun grotere oppervlakte/volume-verhouding beschikken de kleine pellets over een groter aantal bindingsplaatsen voor consolidatie, waardoor sterkere tabletten worden gevormd met een langere desintegratietijd. De verschillen in desintegratietijd zijn niet te wijten aan een verschil in tabletporositeit. De friabiliteit van de tabletten is niet afhankelijk van de deeltjesgrootte, maar wel van de verhouding omhulde pellets/waspellets. Naarmate de hoeveelheid waspellets toenam, daalde de friabiliteit en nam bovendien de tabletsterkte van de tabletten toe. Het belang van de hoeveelheid waspellets voor de mechanische sterkte van de tablet werd hier opnieuw bevestigd.

Tabel 4.7: Tableteigenschappen

Pelletgrootte	315-500 μm		800-1250 μm	
	40/60	30/70	40/60	30/70
Tabletsterkte (N)	22 $\pm$ 2	30 $\pm$ 3	10 $\pm$ 5	17 $\pm$ 4
Friabiliteit (%)	0.35	0.03	0.17	0.06
Desintegratie (min)	13.0	22.3	4.0	8.3
Porositeit (%)	14.9 $\pm$ 0.8	12.3 $\pm$ 0.7	11.2 $\pm$ 1.5	12.9 $\pm$ 0.8

4.3.3.3 Besluit

Tabletten op basis van enterisch omhulde piroxicampellets, waspellets (beide met een deeltjesgrootte van 315-500 μm) in een verhouding 30/70 en 10 % Kollidon[®] CL worden gekenmerkt door een goede uniformiteit van gewicht en gehalte, lage friabiliteit en een aanvaardbare mechanische sterkte. De desintegratietijd was het

langst (22,3 min) voor de tabletten geformuleerd met de kleine pellets in een verhouding 30/70 en het kortst (4,0 min) voor de grotere pellets in een 40/60 verhouding. Het belang van deze verschillende *in vitro* desintegratietijden voor de biologische beschikbaarheid van piroxicam uit de tabletten wordt besproken in *Hoofdstuk 5*.

4.3.4 Opschaling van twee tabletformulaties

Voor de opschaling van tabletformulaties met een omhulde pellets/waspellets verhouding van 30/70 (315-500 µm) en 40/60 (800-1250 µm) werd gebruik gemaakt van een excentrische tabletteermachine (EK0 Korsch, Berlijn, Duitsland), uitgerust met een automatisch aangedreven vulschoen (20 tabletten/min) en de penetratiediepte van de bovenstempel werd zodanig ingesteld dat een kracht van 18 kN werd verkregen. Er werd een mengsel gemaakt voor 1000 tabletten en de eerste 500 tabletten werden onderzocht.

4.3.4.1 Uniformiteit van gewicht

In functie van het verloop van het compactieproces trad voor beide tabletformulaties geen verandering op in het tabletgewicht (Tabel 4.8).

Tabel 4.8: Gewichten van tabletformulatie A en B per tabletreeks uitgedrukt als gemiddelde ± standaarddeviatie (variatiecoëfficiënt)

	Formulatie A*	Formulatie B**
1-100	647,6 ± 6,0 mg (0,9 %)	607,2 ± 7,2 mg (1,2 %)
101-200	642,8 ± 3,4 mg (0,5 %)	609,5 ± 8,4 mg (1,4 %)
201-300	646,4 ± 4,7 mg (0,7 %)	611,8 ± 11,4 mg (1,9 %)
301-400	648,8 ± 3,7 mg (0,6 %)	608,8 ± 7,6 mg (1,2 %)
401-500	647,8 ± 3,6 mg (0,6 %)	611,8 ± 8,6 mg (1,4 %)
Gemiddelde	646,7 ± 2,3 mg (0,4 %)	610,5 ± 9,7 mg (1,6 %)

*315-500 µm CoP/CuP 30/70; **800-1250 µm CoP/CuP 40/60

De variatie op de gewichten was groter voor de formulatie op basis van de grotere pellets, wat de resultaten van vorige experimenten bevestigde.

Volgens de eis betreffende de gelijkmatigheid van massa voor tabletten uit de Europese Farmacopee (2002, 4^{de} editie) geldt dat niet meer dan 2 eenheden meer dan 5 % mogen afwijken ten opzichte van het gemiddelde tabletgewicht en dat geen enkele eenheid meer dan het dubbele mag afwijken.

Het gewicht van 500 tabletten wordt grafisch weergegeven in Fig. 4.8 en 4.9. De grijze lijn duidt de 5 % grens aan: 614,4 - 679,0 mg voor formulatie A en 579,9 - 641,0 mg.

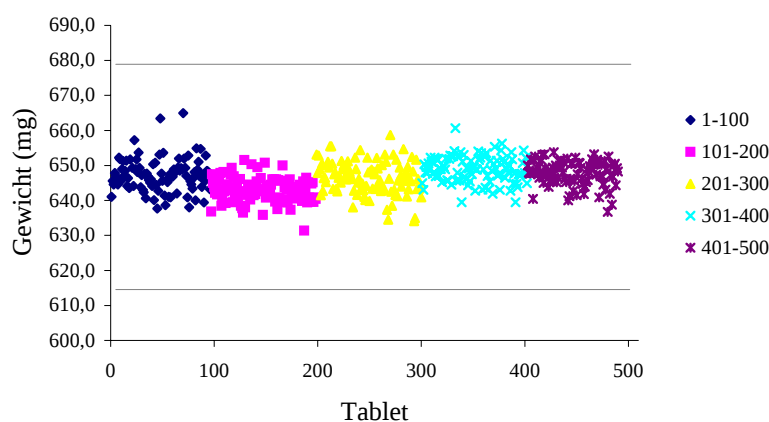


Fig. 4.8: Uniformiteit van gewicht voor tabletten op basis van 315-500 μm pellets en een CoP/CuP verhouding van 30/70 (Formulatie A)

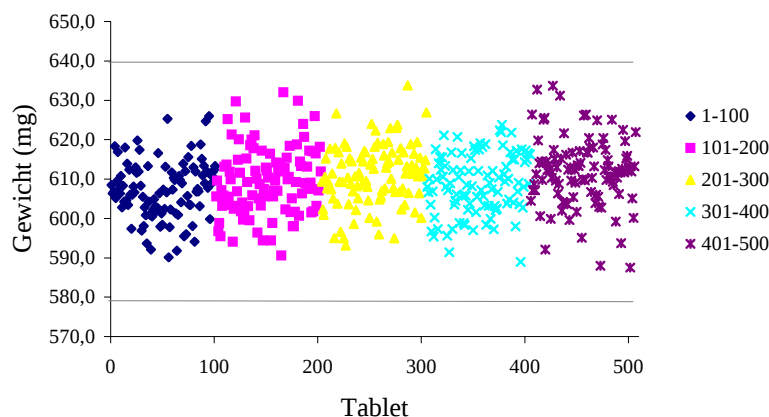


Fig. 4.9: Uniformiteit van gewicht voor tabletten op basis van 800-1250 μm pellets en een CoP/CuP verhouding van 40/60 (Formulatie B)

Uit deze figuren wordt afgeleid dat geen enkele tablet buiten de opgelegde 5 % grens viel, maar dat formulatie A aanleiding gaf tot een veel nauwere gewichtsverdeling.

4.3.4.2 Tableteigenschappen

Voor beide tabletformulaties werd voor elke reeks van 100 tabletten de mechanische sterkte van 10 willekeurige tabletten getest.

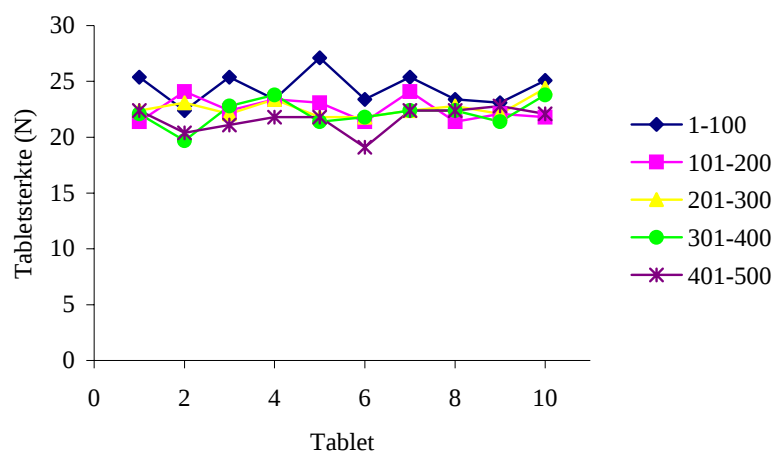


Fig. 4.10: Tabletsterkte van tabletten op basis van 315-500 µm pellets en een CoP/CuP verhouding van 30/70 (Formulatie A) (n=10).

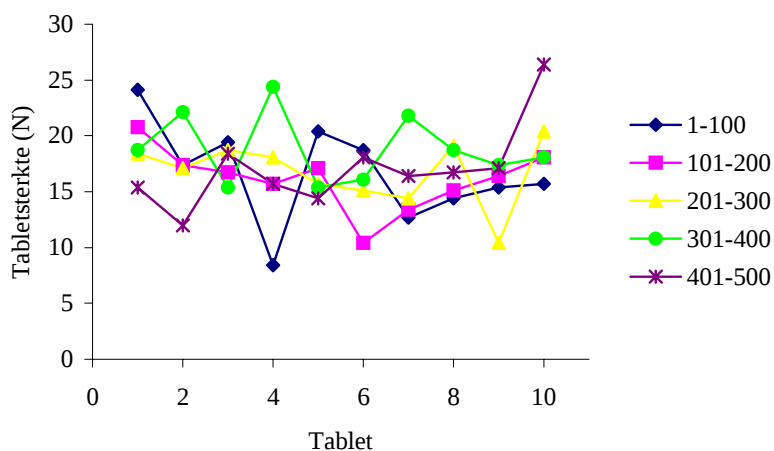


Fig. 4.11: Tabletsterkte van tabletten op basis van 800-1250 µm pellets en een CoP/CuP verhouding van 40/60 (formulatie B) (n=10).

Voor de formulatie B werd -in tegenstelling tot formulatie A- een grote variatie waargenomen in de mechanische sterkte van de tabletten (Fig. 4.10 en 4.11).

De grotere variatie van de tabletgewichten beïnvloedde tijdens het compacteren de uitgeoefende kracht, wat uiteindelijk resulteerde in uiteenlopende tabletsterktes. Het gebruik van kleinere pellets en een grotere overmaat waspellets gaf aanleiding tot sterkere tabletten. Dit werd bevestigd in de resultaten van de friabiliteit. Voor beide formulaties bedroeg de friabiliteit < 1 %, wat voldeed aan de eis van de Europese Farmacopee, maar naar analogie met de mechanische sterkte werd een lagere friabiliteit waargenomen voor de formulatie met de kleinere pellets. Enerzijds beschikken kleinere sfeertjes over een grotere oppervlakte/volume verhouding waardoor tijdens compactie een groter aantal potentiële bindingplaatsen beschikbaar was. Anderzijds werd reeds aangetoond dat de hoeveelheid waspellets in de tablet een bepalende factor was voor tabletsterkte en friabiliteit en in formulatie A is het aandeel van de waspellets groter dan in formulatie B. De toegenomen mechanische sterkte van de tabletten resulteerde ook in een hogere desintegratietijd.

Bovendien ondergingen de friabiliteit en de desintegratietijd in functie van het verloop van het compactieproces geen wijzigingen (Tabel 4.9).

Tabel 4.9: Friabiliteit en desintegratietijd bij opschaling van de tabletten (n=6).

	Formulatie A*		Formulatie B**	
	Friabiliteit (%)	Desintegratie (min)	Friabiliteit (%)	Desintegratie (min)
1-100	0,0	23,9 ± 1,1	0,0	5,6 ± 1,0
101-200	0,0	22,7 ± 3,1	0,2	4,5 ± 0,8
201-300	0,0	25,4 ± 2,2	0,0	4,2 ± 0,7
301-400	0,0	21,3 ± 1,2	0,0	4,7 ± 0,7
401-500	0,0	20,8 ± 3,1	0,1	4,7 ± 0,9

*315-500 µm CoP/CuP 30/70; **800-1250 µm CoP/CuP 40/60

4.3.4.3 In-vitro vrijstelling

Beschadiging van de omhulling veroorzaakt door compactie werd opgespoord door per reeks 6 tabletten te onderwerpen aan een dissolutietest in 0,1 N HCl. Na 2 uur werd voor geen enkele tablet meer dan 10 % piroxicam vrijgesteld (Tabel 4.10).

Tabel 4.10: Piroxicamvrijstelling na 2 uur uit tabletten op basis van omhulde piroxicampellets en waspellets in 0,1 N HCl bij opschaling (n=6).

	Formulatie A*	Formulatie B**
1-100	2,2 ± 0,4 %	0,0 ± 0,0 %
101-200	1,1 ± 0,4 %	0,0 ± 0,0 %
201-300	1,7 ± 0,2 %	0,3 ± 0,3 %
301-400	1,0 ± 0,8 %	0,1 ± 0,2 %
401-500	2,1 ± 0,6 %	0,1 ± 0,2 %

*315-500 µm CoP/CuP 30/70; **800-1250 µm CoP/CuP 40/60

Aangezien de kleinere pellets eenzelfde polymeerbelading hadden als de grotere pellets (10% gewichtstoename), was de filmlaag dunner bij de kleinere pellets (zie *Hoofdstuk 3*) waardoor deze mogelijk gemakkelijker beschadigd wordt. Uit de resultaten van de statistische proefopzet bleek echter dat, door het gebruik van de waspellets als beschermend excipiënt, de dikte en de samenstelling van de polymeerlaag niet de bepalende factoren waren voor het intact blijven van de polymeerfilm. De enigszins hogere piroxicamvrijstelling bij formulatie A was te wijten aan de combinatie van een groter vrij oppervlak en een dunnere filmlaag, waardoor diffusie doorheen de intacte laag sneller verliep dan bij de grotere pellets met een dikkere filmlaag.

De piroxicamvrijstelling uit de tabletten werd eveneens gecontroleerd in fosfaatbuffer pH 6,8. Zoals verwacht werd piroxicam sneller vrijgesteld uit de tabletten op basis van de kleinere pellets (Fig. 4.12 en 4.13). Na desintegratie van de tabletten gedroeg de geneesmiddelvorm zich immers als een multiparticulair systeem waarbij de vrijstelling volledig geregeld werd door de omhulde pellets. In fosfaatbuffer pH 6,8 ging de omhulling snel in oplossing waarna piroxicam via diffusie werd vrijgesteld uit

de pelletkern. Voor beide formulaties werd een lag-tijd van 5 minuten waargenomen waarna de piroxicamvrijstelling startte.

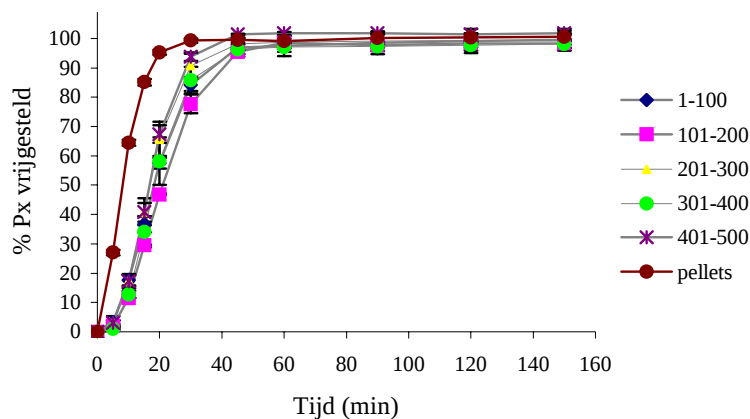


Fig. 4.12: De *in vitro* piroxicamvrijstelling uit tabletten (geproduceerd tijdens opschalingsexperiment) op basis van 315-500 µm pellets en een CoP/CuP verhouding van 30/70 (formulatie A) in fosfaatbuffer pH 6,8 (n=6).

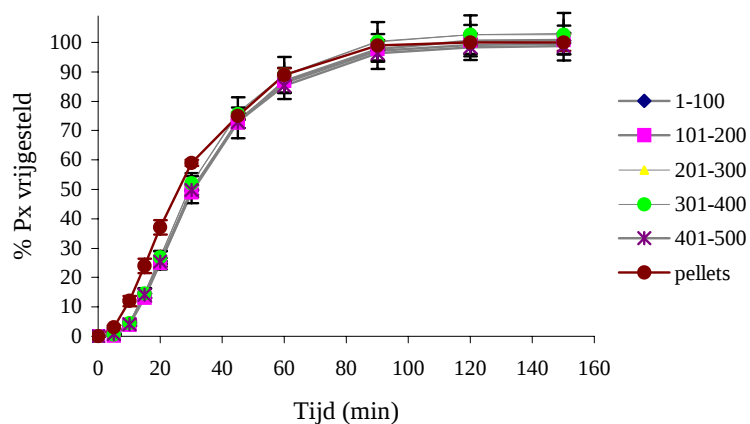


Fig. 4.13: De *in vitro* piroxicamvrijstelling uit tabletten (geproduceerd tijdens opschalingsexperiment) op basis van 800-1250 µm pellets en een CoP/CuP verhouding van 40/60 (formulatie B) in fosfaatbuffer pH 6,8 (n=6).

Voor formulatie A werd binnen elke reeks een maximale hoeveelheid piroxicam vrijgesteld die binnen de 92,5 en 107,5 % (USP XXIV) van het gedeclareerde gehalte valt, terwijl voor formulatie B twee reeksen buiten deze range vallen (Tabel 4.11).

Tabel 4.11: Piroxicamvrijstelling na 150 min. uit omhulde piroxicampellets en tabletten op basis van omhulde piroxicampellets en waspellets in fosfaatbuffer pH 6,8 bij opschaling (n=6).

	Formulatie A*	Formulatie B**
1-100	99,5 ± 3,7 %	99,5 ± 3,7 %
101-200	98,4 ± 0,5 %	100,9 ± 10,2 %
201-300	99,2 ± 2,3 %	103,1 ± 7,0 %
301-400	98,2 ± 1,5 %	102,7 ± 2,9 %
401-500	101,9 ± 0,7 %	98,8 ± 1,9 %
pellets	100,6 ± 1,3 %	100,0 ± 2,9 %

*315-500 µm CoP/CuP 30/70; **800-1250 µm CoP/CuP 40/60

4.3.4.4 Besluit

Na opschaling van het compactieproces op een excentrische tabletteermachine werd besloten dat de formulatie op basis van omhulde pellets met een deeltjesgrootte van 315-500 µm en een verhouding waspellets ten opzichte van omhulde pellets van 70/30 werd gekenmerkt door een betere uniformiteit van gewicht, mechanische sterkte, friabiliteit, desintegratietijd en vrijstelling dan de tabletten met de grotere pellets in een verhouding 40/60.

4.3.5 Stabiliteitsstudie bij kamertemperatuur

De stabiliteitsstudie werd enkel uitgevoerd bij kamertemperatuur en niet bij verhoogde temperatuur omwille van de aanwezigheid van wasachtige bestanddelen

4.3.5.1 Tableteigenschappen

Na 9 maanden bewaring werd geen verandering van de mechanische sterkte van de tabletformulaties waargenomen (Fig. 4.14 en 4.15).

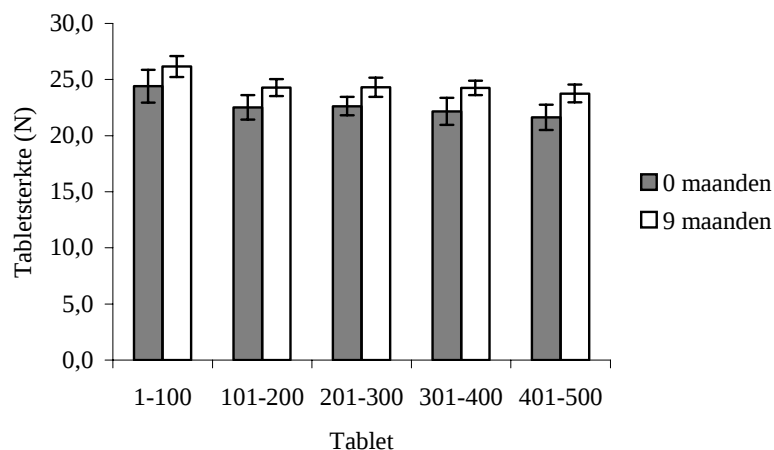


Fig. 4.14: Tabletsterkte van de tabletten op basis van 315-500 μm pellets en een CoP/CuP verhouding van 30/70 (formulatie A) (n=10). Tabletten werden gedurende 9 maanden bewaard bij kamertemperatuur.

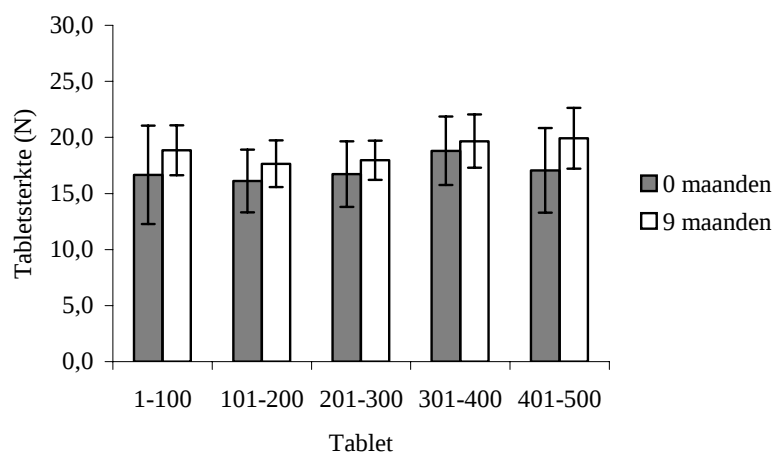


Fig. 4.15: Tabletsterkte van de tabletten op basis van pellets 800-1250 μm en een CoP/CuP verhouding 40/60 (formulatie B) (n=10). Tabletten werden gedurende 9 maanden bewaard bij kamertemperatuur.

In functie van de tijd nam de friabiliteit van tabletformulatie B toe maar deze tabletten bleven onder de maximale waarde voor friabiliteit vooropgesteld in de Europese Farmacopee ($< 1\%$) (Fig. 4.16). De desintegratietijd van beide formulaties bleef ongewijzigd tijdens de stabiliteitsstudie.

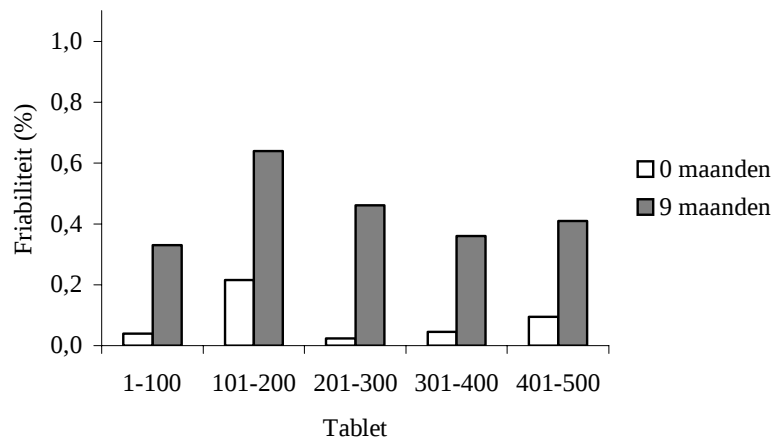


Fig. 4.16: Friabiliteit van de tabletten op basis van 800-1250 μm pellets en een CoP/CuP verhouding van 40/60 (formulatie B) (n=6). Tabletten werden gedurende 9 maanden bewaard bij kamertemperatuur.

4.3.5.2 In-vitro vrijstelling

Omwille van de grotere gewichtsvariatie, de hogere friabiliteit (die bovendien steeg in functie van de tijd) en de lagere tabletsterkte in vergelijking met formulatie A werd formulatie B niet opgenomen in de dissolutietesten.

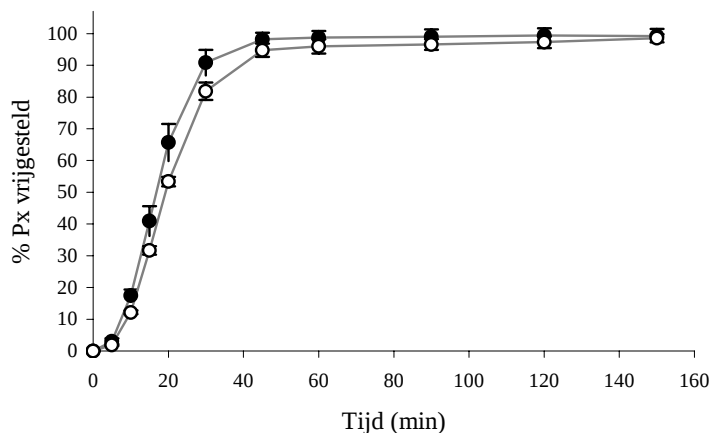


Fig. 4.17: Piroxicamvrijstelling van de tabletten op basis van pellets 315-500 μm en een CoP/CuP verhouding 30/70 (formulatie A): in fosfaatbuffer pH 6,8 (n=6) ● 0 maanden; ○ 9 maanden

Na 9 maanden bewaring werd tijdens dissolutie in 0,1 N HCl in geen enkele bokaal meer dan 10 % piroxicam vrijgesteld uit de tabletformulatie A.

De piroxicamvrijstelling in fosfaatbuffer pH 6.8 was na 9 maanden analoog met de vrijstelling onmiddellijk na productie (Fig. 4.17). De totale hoeveelheid piroxicam vrijgesteld na 150 min. bedroeg respectievelijk $99,2 \pm 2,3$ en $98,5 \pm 1,3$ %.

4.3.5.3 *Besluit*

Voor tabletten op basis van pellets 315-500 μm en een verhouding omhulde piroxicampellets en waspellets van 30/70 (formulatie A) trad na 9 maanden bewaring bij kamertemperatuur geen verandering op van de tabletsterkte, de desintegratietijd en het vrijstellingsprofiel. De friabiliteit van de tabletten nam enkel toe voor formulatie B, maar bleef lager dan de limiet gesteld in de Europese Farmacopee (1%)

4.3.6 Invloed van stempelvorm en -diameter op de compressie- en tableteigenschappen

De invloed van de stempelvorm (vlak of concaaf) en de stempeldiameter (4; 9,5 of 12 mm) op de compressie-eigenschappen van tabletformulatie A werd onderzocht. Tabletten worden gecomprimeerd bij 3 drukniveaus met een snelheid van 5 mm/s (zaagtandprofiel) met de compactiesimulator (PCS, Puuman, Kuopio, Finland).

Via Heckel-analyse wordt de “yield pressure” (P_y) bepaald. Op basis van de kracht-verplaatsingsdata geregistreerd tijdens compactie werd het elastisch herstel (% ER) berekend. Om de tabletsterkte van tabletten met een verschillende diameter te vergelijken wordt de treksterkte (TS) van de tabletten berekend (in MPa) uit de mechanische tabletsterkte (in N).

Compactie van het pelletmengsel tot tabletten met een diameter van 4 mm was niet reproduceerbaar (Fig. 4.18). Kleine variaties in tabletgewicht resulteerden in grote veranderingen van de compressedruk voor dezelfde experimentele instellingen.

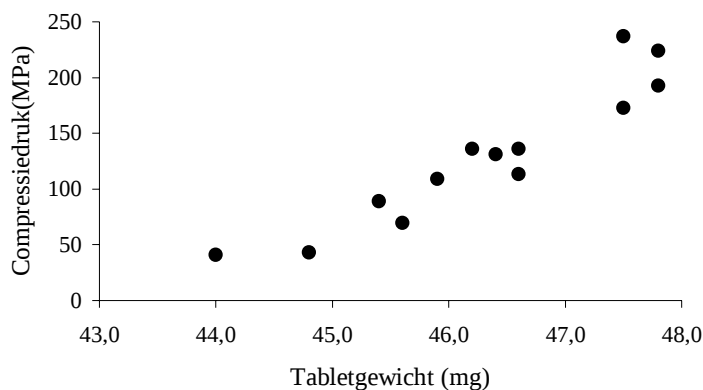


Fig. 4.18: Verband tussen compressedruk en tabletgewicht voor vlakke tabletten met diameter 4 mm bij een dezelfde stempelverplaatsing.

4.3.6.1 Elastisch herstel

Elastisch herstel of elastic recovery (% ER) wordt gedefinieerd als de axiale expansie van een compact bij ejectie uit de matrijs ten opzichte van de tabletdikte bij maximale druk in de matrijs (Wang et al., 1995) en is maat voor de viscoelastische eigenschappen van het materiaal (Wang et al., 1995; Maganti, Çelik, 1993). Om een robuuste tablet te vormen wordt de voorkeur gegeven aan minimale elastische eigenschappen (Armstrong, 2002). Elastisch herstel veroorzaakt immers een reductie van de sterkte van de interparticulaire bindingen, voornamelijk op het zwakste punt van de tablet (met name juist onder het tabletoppervlak). In de praktijk zorgt een uitgesproken elastisch herstel voor capping of laminatie. Elastisch herstel werd berekend met behulp van de volgende formule:

$$\%ER = \frac{(H_e - H_c)}{H_c} \times 100$$

met H_e de dikte van de tablet na ejectie, H_c de dikte van de tablet in de matrijs (“in die”) bij maximale kracht

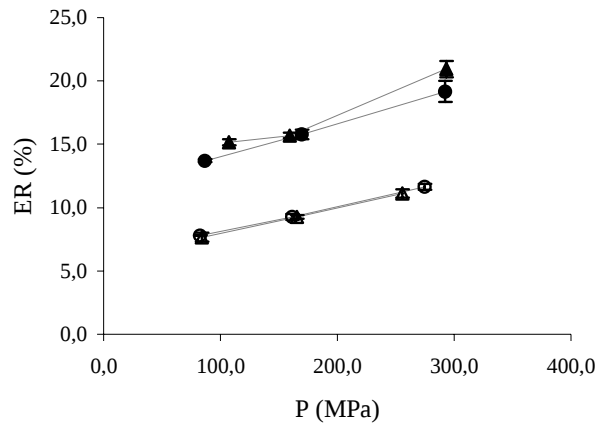


Fig. 4.19: Invloed van stempelvorm- en diameter op het elastisch herstel in functie van de druk (n=3).
 ● 9,5 mm vlak; ○ 9,5 mm concaaf, ▲ 12 mm vlak; △ 12 mm concaaf.

Statistische analyse via lineaire regressie toonde aan dat druk en stempelvorm een significante invloed hadden op het elastische herstel ($ER = 12,12 - 6,93 \times \text{vorm} + 0,025 \times \text{druk}$; $R^2 = 0,981$, standard error on estimate (s) = 0,67).

Een toename van de compactiedruk zorgde voor een stijging van het elastisch herstel (Fig. 4.19). Het elastisch herstel was bovendien kleiner voor de concave stempels dan voor de vlakke stempels. De diameter van de stempels had geen invloed op het elastisch herstel.

4.3.6.2 Yield pressure

Statistische analyse via lineaire regressie toonde aan dat enkel de stempelvorm een significante invloed had op de yield pressure ($P_y = 17,27 + 19,70 \times \text{vorm}$, $R^2 = 0,967$, s = 1,99).

De yield pressure (P_y) werd bepaald door de stempelvorm, maar was onafhankelijk van de uitgeoefende druk en de stempeldiameter (Fig. 4.20). Voor de vlakke stempels bedroeg de yield pressure ongeveer de helft van deze voor de concave stempels, waaruit zou kunnen geconcludeerd worden dat het materiaal zich anders gedroeg afhankelijk van de vorm van de stempel. Immers, de yield pressure is een kwantitatieve maat voor het compressiegedrag van vast materiaal. Een lage yield pressure wijst op deformatie als belangrijkste volumereductiemechanisme. Volgens Duberg en Nyström (1986) beschrijft deze waarde het totale deformatiegedrag d.w.z.

zowel de plastische als de elastische deformatie, waardoor een elastische component aanleiding kan geven tot “vals” lage in-die P_y waarden (Nyström et al., 1993; Sun, Grant, 2001). De elastische eigenschappen van het materiaal werden reeds geëvalueerd aan de hand van het elastisch herstel ER (%) (Fig. 4.19), waarbij een duidelijk verschil in elastisch gedrag werd gedetecteerd op basis van de kromming van de stempel. Vlakke stempels gaven aanleiding tot een groter elastisch herstel en dit vertaalde zich in een hogere yield pressure.

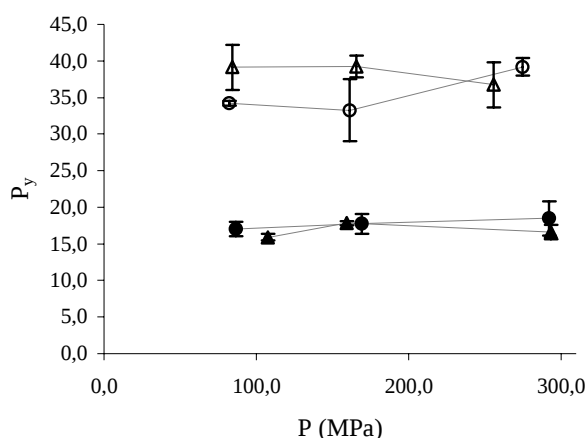


Fig. 4.20: Invloed van stempelvorm- en diameter op de “yield pressure” (P_y) ($n=3$). ● 9,5 mm vlak; ○ 9,5 mm concaaf, ▲ 12 mm vlak; △ 12 mm concaaf

4.3.6.3 Tabletsterkte

Zoals reeds werd vermeld kan de tabletsterkte beïnvloed worden door elastische deformatie van het gecompacteerd materiaal. Statistische analyse via lineaire regressie toonde aan dat in eerste instantie de druk een significante invloed had op de tabletsterkte, maar dat ook de stempelvorm in zekere mate de tabletsterkte beïnvloedde ($TS = 0.254 + 0.0005 \times \text{druk} + 0.0234 \times \text{vorm}$; $R^2 = 0,889$, $s = 0,16$). Tabletdiameter was niet bepalend voor de mechanische sterkte van de tablet.

De vlakke tabletten vertoonden een groter elastisch herstel (Fig. 4.19) dan de convexe tabletten, maar dit resulteerde niet in een evenredige daling van de treksterkte (Fig. 4.21). Voor de vlakke tabletten ligt de TS lager dan voor de convexe tabletten. Pinto et al. (1997a) en Pinto en Newton (1998) rapporteerden echter een daling van de

treksterkte voor convexe tabletten in vergelijking met vlakke tabletten. Ze veronderstelden dat de oorzaak van de daling van de tabletsterkte met toenemende kromming van de stempels lag in een gewijzigde distributie van de uitgeoefende kracht in het pelletbed, waardoor de bindingen tussen de sfeertjes in het convexe deel van de tablet zwakker waren dan in de centrale cilinder.

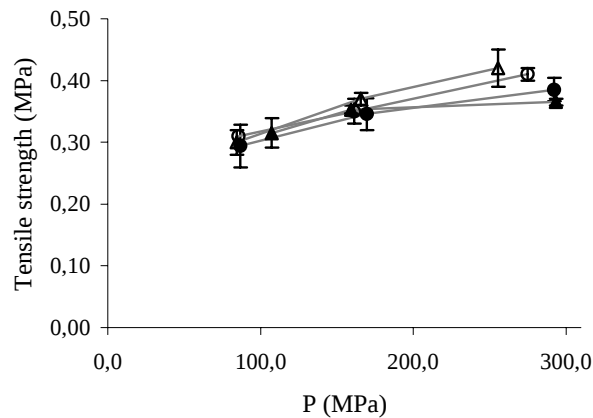


Fig. 4.21: Invloed van stempelvorm- en diameter op de treksterkte (n=3). ● 9,5 mm vlak; ○ 9,5 mm concaaf, ▲ 12 mm vlak; △ 12 mm concaaf.

4.3.6.4 Strain rate sensitivity index

Het viscoelastisch gedrag van deformerend materiaal zorgt ervoor dat de tijd gedurende dewelke de compressiedruk wordt uitgeoefend bepalend is voor de fysische sterkte van de tablet (Armstrong, 2002). Een indicatie van de tijdsafhankelijkheid van het compressieproces wordt verkregen met de volgende vergelijking voor de strain rate sensitivity index (Habib et al., 2002; Roberts, Rowe, 1985):

$$SRS = \frac{P_{y2} - P_{y1}}{P_{y2}} \times 100$$

met P_{y2} de yield pressure bepaald bij een lage stempelsnelheid (5 mm/s) en P_{y1} de yield pressure bepaald bij een hoge stempelsnelheid (100 mm/s)

Daarnaast stellen Maganti en Çelik (1993) de volgende formule voor om de relatieve verandering in treksterkte onder invloed van de stempelsnelheid te berekenen:

$$B(\%) = \frac{TS_2 - TS_1}{TS_2} \times 100$$

met TS_2 de treksterkte bepaald bij een lage stempelsnelheid (5 mm/s) en TS_1 de treksterkte bepaald bij een hoge stempelsnelheid (100 mm/s)

Tabel 4.12: Yield pressure en treksterkte waarden voor tabletten gecompacteerd bij verschillende stempelsnelheden

	Yield pressure		Treksterkte (MPa)		SRS	B
	5 mm/s	100 mm/s	5 mm/s	100 mm/s	(%)	(%)
12 mm V	16,5	10,0	0,35	0,24	39,6	31,1
12 mm C	36,1	34,6	0,28	0,22	4,14	19,4

Uit Tabel 4.12 wordt afgeleid dat bij gebruik van concave stempels het compressiegedrag en de tabletsterkte minder afhankelijk zijn van de stempelsnelheid dan bij gebruik van vlakke stempels.

4.3.6.5 Besluit

De diameter van de stempels, gebruikt voor het compacteren van het omhulde piroxicampellet/waspellet mengsel (30/70, 315-500 µm), heeft geen invloed op het compressiegedrag (yield pressure), het elastische herstel of de sterkte van de resulterende tabletten. Voor de aangewende formulatie kunnen enkel tabletten met een diameter van 9,5 of 12 mm op reproduceerbare wijze gemaakt worden.

De kromming van de stempels is wel een bepalende factor waarbij het gebruik van concave stempels aanleiding geeft tot een grotere yield pressure, een lager elastisch herstel, een geringere invloed van de stempelsnelheid op tabletsterkte en op het compressiegedrag.

Op basis van deze resultaten wordt het gebruik van concave stempels met een voldoende grote diameter aangeraden voor het compacteren van een pelletmengsel (315-500 µm) op basis van een verhouding enterisch omhulde piroxicampelleten en waspellets van 30/70.

4.4 Besluit

Enterisch omhulde piroxicampellets kunnen gecompacteerd worden tot tabletten met behulp van placebo waspellets (Paracera[®] P/DDCS/Kollidon[®] CL, 50/33,3/16,7; g/g), die optreden als “cushioning” pellets en de polymeerfilm beschermen tegen beschadiging tijdens compactie. Het toevoegen van 10 % Kollidon[®] CL resulteert in een snelle desintegratie van de tabletten in 0,1 N HCl. De hoeveelheid waspellets en de deeltjesgrootte van de pellets zijn bepalend voor de tabletsterkte, friabiliteit en desintegratietijd. Pellets met een deeltjesgrootte van 315-500 µm en een verhouding omhulde pellets/waspellets van 30/70 geven aanleiding tot tabletten met een nauwere gewichtsspreiding en met een hogere tabletsterkte en lagere friabiliteit in vergelijking met pellets met een deeltjesgrootte van 800-1250 µm en een 40/60 verhouding. Via *in vivo* experimenten zal worden onderzocht of de geobserveerde verschillen qua *in vitro* desintegratietijd invloed hebben op de biologische beschikbaarheid van het geneesmiddel. De samenstelling en de dikte van de aangebrachte polymeerfilm hebben geen invloed op de uiteindelijke tableteigenschappen. Het gebruik van concave stempels is aangewezen om het effect van stempelsnelheid op de tabletsterkte en de compressie-eigenschappen te minimaliseren.

4.5 Referenties

Altaf S.A., Hoag S.W., Ayres J.W., 1999. Bead compacts. II. Evaluation of rapidly disintegrating nonsegregating compressed bead formulations. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 25, 635-642.

Armstrong N.A., 2002. Tablet Manufacture. In: Swarbrick, J.; Boylan, J.C. (Eds.) *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* second edition, volume 3, Marcel Dekker, New York, pp 2713-2732.

Aulton M.E., Dyer A.M., Khan K.A., 1994. The strength and compaction of millispheres: The design of a controlled-release drug delivery system for ibuprofen in

the form of a tablet comprising compacted polymer-coated millispheres. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 20, 3069-3104.

Bécharde S.R., Leroux J.C., 1992. Coated pelletized dosage form: effect of compaction on drug release. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 18, 1927-1944.

Beckert T.E., Lehmann K., Schmidt P.C., 1996. Compression of enteric-coated pellets to disintegrating tablets. *Int. J. Pharm* 143, 13-23.

Beckert T.E., Lehmann K., Schmidt P.C., 1998. Compression of enteric-coated pellets to disintegrating tablets: uniformity of dosage units. *Powder Technol.* 96, 248-254.

Bodmeier R., 1997. Tableting of coated pellets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 43, 1-8.

Çelik M., Maganti L., 1994. Formulation and compaction of microspheres. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 20, 3151-3173.

Çelik M., Okutgen E., 1993. A feasibility study for the development of a prospective compaction functionality test and the establishment of a compaction data bank. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 19, 2309-2334.

Duberg M., Nyström C., 1986. Porosity-pressure curves for characterization of volume reduction mechanisms in powder compression. *Powder Technol.* 46, 67-75.

El-Mahdi I.M., Deasy P.B., 2000. Tableting of coated ketoprofen pellets. *J. Microencapsulation* 17, 133-144.

Felton L.A., Shah N.H., Zhang G., Infeld M.H., Malick A.W., McGinity J.W., 1997. Compaction properties of individual nonpareil beads coated with an acrylic resin copolymer. *S.T.P. Pharm. Sci.* 7, 457-462.

Flament M-P., Leterme P., Gayot A., Gendrot E., Bruna E., Cousin G., 1994. Development and industrial scale-up of tablets containing modified-release pellets. *Pharm. Tech. Eur.* 6, 19-25.

Habib Y.S., Augsburger L.L., Shangraw R.F., 2002. Production of inert cushioning beads: effect of excipients on the physicochemical properties of freeze-dried beads containing microcrystalline cellulose produced by extrusion spheronisation. *Int. J. Pharm.* 233, 67-83.

Haslam J.L., Forbes A.E., Rork G.S., Pipkin T.L., Slade D.A., Khosravi D., 1998. Tableting of controlled release multiparticulates, the effect of millisphere size and protective overcoating. *Int. J. Pharm.* 173, 233-242.

Haubitz H., Mehnert W., Frömming K-H., 1996. Preparation of theophylline multiple units tablets. *Pharm. Ind.* 58, 83-86.

Heinämäki J.T., Ojantakanen S.S., Hellén L.M., Yliruusi J.K., 1995. Formulation and evaluation of multiple-unit compacts of sustained-release resin-coated pellets. *Pharm. Ind.* 57, 68-71.

Johansson B., Alderborn G., 1996. Degree of pellet deformation during compaction and its relationship to the tensile strength of tablets formed of microcrystalline cellulose pellets. *Int. J. Pharm.* 132, 207-220.

Johansson B., Alderborn G., 2001. The effect of shape and porosity on the compression behaviour and tablet forming ability of granular materials formed from microcrystalline cellulose. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 52, 347-357.

Johansson B., Nicklasson F., Alderborn G., 1998. Effect of pellet size on degree of deformation and densification during compression and on compactibility of microcrystalline cellulose pellets. *Int. J. Pharm.* 163, 35-48.

Johansson B., Wikberg M., Ek R., Alderborn G., 1995. Compression behaviour and compactability of microcrystalline cellulose pellets in relationship to their pore structure and mechanical properties. *Int. J. Pharm.* 117, 57-73.

Kiekens F., Debunne A., Vervaet C., Baert L., Vanhoutte F., Van Assche I., Menard F., Remon J.P. Influence of the Punch Diameter and Curvature on the yield Pressure of MCC-Compacts during Heckel Analysis. Eur. J. Pharm. Sci. (in press).

Lehmann K., 1984. Formulation of controlled release tablets with acrylic resins. Acta Pharm. Fenn. 93, 55-74.

Lehmann K., Petereit H.-U., Dreher D., 1993. Schnellzerfallende tabletten mit gesteuerter wirkstoffabgabe. Pharm. Ind. 55, 940-947.

Li L.C., Peck G., 1990. The effect of agglomeration methods on the micromeritic properties of a maltodextrin product Maltrin 150. Drug Dev. Ind. Pharm. 16, 1491-1503.

López-Rodríguez F.J., Torrado J.J., Torrado S., Escamilla C., Cadorniga R., Augsburger L.L., 1993. Compression behavior of acetylsalicylic acid pellets. Drug Dev. Ind. Pharm. 19, 1369-1377.

Lundqvist A.E.K., Podczek F., Newton J.M., 1997. Influence of disintegrant type and proportion on the properties of tablets produced from mixtures of pellets. Int. J. Pharm. 147, 95-107.

Lundqvist A.E.K., Podczek F., Newton J.M., 1998. Compaction of and drug release from coated drug pellets mixed with other pellets. Eur. J. Pharm. Biopharm. 46, 369-379.

Maganti L., Çelik M., 1994. Compaction studies on pellets II. Coated pellets. Int. J. Pharm. 103, 55-67.

Maganti L., Çelik M., 1993. Compaction studies on pellets I. Uncoated pellets. Int. J. Pharm. 95, 29-42.

Massart D.L., Vandeginste B.G.M., Buydens L.M.C., De Jong S., Lewi P.J., Smeyers-Verbeke J., 1997. D-optimal designs. In: Vandeginste B.G.M., Rutan S.C. (Eds.)

Handbook of Chemometrics and Qualimetrics Part A, Elsevier, Amsterdam, pp. 722-726.

Mount D.L., Schwartz J.B., 1996. Formulation and compaction of nonfracturing deformable coated beads. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 22, 609-621.

Nicklasson F., Alderborn G., 1999. Modulation of the tableting behaviour of microcrystalline cellulose pellets by the incorporation of polyethylene glycol. *Eur. J. Pharm. Sci.* 9, 57-65.

Nicklasson F., Johansson B., Alderborn G., 1999a. Occurrence of fragmentation during compression of pellets prepared from a 4 to 1 mixture of dicalcium phosphate dihydrate and microcrystalline cellulose. *Eur. J. Pharm. Sci.* 7, 221-229.

Nicklasson F., Johansson B., Alderborn G., 1999b. Tableting behaviour of pellets of a series of porosities-a comparison between pellets of two different compositions. *Eur. J. Pharm. Sci.* 8, 11-17.

Nyström C., Alderborn G., Duberg M., Karehill P-G., 1993. Bonding surface area and bonding mechanism – Two important factors for the understanding of powder compactability. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 19, 2143-2196.

Palmieri G.F., Wehrle P., Martelli S., 1996. Drug release from compressed Eudragit RS 30 D coated beads. *S.T.P. Pharm. Sci.* 6, 118-121.

Pinto J.F., Newton J.M., 1998. Preparation of rapid disintegrating tablets from pellets produced by extrusion and spheronisation. *Proceedings of World Congress on Particle Technology, IchemE*, 3, 95.

Pinto J.F., 1994. Formulation and tableting of controlled release pellets produced by extrusion-spheronisation. *Ph. D. Thesis. University of London.*

Pinto J.F., Podczek F., Newton J.M., 1997a. Investigations of tablets prepared from pellets produced by extrusion and spheronisation Part I: The application of canonical

analysis to correlate the properties of the tablets to the factors studied in combination with principal component analysis to select the most relevant factors. *Int. J. Pharm.* 147, 79-93.

Pinto J.F., Podczek F., Newton J.M., 1997b. Investigations of tablets prepared from pellets produced by extrusion and spheronisation. II. Modeling the properties of the tablets produced using regression analysis. *Int. J. Pharm.* 152, 7-16.

Pitt K. G., Newton J.M., Richardson R., Stanley P., 1989. The material tensile strength of convex-faced aspirin tablets. *J. Pharm. Pharmacol.* 41, 289-292.

Riepma K.A., Vromans H., Zuurman K., Lerk C.F., 1993. The effect of dry granulation on the consolidation and compaction of crystalline lactose. *Int. J. Pharm.* 97, 29-38.

Roberts R.J., Rowe R.C., 1985. The effect of punch velocity on the compaction of a variety of materials. *J. Pharm. Pharmacol.* 37, 377-384.

Salako M., Podczek F., Newton J.M., 1998. Investigations into the deformability and tensile strength of pellets. *Int. J. Pharm.* 168, 49-57.

Sarisuta N., Punpreuk K., 1994. In vitro properties of film-coated diltiazem hydrochloride pellets compressed into tablets. *J. Contr. Release* 31, 215-222.

Schwartz J.B., Nguyen N.H., Schnaare R.L., 1994. Compaction studies on beads: Compression and consolidation parameters. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 20, 3105-3129.

Torrado J.J., Augsburger L.L., 1994. Effect of different excipients on the tableting of coated pellets. *Int. J. Pharm.* 106, 149-155.

Tunón A., Alderborn G., 2001. Granule deformation and densification during compression of binary mixtures of granules. *Int. J. Pharm.* 222, 65-76.

Tunón Å., Gråsjö J., Alderborn G., 2003. Effect of intragranular porosity on compression behaviour of and drug release from reservoir pellets. *Eur. J. Pharm. Sci.* 19, 333-344.

Vergote G.J., Kiekens F., Vervaet C., Remon J.P., 2002. Wax beads as cushioning agents during the compression of coated diltiazem pellets. *Eur. J. Pharm. Sci.* 17, 145-151.

Wagner K.G., Krumme M., Beckert T.E., Schmidt P.C., 2000a. Development of disintegrating multiple-unit tablets on a high-speed rotary tablet press. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 50, 285-291.

Wagner K.G., Krumme M., Schmidt P.C., 1999. Investigation of the pellet-distribution in single tablets via image analysis. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 47, 79-85.

Wagner K.G., Krumme M., Schmidt P.C., 2000b. Pellet-containing tablets. Examination of distribution and deformation behaviour. *S.T.P. Pharm. Sci.* 10, 327-334.

Wang C., Zhang G., Shah N.H., Infeld M.H., Malick A.W., McGinity J.W., 1995. Compaction properties of spheronised binary granular mixtures. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 21, 753-779.

Yao T., Yamada M., Yamahara H., Yoshida M., 1997. Tableting of coated particles. I. Small particle size chitosan as an agent protecting coating membrane from chemical damage of compression force. *Chem. Pharm. Bull.* 49, 1510-1514.

Yao T., Yamada M., Yamahara H., Yoshida M., 1998. Tableting of coated particles. II. Influence of particle size of pharmaceutical additives on protection of coating membrane from mechanical damage during compression process. *Chem. Pharm. Bull.* 46, 826-830.

Yuasa H., Takashima Y., Omata T., Kanaya Y., 2001. Studies on stress dispersion in tablets III. Suppression of fracture of coated film by an excipient during the preparation of tablets containing coated particles. S.T.P. Pharm. Sci. 11, 221-227.

5.1 Inleiding

Voor de bepaling van piroxicam in biologische matrices (plasma, serum, urine) werden diverse methodes beschreven. Naast het gebruik van “eerste afgeleide” spectrofotometrie voor de simultane bepaling van piroxicam en 5'-hydroxypiroxicam in humaan plasma (Klopas et al., 1998; Ródenas et al., 1998), van fluorometrie voor de bepaling van 2-aminopyridine na sterk zure hydrolyse van piroxicam in plasma van ratten (Said, Foda, 1989) en van dunnelaag chromatografie (HPTLC) voor de bepaling van piroxicam en metabolieten in de urine van honden, ratten en rhesusapen (Hobbs, Twomey, 1980) werd hoofdzakelijk hoge druk vloeistofchromatografie (HPLC) gebruikt voor het kwantificeren van piroxicam in biologische stalen.

De bepaling van piroxicam in plasma gebeurde steeds via “reversed-phase” hoge druk vloeistofchromatografie (RP-HPLC) en werd beschreven voor humane plasmastalen waarbij de staalvoorbereiding gebeurde via vloeistof-vloeistof extractie (Wanwimolruk et al., 1991; Edno et al., 1995; Piscitelli et al., 1998), via vaste fase extractie (Saeed, Becher, 1991; Yritia et al., 1999) of zonder extractie (Macek, Vácha, 1987; Michotte et al., 1991; Avgerinos et al., 1995). Bij sommige methodes werd de belangrijkste metaboliet van piroxicam, 5'-hydroxypiroxicam, simultaan bepaald, en dit zowel in humane plasmastalen (Twomey et al., 1980; Boudinot, Ibrahim, 1988) als in plasma van honden (Gillilan, Fu, 1989; Galbraith, McKellar, 1991; Sumano et al., 1996), ratten (Gillilan, Fu, 1989) en konijnen (Tsai et al., 1985). Andere methodes lieten toe om naast piroxicam ook andere oxicom-verbindingen te bepalen zoals tenoxicam (Benveniste et al., 1990) en droxicam (Maya et al., 1995).

Het meest gebruikte kolomtype voor de HPLC bepalingsmethode was een octadecylsilica (C-18) kolom (Fraser, Woodbury, 1983; Tsai et al., 1985; Richardson et al., 1986; Boudinot, Ibrahim, 1988; Galbraith, McKellar, 1991; Mueller et al., 1992; Cerretani et al., 1993; Troconiz et al., 1993; Avgerinos et al., 1995; de Jager et al., 1999). Daarnaast werd ook melding gemaakt van cyanopropyl (CN) kolommen (Twomey et al., 1980; Richardson et al., 1986; Macek, Vácha, 1987; Benveniste et al., 1990; Michotte et al., 1991; Wanwimolruk et al., 1991; Milligan, 1992; Milligan et al., 1993) en in minder mate van octylsilica (C-8) kolommen (Gillilan, Fu, 1989; Edno

et al., 1995; Sumano et al., 1996) voor de analyse van piroxicam in biologische matrixen. CN stationaire fasen worden niet aangeraden voor “reversed phase” chromatografie omdat in aanwezigheid van water deze groepen gemakkelijk hydrolyseren waardoor de levensduur van de kolom verkort. Eén enkel studie rapporteerde het gebruik van een type B “reversed phase” kolom waardoor geen interactie tussen de basische component en de resterende silanolgroepen van het pakkingsmateriaal van de kolom mogelijk was (Maya et al., 1995). Als mobiele fase werd gebruik gemaakt van mengsels van een waterige fase (water of buffer) en een organische fase bestaande uit één of meerdere organische solventen (“modifiers”) zoals acetonitrile, methanol of tetrahydrofuraan. In de meeste gevallen werd geopteerd voor een zure mobiele fase met een pH tussen 2 en 3,5. Deze lage pH werd o.a. verkregen door het gebruik van ijsazijn (1%) (Richardson et al., 1986) of azijnzuur tot 7 % (Twomey et al., 1980; Tsai et al., 1985; Gillilan, Fu, 1989; Benveniste et al., 1990; Cerretani et al., 1993; Troconiz et al., 1993; Maya et al., 1995; Sumano et al., 1996). In twee uitzonderlijke gevallen werd gebruik gemaakt van een alkalische mobiele fase (fosfaatbuffer pH 8) (Edno et al., 1995; Boudinot, Ibrahim, 1988). Om “tailing” van de piroxicampiek te reduceren werd in sommige gevallen gebruik gemaakt van triëthylamine (Benveniste et al. 1990) of van anionogene detergenten zoals 1-heptaansulfonzuur (Galbraith, McKellar, 1991; Cerretani et al., 1993) en natriumoctylsulfonaatbuffer (Richardson et al., 1986).

Detectie gebeurde bijna uitsluitend via UV-Vis spectrofotometrie (golflengte tussen 330 en 365 nm). Als alternatief werd gebruik gemaakt van een elektrochemische detector in amperometrische mode (de Jager et al., 1999).

De staalvoorbereiding bestond meestal uit aanzuring van de stalen (voornamelijk met behulp van 1M HCl) gevolgd door een vloeistof-vloeistof extractie waarbij diëthylether (Twomey et al., 1980; Tsai et al., 1985; Richardson et al., 1986; Gillilan, Fu, 1989; Milligan, 1992; Milligan et al., 1993) en methyl *tert*.-butylether (Gillilan, Fu, 1989; Sumano et al., 1996) de meest gebruikte extractievloeistoffen zijn. Daarnaast werd in mindere mate gebruik gemaakt van dichloormethaan (Edno et al., 1995; Maya et al., 1995), een dichloormethaan/hexaan mengsel (de Jager et al. 1999), chloroform (Fraser, Woodbury, 1983) of methyleenchloride (Boudinot, Ibrahim, 1988). In plaats van extractie werd soms geopteerd voor uitsluitend eiwitprecipitatie met behulp van acetonitrile (Galbraith, McKellar, 1991; Troconiz et al. 1993; Edno et al., 1995), methanol (Macek, Vácha, 1987; Michotte et al., 1991; Avgerinos et al.,

1995), perchloorzuur in combinatie met natriumacetaat (Wanwimolruk et al., 1991) of een 10 % zinksulfaatoplossing in combinatie met acetonitrile (Mueller et al., 1992) gevolgd door centrifugatie en injectie van het supernatant op de kolom.

De keuze van de interne standaard viel overwegend op structuuranaloge oxicamverbindingen zoals isoxicam (Milligan, 1992; Maya et al., 1995; Cerretani et al., 1993; Milligan et al. 1993; Wanwimolruk et al., 1991; Twomey et al., 1980), tenoxicam (Troconiz et al. 1993; Benveniste et al., 1990) of 6'-methylpiroxicam (Boudinot, Ibrahim, 1988). Daarnaast deden ook andere niet-steroïdale anti-inflammatoire geneesmiddelen zoals ketoprofen (Edno et al., 1995), naproxen (Gillilan, Fu, 1989; Avgerinos et al., 1995; Fraser, Woodbury, 1983) en indomethacine (Tsai et al. 1985) dienst als interne standaard. De Jager et al. (1999), Macek en Vácha (1987), Michotte et al. (1991), Galbraith, McKellar (1991) en Sumano et al. (1996) voerden de bepalingen uit zonder een interne standaard toe te voegen.

Rekening houdende met deze literatuurgegevens en op basis van de bepalingmethode voor meloxicam in kippenplasma met piroxicam als interne standaard (Baert, De Backer, 2002) werd een HPLC methode ontwikkeld voor de bepaling van piroxicam in plasma van honden gebruik makend van meloxicam als interne standaard. De uiteindelijke methode werd gevalideerd volgens de ICH-richtlijnen (1996).

5.2 Validatie van een HPLC-methode voor de bepaling van piroxicam in plasma van honden

5.2.1 Materialen en methoden

5.2.1.1 Materialen

- Piroxicam (Sagran, Milaan, Italië)
- Meloxicam (Boehringer, Ingelheim, Duitsland)
- Acetonitrile (Biosolve, Valkenswaard, Nederland)
- Diëthylether (Vel, Leuven, België)
- Methanol (Merck, Darmstadt, Duitsland)

- Triëthylamine (Sigma, Steinheim, Duitsland)
- Ijsazijn (Vel, Leuven, België)
- Zoutzuur 37% (Vel, Leuven, België)
- Gedestilleerd water

Alle solventen waren HPLC-kwaliteit en werden ontgast voor gebruik.

5.2.1.2 HPLC-systeem

Het gebruikte HPLC-systeem bestond uit een isocratische pomp (L-6000, Merck Hitachi Tokio, Japan), een injectiesysteem met een loop van 50 µl (Valco Instruments, Houston, Texas, USA), een “reversed phase” C-18 kolom (Lichrospher® 100 RP 18e, 125 x 3 mm, 5 µm) (Merck, Darmstadt, Duitsland) voorzien van een prekolom (Lichrospher® 100 RP 18e, 4 x 4 mm, 5 µm) (Merck, Darmstadt, Duitsland) en een detector voor het UV-Vis gebied (L-7400, Merck Hitachi, Tokio, Japan). De kolom werd gebruikt bij kamertemperatuur. De piekoppervlaktes werden geïntegreerd met behulp van het software pakket D-7000 HSM Chromatographic Data Station Software versie 4.1 (Hitachi Instruments, San Jose, CA, USA).

De mobiele fase was samengesteld uit acetonitril/0,1 % (v/v) waterige triëthylamine (TEA) oplossing/azijnzuur (40/55/5; v/v/v). Het pompdebiet werd ingesteld op 0,7 ml/min en de detectie gebeurde bij een golflengte van 357 nm.

5.2.1.3 Staalvoorbereiding

50,0 mg piroxicam (Px) werd opgelost in 100 ml methanol teneinde een stockoplossing te verkrijgen van 500 µg/ml. Vanuit deze stockoplossing werden standaardoplossingen gemaakt met de volgende concentraties: 5, 10, 15, 25, 40, 50 en 60 µg/ml. De interne standaard (meloxicam) werd eveneens opgelost in methanol tot een eindconcentratie van 20 µg/ml.

Voor het opstellen van de calibratiecurves werd in een borosilicaat proefbuis 20 µl interne standaardoplossing (20 µg/ml) gebracht en 20 µl Px-standaardoplossing zodat de uiteindelijke Px plasmaconcentraties 0,2; 0,4; 0,6; 1,0; 1,6; 2,0; 2,4 µg/ml bedroegen. Deze oplossing werd onder stikstofstroom drooggedampt bij 40 °C. Vervolgens werd 500 µl blanco hondenplasma toegevoegd. De stalen ondergingen

gedurende 10 s ultrasonificatie en werden daarna nog 10 s gevortex. Na toevoeging van 250 µl 1M HCl en vortexen, werd 5 ml diëthylether toegevoegd en werd het staal gedurende 5 min geschud. Na 5 min centrifugatie aan 1420g werd de organische fase afgezonderd en bij 40 °C drooggedampt onder stikstofstroom. Het residu werd heropgelost in 200 µl mobiele fase en na 10 s vortexen geïnjecteerd op de kolom. Na integratie werd uit de verhouding van de piekoppervlakken van Px en de interne standaard, met behulp van de vergelijking bekomen door lineaire regressie, de concentratie aan Px in de plasmastalen bepaald.

5.2.2 Resultaten

5.2.2.1 Specificiteit

Aan de hand van het chromatogram opgenomen na injectie van blanco plasma gespiked met piroxicam (Px) en meloxicam (Mx) werden de respectievelijke retentietijden vastgesteld op 3,33 en 5,50 min. Aangezien voor de methanolische oplossingen van Px en de interne standaard dezelfde retentietijden werden genoteerd, werd aangenomen dat de beide pieken afkomstig waren van Px en Mx.

Het chromatogram van blanco plasma en gespiked plasma (Fig. 5.1 a en b) toonde aan dat na extractie met diëthylether geen interferentie optrad tussen endogene plasmacomponenten en de te bepalen componenten. Na analyse van plasma verkregen na toediening van Px-pellets (Fig. 5.1 c) werden op het chromatogram enkel de pieken van Px en Mx waargenomen. Hieruit bleek dat de methode specifiek genoeg was om Px kwantitatief te bepalen in plasma in aanwezigheid van endogene componenten.

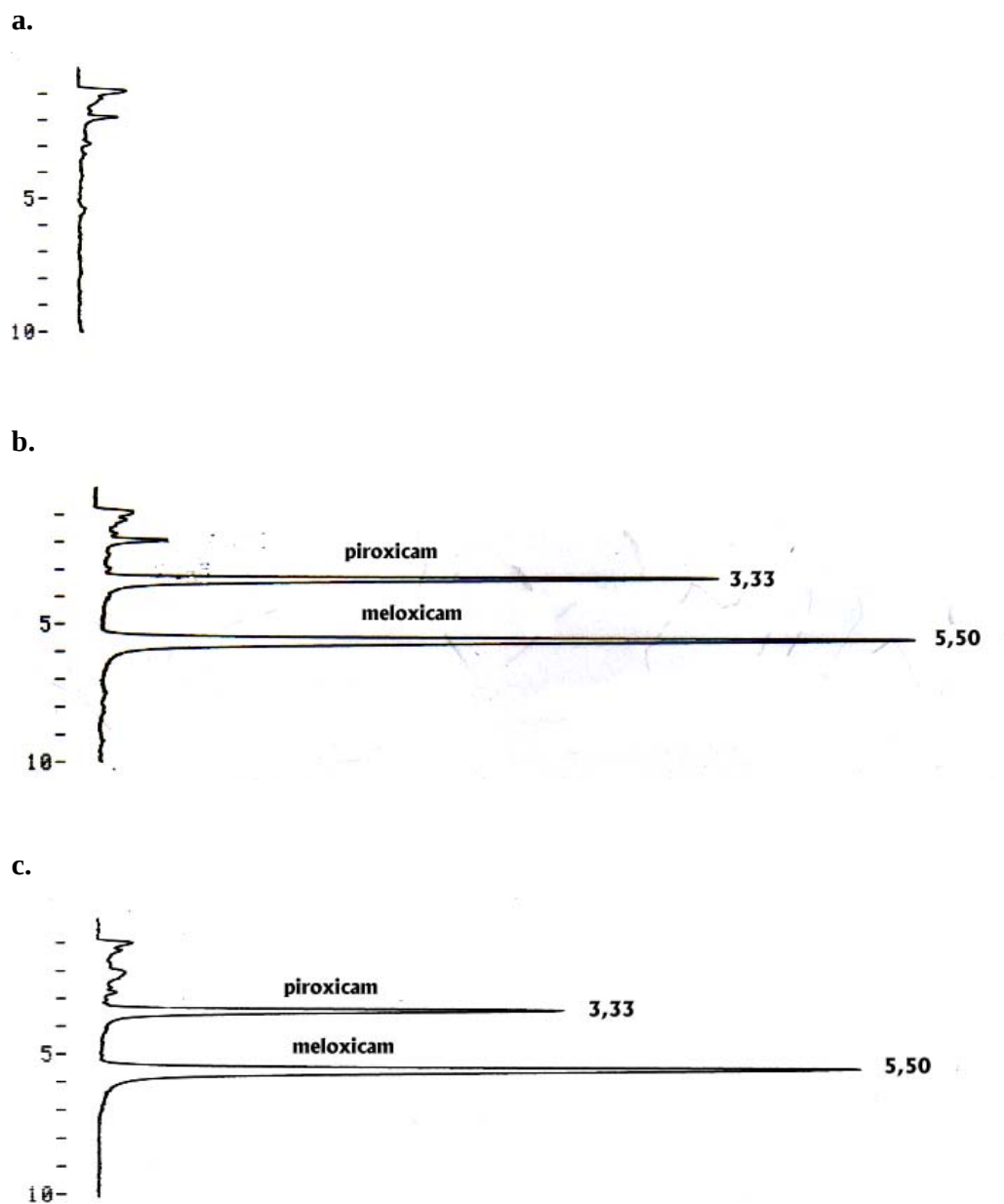


Fig. 5.1: Chromatogrammen van de analyse van Px in plasma.

- a. blanco hondenplasma
- b. blanco hondenplasma na toevoeging van Px (15 µg/ml) en Mx (20 µg/ml)
- c. hondenplasma na toediening van piroxicampellets (2,5 % Px)

5.2.2.2 Lineariteit

Een kalibratielijns moet bestaan uit minstens vijf standaardoplossingen (Shah et al., 1992; ICH, 1996). De ijklijnen voor Px in plasma werden opgesteld met zeven concentraties. De lineariteit werd nagegaan binnen één dag en voor dag bij dag-variatie. In Tabel 5.1 en 5.2 wordt een overzicht gegeven van de richtingscoëfficiënten (a-waarde), snijpunt met de Y-as (b-waarde) en de determinatiecoëfficiënten (r^2) van de individuele kalibratielijnen, samen met de gemiddelde waarde, standaarddeviatie en variatiecoëfficiënt.

Zoals werd afgeleid uit de determinatiecoëfficiënten ($r^2 > 0,99$) waren de kalibratielijnen lineair over het volledige concentratiegebied (0,2–2,4 µg/ml).

De variatie binnen één dag werd aangegeven als de variatiecoëfficiënt op de gemiddelde richtingscoëfficiënt van verschillende kalibratielijnen geïnjecteerd op dezelfde dag (n=6). De gemiddelde richtingscoëfficiënt was 1,021 met een variatiecoëfficiënt van 3,1 % (Tabel 5.1).

De dag-bij-dag variatie werd bepaald uit de variatiecoëfficiënt op de gemiddelde richtingscoëfficiënt van verschillende kalibratielijnen geïnjecteerd over een periode van 7 weken (n=7). De gemiddelde richtingscoëfficiënt, bedroeg 1,021 met een variatiecoëfficiënt van 4,9 % (Tabel 5.2).

5.2.2.3 Precisie

De precisie van een analytische methode geeft de spreiding weer van een aantal metingen verkregen door herhaalde bepalingen van een staal.

“Within-day” variatie of de herhaalbaarheid is de mate van overeenstemming tussen de bekomen waarden, bepaald door een staal verschillende malen te injecteren op eenzelfde dag.

“Between-day” variatie of intermediaire precisie (ICH, 1996) is de mate van overeenstemming tussen de bekomen waarden, bepaald door een staal op verschillende dagen te injecteren. Elk staal werd zeven maal, verspreid over zeven weken, geanalyseerd volgens de procedure beschreven onder de staalbehandeling.

Tabel 5.1: Lineariteit: variatie binnen één dag (n=6).

Concentratie (µg/ml)	Piekopervlakteverhouding (Px / inwendige standaard)						Gemiddelde	SD	VC (%)
	1	2	3	4	5	6			
0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	---
0,2	0,24	0,24	0,23	0,24	0,25	0,25	0,24	0,01	3,2
0,4	0,46	0,43	0,42	0,43	0,43	0,45	0,44	0,01	3,4
0,6	0,66	0,63	0,70	0,59	0,66	0,62	0,64	0,04	6,5
1,0	0,99	1,13	0,99	1,10	0,99	1,00	1,03	0,06	6,1
1,6	1,70	1,59	1,57	1,58	1,61	1,77	1,64	0,08	4,9
2,0	2,14	2,08	1,98	2,01	2,05	2,04	2,05	0,05	2,7
2,4	2,55	2,38	2,45	2,54	2,66	2,36	2,49	0,12	4,7
Richtingscoëff.	1,057	0,994	0,991	1,025	1,060	0,999	1,021	0,032	3,1
Y-intercept	0,0078	0,0418	0,0262	0,0095	-0,0068	0,0381	0,0195	0,0191	---
R ²	0,9988	0,9969	0,9978	0,9969	0,9946	0,9952	0,9967	0,0008	---

Tabel 5.2: Lineariteit: dag bij dag-variatie (n=7).

Concentratie (µg/ml)	Piekkoppervlakteverhouding (Px / inwendige standaard)							Gemiddelde	SD	VC (%)
	1	2	3	4	5	6	7			
0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	---
0,2	0,22	0,16	0,24	0,24	0,21	0,23	0,21	0,22	0,03	11,9
0,4	0,40	0,36	0,42	0,46	0,44	0,42	0,44	0,41	0,03	7,2
0,6	0,65	0,56	0,64	0,66	0,64	0,64	0,64	0,63	0,03	5,0
1,0	1,04	0,92	1,03	0,99	1,00	1,00	0,99	1,00	0,04	3,8
1,6	1,60	1,53	1,68	1,70	1,62	1,54	1,72	1,63	0,08	4,6
2,0	2,00	1,97	2,00	2,14	1,97	2,06	2,27	2,06	0,11	5,4
2,4	2,43	2,31	2,32	2,55	2,52	2,42	2,65	2,46	0,13	5,1
Richtingscoëff.	1,001	0,976	0,976	1,057	1,017	1,000	1,116	1,021	0,050	4,9
Y-intercept	0,0180	-0,0228	0,0401	0,0079	0,0072	0,0145	-0,0297	0,0051	0,0241	---
R ²	0,9993	0,9994	0,9976	0,9988	0,9980	0,9983	0,9975	0,9984	0,0008	---

De variatiecoëfficiënten (VC) voor de herhaalbaarheid lagen tussen 3,2 en 6,5 % (Tabel 5.1), terwijl de VC voor de intermediaire precisie schommelden tussen 3,8 en 11,9 % voor de 0,2-2,4 µg/ml concentratierange (Tabel 5.2). Hierbij werd voldaan aan de 15 % limiet voor VC binnen de volledige concentratierange (0,4–2,4 µg/ml Px) en aan de 20 % limiet voor de laagste concentratie (0,20 µg/ml Px) vooropgesteld door Shah et al. (1992) als norm voor het aanvaarden van de precisie van de analytische procedure. Hieruit werd besloten dat de methode voldoende precies was om Px in plasma te bepalen.

5.2.2.4 Accuraatheid

Accuraatheid geeft de mate van overeenkomst weer tussen de gemeten waarde en de “echte” waarde. De accuraatheid werd bepaald door aan blanco plasmastalen een gekende hoeveelheid Px toe te voegen en na HPLC analyse de gemeten concentratie procentueel uit te drukken ten opzichte van de toegevoegde hoeveelheid Px. De accuraatheid binnen één dag en dag bij dag (Shah et al., 1992) wordt weergegeven in Tabel 5.3.

Alle experimentele concentraties lagen binnen een 15 % interval ten opzichte van de nominale waarde waaruit besloten werd dat de methode voldeed qua accuraatheid.

Tabel 5.3: Gemiddelde accuraatheid (VC) binnen één dag (n=6) en dag bij dag (n=7).

Concentratie (µg/ml)	Accuraatheid binnen één dag (%)	Accuraatheid dag bij dag (%)
0,2	107,9 (6,6 %)	103,2 (4,9 %)
0,4	101,9 (3,2 %)	101,3 (4,1 %)
0,6	103,5 (5,9 %)	102,8 (2,3 %)
1,0	97,9 (6,6 %)	97,2 (4,2 %)
1,6	99,6 (5,2 %)	99,4 (3,0 %)
2,0	99,8 (2,1 %)	100,6 (2,2 %)
2,4	100,4 (3,2 %)	100,1 (1,6 %)

5.2.2.5 Extractierendement

Tijdens de staalbehandeling werd eerst een aanzuring uitgevoerd, gevolgd door een extractie met behulp van diëthylether. Om na te gaan hoeveel piroxicam en interne standaard tijdens deze handeling verloren gingen, werd voor beide componenten het extractierendement bepaald. Het extractierendement werd verkregen door geëxtraheerde en niet-geëxtraheerde standaarden te vergelijken. Hiertoe werd aan blanco plasmastalen een gekende hoeveelheid Px toegevoegd en werden de stalen geanalyseerd volgens de beschreven HPLC methode. Na integratie werd het piekoppervlak procentueel uitgedrukt ten opzichte van het piekoppervlak bekomen na injectie van een methanolische oplossing met dezelfde concentratie.

In Tabel 5.4 wordt het gemiddelde extractierendement weergegeven voor de verschillende Px concentraties en voor de interne standaard Mx. Hieruit bleek dat voor zowel Px als Mx het extractierendement groter was dan 90 %.

Tabel 5.4: Extractierendement van piroxicam en de interne standaard (meloxicam) uit plasma (n=12)

Px plasmaconcentratie (µg/ml)	Extractierendement ± SD (%)	VC (%)
0,2	109,6 ± 9,9	9,0
0,4	96,7 ± 5,1	5,3
0,6	95,2 ± 7,0	7,4
1,0	93,9 ± 3,8	4,0
1,6	94,6 ± 5,6	6,0
2,0	97,2 ± 3,9	4,0
2,4	91,3 ± 2,8	3,1
Mx 0,8 µg/ml	91,7 ± 1,9	2,1

5.2.2.6 Detectielimiet

De detectielimiet werd berekend uit de gemiddelde Y-intercept van de kalibratiecurves plus 3 x de standaarddeviatie op deze waarde. De concentratie bedroeg 0,08 µg/ml.

5.2.2.7 Kwantificatielimiet

De kwantificatielimiet werd berekend uit de gemiddelde Y-intercept van de kalibratiecurves plus 10 x de standaarddeviatie op deze waarde. De concentratie bedroeg 0,25 µg/ml.

Deze concentratie is groter dan de laagste concentratie van de kalibratielij, maar voor deze concentratie werd reeds aangetoond dat ze met voldoende accuraatheid en precisie kon bepaald worden zodat 0,2 µg/ml werd beschouwd als de kwantificatielimiet.

5.2.2.8 Stabiliteit van piroxicam in plasma

Aangezien in het begin van het experiment de bepaling niet onmiddellijk na de staalname werd uitgevoerd, werd de stabiliteit van Px in plasma tijdens bewaring bij -20°C nagegaan. Gekende hoeveelheden Px werden aan blanco plasma toegevoegd tot eindconcentraties van 0,2; 1,0 en 2,4 µg/ml. Deze plasmastalen werden gedurende 4 weken bewaard bij -20 °C en wekelijks geanalyseerd. De stabiliteit van de stalen werd uitgedrukt als het percentage Px teruggevonden ten opzichte van de initiële concentratie en wordt weergegeven als gemiddelde ± SD (n = 4).

Tabel 5.5: Stabiliteit van piroxicam in plasma bij bewaring bij -20 °C

Concentratie (µg/ml)	% van initieel toegevoegde hoeveelheid			
	na 0 weken	na 1 week	na 2 weken	na 4 weken
0,2	101,5 ± 4,1	99,4 ± 3,8	98,5 ± 5,8	104,2 ± 5,2
1,0	98,3 ± 2,2	100,5 ± 3,7	96,1 ± 2,3	102,3 ± 2,5
2,4	102,6 ± 2,1	95,8 ± 1,9	99,5 ± 3,1	104,5 ± 5,4

Er werd 95,8 à 104,5 % van de toegevoegde hoeveelheid Px teruggevonden (Tabel 5.5). Aangezien geen daling van de concentratie aan geneesmiddel werd waargenomen in functie van de tijd, werd besloten dat tijdens de bewaring van de plasmastalen geen stabiliteitsproblemen optraden voor Px.

5.3 Biologische beschikbaarheid van piroxicam na toediening van pellet- en tabletformulaties

5.3.1 Materialen en methoden

5.3.1.1 Materialen

Twee pelletformulaties en twee tabletformulaties werden *in vivo* getest:

- Formulatie A: niet-omhulde pellets geformuleerd met Px 2,5 % (g/g) en Avicel[®] PH 101/CL 611 (1/3)
- Formulatie B: omhulde pellets geformuleerd met Px 2,5 % (g/g) en Avicel[®] PH 101/CL 611 (1/3)
- Formulatie C: tabletten op basis van pellets B/waspellets (40/60) 800-1250 µm + 10 % Kollidon[®]CL
- Formulatie D: tabletten op basis van pellets B/waspellets (30/70) 315-500 µm + 10 % Kollidon[®]CL

Als referentie werd een conventionele Px poederformulatie (afgevuld in harde gelatinecapsules) gekozen (Feldene[®] 10 mg, Pfizer, NY, USA) (E)

De pellets werden bereid en omhuld volgens de methode beschreven in *Hoofdstuk 2* en 3. De tabletten werden gemaakt volgens de methode beschreven in *Hoofdstuk 4*.

5.3.1.2 Eénmalige orale en intraveneuze toediening van piroxicam

De *in vivo* studie werd uitgevoerd op 6 gezonde mannelijke (bastaard)honden (1-4 jaar, gewicht tussen 26 en 42 kg). Een ‘wash-out’ periode van 7 dagen na de laatste staalname werd gerespecteerd tussen toediening van de verschillende formulaties. De honden werden gewogen op de dag vóór de toediening zodat 0,3 mg piroxicam/kg lichaamsgewicht kon toegediend worden. De honden beschikten over water *ad libitum*, maar 24 uur voor de toediening werd het voedsel weggehaald zodat ze op het moment van toediening nuchter waren. De pellets werden afgevuld in harde gelatinecapsules en de formulatie werd achteraan op de tong van de hond gelegd en doorgespoeld met een kleine hoeveelheid water om kleaving ter hoogte van de

mondmucosa en slokdarm te vermijden. Na 30 min werd voedsel beschikbaar gesteld. Veneuze bloedstalen werden genomen vóór toediening en 0,5; 1, 2, 3, 4, 8, 12, 24, 48, 60 en 72 u na inname van de formulatie. Bloed werd opgevangen in gehepariniseerde borosilicaatbuisjes en gedurende 10 min. gecentrifugeerd bij 1420g. De plasmastalen werden bewaard bij -20°C tot de analyse werd uitgevoerd.

De bepaling van piroxicam in de plasmastalen gebeurde met behulp van de gevalideerde HPLC-methode.

Uit de plasmaconcentratie-tijdsprofielen werd de oppervlakte onder de curve ($\text{AUC}_{0 \rightarrow 72\text{u}}$), de maximale plasmaconcentratie van Px (C_{max}) en de tijd waarna deze bereikt werd (t_{max}) berekend met behulp van het farmacokinetisch softwarepakket MW/Pharm (v. 3.0, Mediware, Utrecht, Nederland). De $\text{AUC}_{0 \rightarrow 72\text{u}}$ en C_{max} waarden werden statistisch geëvalueerd met behulp van éénwegvariantieanalyse (one-way ANOVA) gevolgd door een post-hoc Scheffé test. Hiervoor werd gebruik gemaakt van het software pakket SPSS (v. 11, SPSS, Chicago, USA). Een probabiliteit (P-waarde) $< 0,05$ werd beschouwd als statistisch significant.

5.3.1.3 Herhaalde orale toediening van piroxicam

In een eerste studie werd piroxicam gedurende twee periodes van 14 dagen toegediend aan 6 (bastaard) honden volgens een cross-over design waarbij elke hond zowel de niet-omhulde (A) als de omhulde pellets (B) kreeg volgens een doseringsinterval van 48 u. Veneuze bloedstalen werden genomen op dag 8 en 14 na de eerste toediening. Een wash-out periode van 14 dagen werd gerespecteerd tussen de twee toedieningsperiodes.

In een tweede studie ontvingen 6 gezonde vrouwelijke Beagle honden (1-2 jaar, gewicht 10 tot 15 kg) omhulde pellets (B) en 6 gezonde vrouwelijke Beagle honden het referentiepreparaat gedurende 6 weken met een doseringsinterval van 48 u. Veneuze bloedstalen werden genomen op dag 8, 20 en 42 na de eerste toediening. De bepaling van piroxicam in de plasmastalen gebeurde met behulp van de gevalideerde HPLC-methode.

De piroxicam plasmaconcentraties werden statistisch geëvalueerd met behulp van univariaat testen voor “repeated measures” van “within-subjects” om de invloed van tijd na te gaan na herhaalde toediening van piroxicam. Hiervoor werd gebruik

gemaakt van het software pakket SPSS (v. 11, SPSS, Chicago, USA). Een probabiliteit (P-waarde) < 0,05 werd beschouwd als statistisch significant.

5.3.2 Resultaten

5.3.2.1 Eénmalige orale en intraveneuze toediening van piroxicam

Na intraveneuze toediening van Px aan honden werd een gemiddelde $C_{\max}$ van $1,68 \pm 0,75$ µg/ml gemeten.

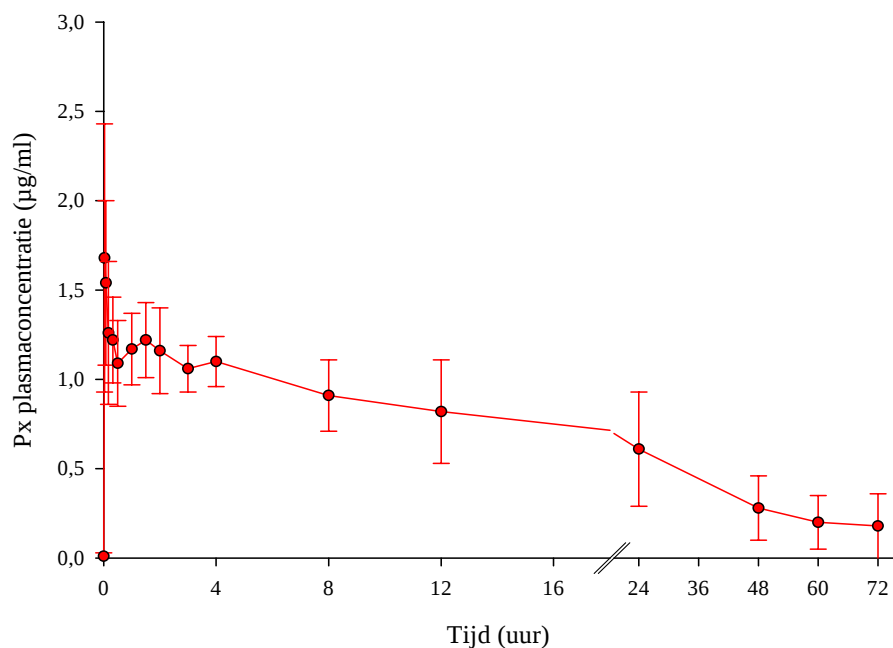


Fig. 5.2: Gemiddelde ($\pm$ S.D.) Px plasmaconcentratie-tijdsprofielen na i.v. toediening van 0,3 mg Px/kg lichaamsgewicht. ● gemiddelde

Zoals verwacht op basis van de halfwaardetijd van 40 u, die door Galbraith en McKellar (1991) werd gerapporteerd, daalden de plasmaconcentraties heel traag en Px kon 72 u na de toediening nog steeds gekwantificeerd worden in het plasma (Fig. 5.2).

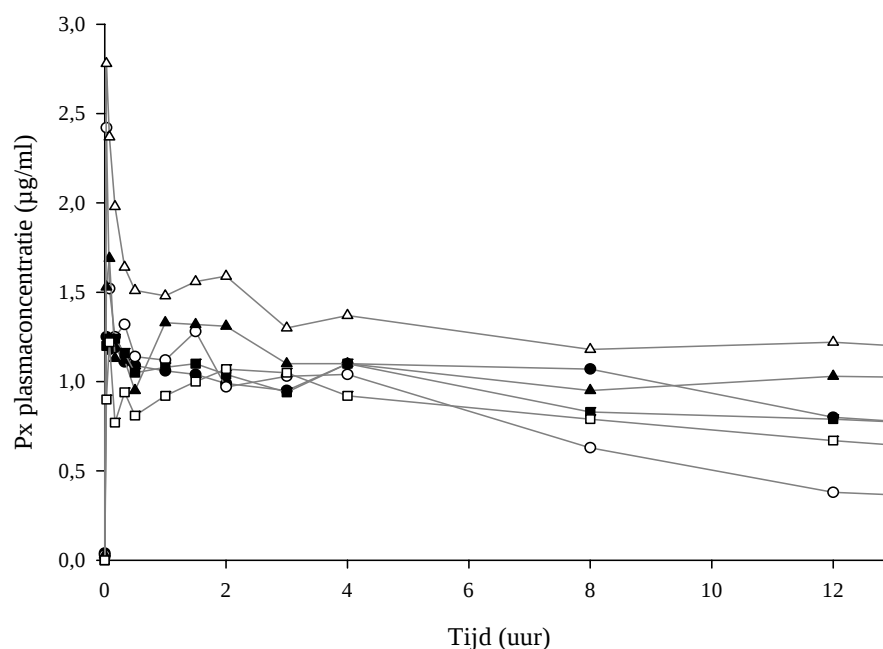


Fig. 5.3: Individuele Px plasmaconcentratie-tijdsprofielen gedurende 12 uur na i.v. toediening van 0,3 mg Px/kg lichaamsgewicht: ● hond 1; ○ hond 2, ▲ hond 3, △ hond 4, ■ hond 5, □ hond 6

Na 1 en 4 uur was een kleine toename in de Px plasmaconcentratie waarneembaar (Fig. 5.3) wat kan wijzen op enterohepatische recirculatie (Galbraith, McKellar, 1991; Polli et al., 1996). De gemiddelde $AUC_{0 \rightarrow 72u}$ waarde na i.v. toediening ($35,9 \pm 15,4$ µg/ml.u) (gemiddelde $\pm$ s.d.) was vergelijkbaar met de waarde die door Galbraith en McKellar (1991) werd gevonden, $45,4 \pm 3,3$ µg/ml.u (gemiddelde $\pm$ s.e.m.).

De gemiddelde piroxicam plasmaconcentratie-tijdsprofielen verkregen na orale toediening van het Feldene[®] poeder (E) en de pelletformulaties (A en B) worden getoond in Fig. 5.4.

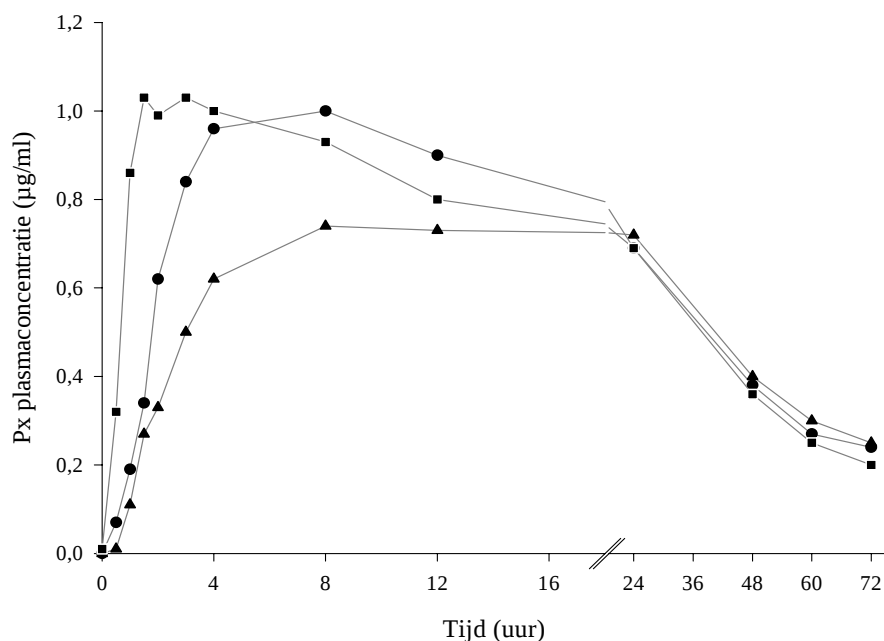


Fig. 5.4: Gemiddeld Px plasmaconcentratie-tijdsprofiel (n=6) na toediening van een orale dosis van $0,3 \pm 0,03$ mg Px/kg lichaamsgewicht: ● A (niet-omhulde pellets), ▲ B (omhulde pellets), ■ E (Feldène capsules)

Uit Tabel 5.6 blijkt dat er geen statistisch significante verschillen waren tussen de $AUC_{0 \rightarrow 72u}$ waarden van de verschillende formulaties, waaruit besloten werd dat orale toediening van Px via pellets resulteerde in eenzelfde biologische beschikbaarheid als voor de gecommercialiseerde harde gelatinecapsules.

Deze bevindingen zijn vergelijkbaar met wat Galbraith en McKellar (1991) vermeldten: na orale toediening aan honden werd piroxicam goed geabsorbeerd en werden de maximale plasmaconcentraties bereikt 2 uur na toediening. In onze studie had het aanbrengen van een enterische omhulling op de pellets (B) of compactie van deze pellets tot tabletten (C en D) geen invloed op de hoeveelheid piroxicam, die in de algemene circulatie terecht kwam. De maximale plasmaconcentraties werden bereikt $2,6 \pm 1,2$ u na de inname van de piroxicam capsules (E), terwijl voor de omhulde (B) en de gecompecteerde pellets (C en D) een vertraging optrad waarbij t_{max} respectievelijk $7,2 \pm 3,3$; $10,7 \pm 2,1$ en $8,0 \pm 0,0$ u bedroeg. De C_{max} waarden verkregen voor de omhulde pellets (B) en voor beide tabletformulaties (C, D) waren significant lager dan voor de niet-omhulde pellets (A) en de capsuleformulatie (E) (Tabel 5.6).

Tabel 5.6: Gemiddelde AUC, C_{max} en t_{max} values (± S.D.) na orale toediening van 0.3 mg piroxicam/kg lichaamsgewicht aan honden (n=6, met uitzondering van D waarbij n=3)

	AUC _{0→72u} (µg/ml.u)	C _{max} (µg/ml)	t _{max} (u)
A	38.9 ± 13.5 ^a	1.13 ± 0.21 ^a	5.2 ± 2.2
B	36.6 ± 7.9 ^a	0.92 ± 0.13 ^b	7.2 ± 3.3
C	36.3 ± 15.3 ^a	0.96 ± 0.33 ^b	10.7 ± 2.1
D	37.6 ± 7.7 ^a	0.85 ± 0.21 ^b	8.0 ± 0.0
E	40.9 ± 7.6 ^a	1.11 ± 0.11 ^a	2.6 ± 1.2

^a behandeling behoort tot dezelfde subset (P > 0.05, Scheffé post hoc test), geen significant verschil tussen de behandelingen.

^b behandeling behoort tot dezelfde subset (P > 0.05, Scheffé post hoc test), significant verschillend ten opzichte van ^a (P < 0.05, Scheffé post hoc test).

De plasmaconcentratie-tijdsprofielen (Fig 5.4) vertoonden een lag-fase van 30 tot 60 min. voor de omhulde pellets aangezien de piroxicamvrijstelling en -absorptie pas startten na maaglediging en na het in oplossing gaan van de enterische omhulling (pH>6). Na compactie van de omhulde pellets met behulp van de beschermende waspellets vertoonden de plasmaconcentratie-tijdsprofielen een langere lag-fase van ongeveer 2 uur, gedurende dewelke de tabletten desintegreerden tot de individuele omhulde pellets, welke getransporteerd werden naar de dunne darm, waarna de omhulling in oplossing ging. Hussain et al. (2003) evalueerden de *in vivo* desintegratie in honden van tabletformulaties met verschillende *in vitro* desintegratietijden: 30 min. versus 45 min. Zij toonden aan dat een goede correlatie bestond tussen de *in vivo* en *in vitro* desintegratietijden. Op basis van de *in vitro* verschillen in desintegratietijd tussen de piroxicam tabletformulaties geselecteerd voor *in vivo* evaluatie, werd verwacht dat een tragere desintegratie van de tabletten de maaglediging van de individuele omhulde pellets zou vertragen waardoor de pellets trager de dunne darm bereiken en piroxicam pas later in de algemene circulatie terecht komt.

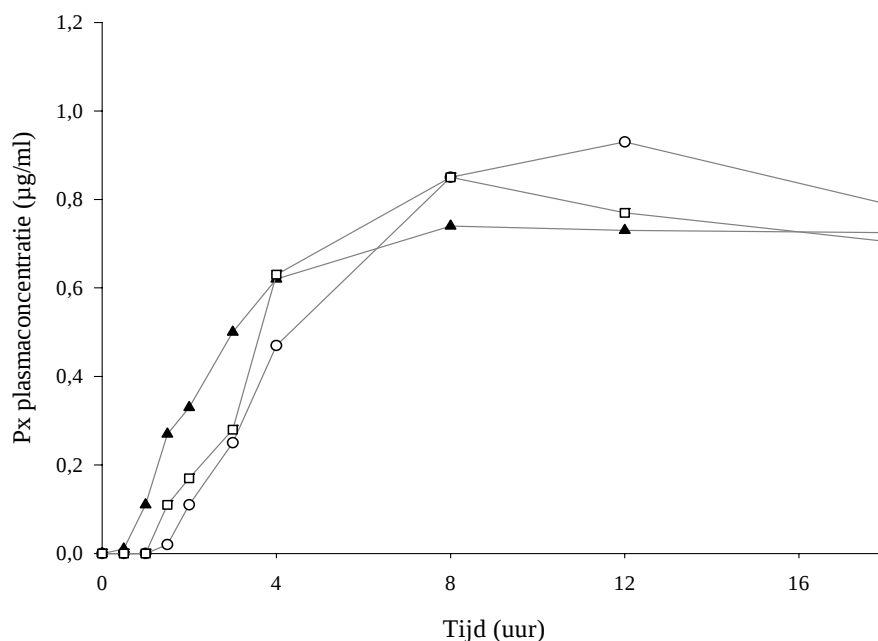


Fig. 5.5: Gemiddeld Px plasmaconcentratie-tijdsprofiel (C: n=6, D: n=3) na toediening van 0,3 mg Px/kg lichaamsgewicht: ▲: B (omhulde pellets), ○: C (tablet 40/60), □: D (tablet 30/70).

Maar vergelijking van de *in vivo* profielen, verkregen voor de tabletformulaties met respectievelijke *in vitro* desintegratietijden van 4,0 (C) en 22,3 min (D) vertoonden geen verschillen in *in vivo* lag-tijd (Fig 5.5). Of dit te wijten was aan gelijke *in vivo* desintegratietijden of aan de verschillende deeltjesgrootte van de omhulde pellets kon uit deze studie niet worden afgeleid. De tabletten, die het traagst desintegreerden bestonden uit pellets met een deeltjesgrootte tussen 315 en 500 µm. Deze pellets vertoonden een snellere *in vitro* vrijstelling van piroxicam dan de pellets met een deeltjesgrootte tussen 800 en 1250 µm (Fig 5.6). Dus, zelfs indien de beide tabletformulaties gekenmerkt werden door een verschillende *in vivo* desintegratietijd, was het toch mogelijk dat de tragere desintegratie gecompenseerd werd door een snellere geneesmiddelvrijstelling.

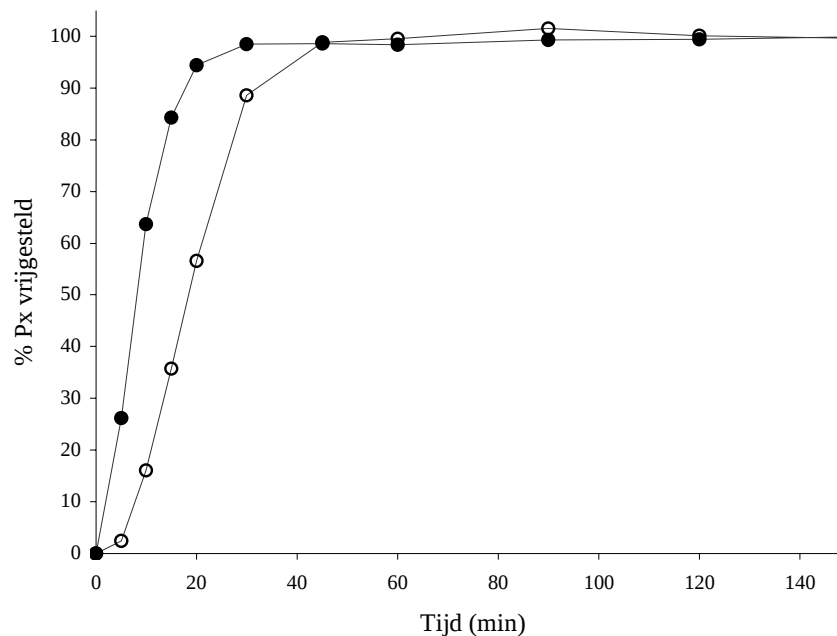


Fig. 5.6: *In vitro* Px vrijstellingsprofiel in fosfaatbuffer pH 6,8. ● omhulde pellets 315-500 µm; ○ omhulde pellets 800-1250 µm.

5.3.2.2 Herhaalde orale toediening van piroxicam

Na een toedieningsperiode van 2 weken waarbij de niet-omhulde en de omhulde pellets om de 48 u werden toegediend, werden piroxicamplasmaconcentraties verkregen van $1,25 \pm 0,33$ en $1,12 \pm 0,29$ µg/ml voor de niet-omhulde en concentraties van $1,07 \pm 0,27$ en $1,19 \pm 0,33$ µg/ml voor de omhulde pellets, respectievelijk 8 en 14 dagen na de eerste toediening. Statistische analyse op basis van univariaat testen voor “repeated measures” toonden geen significante verschillen aan tussen de Px plasmaconcentraties verkregen op de verschillende tijdstippen. Hieruit werd besloten dat er geen accumulatie van Px optrad indien een doseringsinterval van 48 uur werd aangehouden, wat de bevindingen van Galbraith en McKellar (1991) bevestigde. Immers, volgens hen zou dagelijkse inname van Px leiden tot accumulatie omwille van het lange halfleven van het geneesmiddel (40 u).

Wanneer omhulde pellets en de gecommercialiseerde piroxicam capsules gedurende 6 weken aan honden werden toegediend volgens hetzelfde doseringspatroon werd eveneens geen accumulatie waargenomen. De gemiddelde plasmaconcentraties

bedroegen $1,04 \pm 0,37$, $1,03 \pm 0,20$ en $1,06 \pm 0,31$ µg/ml voor de omhulde pellets en concentraties van $1,49 \pm 0,56$, $1,57 \pm 0,42$, $1,56 \pm 0,33$ µg/ml voor de Feldène capsules, respectievelijk 8, 20 en 42 dagen na de eerste toediening. De piroxicam spiegels vertoonden geen significante veranderingen gedurende de toedieningsperiode.

5.4 Besluit

Orale toediening van piroxicam pellets aan honden resulteerde in $AUC_{0 \rightarrow 72u}$ waarden die vergelijkbaar waren met deze verkregen na éénmalige toediening van het referentieproduct (Feldene® capsules). Het omhullen van pellets en de compactie van de omhulde pellets met behulp van beschermende waspellets vertraagden de opname van piroxicam, maar hadden geen invloed op de hoeveelheid piroxicam, die in de algemene circulatie terechtkwam. Verschillen in *in vitro* desintegratietijden van de tabletten gaven geen aanleiding tot een verschil in *in vivo* lag-fase. Een doseringsinterval van 48 u verhinderde accumulatie van piroxicam na herhaalde toediening.

5.5 Referenties

Avgerinos A., Axarlis S., Dragatsis J., Karidas T., Malamataris S., 1995. Extractionless high-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of piroxicam and 5'-hydroxypiroxicam in human plasma and urine. J. Chromatogr. B 673, 142-146.

Baert K., De Backer P., 2002. Disposition of sodium salicylate, flunixin and meloxicam after intravenous administration in broiler chickens. J. Vet. Pharmacol. Therap. 25, 449-453.

Benveniste C., Striberni R., Dayer P., 1990. Indirect assessment of the enterohepatic recirculation of piroxicam and tenoxicam. Eur. J. Clin. Pharmacol. 38, 547-549.

Boudinot D., Ibrahim S.S., 1988. High-performance liquid chromatographic assay for piroxicam in human plasma. J. Chromatogr. B 430, 424-428.

Cerretani D., Micheli L., Fiaschi A.I., Giorgi G., 1993. Rapid and sensitive determination of piroxicam in rat plasma, muscle and skin by high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. 614, 103-108.

De Jager A.D., Ellis H., Hundt H.K.L., Swart K.J., Hundt A.F., 1999. High-performance liquid chromatographic determination with amperometric detection of piroxicam in human plasma and tissues. J. Chromatogr. B. 729, 183-189.

Edno L., Bressolle F., Combe B., Galtier M., 1995. A reproducible and rapid HPLC quantitation of piroxicam in plasma. J. Pharm. Biomed. Anal. 13, 785-789.

Fraser A.D., Woodbury J.F.L., 1983. Liquid chromatographic determination of piroxicam in serum. Ther. Drug Monit. 5, 239-242.

Galbraith E.A., McKellar Q.A., 1991. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of piroxicam in dogs. Vet. Rec. 128, 561-565.

Gillilan R.B., Fu C.H.J., 1989. Rapid analysis of piroxicam in dog, rat and human plasma by high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. B 487, 232-235.

Hobbs D.C., Twomey T.M., 1980. Metabolism of piroxicam by laboratory animals. Drug Metab. Dispos. 9, 114-118.

Hussain M.A., Chang R.K., Sandefer E., Page R.C., Digenis G.A., 2003. Evaluation of the in vivo disintegration of solid dosage forms of a bile acid sequestrant in dogs using gamma-scintigraphy and correlation to in vitro disintegration. Pharm. Res. 20, 460-464.

ICH Harmonised Tripartite Guideline, 1996. Validation of analytical procedures: Methodology, International Conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use.

Klopas A., Panderi I., Parissi-Poulou M., 1998. Determination of piroxicam and its major metabolite 5-hydroxy-piroxicam in human plasma by zero-crossing first-derivative spectrophotometry. J. Pharm. Biomed. Anal. 17, 515-524.

Macek J., Vácha J., 1987. Rapid and sensitive method for determination of piroxicam in human plasma by high-performance liquid chromatography. 420, 445-449.

Maya, M.T., Pais J.P., Morais J.A., 1995. A rapid method for the determination of piroxicam in plasma by high-performance liquid chromatography. J. Pharm. Biomed. Anal. 13, 319-322.

Michotte Y., Van Klaveren H.P., Detaevernier M.R., Gusdorf C.F., Vanhaelst L., 1991. Bioequivalence of two formulations of piroxicam. Arzneim.Forsch./Drug Res. 41, 244-246.

Milligan P.A., 1992. Determination of piroxicam and its major metabolites in the plasma, urine and bile of humans by high performance liquid chromatography. J. Chromatogr. 576, 121-128.

Milligan P.A., McGill P.E., Howden C.W., Kelman A.W., Whiting B., 1993. The consequences of H₂ receptor antagonist-piroxicam coadministration in patients with joint disorders. Eur. J. Clin. Pharmacol. 45, 507-512.

Mueller B.A., Rex D.K., Figueroa N., Greene P., Braeter D.C., 1992. A pharmacokinetic and endoscopic comparison of an oral and an experimental buccal piroxicam formulation. Pharmacotherapy 12, 93-97.

Piscitelli D.A., Bigora S., Propst C., Goskonda S., Schwartz P., Lesko L.J., Augsburger L., Young D., 1998. The impact of formulation and process changes on in vitro dissolution and the bioequivalence of piroxicam capsules. Pharm. Dev. Technol. 3, 443-452.

Polli J., Bigora S., Piscitelli D., Straughn A., Young D., 1996. Pavlovian food effect on the enterohepatic recirculation of piroxicam. Biopharm. Drug Dispos. 17, 635-641.

Richardson C.J., Ross S.G., Blocka K.L., Verbeeck R.K., 1986. High-performance liquid chromatographic analysis of piroxicam and its major metabolite 5'-hydroxypiroxicam in human plasma and urine. *J. Chromatogr.* 382, 382-388.

Ródenas V., Garcia S., Sanchez-Pedreno C., Albero M.I., 1998. Simultaneous determination of piroxicam and its major metabolite 5'-hydroxypiroxicam in human plasma by derivative spectrophotometry. *Analyst* 123, 1749-1752.

Saeed K., Becher M., 1991. On-line solid extraction of piroxicam prior to its determination by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 567, 185-193.

Said S.A., Foda A.M., 1989. Influence of cimetidine on the pharmacokinetics of piroxicam in rat and man. *Arzneim. Forsch./Drug Res.* 39, 790-792.

Shah V.P., Midha K.K., Dighe S., Mc Gilveray I.J., Skelly J.P., Yacobi A., Layloff T., Viswanathan C.T., Cook C.E., McDowall R.D., Pitmaan K.A., Spector S., 1992. Analytical Methods Validation: Bioavailability, Bioequivalence and Pharmacokinetic studies. *J. Pharm. Sci.* 81, 309-312.

Sumano H., DeVizcaya A., Brumbaugh G.W., 1996. Tolerance and clinical evaluation of piroxicam in dogs. *Canine Pract.* 21, 16-19.

Troconiz J.I.F., Lopez-Bustamante L.G., Fos D., 1993. High-performance liquid chromatographic analysis of piroxicam and tenoxicam in plasma, blood and buffer solution. *Arzneim. Forsch./Drug Res.* 43, 679-681.

Tsai Y.H., Hsu L.R., Naito S.I., 1985. Simultaneous determination of piroxicam and its main metabolite in plasma and urine by high-performance liquid chromatography. *Int. J. Pharm.* 24, 101-108.

Twomey T.M., Bartolucci S.R., Hobbs D.C., 1980. Analysis of piroxicam in plasma by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B* 183, 104-108.

Wanwimolruk S., Wanwimolruk S.Z., Zoest A.R., 1991. A simple and sensitive HPLC assay for piroxicam in plasma and its application to bioavailability study. J. Liq. Chromatogr. 14, 2373-2381.

Yritia M., Parra P., Fernández J.M., Barbanoj J.M., 1999. Piroxicam quantitation in human plasma by high-performance liquid chromatography with on- and off-line solid-phase extraction. J. Chromatogr. A. 846, 199-205.

6.1 Inleiding

Diverse factoren spelen een rol in de door niet-steroïdale anti-inflammatoire geneesmiddelen geïnduceerde gastro-intestinale mucosale beschadiging (zie *Hoofdstuk 1*). Het ontstaan van mucosale beschadiging verloopt volgens twee routes: enerzijds is de toxiciteit een gevolg van een systemisch effect veroorzaakt door inhibitie van de prostaglandinesynthese, anderzijds is ook een rechtstreeks lokaal effect verantwoordelijk voor de mucosale irritatie (Tabel 6.1). In de praktijk is het moeilijk om de relatieve bijdrage van elk van deze routes te bepalen (Hawkey, 2000; Rodriguez-Tellez et al., 2001).

Tabel 6.1: Lokale en systemische effecten van NSAIDs op het bovenste deel van de gastro-intestinale tractus (Bjorkman, 1996)

Lokale effecten	Systemische effecten
Lokale chemische beschadiging	Systemische inhibitie van de prostaglandinesynthese
Lokaal contact vereist	Komen voor bij elke toedieningswijze (route)
pH afhankelijk	pH onafhankelijk
Variëren naargelang de pKa van het geneesmiddel	Onafhankelijk van de pKa van het geneesmiddel
Worden vermeden met enterische omhulling of door het gebruik van inactieve precursoren	Onafhankelijk van de toedieningsvorm
Acuut (na een aantal uur)	Chronisch (na een aantal weken)
Oppervlakkige beschadiging	Diepe ulceratie
Meestal geen significante bloeding of perforatie	Kan leiden tot een ernstige bloeding of perforatie

Een endoscopische studie waarbij het humaan gebruik van niet-omhulde en enterisch omhulde piroxicamtabletten gedurende een korte termijn werd vergeleken, toonde voor de enterisch omhulde tabletten een significante reductie aan van de gastroduodenale endoscopische lesies. Hieruit werd besloten dat lokale effecten gedeeltelijk verantwoordelijk waren voor de gastro-intestinale irritatie veroorzaakt

door piroxicam (Aabakken et al., 1992). Dit werd bevestigd met een placebo-gecontroleerde vergelijkende studie waarbij een piroxicam- β -cyclodextrine complex werd vergeleken met zuivere piroxicam (Patoia et al., 1989; Santucci et al., 1992). De inclusie van piroxicam in β -cyclodextrine verhoogde de wateroplosbaarheid en de absorptiesnelheid zonder een invloed te hebben op de klinische effecten en veroorzaakte minder acute maagbeschadiging dan de standaard piroxicamformulatie. Immers, piroxicam is een zwak organisch zuur, dat in een zure omgeving hydrofoob is en dus gemakkelijk accumuleert in de maagmucosacellen. Door inclusie werd het hydrobe karakter van piroxicam gereduceerd, waardoor accumulatie in de maagmucosacellen werd vermeden (Santucci et al., 1992). Encapsulatie van piroxicam in liposomen (Sammour et al., 1998) zorgde eveneens voor een daling van de mucosale beschadiging en verbeterde de anti-inflammatoire activiteit in vergelijking met zuivere piroxicam. Ook voor andere NSAIDs werden gelijkaardige bevindingen gerapporteerd. Twee ibuprofen formulaties (een tablet bestaande uit enterisch omhulde microgranules en een conventionele tablet) werden tijdens twee periodes volgens een gekruiste studie toegediend aan gezonde vrijwilligers en de permeabiliteit ter hoogte van de maag en de darm werd gemeten aan de hand van de respectievelijke hoeveelheden sucrose en lactulose ten opzichte van mannitol geëxcreteerd in de urine. Voor de tabletformulatie op basis van de gastroprotectieve granules werd een lagere permeabiliteit ter hoogte van de maag gedetecteerd, waaruit werd besloten dat deze formulatie beter werd verdragen dan de conventionele ibuprofenformulatie (Zuin et al., 2000). Verder werd het effect nagegaan van enterische omhulling op de gastro-intestinale irritatie veroorzaakt na orale inname van naproxen. Trondstad et al. (1985) onderzochten het gebruik van enterisch omhulde naproxentabletten ten opzichte van niet-omhulde tabletten. Naproxen werd gedurende één week tweemaal per dag toegediend aan gezonde vrijwilligers en zowel voor als na de behandeling werd endoscopisch onderzoek uitgevoerd. Niettegenstaande de lagere totale score voor maaglesies voor de enterisch omhulde tabletten en het optreden van maagzweren en -bloedingen bij een aantal patiënten tijdens inname van de niet-omhulde tabletten, werden statistisch geen significante verschillen gedetecteerd. Trondstad et al. (1988) vergeleken vervolgens de niet-omhulde tabletten met naproxenzetpillen en bekwamen statistisch significante verschillen voor de erosieve lesies in de maag. Minder ernstige beschadiging werd gedetecteerd na rectale

toediening. Aabakken et al. besloten uit de resultaten van de beide studies dat het beschermende effect van enterische omhulling, hoewel beperkt, toch aantoonbaar was. Aangezien enterisch omhulde preparaten het geneesmiddel pas vrijstellen in de darm werd verondersteld dat hierdoor irritatie van de darm zou kunnen optreden ten gevolge van een verhoogde permeabiliteit. Aabakken et al. (1989) concludeerden echter uit een ^{51}Cr -EDTA permeabiliteitstest dat het gebruik van enterisch omhulde naproxentabletten bij de mens geen verhoogde toxiciteit veroorzaakte ter hoogte van de darm en dat bovendien de enterisch omhulde tabletten opnieuw minder lesies veroorzaakten ter hoogte van de maagmucosa. Extra studies werden uitgevoerd door Oddsson et al. (1990) en deze toonden een significant voordeel aan voor enterisch omhulde naproxentabletten in vergelijking met niet-omhulde tabletten. Gebruik van enterisch omhulde acetylsalicylzuur tabletten zorgde voor een minder frequent optreden van braken, buikpijn en bloedingen (Lanza et al., 1980; Lipowitz et al., 1986).

Doel van de volgende studie was het onderzoeken van het belang van het lokale effect van piroxicam bij het ontstaan van gastro-intestinale irritatie bij de hond. Dit onderzoek werd op twee manieren aangepakt. Enerzijds werd de potentiële mucosale toxiciteit onderzocht met behulp van een alternatieve screeningtest, waarbij naaktslakken gebruikt werden als model (Adriaens, Remon, 1999). De invloed van de piroxicamformulaties werd nagegaan door het bepalen van het lichaamsgewicht van de slakken en door de mucucproductie en de vrijstelling van proteïnen en enzymen uit de lichaamswand van de slak te bepalen na herhaald contact met de formulaties. Anderzijds werden gedurende twee korte-termijnstudies (2 en 6 weken) niet-omhulde en omhulde pelletformulaties toegediend aan gezonde honden teneinde het effect van piroxicam op de gastroduodenale mucosa via endoscopie te bepalen.

6.2 Materialen en methodes

6.2.1 Screeningtest voor mucosale toxiciteit

6.2.1.1 Materialen

- Negatieve controle: drum dried waxy maize starch (DDWM) (NC)
- Positieve controle: fysisch mengsel drum dried waxy maize starch/
natriumlaurylsulfaat (DDWM/NaLS) (80/20) (PC)
- Excipient: Avicel® PH 101/CL 611 (1/3) mengsel (FMC, Cork, Ierland)
- β -CD: β -cyclodextrine (Cavitron, Cerestar, Vilvoorde, België)
- Omhulde pellets: Avicel® PH 101/CL 611 (1/3) omhuld met 10 %
Eudragit® L 30 D-55/FS 30 D (60/40)
- Niet-omhulde pellets: Avicel® PH 101/CL 611 (1/3)
- HP- β -CD pellets: Avicel® PH 101/CL 611 (1/3) + 20 % hydroxypropyl- β -
cyclodextrine (Janssen, Beerse, België)
- Feldene®: inhoud van een Feldene® 10 mg capsule (Pfizer, Brussel, België): piroxicam, lactose, zetmeel, natriumlaurylsulfaat
- Brexine®: verpulverde Brexine® tablet (Christiaens, Brussel, België): piroxicam- β -cyclodextrinecomplex 191,2 mg overeenkomend met 20 mg piroxicam

Pellets werden geproduceerd via extrusie en sferonisatie en waren beladen met 2,5 % (g/g) piroxicam. Omhulling met de Eudragit® polymeren (Röhm Pharma, Darmstadt, Duitsland) gebeurde via de Würster techniek in een wervelbed.

6.2.1.2 Methode

De testprocedure was gebaseerd op de methode ontwikkeld door Adriaens en Remon (1999). Slakken met een gewicht tussen 3,5 en 4,5 g werden in het experiment gebruikt. Vijf negatieve controles (DDWM) en vijf positieve controles (fysisch mengsel DDWM/NaLS; 80/20) werden in de test opgenomen. De slakken werden gedurende 30 min op 20 mg van de poederformulaties of op 400 mg van de pelletformulaties geplaatst in een petri-schaal. De slakken en de petrischalen werden gewogen vóór de test en na 30 min contacttijd met de testformulaties. Zowel de verandering in lichaamsgewicht en als de mucusproductie werden uitgedrukt als percentage (g/g) ten opzichte van het lichaamsgewicht. Vervolgens werden de slakken overgebracht naar een nieuwe petriplaat en werd 1 ml phosphate buffer saline (PBS) toegevoegd. Na 1, 2 en 3 uur werden de slakken telkens overgebracht naar een nieuwe petriplaat met 1 ml PBS. De PBS-stalen werden onmiddellijk geanalyseerd op de aanwezigheid van proteïnen, lactaat dehydrogenase (LDH) en alkalisch fosfatase (ALP). Deze volledige procedure werd gedurende 5 opeenvolgende dagen herhaald.

De totale hoeveelheid proteïnen in de PBS-stalen werd bepaald met behulp van een NanoOrange™ proteïne kwantificatiekit (Molecular Probes, Leiden, Nederland) en werd uitgedrukt als µg/ml per g lichaamsgewicht. De LDH en ALP enzym-activiteit werd gemeten met twee verschillende enzymkits, respectievelijk DG 1340 K and DG 1245 (Sigma Diagnostica, België) en uitgedrukt in eenheden per liter (E/l) per g lichaamsgewicht.

De proteïne-, LDH- en ALP-vrijstelling zijn gebaseerd op de eerste 2 stalen na elke contactperiode. De geteste substanties worden volgens een predictiemodel (Fig. 6.1), opgesteld door Adriaens et al. (2003), geclassificeerd op basis van de volgende parameters: de totale mucusproductie (som van de mucusproductie van de verschillende contactperiodes), de gemiddelde proteïnevrijstelling (gemiddelde van alle stalen (zonder dag 1)), gemiddelde LDH-vrijstelling (inclusief deze van dag 1) en de gemiddelde ALP-vrijstelling (inclusief deze van dag 1).

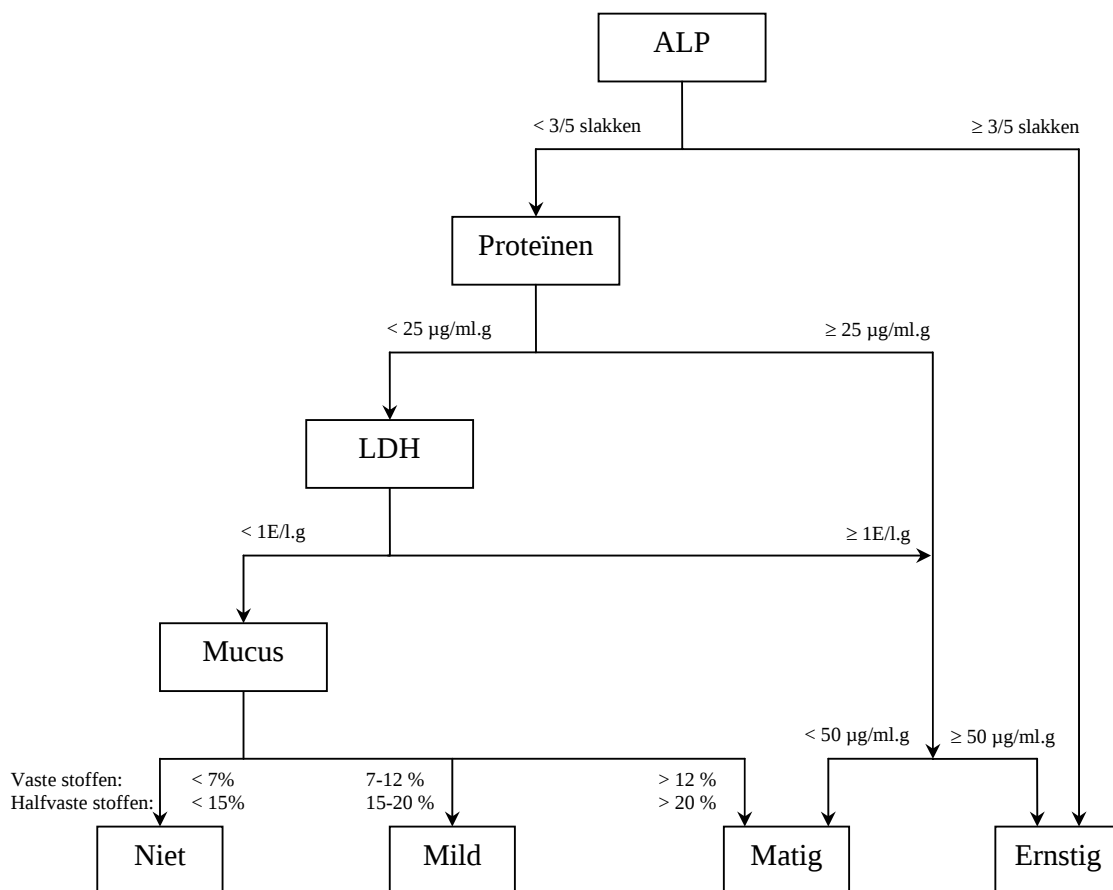


Fig. 6.1: Klassificatiepredictiemodel voor lokale tolerantie van farmaceutische componenten (Adriaens et al., 2003)

6.2.2 Endoscopische studie

De ethische commissie van de Faculteit Diergeneeskunde (Universiteit Gent) gaf toestemming voor het uitvoeren van de endoscopische studie.

Endoscopisch onderzoek bij honden werd gerapporteerd in de literatuur voor het opsporen van gastro-intestinale irritatie ten gevolge van de toediening van carprofen, meloxicam en ketoprofen (Forsyth et al., 1998), van ketoprofen, aspirine en een koper-indomethacine complex (Forsyth et al., 1996) en van aspirine, naproxen, ibuprofen, fenylbutazone en meclofenaminezuur (Wallace et al., 1990). In deze studies werden naast het endoscopisch onderzoek ook een bloedonderzoek en een klinische evaluatie uitgevoerd.

In een eerste studie werden 8 bastaardhonden (2-9 jaar, 27-43 kg) gebruikt in een dubbelblind, gekruist experiment. Elke hond kreeg willekeurig één van de 3 formulaties toegediend (niet-omhulde pellets, omhulde pellets en Feldene® capsules). Tussen de opeenvolgende series werd een wash-out periode van één maand gerespecteerd. Piroxicam werd gedurende 2 weken toegediend in een dosis van 0,3 mg piroxicam per kg lichaamsgewicht met een doseringsinterval van 48 uur. De vereiste hoeveelheid pellets of Feldene® poeder werd berekend, afgewogen en afgevuld in harde gelatinecapsules (nr. 0). De capsules werden 30 min voor het voederen toegediend door de capsules achteraan op de tong te plaatsen en deze door te spoelen met 2 ml water. Voedsel werd 12 uur voor de toediening verwijderd, water was beschikbaar *ad libitum*.

Voor de start van het experiment werd een “baseline” endoscopisch onderzoek uitgevoerd waarbij biopsies werden genomen ter hoogte van de pylorus en het duodenum. Bloedstalen werden verzameld voor de bepaling van hematologische parameters (aantal rode bloedcellen, trombocyten en reticulocyten, hemoglobine- en hematocrietwaarden), van biochemische parameters (indicatoren voor lever- en nierfunctie zoals totaal en direct bilirubine, glutamaat pyruvaat transaminase en glutamaat oxalaat transaminase) en van het totaal proteïne- en albuminegehalte. Gedurende de 3 weken volgend op de eerste toediening werden het endoscopisch onderzoek en de bloedstaalnames herhaald op dag 7, 14 en 21. Op dag 14 (laatste toediening) werden biopsies genomen voor histologische evaluatie. Simultaan werden plasmastalen gecollecteerd voor de bepaling van de piroxicamplasmaconcentratie met behulp van een gevalideerde HPLC methode.

Voor de tweede studie werden 12 vrouwelijke Beagle honden (1-2 jaar, 10-15 kg) gebruikt. Zes honden kregen gedurende 6 weken omhulde pellets en 6 honden ontvingen de inhoud van Feldene® capsules in een dosis van 0,3 mg piroxicam/kg lichaamsgewicht en met een doseringsinterval van 48 uur. Een endoscopisch onderzoek werd uitgevoerd vóór de start van het experiment en één dag na de laatste toediening. Gedurende de toedieningsperiode werden bloedstalen genomen 1, 3 en 6 weken na de eerste toediening. Dagelijks werd nagegaan of klinische symptomen zoals braken, diarree, verlies van eetlust en abdominale pijn optraden bij de honden.

Een “baseline” endoscopisch onderzoek van de maagmucosa werd uitgevoerd om bestaande letstels uit te sluiten. Voedsel werd 12 uur voor elk experiment verwijderd. Water was beschikbaar *ad libitum*.

Voor het endoscopisch onderzoek werden de honden verdoofd. Medetomidine (Domitor, Pfizer Animal Health) werd intraveneus toegediend als premedicatie in een dosis van 5 µg/kg lichaamsgewicht. Na 5 minuten werd de eigenlijke anesthesie ingeleid met propofol i.v. (Rapinovel, Mallinckrodt Veterinary, Zweden) in een dosis van 2-3 mg/kg lichaamsgewicht en getitreerd tot het gewenste effect. Na het verdwijnen van de slikreflex werden de honden oraal geïntubeerd met een endotracheale tube (Rüsch, Duitsland). De anesthesie werd gedurende 20 à 30 min onderhouden met isofluraan (Forene, Abbott, België) en een gasdebiet van 2 l zuurstof/min. Een Cirkel-systeem (Spiromat 650, Dräger, Lübeck, Duitsland) met een precisieverdamper (buiten circuit) (Vapor 19, Dräger, Lübeck, Duitsland) werd aangewend en tussen de experimenten werd het ganse systeem gedroogd met lucht. Intraveneuze infusen werden niet toegediend gedurende het onderzoek. De hartslag, de perifere hemoglobine-verzadiging (SpO₂ %), end-tidal koolstofdioxide-percentages (CO₂ % ET) en ingeademd zuurstof-percentages (FiO₂ %) werden continu gemeten met behulp van een pulsoxymeter (saturatiemeter) en capnograaf (N-1000/N-2500, Nellcor Puritan Bennett Inc., Pleasanton, CA, USA). Om de verdoving te beëindigen werd de premedicatie geantagoniseerd met intramusculair atipamezole (Antisedan, Pfizer Animal Health, België) aan een dosis van 25 µg/kg lichaamsgewicht.

De gastro-intestinale tractus werd onderzocht met behulp van een video-endoscoop (Fujinon, New Jersey, USA) om eventuele lesies vast te leggen op beeld. De endoscoop passeerde doorheen de oesophagus, via de maagzak (fundus) en het maaglichaam (corpus) tot aan de pylorus. In de eerste studie passeerde de endoscoop doorheen de pylorus en werd het duodenum ook bestudeerd, waarna de endoscoop gedraaid en teruggetrokken werd zodanig dat de maagzak ook bekeken werd. Het aantal en het type lesies en de aanwezigheid van bloed werden onderzocht. Scores werden toegekend op basis van het totaalbeeld: voorkomen van erytheem, puntbloedingen, erosies, bloederig schuim. De scores verkregen uit de eerste kortetermijnstudie werden statistisch geanalyseerd met behulp van een niet-parametrische test voor k-afhankelijke stalen (Friedman test). Hiervoor werd gebruik gemaakt van het software pakket SPSS (v. 11, SPSS, Chicago, USA). Een p-waarde kleiner dan 0,05 wees op een significant verschil tussen minstens één van de variabelen. Een post-

hoc test werd uitgevoerd om de significantie van individuele paren van scores te vergelijken. Hiertoe werd aan de verschillende scores een rank toegekend en voor elke formulatie werd op elk tijdstip de som gemaakt van de ranks (“rank total”). Daarnaast werd de “critical difference” waarde berekend en wanneer het verschil tussen twee rank totals groter was dan deze waarde was er een significant verschil tussen de scores. De scores verkregen uit de tweede studie werden eveneens statistisch geanalyseerd met behulp van een niet-parametrische test voor k-afhankelijke stalen (Friedman test). Hiervoor werd gebruik gemaakt van het software pakket SPSS (v. 11, SPSS, Chicago, USA). Een P-waarde kleiner dan 0,05 wees op een significant verschil tussen de variabelen. Aangezien slechts op twee tijdstippen een endoscopisch onderzoek werd uitgevoerd, was een post-hoc test overbodig.

6.3 Resultaten

6.3.1 Screeningtest voor mucosale toxiciteit

De totale mucusproductie, de gemiddelde proteïnevrijstelling en de LDH- en ALP-vrijstelling gedurende herhaalde contactperiodes van de slakken met de formulaties worden weergegeven in Tabel 6.2.

Uit het predictiemodel werd afgeleid dat het pelletexcipiënt, de omhulde pellets en de inhoud van de Feldene[®] capsule niet-irriterend, de niet-omhulde pellets mild irriterend en de hydroxypropyl- β -cyclodextrine bevattende pellets, β -cyclodextrine en Brexine[®] (piroxicam- β -cyclodextrinecomplex) matig irriterend zijn (Tabel 6.2). Aangezien de excipiëntia aangewend in de pellets niet-irriterend en de niet-omhulde pellets mild irriterend zijn, werd geconcludeerd dat deze lokale irritatie te wijten was aan piroxicam. Dit werd bovendien bevestigd doordat het aanbrengen van een omhulling rond de pellets aanleiding gaf tot een reductie van het irriterend potentieel, waardoor de omhulde pellets werden geclassificeerd als niet-irriterend. Vreemd genoeg vertoonde de inhoud van de Feldene[®] capsule geen effect op de slakken en -in tegenstelling tot wat verwacht werd- werd Feldene[®] op basis van de gemeten parameters ondergebracht bij de niet-irriterende bestanddelen. Het uitblijven van irritatie zou eventueel te wijten kunnen zijn aan de lage concentratie (7 % g/g) aan

piroxicam in 20 mg inhoud van de Feldènecapsule in vergelijking tot de hoeveelheid piroxicam aanwezig in 400 mg pellets (2,5 % (g/g)).

Cyclodextrines worden gebruikt in combinatie met piroxicam om de oplosbaarheid te verhogen (Backensfeld et al., 1991) en om de gastro-intestinale toxiciteit van piroxicam te verlagen (Santucci et al., 1992). Uit de mucosale irritatietest werd echter afgeleid dat de aanwezigheid van cyclodextrinederivaten een uitgesproken toename van het irriterend potentieel veroorzaakte. Zowel de pellets op basis van hydroxypropyl- β -cyclodextrine als de verpulverde Brexine[®] tablet worden volgens Tabel 6.2 geclassificeerd als matig irriterend. Deze irritatie was een combinatie van de aanwezigheid van piroxicam en een cyclodextrinederivaat aangezien β -cyclodextrine als dusdanig reeds als matig irriterend werd geklassificeerd. In de endoscopische studie werden dan ook geen cyclodextrine preparaten getest.

Tabel 6.2: Het effect van de verschillende formulaties op de totale mucusproductie (%), de gemiddelde proteïnevrijstelling ($\mu\text{g/ml.g}$), de gemiddelde LDH en ALP vrijstelling uit de lichaamswand van de slakken (gemiddelde $\pm$ s.d.).

	Totale mucus- productie (%)	Proteïnevrijstelling ($\mu\text{g/ml.g}$)	LDH (E/l.g)	ALP (E/l.g)	N	Lokale tolerantie volgens predictiemodel (Adriaens et al., 2003)
NC	$6,0 \pm 1,4$	16 ± 12	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	15	Niet-irriterend
PC	$23,9 \pm 3,8$	159 ± 54	$2,35 \pm 1,53$	$0,38 \pm 0,40$	15	Ernstig irriterend
Excipiënt	$4,0 \pm 1,8$	4 ± 1	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	4	Niet-irriterend
β -CD	$3,1 \pm 1,3$	31 ± 23	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	5	Matig irriterend
Omhulde pellets	$0,6 \pm 1,9$	16 ± 11	$0,07 \pm 0,16$	$0,00 \pm 0,00$	5	Niet-irriterend
Niet-omhulde pellets	$10,7 \pm 1,3$	25 ± 21	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	5	Mild irriterend
HP- β -CD pellets	$13,9 \pm 2,1$	22 ± 24	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	5	Matig irriterend
Feldène®	$0,9 \pm 2,4$	13 ± 6	$0,10 \pm 0,17$	$0,00 \pm 0,00$	10	Niet-irriterend
Brexine®	$6,9 \pm 2,3$	27 ± 16	$0,38 \pm 0,87$	$0,00 \pm 0,00$	10	Matig irriterend

6.3.2 Endoscopische studie

Om het aandeel van de locale mucosale toxiciteit van piroxicam *in vivo* te bepalen werden de formulaties oraal toegediend aan honden en het effect op de maagmucosa werd bepaald via endoscopisch onderzoek. De persoon, die de endoscopie uitvoerde, werkte blind en wist dus niet welke formulatie elke hond toegediend kreeg.

Tijdens de “baseline” endoscopie (vóór de start van de toediening van de piroxicam formulaties) werden noch in de maag, noch in de darm lesies ontdekt.

In de preleminaire korte-termijnstudie (2 weken) werden geen tekenen van braken of diarree geobserveerd gedurende de toedieningsperiode.

De hematologische parameters wijzigden niet na piroxicamtoediening en bovendien bleef de totale proteïneconcentratie (indicator voor gastro-intestinaal bloedverlies) onveranderd (Tabel 6.3).

De piroxicamplasmaconcentraties bereikten een maximum na 1 week toediening en de concentraties na 1 en 2 weken waren vergelijkbaar. De gemiddelde plasmaconcentratie 24 uur na de laatste toediening bedroeg $1,12 \pm 0,29$ µg/ml voor de niet-omhulde pellets, $1,19 \pm 0,33$ µg/ml voor de enterisch omhulde pellets en $1,32 \pm 0,42$ µg/ml voor de Feldene[®] capsules. De plasmaconcentraties vertoonden grote interindividuele verschillen, maar hogere piroxicamspiegels konden niet gecorreleerd worden met ernstigere gastro-intestinale bijwerkingen.

Tabel 6.3: Overzicht van de belangrijkste hematologische en biochemische parameters gemeten tijdens een 14-daagse toediening van piroxicam aan 6 bastaardhonden.

Formulatie	Hemoglobine (g %)		Hematocriet (%)		Thrombocyten (10 ⁹ /l)	
	Voor	Na	Voor	Na	Voor	Na
Niet-omhulde pellets	16,9 ± 1,3	16,3 ± 1,0	53,4 ± 4,4	52,2 ± 3,1	158,7 ± 67,7	133,0 ± 49,2
Omhulde pellets	17,1 ± 1,0	16,6 ± 1,2	53,8 ± 3,6	53,1 ± 3,7	168,3 ± 124,7	161,8 ± 69,0
Feldene®	17,2 ± 1,1	16,3 ± 1,6	54,7 ± 7,4	51,2 ± 5,0	181,5 ± 124,2	179,2 ± 68,5

Formulatie	GOT (E/l)		GPT (E/l)		Totaal proteïne (g%)	
	Voor	Na	Voor	Na	Voor	Na
Niet-omhulde pellets	40,2 ± 9,1	34,5 ± 2,0	44,8 ± 14,4	37,8 ± 3,7	6,6 ± 0,7	6,1 ± 0,2
Omhulde pellets	37,8 ± 5,0	36,2 ± 8,3	41,5 ± 15,9	39,0 ± 8,2	6,4 ± 0,1	6,1 ± 0,3
Feldene®	36,3 ± 6,7	37,3 ± 8,2	42,7 ± 14,9	40,5 ± 6,7	6,4 ± 0,1	6,0 ± 0,3

GOT: glutamaat oxalaat transaminase

GPT: glutamaat pyruvaat transaminase

Tabel 6.4: Scores toegekend op basis van endoscopisch onderzoek uitgevoerd in het kader van een 14-daagse toediening van niet-omhulde en omhulde piroxicampellets en van Feldene® aan 6 bastaardhonden.

Formulatie	Dag 0	Dag 7	Dag 14	Hond	Periode
Omhulde pellets	1	7	7	2	1
Omhulde pellets	0	0	0	3	1
Omhulde pellets	0	6	5	5	1
Omhulde pellets	2	7	3	4	2
Omhulde pellets	1	1	1	6	2
Omhulde pellets	2	2	3	7	2
Niet-omhulde pellets	0	2	2	4	1
Niet-omhulde pellets	0	4	4	6	1
Niet-omhulde pellets	0	3	3	7	1
Niet-omhulde pellets	3	5	3	2	2
Niet-omhulde pellets	1	4	2	3	2
Niet-omhulde pellets	2	5	6	5	2
Feldene®	3	5	5	2	3
Feldene®	1	4	4	3	3
Feldene®	2	3	3	4	3
Feldene®	2	3	5	5	3
Feldene®	2	4	4	6	3
Feldene®	2	3	2	7	3

De beelden van de maagmucosa verkregen via endoscopie wezen na één week in sommige gevallen op milde acute gastro-intestinale irritatie met puntbloedingen en erytheem, soms zelfs bloederig schuim. Deze irritatie verdween ofwel volledig bij verdere toediening (adaptatie) ofwel herstelden de mucosa zich één week na het stopzetten van de toediening. In geen van de honden werden ulcervorming of erosies gedetecteerd. Op basis van de endoscopische bevindingen en de toegekende scores (Tabel 6.4) kon via statistische analyse een onderscheid gemaakt worden tussen de verschillende groepen.

Tabel 6.5: Resultaten van de Friedman test voor de 14-daagse toediening van niet-omhulde en omhulde piroxicampellets en van Feldene® aan 6 bastaardhonden.

	Omhulde pellets			Niet-omhulde pellets			Feldene®		
	t ₀	t ₁	t ₂	t ₀	t ₁	t ₂	t ₀	t ₁	t ₂
Mean rank	1,42	2,33	2,25	1,08	2,58	2,33	1,08	2,50	2,42
Total rank	8,5	14	13,5	6,5	15,5	14	6,5	15	14,5
p-waarde	0,071			0,010			0,008		

Met t₀: vóór de toedieningsperiode (dag 0), t₁: na 1 week toediening (dag 7), t₂: na 2 weken toediening (dag 14)

Statistische analyse van de scores toonde een significant hoger risico aan voor het optreden van gastro-intestinale irritatie ten gevolge van de inname van niet-omhulde pellets en Feldene® ($P < 0,05$) (Tabel 6.5). Voor de omhulde pellets traden geen significante veranderingen op van de maagmucosa.

Tabel 6.6: Resultaten van de post-hoc test voor de 14-daagse toediening van niet-omhulde en omhulde piroxicampellets en van Feldene® aan 6 bastaardhonden.

Formulatie	t ₀ – t ₁	t ₀ – t ₂	t ₁ – t ₂
Omhulde pellets	5,5	5	0,5
Niet-omhulde pellets	9*	7,5	1,5
Feldene®	8,5*	8	-0,5

* $\geq$ critical difference (= 8,29): significant verschillend

Uit de resultaten van de post-hoc test (Tabel 6.6) bleek dat enkel de scores na één week toediening significant verschillend waren van de blancoscores. Hieruit werd besloten dat het aanbrengen van een omhulling op de pellets een gunstige invloed had op de lokale tolerantie van de maagmucosa ten opzichte van piroxicam. Bovendien veroorzaakten zowel de niet-omhulde pellets als de Feldene® capsules irritatie en dit in tegenstelling tot wat uit de slakkentest werd besloten. De duodenale mucosa waren moeilijk te evalueren, maar er werden geen veranderingen waargenomen. Histologische evaluatie van de biopsies toonde uitsluitend erytheem aan en geen

capillaire bloedingen. Bovendien werden geen tekenen van inflammatie (invasie van leukocyten of neutrofielen) aangetroffen. Het optreden van erytheem kon niet gekoppeld worden aan het toedienen van een specifieke formulatie en bovendien werd erytheem zelfs waargenomen bij de toediening van placebo.

Er werd besloten deze resultaten te verifiëren aan de hand van een aangepast experimenteel protocol, waarbij een groter aantal honden in de studie werd opgenomen, zodat geen cross-over proefopzet nodig was (1 formulatie per 6 honden). Bovendien was de populatie homogener (leeftijd tussen 1 en 2 jaar, enkel teefjes, gewicht tussen 10 en 15 kg) en werd besloten de toediening over een langere periode (6 weken) te laten plaatsvinden. Er werden slechts 2 endoscopische evaluaties uitgevoerd namelijk vóór en na de behandelingsperiode, waarbij enkel de maagmucosa werden bestudeerd. Aangezien uit het vorige experiment bleek dat de omhulde pellets, noch in de slakkentest, noch in het *in vivo* experiment, aanleiding gaven tot irritatie, werd besloten deze pellets te vergelijken met het referentieproduct Feldene[®] capsules, welke wel een risico op irritatie vertoonden.

Tabel 6.7: Scores toegekend op basis van endoscopisch onderzoek uitgevoerd in het kader van een 42-daagse toediening van Feldene[®] capsules en omhulde piroxicampellets aan 12 Beagle honden.

Formulatie	Dag 0	Dag 42	Hond
Feldene [®]	2	4	1
Feldene [®]	4	3	3
Feldene [®]	2	5	5
Feldene [®]	2	3	7
Feldene [®]	1	1	9
Feldene [®]	1	4	12
Omhulde pellets	1	6*	2
Omhulde pellets	3	3	4
Omhulde pellets	2	2	6
Omhulde pellets	3	3	8
Omhulde pellets	3	3	10
Omhulde pellets	1	2	11

*vorming van één ulcer

In Tabel 6.7 worden de scores weergegeven, die toegekend werden in het tweede endoscopische onderzoek. Bij slechts één hond werd duidelijk ulceratie waargenomen

ten gevolge van de inname van omhulde pellets. Indien bij andere honden irritatie optrad, beperkte zich dit tot erytheem en puntbloedingen.

Tabel 6.8: Resultaten van de Friedman test voor de 42-daagse toediening van omhulde piroxicampellets en van Feldene® aan 12 Beaglehonden.

	Omhulde pellets		Feldene®	
	t ₀	t ₁	t ₀	t ₁
Mean rank	1,33	1,67	1,25	1,75
P-waarde	0,157		0,180	

Met t₀: vóór de toedieningsperiode (dag 0), t₁: na 6 weken toediening (dag 42)

Statistische vergelijking van de scores vóór en na de 6 weken toediening van piroxicam toonde geen significante wijzingen aan van de scores van de maagmucosa. Noch de omhulde pellets, noch de Feldene® capsules veroorzaakten irritatie ($P > 0,05$) (Tabel 6.8), dit in tegenstelling tot wat verwacht werd uit het kortetermijnsexperiment. Vermoedelijk trad er na verloop van tijd adaptatie van de maagmucosa op, zodat er na 6 weken minder irritatie werd gedetecteerd. Lipscomb et al. (1998) rapporteerden reeds na één week acute maagbeschadiging ten gevolge van piroxicamtoediening, welke na 28 dagen toediening herstelde. Op het einde van deze studie werd dan ook geen gastro-intestinale beschadiging meer gedetecteerd. Dit fenomeen wordt beschreven als adaptatie en wordt uitgebreid behandeld door Konturek en Konturek (1994). Adaptatie werd ook waargenomen na toediening van naproxen, etodolac (Lipscomb et al., 1995), diclofenac (Skeljo et al., 1996) en aspirine (Brzozowski et al., 1996). Bovendien werden gedurende de 6 weken durende toedieningsperiode geen klinische symptomen zoals abdominale pijn, braken, diarree, anorexia of melena waargenomen. De gemiddelde piroxicamplasma'spiegels lagen in dit experiment lager voor de omhulde pellets ($1,06 \pm 0,31 \mu\text{g/ml}$) dan voor de Feldene® capsules ($1,56 \pm 0,33 \mu\text{g/ml}$). Interindividuele verschillen konden niet gekoppeld worden aan de ernst van de gastro-intestinale bijwerkingen.

6.4 Conclusie

Uit de alternatieve screeningtest bleek dat de niet-omhulde piroxicampellets wel degelijk een lokale mucosale toxiciteit vertoonden en dat omhulling van de pellets dit lokaal beschadigend effect verhinderde. Hoewel de Feldene[®] formulatie op basis van de screeningtest werd geklassificeerd als een niet-irriterende component, zorgde het (net zoals de niet-omhulde pellets) na één week toediening aan honden toch voor een significante wijziging van de endoscopisch toegekende scores. Dit effect werd evenwel niet waargenomen na 6 weken toediening, wat vermoedelijk te wijten was aan adaptatie van de maagmucosa. De omhulde pellets gaven in geen van beide gevallen aanleiding tot wijzingen ter hoogte van de maag.

Hieruit werd besloten dat de piroxicamformulaties in beperkte mate mucosale irritatie veroorzaakten. Het gebruik van omhulde pellets voor de toediening van piroxicam aan honden droeg bij tot de preventie van acute gastro-intestinale irritatie.

6.5 Referenties

Aabakken L., Bjørnbeth B.A., Hofstad B., Olaussen B., Larsen S., Osnes M., 1989. Comparison of the gastrointestinal side effects of naproxen formulated as plain tablets, enteric-coated tablets, or enteric coated granules in capsules. Scand. J. Gastroenterol 24 (suppl), 65-73.

Aabakken L., Olaussen B., Mowinckel P., Osnes M., 1992. Gastroduodenal lesions associated with two different piroxicam formulations: an endoscopic comparison. Scand. J. Gastroenterol. 27, 1049-1054.

Adriaens E., Dhondt M.M., Pringels E., Foreman P., Remon J.P., 2003. Evaluation of the mucosal irritation potency of co-spraydried Starch/Carbopol mixtures containing sodiumtaurocholate and sodiumlaurylsulphate. AAPS Pharm. Sci. 5, Abstract R6123.

Adriaens E., Remon J.P., 1999. Gastropods as an evaluation tool for screening the irritating potency of absorption enhancers and drugs. Pharm. Res. 16, 1240-1244.

Backensfeld T., Müller B.W., Kolter K., 1991. Interaction of NSAID with cyclodextrins and hydroxypropyl cyclodextrin derivatives. *Int. J. Pharm.* 74, 85-93.

Bjorkman D.J., 1996. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastrointestinal injury. *Am. J. Med.* 101, 25S-32S.

Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Stachura J., 1996. Gastric adaptation to aspirin and stress enhances gastric mucosal resistance against the damage by strong irritants. *Scand. J. Gastroenterol.* 31, 118-125.

Forsyth S.F., Guilford W.G., Haslett S.J., Godfrey J., 1998. Endoscopy of the gastroduodenal mucosa after carprofen, meloxicam and ketoprofen administration in dogs. *J. Small Anim. Pract.* 39, 421-424.

Forsyth S.F., Guilford W.G., Lamoko C.R.O., 1996. Endoscopic evaluation of the gastroduodenal mucosa following non-steroidal anti-inflammatory drug administration in the dog. *N. Z. Vet. J.* 44, 179-181.

Hawkey C.J., 2000. Nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy. *Gastroenterology* 119, 521-535.

Konturek S.J., Konturek J.W., 1994. Gastric adaptation – basic and clinical aspects. *Digestion* 55, 131-138.

Lanza F.L., Royer G.L., Nelson R.S., 1980. Endoscopic evaluation of the effects of aspirin, buffered aspirin and enteric-coated aspirin on gastric and duodenal mucosa. *N. Engl. J. Med.* 303, 136-138.

Lipowitz A.J., Boulay J.P., Klausner J.S., 1986. Serum salicylate concentrations and endoscopic evaluation of the gastric mucosa in dogs after oral administration of aspirin containing products. *Am. J. Vet. Res.* 47, 1586-1589.

Lipscomb G.R., Wallis N., Armstrong G., Goodman M.J., Rees W.D.W., 1995. Gastric-mucosal adaptation to etodolac and naproxen. *Aliment. Pharm. Therap.* 9, 379-385.

Lipscomb G.R., Wallis N., Armstrong G., Rees W.D.W., 1998. Gastrointestinal tolerability of meloxicam and piroxicam: a double-blind placebo-controlled study. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 46, 133-137.

Oddsson E., Gudjonsson H., Thjodleifsson B., 1990. Endoscopic findings in the stomach and duodenum after treatment with enteric coated and plain naproxen tablets in healthy subjects. *Scand. J. Gastroenterol.* 25, 231-234.

Patoia L., Clausi G., Farroni F., Alberti P., Fugiani P., Bufalino L., 1989. Comparison of fecal blood loss, upper gastrointestinal mucosal integrity and symptoms after piroxicam beta-cyclodextrin, piroxicam and placebo administration. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 36, 599-604.

Rodriguez-Tellez M., Argülles F., Herrerias J.M. jr, Ledro D., Esteban J., Herrerias J.M., 2001. Antiinflammatory agents less dangerous for gastrointestinal tract. *Curr. Pharm. Design* 7, 951-976.

Sammour O.A., Al Zuhair H.H., El Sayed M.I., 1998. Inhibitory effect of liposome-encapsulated piroxicam on inflammation and gastric mucosal damage. *Pharm. Ind.* 60, 1084-1087.

Santucci L., Fiorucci S., Chiucchiù S., Sicilia A., Bufalino L., Morelli A., 1992. Placebo-controlled comparison of piroxicam- β -cyclodextrin, piroxicam, and indomethacin on gastric potential difference and mucosal injury in humans. *Dig. Dis. Sci.* 37, 1825-1832.

Skeljo M.V., Cook G.A., Elliott S.L., Giraud A.S., Yeomans N.D., 1996. Gastric mucosal adaptation to diclofenac injury. *Dig. Dis. Sci.* 41, 32-39.

Trondstad R., Bell H., Holler T., 1988. Endoscopic evaluation of the effect of naproxen tablets and suppositories on the gastric mucosa in healthy volunteers. *Endoscopy* 20, 58.

Trondstad R.I., Aadland E., Holler T., Olaussen B., 1985. Gastroscopic findings after treatment with enteric-coated and plain naproxen tablets in healthy subjects. *Scand. J. Gastroenterol.* 20, 239-242.

Wallace M.S., Zawie D.A., Garvey M.S., 1990. Gastric ulceration in the dog secondary to the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 26, 467-472.

Zuin M., Podda M., Selmi C., Giorgini A., Zermiani P., Mandelli G., Sacchetta A.C., Candiani C., 2000. Gastrointestinal tolerability of ibuprofen administered in two pharmaceutical formulations. *Arzneim.-Forsch./ Drug Res.* 50, 837-842.

Doel van dit onderzoek is de ontwikkeling van een orale geneesmiddelvorm voor de toediening van piroxicam aan honden. Piroxicam is een niet-steroïdaal anti-inflammatoir geneesmiddel en de geneesmiddelvorm moet geformuleerd worden zodat de lokale tolerantie van piroxicam in de maag wordt verbeterd, terwijl een snelle en volledige vrijstelling van het slecht wateroplosbare piroxicam in de dunne darm gegarandeerd blijft.

Uit *Hoofdstuk 1* blijkt dat piroxicam aanleiding geeft tot gastro-intestinale irritatie bij de hond. Een deel van deze irritatie is te wijten aan lokale irritatie van het NSAID ter hoogte van de mucosale barrière van de maagwand, waardoor werd geopteerd voor het ontwikkelen van een enterisch omhuld preparaat. Om een reproduceerbare gastro-intestinale transit te verkrijgen, werd gekozen voor een multiparticulair systeem bestaande uit sfeertjes kleiner dan 2 mm. Om deze omhulde sfeertjes gemakkelijk toe te dienen aan de hond, dienen ze gecomprimeerd te worden tot tabletten, die snel desintegreren in zuur milieu.

De ontwikkeling van een pelletformulatie waaruit piroxicam snel wordt vrijgesteld in fosfaatbuffer pH 6,8 (minstens 75 % na 45 minuten) wordt besproken in *Hoofdstuk 2*. De pellets werden geproduceerd via de extrusie-sferonisatie techniek. Piroxicam wordt in het Biopharmaceutical Classification System (BCS) beschouwd als een klasse II verbinding, gekarakteriseerd door een slechte wateroplosbaarheid en een goede permeabiliteit. De ontwikkeling van een pelletformulatie waaruit piroxicam onmiddellijk werd vrijgesteld was voornamelijk gebaseerd op het zoeken naar hulpstoffen, die in staat waren de oplosbaarheid en dissolutiesnelheid van piroxicam gunstig te beïnvloeden. Het toevoegen van surfactantia, cosolventen en desintegratoren had geen gunstige invloed op de piroxicamvrijstelling of resulteerde in pellets van onaanvaardbare kwaliteit. Het combineren van microkristallijne cellulose (Avicel® PH 101) met gepreformuleerde mengsels van microkristallijne cellulose en natriumcarboxymethylcellulose (Avicel® RC 581 en CL 611) zorgde voor een belangrijke verbetering van de piroxicamvrijstelling. Hoe groter de hoeveelheid natriumcarboxymethylcellulose in de pellets, hoe sneller piroxicam werd vrijgesteld. Pellets op basis van een mengsel van Avicel® PH 101 en CL 611 in een verhouding van 1 op 3 gaven in fosfaatbuffer pH 6,8 aanleiding tot een

reproduceerbare vrijstelling van piroxicam (95 % na 45 min). Bovendien liet deze formulatie zich vlot extruderen en gaf ze aanleiding tot pellets met een nauwe deeltjesgroottedistributie en lage friabiliteit. Deze formulatie werd geoptimaliseerd en geselecteerd voor verdere omhullings-, compactie- en *in vivo*-experimenten.

De resultaten van de coatingexperimenten worden weergegeven in *Hoofdstuk 3*. Na optimalisatie van het omhullingsproces in een wervelbed met Würster-systeem werd de invloed van de samenstelling van de omhullingsvloeistof op de piroxicamvrijstelling nagegaan. Piroxicampellets (800-1250 µm) werden omhuld met mengsels van Eudragit® L 30 D-55 en FS 30 D in verschillende verhoudingen. De aanwezigheid van Eudragit® FS 30 D in de coatingformulatie zorgde voor een vertraging van de piroxicamvrijstelling in fosfaatbuffer pH 6,8 gedurende de eerste 30 min van de dissolutietest. De omhulling bestaande uit 100 % Eudragit® FS 30 D vertraagde de piroxicamvrijstelling in fosfaatbuffer pH 6,8 zodanig dat na 30 minuten geen piroxicam vrijgesteld was. Omhullen van pellets met mengsels van Eudragit® FS 30 D en L 30 D-55 of deze laatste als dusdanig zorgde voor maagsapresistentie. Uit alle formulaties werd na 45 min een vrijstelling van minstens 75 % piroxicam verkregen en dit onafhankelijk van de hoeveelheid polymeer. Verder onderzoek diende uit te wijzen wat het belang was van de samenstelling van de omhulling tijdens het compactieproces. In het tweede deel van *Hoofdstuk 3* wordt de stabiliteit van niet-omhulde en van pellets omhuld met 10 % Eudragit L 30 D-55/FS 30 D (60/40) onderzocht. Bij bewaring van niet-omhulde en omhulde piroxicampellets bij 25 °C en 60 % RV gedurende een periode van 6 maand trad er geen verandering op in de vrijstelling van piroxicam. Onder stress bewaaromstandigheden (40 °C en 75 % RV) bleef de vrijstelling van piroxicam uit de niet-omhulde pellets ongewijzigd, terwijl de verhoogde temperatuur en RV zorgden voor het aaneenkleven van de omhulde pellets omwille van de weekmakende effecten van water.

Hoofdstuk 4 handelt over de compactie van de omhulde pellets tot snel desintegrerende tabletten. De omhulde pellets werden gecompacteerd met behulp van beschermende waspellets (Paracera® P/Drum Dried Corn Starch/Kollidon® CL; 50/33,3/16,7). Minstens 10 % Kollidon® CL (toegevoegd onder poedervorm) was nodig als desintegratiemiddel om een tablet te verkrijgen, die snel desintegreerde in 0,1 N HCl met vrijstelling van de oorspronkelijke intacte omhulde pellets. De invloed van drie formulatieparameters (de samenstelling en de dikte van de enterische

omhulling en de verhouding omhulde piroxicampellets/waspellets) en één procesparameter (de compressiekracht) op de tableteigenschappen werd nagegaan via een statistische proefopzet. Het gebruik van waspellets als vulstof in tabletten op basis van omhulde piroxicampellets zorgde voor voldoende bescherming van de omhulling, onafhankelijk van de aanwezigheid van een flexibel polymeer of van de dikte van de polymeerlaag. Bovendien werden de eigenschappen van tabletten op basis van omhulde pellets en deformeerbare pellets hoofdzakelijk bepaald door de hoeveelheid zacht deformerend materiaal aanwezig in de tablet. Uiteindelijk werden voor verder onderzoek twee tabletformulaties geselecteerd: mengsels met een verhouding omhulde pellets versus waspellets van 40/60 of van 30/70. Als enterische omhulling werd voor 10 % Eudragit[®] L 30 D-55/FS 30 D (60/40) gekozen. Uit nader onderzoek naar de invloed van de pelletgrootte werd geconcludeerd dat de tabletformulatie op basis van omhulde pellets met een deeltjesgrootte van 315-500 µm en een verhouding waspellets/omhulde pellets van 70/30 werd gekenmerkt door een nauwere gewichtsverdeling, een hogere mechanische sterkte, een lagere friabiliteit, een kortere desintegratietijd en een snellere vrijstelling van piroxicam in vergelijking met tabletten geformuleerd met de grotere pellets (800-1250 µm) in een verhouding 40/60. Dit resultaat werd bevestigd in een opschalingsstudie op een excentrische tabletteermachine. De desintegratietijd was het langst (22,3 min) voor de tabletten geformuleerd met de kleine pellets (315-500 µm) in een verhouding 30/70 en het kortst (4,0 min) voor de grotere pellets (800-1250 µm) in een 40/60 verhouding. Het belang van deze verschillende *in vitro* desintegratietijden voor de biologische beschikbaarheid van piroxicam uit de tabletten wordt besproken in *Hoofdstuk 5*. Na 9 maanden bewaring van de tabletten bij kamertemperatuur trad geen verandering op van de tabletsterkte, de desintegratietijd en het vrijstellingsprofiel. Ook maagsapresistentie bleef na 9 maanden bewaring bij kamertemperatuur gegarandeerd. In een laatste deel van *Hoofdstuk 4* wordt de invloed van stempelvorm (concaaf of vlak) en -diameter (4; 9,5 en 12 mm) op een aantal compressie- en tableteigenschappen bepaald. Compactie met 4 mm stempels was niet reproduceerbaar en werd verder niet opgenomen in de studie. De diameter van de stempels, gebruikt voor het compacteren van het mengsel bestaande uit omhulde piroxicampellets en waspellets (30/70, 315-500 µm), heeft geen invloed op het compressiegedrag (yield pressure), het elastisch herstel of de sterkte van de

resulterende tabletten. De kromming van de stempels was een bepalende factor waarbij het gebruik van concave stempels aanleiding gaf tot een grotere yield pressure en een lager elastisch herstel. De tabletsterkte nam toe bij hogere druk en bij gebruik van concave stempels. Een geringere invloed van de stempelsnelheid op de tabletsterkte en het compressiegedrag werd waargenomen met concave stempels.

In vivo evaluatie van de piroxicam pellet- en tabletformulaties wordt besproken in *Hoofdstuk 5*. Voor de bepaling van piroxicam in hondeplasma werd een HPLC-methode ontwikkeld en gevalideerd, gebruikmakend van meloxicam als interne standaard. De uiteindelijke methode werd gevalideerd volgens de ICH-richtlijnen. Het chromatogram van blanco en gespiked plasma toonde aan dat na extractie met diëthylether geen interferentie optrad tussen endogene plasmacomponenten en de te bepalen componenten, zodat de methode specifiek was om piroxicam kwantitatief te bepalen in plasma. De kalibratielijnen waren lineair over het volledige concentratiegebied (0,2–2,4 µg/ml) (determinatiecoëfficiënten $r^2 > 0,99$). De variatiecoëfficiënten (VC) voor de herhaalbaarheid waren kleiner dan 6,5 %, terwijl de VC voor de intermediaire precisie kleiner waren dan 7,2 % (0,4–2,4 µg/ml concentratierange). Voor 0,2 µg/ml bedroegen deze VC respectievelijk 3,2 en 11,9 %. Alle experimentele concentraties lagen binnen een 15 % interval ten opzichte van de nominale waarde, zodat de methode voldoende accuraat was. Het extractierendement uit plasma was voor zowel piroxicam als meloxicam groter dan 90 %. De detectie- en de kwantificatielimiet bedroegen respectievelijk 0,08 en 0,20 µg/ml. Tijdens de bewaring van de plasmastalen traden geen stabiliteitsproblemen op voor piroxicam. In het tweede deel van *Hoofdstuk 5* wordt de biologische beschikbaarheid van piroxicam uit niet-omhulde en omhulde pellets, uit twee tabletformulaties en uit de gecommmercialiseerde piroxicamcapsules (Feldene®) bepaald. Eénmalige orale toediening van piroxicampellets aan honden resulteerde in $AUC_{0 \rightarrow 72u}$ waarden vergelijkbaar met deze verkregen na éénmalige toediening van het referentieproduct (Feldene® capsules). Het omhullen van pellets en de compactie van de omhulde pellets met behulp van beschermende waspellets vertraagden de opname van piroxicam, waardoor de C_{max} significant lager was, maar hadden geen invloed op de hoeveelheid piroxicam, die in de algemene circulatie terechtkwam. Verschillen in *in vitro* desintegratietijden van de tabletten gaven geen aanleiding tot een verschil in *in*

vivo lag-fase. Een doseringsinterval van 48 u verhinderde de accumulatie van piroxicam na herhaalde toediening.

Het belang van het lokale effect van piroxicam bij het ontstaan van gastro-intestinale irritatie wordt onderzocht in *Hoofdstuk 6*. Enerzijds werd de lokale tolerantie onderzocht met behulp van een alternatieve screeningtest, waaruit bleek dat de niet-omhulde piroxicampellets wel degelijk een lokale mucosale toxiciteit vertoonden en dat het omhullen van de pellets dit lokaal beschadigend effect verhinderde. Anderzijds werden gedurende twee korte-termijnstudies (2 en 6 weken) niet-omhulde en omhulde pelletformulaties toegediend aan gezonde honden teneinde het effect van piroxicam op de gastroduodenale mucosa te bepalen via endoscopie. Hoewel de Feldene[®] formulatie op basis van de screeningtest werd geklassificeerd als een niet-irriterende component, zorgde deze formulatie (net zoals de niet-omhulde pellets) na één week toediening aan honden toch voor een significante wijziging van de endoscopisch toegekende scores. Dit effect werd evenwel niet waargenomen na 6 weken toediening, wat vermoedelijk te wijten was aan adaptatie van de maagmucosa. De omhulde pellets gaven in geen van beide gevallen aanleiding tot beschadiging van de maagmucosa. Hieruit werd besloten dat het gebruik van omhulde pellets voor de toediening van piroxicam aan honden bijdroeg tot de preventie van acute gastro-intestinale irritatie.

Le but de cette recherche est de développer une formulation qui permet d'administrer le piroxicam par voie orale. Le piroxicam doit être formulé de telle manière qu'il améliore la tolérance locale du piroxicam dans l'estomac, tout en garantissant une dissolution rapide et complète de cette molécule-peu soluble- dans l'intestin grêle.

Dans *le premier chapitre*, il apparaît clairement que le piroxicam provoque une irritation gastro-intestinale chez le chien. Cette irritation est due en partie à un effet local par les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (NSAID) au niveau de la muqueuse gastrique de sorte que nous avons opté pour le développement d'une préparation entérique. Afin d'obtenir un transit gastro-intestinal reproductible, nous avons opté pour un système multiparticulaire composé de sphéroïdes de moins de 2 millimètres. Afin de pouvoir administrer facilement ces sphéroïdes enrobés au chien, il a fallu les compacter en comprimés qui se désintègrent rapidement dans le milieu gastrique.

Dans *le deuxième chapitre* nous exposons le développement d'une formulation de pellets qui assure une dissolution rapide du piroxicam dans une solution tamponnée (pH 6,8) (au moins 75 % dissous après 45 minutes). Les pellets ont été fabriqués par extrusion/sphéronisation. Le piroxicam est considéré comme une substance active de Classe 2 dans le Système de Classification Biopharmaceutique et est donc caractérisé par une mauvaise solubilité mais une bonne perméabilité. L'addition de matières tensio-actives, de cosolvants et d'agent de délitement n'avait aucune influence favorable sur la dissolution de piroxicam ou donnait des pellets d'une qualité inacceptable. La combinaison de cellulose microcristalline (Avicel® PH 101) avec des mélanges préformulés de cellulose microcristalline et de carboxyméthylcellulose sodique. (Avicel® RC 581 et CL 611) a entraîné une nette amélioration de la dissolution du piroxicam. La dissolution de piroxicam était d'autant plus rapide que la concentration en carboxyméthylcellulose sodique dans les pellets était élevée. Les pellets à base d'Avicel® PH 101 et CL 611 dans une proportion de 1 sur 3 ont donné lieu à une dissolution reproductible du piroxicam à pH 6,8 (95 % après 45 min). Or, cette formulation se laissait facilement extruder et donnait des pellets peu friables avec une distribution étroite de la taille des particules. Cette formulation a été optimisée et sélectionnée pour des expériences ultérieures d'enrobage, de compactage et des études *in vivo*.

Les résultats des expériences d'enrobage sont présentés dans *le troisième chapitre*. Après avoir optimisé le processus d'enrobage en lit fluidisé (système Würster), l'influence de la composition du liquide d'enrobage sur la dissolution du piroxicam a été examinée. Des pellets (800-1250 µm) ont été enrobés à partir de mélanges d'Eudragit® L 30 D-55 et FS 30 D. La présence d'Eudragit® FS 30 D dans la formulation d'enrobage provoquait un ralentissement de la dissolution du piroxicam à pH 6,8, au cours de la première demi-heure du test de dissolution. Un film d'enrobage renfermant 100 % d'Eudragit® FS 30 D, ralentissait la dissolution du piroxicam de telle façon qu'après 30 min le piroxicam n'est pas détecté dans le liquide de dissolution. L'enrobage des pellets par l'Eudragit® L 30 D-55 ou par des mélanges d'Eudragit® FS 30 D et L 30 D-55, a permis d'obtenir une bonne gastrorésistance. Toutes les formulations ont montré une dissolution d'au moins 75 % de piroxicam après 45 minutes et ceci indépendamment de la quantité de polymère appliquée. Un examen ultérieur devait démontrer l'importance de la composition de l'enrobage au cours du processus de compactage. Dans la deuxième partie du *Chapitre 3* la stabilité de pellets non-enrobés et de pellets enrobés avec 10 % d'Eudragit L 30 D-55/FS 30 D (60/40) a été examinée. En conservant des pellets non-enrobés et enrobés à 25 °C et à 60 % d'humidité relative (HR) pendant 6 mois, aucun changement dans le profil de dissolution du piroxicam ne fut détecté. Après conservation dans des conditions de stress (40°C, 75 % HR), la dissolution du piroxicam des pellets non-enrobés est restée inchangée, alors qu'une élévation de la température et de l'humidité relative produisait l'agglomération des pellets enrobés à cause du ramollissement provoqué par l'eau.

Le *Chapitre 4* traite du compactage des pellets enrobés en comprimés à désintégration rapide. Les pellets enrobés ont été compactés à l'aide de pellets protecteurs à base de cire (Paracera® P/Drum Dried Corn Starch/Kollidon® CL; 50/33,3/16,7). Il a fallu 10 % de Kollidon® CL (ajouté sous forme de poudre) pour obtenir un comprimé se désintégrant rapidement dans HCl 0,1 M. L'influence de trois paramètres de formulation (la composition et l'épaisseur de l'enrobage entérique ainsi que le rapport pellets de piroxicam enrobés/pellets de cire) et d'un paramètre de compression (la force de compression) a été examinée à l'aide d'un plan d'expériences. L'utilisation de pellets cireux comme excipient dans les comprimés à base de pellets de piroxicam enrobés protégeait suffisamment l'enrobage, indépendamment de la présence d'un

polymère souple ou de l'épaisseur de la couche de polymère. Les caractéristiques de ces comprimés étaient principalement déterminées par la quantité de produit déformable que contenait le comprimé. Finalement nous avons sélectionné deux formulations de comprimés pour la recherche ultérieure: des mélanges contenant des pellets enrobés et des pellets cireux dans une proportion de 40/60 et de 30/70. Nous avons retenu l'enrobage entérique à base de 10 % d'Eudragit L 30 D-55/FS 30 D (60/40). Un examen plus poussé de l'influence de la taille des pellets nous a permis de conclure que la formulation des comprimés basée sur des pellets enrobés avec une taille de particules de 315-500 μm et une proportion de pellets cireux/pellets enrobés de 70/30 se caractérisait par une distribution de poids plus étroite, une dureté plus élevée, une friabilité plus faible, un temps de désintégration plus court et une dissolution plus rapide du piroxicam en comparaison avec des comprimés formulés à l'aide de pellets de taille 800-1250 μm dans une proportion 40/60. Ce résultat a été confirmé lors d'une étude à plus grande échelle sur presse excentrique. Le temps de désintégration était le plus long (22,3 min) pour les comprimés formulés avec les pellets (315-500 μm) renfermant une proportion 30/70 et le plus court pour les pellets de taille 800-1250 μm renfermant une proportion 40/60. L'importance du temps de désintégration *in vitro* pour la biodisponibilité est traitée au Chapitre 5. Une conservation des comprimés pendant neuf mois à température ambiante n'a produit aucun changement, ni dans la dureté des comprimés, ni dans le temps de désintégration, ni dans le profil de dissolution. La résistance au suc gastrique fut également inchangée. Dans la dernière partie du Chapitre 4, nous déterminons l'influence de la forme (plat ou concave) et du diamètre (4; 9,5; 12 mm) du poinçon sur certaines propriétés de la compression et des comprimés. Le diamètre des poinçons, utilisés pour compacter le mélange consistant en pellets de piroxicam enrobés et pellets cireux (30/70, 315-500 μm) n'a aucune influence sur le comportement durant la compression (yield pressure), ni sur le rétablissement de l'élasticité ou la dureté mécanique des comprimés. La formulation utilisée ne peut produire des comprimés de façon reproductible qu'avec un diamètre de 9,5 ou 12 mm. Le rayon de courbure des poinçons est un facteur déterminant, car lorsqu'on utilise des poinçons concaves cela entraîne une "yield pressure" plus élevée, un rétablissement élastique moins élevé et une influence moins importante de la vitesse de compactage sur la dureté des comprimés. En nous basant sur ces résultats nous conseillons l'emploi de poinçons concaves de diamètre suffisamment grand pour

compacter un mélange de pellets entériques enrobés et des pellets de cire dans une proportion de 30/70.

L'évaluation *in vivo* des formulations de pellets, des comprimés et des capsules de piroxicam est présentée au *Chapitre 5*. Une méthode HPLC afin de déterminer le piroxicam dans le plasma canin a été développée et validée, utilisant le méloxicam comme standard interne. La méthode a été validée selon les directives de l'ICH. Le chromatogramme du plasma pur et du plasma enrichi ne laissait apparaître après extraction aucune interférence entre les composants endogènes et les composants à déterminer, de sorte que la méthode était spécifique. Les courbes de calibration étaient linéaires ($r^2 > 0,99$) pour des concentrations de 0,2 à 2,4 µg/ml. Les coefficients de variation (CV) de la répétabilité étaient inférieurs à 6,5 %, alors que les CV pour la précision intermédiaire étaient inférieurs à 7,2 % (0,4-2,4 µg/ml). Pour une concentration de 0,2 µg/ml les CV étaient respectivement 3,2 et 11,9 %. Toutes les concentrations expérimentales se situaient dans un intervalle de 15 % par rapport à la valeur nominale, si bien que la méthode était suffisamment exacte. Le rendement d'extraction à partir du plasma était supérieur à 90 %, aussi bien pour le piroxicam que pour le méloxicam. Les limites de détection et de quantification étaient respectivement 0,08 et 0,20 µg/ml. Au cours de la conservation des échantillons de plasma le piroxicam n'a posé aucun problème de stabilité. Dans la deuxième partie du *Chapitre 5* nous définissons la biodisponibilité du piroxicam à partir de pellets non-enrobés et enrobés, à partir de deux formulations de comprimés et à partir de capsules de piroxicam commercialisées (Feldene®). Une administration unique par voie orale de pellets de piroxicam à des chiens a fourni des valeurs de $SSC_{0 \rightarrow 72h}$ comparables à celles obtenues après administration du produit de référence (capsules de Feldene®). L'enrobage des pellets et le compactage des pellets enrobés à l'aide de pellets cireux protecteurs, retardaient l'absorption du piroxicam, si bien que le C_{max} était significativement moins élevé, mais n'avaient aucune influence sur la quantité de piroxicam disponible. La différence du temps de désintégration *in vitro* des comprimés n'entraînait aucune différence *in vivo*. Un intervalle de 48 h empêchait l'accumulation de piroxicam après une administration répétée.

Dans le *Chapitre 6* nous examinons l'importance d'un effet local du piroxicam dans l'apparition d'une irritation gastro-intestinale. D'une part la tolérance locale a été examinée à l'aide d'un test alternatif, utilisant des limaces et qui a fait apparaître que

les pellets de piroxicam non-enrobés manifestaient bel et bien une toxicité locale pour les muqueuses tandis que l'enrobage des pellets inhibait cet effet. D'autre part, nous avons administré à des chiens sains, au cours de deux études à court terme (2 et 6 semaines), des formulations de pellets non-enrobés et enrobés afin de préciser par endoscopie l'effet du piroxicam sur les muqueuses. Bien que la formulation de Feldene[®] ait été classée, suite au test avec les limaces, comme un composant non-irritant, cette formulation (tout comme les pellets non-enrobés) a provoqué, après une semaine d'administration, une modification significative des scores de l'endoscopie. Cet effet n'a plus été observé après 6 semaines, ce qui est probablement dû à une adaptation des muqueuses de l'estomac. Dans aucun des deux cas les pellets enrobés n'ont endommagé la muqueuse gastrique. Nous en avons conclu que l'usage de pellets enrobés pour administrer du piroxicam aux chiens, contribue à la prévention d'irritation gastro-intestinale aiguë.

The aim of this research project is the development of an oral drug delivery system for the administration of piroxicam to dogs. The requirements for this drug delivery system are that it should improve local tolerance of piroxicam (a potent nonsteroidal anti-inflammatory drug) in the stomach, while maintaining a fast and complete release of piroxicam in the small intestine.

Chapter 1 reports on the gastrointestinal irritation following oral administration of piroxicam to dogs. As this intolerance is in part caused by local contact of the drug with the gastric mucosa, the development of an enteric-coated formulation is considered. To obtain a gastrointestinal transit of the formulation through the gastrointestinal tract of dogs a multiparticulate system based on small spheres (pellets) with a particle size < 2 mm is chosen. To facilitate oral administration to dogs, compaction of these coated pellets into fast disintegrating tablets (in acid) is investigated.

The development of an immediate-release pellet formulation for piroxicam (at least 75 % piroxicam release within 45 min in phosphate buffer pH 6.8) is discussed in *Chapter 2*. Pellets were produced by means of the extrusion-spheronisation technique. According to the Biopharmaceutical Classification System (BCS) piroxicam is a class II compound characterized by a low water solubility and high permeability. Since drug release from the dosage form is strongly influenced by the drug solubility, the development of piroxicam pellets will require the incorporation of fillers able to enhance piroxicam solubility and dissolution rate. The incorporation of surfactants, cosolvents and disintegrants did not induce a major increase of piroxicam release or resulted in low-quality pellets. Combining microcrystalline cellulose (MCC, Avicel[®] PH 101) with co-processed mixtures of MCC and sodium carboxymethylcellulose (Avicel[®] RC 581 and CL 611) enhanced the piroxicam release dramatically. An increase in sodium carboxymethylcellulose concentrations was correlated with an enhancement of drug release from the pellets. Formulations containing Avicel[®] PH 101 and CL 611 in a ratio of 1 to 3 showed a reproducible release of piroxicam (95 % within 45 min), were easy to extrude and resulted in pellets with a narrow particle size distribution and low friability. This formulation was optimized and selected for further coating, compaction and *in vivo*-experiments.

The results of the coating experiments are reported in *Chapter 3*. After optimization of the bottom-spray coating process using the Wurster setup, the influence of the composition of the coating on piroxicam release was investigated. Piroxicam pellets (800-1250 μm) were coated with mixtures of Eudragit[®] L 30 D-55 and FS 30 D in different ratios. A polymer film containing exclusively Eudragit[®] FS 30 D delayed the release of piroxicam in phosphate buffer pH 6.8 as no piroxicam release was detected after 30 min. Gastric resistance was obtained with mixtures of Eudragit[®] FS 30 D and L 30 D-55 as well as with a dispersion containing only the latter. All formulations released at least 75 % piroxicam within 45 min, regardless of the amount of polymer applied. The importance of the composition of the polymer film during tableting of the pellets is discussed in *Chapter 4*. The second part of *Chapter 3* deals with the stability of uncoated pellets and pellets coated with 10 % Eudragit[®] L 30 D-55/FS 30 D (60/40). No changes were detected in the piroxicam release when the uncoated and the coated pellets were stored for 6 months at 25 °C and 60 % relative humidity (RH). Piroxicam release from the uncoated pellets was not affected when stored at 40°C and 75 % RH, while coated pellets stored at the same conditions agglomerated because of the plasticizing effects of water.

Chapter 4 discusses the compaction of coated piroxicam pellets into fast disintegrating tablets. Coated piroxicam pellets were compacted using waxy cushioning pellets (Paracera[®] P/Drum Dried Corn Starch/Kollidon[®] CL; 50/33.3/16.7). To obtain a fast disintegrating tablet, which releases the undamaged coated piroxicam pellets in 0.1 N HCl, at least 10 % disintegrant (Kollidon[®] CL added as powder) was needed. The influence of three formulation parameters (type and amount of coating material and the ratio of enteric-coated pellets versus cushioning pellets) and one process parameter (compression force) on the tablet properties was evaluated using a D-optimality experimental design. During compaction waxy cushioning pellets were able to protect the polymer film of the enteric-coated piroxicam pellets, regardless of the flexibility or the thickness of the film. Mechanical strength, friability and disintegration time of these tablets were determined by the amount of deformable waxy pellets. Finally, two tablet formulations were selected for further investigation: tablets with a coated pellet/cushioning pellet ratio of 40/60 and 30/70. Pellets were coated with Eudragit[®] L 30 D-55/FS 30 D (60/40) at a coating level of 10 % total weight gain. Reduction of

the particle size of the pellets (315-500 μm) and higher amounts of waxy cushioning pellets (ratio 30/70) yielded tablets with a narrow weight distribution, a higher mechanical strength, lower friability, shorter disintegration time and faster piroxicam release. These results were confirmed during scaling-up on an eccentric tablet press. Tablets containing smaller pellets (315-500 μm) and a coated pellet/cushioning pellet ratio of 30/70 disintegrated slowly (22.3 min), while tablets formulated with larger pellets (800-1250 μm) and a coated pellet/cushioning pellet ratio of 40/60 disintegrated much faster (4.0 min). The influence of *in vitro* disintegration times on the *in vivo* behaviour of the tablets is discussed in *Chapter 5*. Storage of the tablets for 9 months at ambient conditions did not affect mechanical strength, friability, disintegration time or piroxicam release of the tablets and the gastroresistant properties were maintained. The last part of *Chapter 4* deals with the influence of punch diameter (4, 9.5, 12 mm) and curvature (flat-faced or concave) on compression characteristics and tablet properties. Compaction with 4 mm punches did not yield reproducible tablets, hence they were excluded from the study. Punch diameter did not affect compression behaviour (yield pressure), elastic recovery or tensile strength of tablets based on enteric-coated piroxicam pellets and waxy cushioning pellets (30/70, 315-500 μm). Curvature of the punches was the determining factor. A higher elastic recovery was obtained by increasing the pressure and by using flat-faced punches. However, a higher elastic recovery was not correlated with a lower tensile strength. Tablet strength improved when pressure increased and when concave punches were used. Yield pressure depended on punch curvature. Compaction of enteric-coated and waxy cushioning pellets using concave instead of flat-faced punches yielded mechanically stronger tablets.

In vivo evaluation of piroxicam pellet and tablet formulations is discussed in *Chapter 5*. Piroxicam plasma concentrations were determined using a validated high performance liquid chromatography method. Meloxicam was used as internal standard. The HPLC-method was validated according to the ICH-guidelines. Chromatographs of blank and spiked plasma after extraction with diethyl ether showed no interference of endogenous plasma components. Calibration curves were linear for the concentration range between 0.2 and 2.4 $\mu\text{g/ml}$ ($r^2 > 0.99$). Coefficients of variation for repeatability and reproducibility were smaller than 6.5 % and 7.2 %, respectively (0.4-2.4 $\mu\text{g/ml}$). For 0.2 $\mu\text{g/ml}$ the coefficients of variation were 3.2 and 11.9 %, respectively. The method was considered accurate because all experimental

plasma concentrations were within a 15 % range from the nominal values. At least 90 % piroxicam and meloxicam (internal standard) were recovered after extraction. Limit of detection and limit of quantitation were 0.08 µg/ml and 0.20 µg/ml, respectively. Piroxicam plasma samples stored at –20 °C were stable for at least 1 month. The second part of *Chapter 5* deals with the bioavailability of piroxicam from uncoated and enteric-coated piroxicam pellets, from two tablet formulations and from marketed piroxicam capsules (Feldene®). Oral administration of piroxicam pellets to dogs resulted in AUC_{0→72h} values comparable to these of immediate release capsules. Coating of the pellets and compaction of the coated pellets delayed the onset of the piroxicam plasma concentrations, but did not affect the extent to which piroxicam was absorbed. Differences in *in vitro* tablet disintegration times were not reflected in the onset of the piroxicam plasma concentrations. A dosing interval of 48 h prevented piroxicam accumulation after multiple administrations.

The importance of the local effect of piroxicam in NSAID-associated gastropathy is discussed in *Chapter 6*. According to an alternative screening method for local mucosal tolerance (the Slug test) uncoated piroxicam pellets caused mild irritation, while enteric-coated pellets were non-irritating. Endoscopic evaluation of the gastric mucosa was performed after a 2-week and 6-week administration period of uncoated and coated pellets to healthy dogs. Although the Feldene® formulation was classified as non-irritating in the Slug test, statistical analysis of the endoscopic scores obtained during the 2-week experiment showed a significantly higher risk of gastric irritation after administration of uncoated pellets and Feldene® compared to enteric-coated pellets. However these effects had disappeared after the second week of administration. These findings were confirmed during the 6-week treatment as no significant effect of the enteric-coated pellets and Feldene® on the gastric mucosa was seen (probably due to adaptation of the mucosa). Although oral piroxicam formulations caused only limited mucosal irritation, enteric-coating was considered a valuable tool for reducing acute gastro-intestinal irritation after oral administration of piroxicam to dogs.