

---

PhD SUMMARY

# Freeze-drying as a method of modern pharmaceutical dosage forms preparation

---

PhD student      **Ștefana Suci**

PhD supervisor      Prof.dr. **Ioan Tomuță**

---



**UMF**  
UNIVERSITATEA DE  
MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
IULIU HAȚIEGANU  
CLUJ-NAPOCA

# TABLE OF CONTENTS

<b>INTRODUCTION</b>	11
<b>ACTUAL STATE OF KNOWLEDGE</b>	
<b>1. Modern pharmaceutical dosage forms</b>	15
1.1. General aspects	15
1.2. Patient adherence	16
1.3. Fast dissolving oral drug delivery systems	17
1.3.1. Definition and regulatory aspects	18
1.3.2. Advantages	20
1.3.3. Disadvantages	20
1.3.4. Challenges in formulation	20
1.3.5. Obtaining methods	21
<b>2. Freeze-drying process</b>	23
2.1. General aspects regarding the freeze-drying	23
2.1.1. Freeze-drying benefits	24
2.1.2. Freeze-drying limitations	24
2.1.3. Freeze-drying applicability	24
2.2. Freeze-drying cycle	25
2.2.1. Freezing	25
2.2.2. Primary drying	28
2.2.3. Secondary drying	28
2.3. Equipment	29
2.4. Process monitoring	29
<b>3. Oral lyophilisates</b>	31
3.1. Active Pharmaceutical Ingredients	31
3.2. Excipients	33
3.3. Quality criteria for oral lyophilisates	35
3.4. Characterization of a lyophilisate	36

## **PERSONAL CONTRIBUTION**

<b>1. General objectives / Work hypothesis</b>	41
<b>2. General methodology</b>	43
2.1. Design of Experiments	43
2.2. Freeze-drying cycle and preparation of oral lyophilisates	43
2.3. Pharmaceutical characterization of lyophilized structures	44
<b>3. Study 1 – QbD approach in the development of oral lyophilisates with ibuprofen for paediatric use</b>	47
3.1. Introduction	47
3.2. Hypothesis	48
3.3. Materials and Methods	48
3.4. Results and discussions	53
3.5. Conclusion	62
<b>4. Study 2 – Design of Experiments approach to assess the impact of API particle size on freeze-dried bulking agents</b>	63
4.1. Introduction	63
4.2. Hypothesis	64
4.3. Materials and Methods	64
4.4. Results and discussions	67
4.5. Conclusion	77
<b>5. Study 3 – Milk oral lyophilisates with loratadine: screening for new excipients for paediatric use</b>	79
5.1. Introduction	79
5.2. Hypothesis	80
5.3. Materials and Methods	80
5.4. Results and discussions	84
5.5. Conclusion	102
<b>6. General conclusions</b>	103
<b>7. Originality and innovative contributions of the thesis</b>	105

<b>REFERENCES</b>	107
-------------------	-----

## **KEYWORDS**

Oral lyophilisates, orodispersible tablets, paediatric drugs, Quality by Design, Design of Experiments, ibuprofen, loratadine, milk, freeze-dried milk-based formulations

# **INTRODUCTION**

Oral lyophilisates are modern solid pharmaceutical dosage forms, which placed inside the oral cavity dissolve rapidly, without fluid intake. Their behaviour and particular characteristics make them suitable for different patient categories, including paediatric and geriatric population.

Freeze-drying, otherwise known as lyophilization, represent a complex process performed under pressure and low temperatures, consisting in water removal from a material resulting a porous structure. Initially, it was applied as a drying and preservation method mainly for heat sensitive materials, including biologicals. In the last decades, new dimensions of its use were explored, also covering the development of modern pharmaceutical dosage forms, due to the final features of the lyophilisate.

The main objective of the research work was to study the freeze-drying as a valid technology for preparation of oral lyophilisates, a modern pharmaceutical dosage form.

The aspects as product and process design according to the Quality by Design concept in pharmaceutical industry, product formulation optimization via Design of Experiments and milk as new excipient intended for paediatric use were investigated.

## **ACTUAL STATE OF KNOWLEDGE**

The first part of the thesis, structured in three chapters, represents a summary of the revised specialty literature.

In the first chapter aspects as patient adherence to treatment, advantages and disadvantages of fast dissolving oral drug delivery systems, the development requirements, the production methods, regulatory background and quality related aspects were assessed.

The second chapter is related to the freeze-drying process, a technology with a vast range of applicability, although the present work regarded the process as the obtaining method for oral lyophilisates.

In the third chapter, aspects related to active pharmaceutical ingredients and excipients used for these forms, quality criteria and characterization methods were reviewed.

## **PERSONAL CONTRIBUTION**

The second part of the thesis, represents the research work performed, structured in three individual studies.

The first study aimed to develop and optimize a modern paediatric pharmaceutical dosage form which complies with the actual recommendations of the

regulatory entities. Oral lyophilisates intended for patients of all ages, including infants, having the proper quality and safety attributes were targeted. Considering the administration particularities in regards with this population and the fact that risk for choking might occur, a temporary attachment to the buccal mucosa obtained through the addition of bio-adhesive polymers was proposed. The study was conceived following a risk assessment evaluation, Quality Target Product Profile and Critical Quality Attributes were defined. The influences of the formulation factors over the final characteristics of the oral lyophilisates were studied and evaluated using Quality by Design instruments.

During the first study high variability was observed, most probably due to the sedimentation of the prepared suspensions. To overcome this drawback, in the following study, it was aimed to investigate and evaluate the impact of the Active Pharmaceutical Ingredient particle size on the lyophilized structures characteristics, which were obtained using bulking agents, only.

The screening study was developed using Design of Experiments and it was meant to outline the Active Pharmaceutical Ingredient –bulking agent’s interactions and the influence of the formulation factors on the final features of the lyophilized structures.

Choosing the right excipients for a paediatric formulation represent a challenge which was observed and it is recommended to limit the amount and number of excipients in a formulation, also non-toxic excipients are recommended.

The experience and the results gained during the first two studies combined with the World Health Organization recommendations concerning the excipients for paediatric formulations conducted to the development of the third study which aimed to investigate the milk ability to become a bulking agent for oral lyophilisates. So, since milk characteristics (e.g. taste, viscosity, and composition) might have been influencing in a positive manner the lyophilized structure features it was proposed for investigation.

Preliminary analysis allowed the set-up for process parameters and two type of milk were selected for comparison. Also, formulation factors as blister pocket volume and Active Pharmaceutical Ingredient ratio varied in the experimental design in order to evaluate their influence on the final product characteristics.

Moreover, the last study’s objectives included the impact investigation of the Active Pharmaceutical Ingredient content on the quality attributes, mainly with the purpose to create the opportunity for flexibility of dose. Furthermore, it was evaluated the blister pocket volume for the potential impact on quality attributes of the oral lyophilisates.

## **GENERAL CONCLUSIONS**

The behaviour and particular features of the oral lyophilisates makes them suitable and compliant to modern paediatric medicines requirements and recommendations. Due to the characteristics of the lyophilized materials, this work was

oriented to freeze-drying process as an obtaining method for fast dissolving oral drug delivery systems; since, it is a complex technology with no universal way to be carried out, a high grade of research interest and continuous improvement needs.

In the beginning it was aimed at the development and optimization of a safe paediatric solid dosage form, suitable for patients of all ages, with adjusted bio-adhesive properties in order to gain temporary attachment to oral mucosa up to disintegration.

This was a proactive approach regarding the potential choking or other potential administration incidents that might occur. The main findings of the first study revealed that sodium alginate is an appropriate matrix forming agent conducting to good disintegration and dissolution properties while forming a porous lyophilized structure.

Regarding the addition of bio-adhesive agents, they seemed to prolong disintegration and dissolution, with no significant adhesion improvement.

Considering the mentioned results, the second study was conceived as a screening study with the objective to investigate the behaviour and the interactions between bulking agent and an insoluble Active Pharmaceutical Ingredient with various particle sizes, without the bio-adhesive polymer influence. Through this study, the influence of the Active Pharmaceutical Ingredient particle size on the dissolution was shown. Moreover, the results obtained indicated that the texture profile was highly influenced by the type and the ratio of the bulking agent with a very low influence of the active ingredient particle size. Another aspect confirmed by these results was that maltodextrin is an adequate bulking agent with a wide range of applicability.

The last part of the research work aimed to answer if milk could be a matrix forming agent and how its fat content would have influenced the final quality attributes of lyophilisates. In addition, in the context of enabling flexible dosage, the objective included was the investigation of Active Pharmaceutical Ingredient content and the blister pocket volume impact on the quality attributes of the oral lyophilisates.

Through the last study it was demonstrated that milk is a promising candidate as an excipient for oral lyophilisates, which conducts to matrixes with adequate disintegration time, dissolution and texture profile. It was revealed that the fat content and the blister pocket volume had significant influence over the quality attributes of oral lyophilisates.

## **ORIGINALITY AND INNOVATIVE CONTRIBUTIONS OF THE THESIS**

Freeze-drying is a complex technique with a wide applicability in the pharmaceutical industry. New dimensions of its use were explored in the last decades, including the development of modern pharmaceutical dosage forms as oral lyophilisates.

Even though these forms have various benefits comparing with the conventional oral solids there are still drawbacks, making these forms a niche with high research interest.

The current trend of research and development is to apply a risk based approach and quality by design concept from the early stage of the product development.

In the first study the Quality by Design approach was adopted, risk assessment instruments and experimental design was used. This was done by: specifying the Quality Target Product Profile, defining the Critical Quality Attributes of the oral lyophilisates based on Ishikawa diagrams, identifying the main effects and interactions between the formulation variables by using the experimental design; and illustrating the optimized formulation.

Besides, in the first study as an innovative element, bio-adhesive agents were included as excipients with the aim to ensure the temporary attachment to the oral mucosa up to the disintegration, making the developed lyophilisates suitable for paediatric patients of all ages. This approach can be regarded as a proactive action for potential, unwanted incidents related to the oral administration of drugs to children.

Also, the originality of the first study was the testing method for OLs adhesiveness, which was tailored accordingly. The texture analyser was adapted considering the obtained OLs properties, porcine intestinal tissue was used and the parameters were defined based on preliminary tests.

The novel aspect of the second study was the concern regarding on how and if different particle sizes of an insoluble Active Pharmaceutical Ingredient and different ratios of bulking agents can affect the micro-/macro-morphology and pharmaceutical features of lyophilized structures.

Related to the third and final study included in the thesis, the entire approach was a creative and unconventional one, since milk was proposed as an excipient for paediatric oral lyophilisates. The idea was somehow induced by the fact that milk is already used, by the care-givers, as an improving tool for drug administration in children but the boldness of the study consist in investigating not only the feasibility, but also the influence of the milk's composition (fat content in our case) on the disintegration time, dissolution and texture profile of lyophilisates. Additionally, formulation variables as Active Pharmaceutical Ingredient content and blister pocket volume were included in the experimental design in order to empower the global research and design initiatives related to the dose flexibility and patient adherence increase.

The less studied aspect, regarding the influence of the insoluble drug content over the pharmacotechnical properties of lyophilisates, was explored within the third study. It was observed that the increase of the active ingredient determined the decrease of the disintegration time and mechanical properties with the increase of the dissolution rates, average particle size and polydispersity index.

A part of the results obtained were already published in ISI indexed national journal and the remaining part is under approval process for submission. Also, the results were presented as posters or presentation to national and international symposia.

---

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

# Utilizarea liofilizării ca metodă de preparare de forme farmaceutice moderne

---

PhD student      **Ștefana Suciu**

---

PhD supervisor      Prof.dr. **Ioan Tomuță**

---



**UMF**  
UNIVERSITATEA DE  
MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
IULIU HAȚIEGANU  
CLUJ-NAPOCA



# CUPRINS

<b>INTRODUCERE</b>	11
<b>STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII</b>	
<b>1. Forme farmaceutice moderne</b>	15
1.1. Aspecte generale	15
1.2. Aderența pacientului la tratament	16
1.3. Preparate orale cu dizolvare/dizintegrare rapidă	17
1.3.1. Definiții și reglementare	18
1.3.2. Avantaje	20
1.3.3. Dezavantaje	20
1.3.4. Provoacări în formulare	20
1.3.5. Metode de obținere	21
<b>2. Procesul de liofilizare</b>	23
2.1. Aspecte generale referitoare la liofilizare	23
2.1.1. Beneficiile liofilizării	24
2.1.2. Limitările liofilizării	24
2.1.3. Aplicabilitatea liofilizării	24
2.2. Ciclul de liofilizare	25
2.2.1. Înghețarea	25
2.2.2. Uscarea primară	28
2.2.3. Uscarea secundară	28
2.3. Echipamente	29
2.4. Monitorizarea procesului	29
<b>3. Liofilizate orale</b>	31
3.1. Substanțe active	31
3.2. Excipienți	33
3.3. Criterii de calitate	35
3.4. Caracterizare farmacotehnică a liofilizatelor	36

## **CONTRIBUȚII PERSONALE**

<b>1. Obiective generale/ Ipoteze de lucru</b>	41
<b>2. Metodologie generală</b>	43
2.1. Design experimental	43
2.2. Regim termic și prepararea liofilizatelor	43
2.3. Caracterizarea farmacotehnică a liofilizatelor	44
<b>3. Studiul 1 – Dezvoltarea liofilizatelor orale de uz pediatric cu ibuprofen utilizand conceptul QbD</b>	47
3.1. Introducere	47
3.2. Ipoteza de lucru	48
3.3. Materiale și metode	48
3.4. Rezultate și discuții	53
3.5. Concluzii	62
<b>4. Studiul 2 – Studiul influenței dimensiunii particulelor substanței active asupra proprietăților structurilor liofilizate</b>	63
4.1. Introducere	63
4.2. Ipoteza de lucru	64
4.3. Materiale și metode	64
4.4. Rezultate și discuții	67
4.5. Concluzii	77
<b>5. Studiul 3 – Liofilizate orale cu loratadină: Investigarea laptelui ca excipient de uz pediatric</b>	79
5.1. Introducere	79
5.2. Ipoteza de lucru	80
5.3. Materiale și metode	80
5.4. Rezultate și discuții	84
5.5. Concluzii	102
<b>6. Concluzii generale</b>	103
<b>7. Originalitate și contribuții inovative ale tezei</b>	105
<b>REFERINȚE</b>	107

## **CUVINTE CHEIE**

Liofilizate orale, comprimate orodisersabile, medicamente pediatrice, Calitate prin Design (Quality by Design), Design Experimental, ibuprofen, loratadină, lapte, liofilizate pe bază de lapte

# INTRODUCERE

Liofilizatele orale sunt forme farmaceutice solide moderne, care plasate în cavitatea bucală se dizolvă rapid, fără aport de lichide. Comportamentul și caracteristicile lor specifice le fac potrivite pentru diferite categorii de pacienți, inclusiv pentru populația pediatrică și geriatrică.

Liofilizarea, cunoscută și sub denumirea de criodesicare, reprezintă un proces complex realizat sub presiune și la temperaturi scăzute, constând în îndepărtarea apei dintr-un material rezultând o structură poroasă. Inițial, a fost aplicat ca metodă de uscare și conservare, în principal pentru materiale sensibile la căldură, inclusive materiale biologice. În ultimele decenii, au fost explorate noi dimensiuni ale utilizării sale, cuprinzând inclusiv dezvoltarea formelor farmaceutice moderne, datorită caracteristicilor finale ale materialului liofilizat.

Obiectivul principal al lucrării de cercetare a fost studierea și evaluarea liofilizării ca tehnologie validă pentru prepararea liofilizatelor orale, forme farmaceutice moderne încadrate ca și preparate orodispersabile.

Au fost investigate aspectele de proiectare a produselor și proceselor în conformitate cu conceptul de Calitate prin Design, optimizarea formulării produsului prin utilizarea planurilor experimentale și investigarea și evaluarea laptelui ca nou excipient utilizat la formularea produselor farmaceutice de uz pediatric.

## STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Prima parte a tezei, structurată în trei capitole, reprezintă un rezumat al literaturii de specialitate care a fost consultată.

În primul capitol au fost prezentate aspecte referitoare la aderența pacientului la tratament, avantaje și dezavantaje a preparatelor orodispersabile, aspecte relaționate cu formularea și metodele de obținere a acestor forme farmaceutice cât și aspecte care privesc reglementarea și calitatea acestor forme moderne.

Cel de al doilea capitol se referă la procesul de liofilizare, prezintă etapele acestui proces, beneficii și limitări, aplicabilitate practică, echipamente utilizate și metode de monitorizare a procesului. Liofilizarea este o tehnologie complexă, cu o gamă largă de aplicații, dar lucrarea de față s-a concentrat asupra modului în care acest proces conduce la obținerea liofilizatelor orale.

În al treilea capitol au fost prezentate aspecte specifice liofilizatelor orale, substanțe active și excipienți utilizați, criteriile de calitate și caracteristici farmacotehnice.

# CONTRIBUȚII PERSONALE

A doua parte a tezei reprezintă partea experimentală și este structurată în trei studii individuale.

Primul studiu a avut ca și scop dezvoltarea și optimizarea unei forme farmaceutice pediatrice care să respecte recomandările actuale ale agențiilor de reglementare din domeniu. Obiectivul studiului a fost obținerea unor liofilizate orale, destinate pacienților pediatrici de toate vârstele, inclusiv sugari, care să posede atribute de calitate și siguranță adecvate. Având în vedere particularitățile administrării medicației la această categorie de pacienți și faptul că ar putea apărea riscul de sufocare, a fost propusă adăugarea polimerilor bio-adezivi pentru a obține o atașare temporară a liofilizatului pe mucoasa bucală. Studiul a fost conceput în baza unei evaluări a riscurilor, au fost definite profilul și atributele de calitate ale produsului final. Au fost studiate și evaluate influențele factorilor de formulare asupra caracteristicilor finale ale liofilizatei orale.

În timpul primului studiu s-a observat o variabilitate ridicată a rezultatelor, cel mai probabil datorită sedimentării suspensiilor preparate. Acest context a creat premisele următorului studiu, respectiv, s-a urmărit investigarea și evaluarea impactului dimensiunii particulelor de substanță activă asupra caracteristicilor structurilor liofilizate. Prin urmare, a fost utilizat design-ul experimental, iar acest studiu a fost menit să definească atât interacțiunile dintre substanța activă și excipientul diluant cât și influența factorilor de formulare asupra caracteristicilor structurilor liofilizate.

Alegerea excipienților adecvați pentru o formulare de uz pediatric reprezintă o provocare care a fost observată și se recomandă limitarea cantității și numărului de excipienți într-o formulare. De asemenea, se recomandă excipienți care să prezinte toxicitate redusă.

Experiența și rezultatele obținute în timpul primelor două studii coroborate cu recomandările Organizației Mondiale a Sănătății referitoare la excipienții utilizați pentru formulări pediatrice, a condus la cel de al treilea studiu. Acesta a vizat investigarea capacității laptelui de a deveni un agent diluant utilizat la obținerea liofilizatei orale de uz pediatric. Caracteristicile laptelui (de exemplu, gustul, vâscozitatea și compoziția) reprezintă potențiale influențe pozitive asupra caracteristicilor liofilizatei, motiv pentru care a fost propusă investigarea acestuia. Analiza preliminară a permis configurarea parametrilor procesului și au fost selectate două tipuri de lapte pentru a efectua o comparație. De asemenea, influența factorilor de formulare precum volumul alevolelor și conținutul substanței active asupra caracteristicilor produsului final a fost evaluată. Mai mult, obiectivele ultimului studiu au inclus investigarea impactului factorilor de formulare asupra atributelor de calitate a reprezentat un obiectiv secundar al studiului, în principal cu scopul de a crea oportunitatea flexibilității dozei.

## **CONCLUZII GENERALE**

Liofilizatele orale prezintă caracteristici datorită cărora devin adecvate cerințelor și recomandărilor existente pentru formele farmaceutice moderne de uz pediatric.

Datorită acestor caracteristici și a faptului că liofilizarea este o tehnologie complexă și nu există un mod universal de realizare, dar și a faptului că există la ora actuală un interes ridicat de cercetare și o nevoie de îmbunătățire continuă a acestui proces, activitatea de cercetare a fost orientată către studierea liofilizării ca fiind o metodă validă de obținere a liofilizateelor orale.

Scopul inițial a fost dezvoltarea și optimizarea unei formulări, adecvată pentru pacienții pediatrici, de toate vârstele, care să posede proprietăți bio-adezive, cu scopul de a obține un atașament temporar pe mucoasa bucală, până la dezagregarea formei solide.

Aceasta a fost o abordare proactivă din prisma potențialelor ricuri de sufocare sau a altor incidente de administrare. În urma primului studiu s-a constatat faptul că alginatul de sodiu este un agent formator de matriță adecvat, care conduce la o structură poroasă cu bune proprietăți de dezagregare și dizolvare. Adăugarea de polimerilor bio-adezivi a condus la prelungirea dezagregării și dizolvării, fără o îmbunătățire semnificativă a aderenței structurii.

Variabilitatea ridicată a liofilizateelor obținute în primul studiu a condus la cel de al doilea studiu, conceput cu scopul de a studia interacțiunile dintre substanța activă și excipientul diluant. Prin intermediul acestui studiu, s-a arătat influența dimensiunii particulelor substanței active asupra dizolvării. Mai mult, rezultatele obținute au indicat faptul că profilul texturii a fost puternic influențat de tipul și concentrația diluantului și mai puțin influențat de dimensiunea particulelor de substanță activă. Utilizarea maltodextrinei a condus la obținerea unor liofilizate cu un profil de calitate excelent.

Ultima parte a lucrării de cercetare a avut ca și scop studierea laptelui ca și potential excipient cu rol diluant și a modului în care conținutul său de grăsime ar fi putut influența atributele de calitate ale liofilizateelor. În plus, obiectivul studiului a inclus studierea impactului pe care ar putea să îl determine concentrația de substanță activă și volumul alveolelor.

Ultimul studiu a demonstrat că laptele este un candidat promițător în vederea obținerii liofilizateelor orale, care conduce la structuri cu profil de textură, timp de dezagregare și dizolvare adecvat. De asemenea, s-a observat o influență semnificativă asupra atributelor de calitate datorată conținutului de lipide a laptelui.

## **ORIGINALITATE ȘI CONTRIBUȚII INOVATIVE ALE TEZEI**

Liofilizarea este o tehnică complexă cu o largă aplicabilitate în industria farmaceutică. Noi dimensiuni ale utilizării sale au fost explorate în ultimele decenii, inclusiv dezvoltarea unor forme farmaceutice moderne precum liofilizateelor orale.

Tendința actuală de cercetare și dezvoltare este de a aplica o abordare bazată pe evaluarea riscurilor și de a proiecta calitatea produsului din faza de dezvoltare.

În acest context, în primul studiu s-au utilizat instrumente de evaluare a riscurilor și proiectare experimentală care au facilitat definirea profilului de calitate dorit, definirea atributelor critice de calitate ale liofilizatelor orale, identificarea principalelor efecte și interacțiuni între variabilele de formulare și definirea formulării optimizate.

Totodată, în primul studiu, au fost incluși polimeri bio-adezivi cu scopul de a asigura atașarea temporară a liofilizatului oral, de mucoasa bucală, până la dezagregare.

Această abordare poate fi privită ca o acțiune proactivă și inovatoare, adoptată cu scopul de a evita potențiale incidente legate de administrarea orală la copii. Un alt aspect original este adaptarea metodei de testare a adezivității, fiind o metodă în care s-a utilizat țesut intestinal porcine și parametri au fost definiți pe baza testelor preliminare.

Cel de al doilea studiu, prezintă ca și noutate investigarea modului în care diferitele dimensiuni ale particulelor substanței active și raportul dintre substanța activă și excipient afectează micro-/macro-morfologia și caracteristicile farmaceutice ale structurilor liofilizate.

Aspecte semnificative de originalitate și inovare sunt regăsite în ultimul studiu. Concret, s-a propus studierea laptelui ca potențial excipient. Laptele este frecvent utilizat ca și mijloc de facilitare a administrării la copii, dar studiul fezabilității și a influenței compoziției laptelui (conținutul de grăsime) asupra timpului de dezagregare, dizolvare și a profilul texturii liofilizatelor reprezintă o abordare ingenioasă.

O parte din rezultatele obținute au fost deja publicate în jurnalul național indexat ISI, iar rezultatele obținute în cadrul ultimului studiu sunt destinate publicării.

Rezultatele obținute au fost prezentate la simpozioane naționale și internaționale de profil.