

Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerésztudományi Kar
Gyógyszerfelügyeleti Intézet

PhD értekezés tézisei

Dr. pharm. Petró Éva

**Dermális félszilárd gyógyszerformák
hatóanyag-felszabadulásának
„regulatory science” alapú értékelése**

Témavezető:

Dr. habil. Csóka Ildikó PhD

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Gyógyszertechnológia PhD program
Programvezető: Prof. Dr. Révész Piroska

Gyógyszerfelügyeleti Intézet
Témavezető: **Dr. habil. Csóka Ildikó PhD**

Dr. pharm. Petró Éva

**Dermális félszilárd gyógyszerformák
hatóanyag-felszabadulásának
„regulatory science” alapú értékelése**

Szigorlati Bizottság:

Elnök: *Prof. Dr. Hódi Klára*, SZTE GYTK Gyógyszertechnológiai Intézet

Tagok: *Dr. Dredán Judit PhD*, SE GYTK Gyógyszerészeti Intézet

Prof. emer. Dr. Paál Tamás, SZTE GYTK Gyógyszerfelügyeleti Intézet

Bírálati Bizottság:

Elnök: *Prof. emer. Dr. Máthé Imre*, SZTE GYTK Farmakognóziái Intézet

Opponensek: *Francsicsné Dr. Czinege Erzsébet PhD*, Richter Gedeon Nyrt.

Dr. Marton Sylvia PhD, SE GYTK Gyógyszerészeti Intézet

Tagok: *Dr. Kovácsné Balogh Judit PhD*, SE GYTK Egyetemi Gyógyszertár
Gyógyszerügyi Szervezési Intézet

1. BEVEZETÉS

A gyógyszeriparban az *in vitro* kioldódás vizsgálata - amelyet eredetileg szilárd gyógyszerformák jellemzésére fejlesztettek ki - a gyógyszerfejlesztés és a minőségellenőrzés (ME) egyaránt fontos eszköze. A kioldódási vizsgálatot gyakran alkalmazzák egyéb gyógyszerformák ellenőrzésére és igen elterjedt a félszilárd készítmények esetében.

A félszilárd gyógyszerformák sajátosságai és hatóanyaguk felszabadulása – mind alkalmazási, mind gyógyszerügyi szabályozási szempontból – nem régen került a kutatók érdeklődésének középpontjába. Habár a bőrön keresztüli penetráció vizsgálatára számos *in vitro* módszer létezik, továbbá irányelvek és útmutatók érhetőek el a témakörben, a szilárd gyógyszerformákkal ellentétben, sem *in vitro* jellemzésükre nincs általánosan elfogadott gyógyszerkönyvi módszer, sem *in vivo* vizsgálatuk nem tisztázott.

A gyógyszerhatóságok célja az állatokon történő vizsgálatok számának csökkentése, és azok *in vitro* vizsgálati módszerekkel való helyettesítése. Jelenleg az *in vitro* vizsgálatok nem hatósági követelmények. Ezekhez a vizsgálatokhoz az *in vitro-in vivo* korreláció (IVIVC) megállapítása előírás, amely nem csak a szilárd, hanem a félszilárd gyógyszerformák vizsgálatában is kihívást jelent.

Az útmutatók legtöbbször a Franz certikális diffúziós cellát jelölik meg az *in vitro* vizsgálatok elvégzésére, amely a kutatók által használt gyakori analitikai műszer. Megjegyzendő, hogy a módszerrel kapcsolatban számos kritikus paramétert figyeltek meg, mint például a kioldóközeg nagyon kis mennyisége, a bonyolult csőrendszer és a buborékképződés lehetősége. Ezek szükségessé teszik a módszer validálását.

A félszilárd készítmények *in vitro* hatóanyag-felszabadulásának másik vizsgálati berendezése nem régen került előtérbe. A Hanson Research Company kibővítette az SR8-Plus Test készülékét egy kis térfogatú rendszerrel. Ez az eszköz a United States Pharmacopoeia (USP) Apparatus 2 módosított változata. Speciális kis térfogatú edénnyel (Hanson kenőcscella, modified holding cell) és mini lapáttal rendelkezik. A cella a donor részében tartalmazza a helyi alkalmazásra szánt gyógyszert. A vizsgálat kezdete előtt, a membránnak a cella nyílásához történő felhelyezése után, a cellát a kioldóközegbe kell helyezni.

A Franz vertikális diffúziós cella (a továbbiakban Franz cella) és a modified holding cell – mini-paddle system (a továbbiakban módosított USP) közötti technikai eltérések a következők:

- cellatérfogat: 7 ml (általában) illetve 70 ml,
- mintatérfogat: 800 µl (friss kioldó közeggel pótolva) illetve 2,00 ml (nincs pótolva),
- félszilárd mintamennyiség: 0,24-1,65 g illetve 0,40-0,70 g,
- keverési sebesség: 450 rpm illetve 100 rpm,
- mintavétel: automata illetve kézi.

A minta felülete mindkét esetben $1,767 \text{ cm}^2$.

Minőségellenőrzési és termékfejlesztési célokra egyszerű (nem impregnált), semleges, porózus szintetikus membrán használata javasolt. Vizsgálatomban $0,45 \mu\text{m}$ pórusméretű, cellulóz-acetát membránt használtam izopropil-mirisztáttal (IPM) átitatva és anélkül.

2. CÉLKITŰZÉSEK

A félszilárd készítmények szabályozási hiányosságainak csökkentése céljából értekezésem célja a dermális félszilárd gyógyszerformák hatóanyag-felszabadulásának különböző vizsgálati módszerekkel történő értékelése volt.

A célok a következőképpen összegezhetőek:

- félszilárd összetételek kifejlesztése,
- referencia (forgalomba hozatalra engedélyezett) készítményekkel való összehasonlítása,
- reológiai vizsgálata,
- biofarmáciai értékelése és
- az eredmények statisztikai analízissel történő alátámasztása.

A biofarmáciai vizsgálatok magukban foglalják:

- a készítményeim *in vivo* gyulladáscsökkentő hatását,
- *in vitro* penetrációját/abszorpcióját és
- *in vitro* hatóanyag-felszabadulását.

Az *in vivo* adatokat az *in vitro* penetrációs és *in vitro* hatóanyag-felszabadulási eredményekkel annak érdekében hasonlítottam össze, hogy megállapítható-e köztük *in vitro-in vivo* korreláció.

Elvégeztem a két *in vitro* kioldókészülék, a Franz vertikális diffúziós cella és a módosított USP módszer összehasonlítását. Teszteltem a két berendezés teljesítményét.

Célom volt:

- a diklofenák-nátrium (DS) *in vitro* szintetikus membránon keresztüli kenőcsalapanyagokból és referencia gélekből történő hatóanyag felszabadulásának vizsgálata a két készülékkel,
- a két műszer hatóanyag felszabadulási adatainak összehasonlítása,
- a két berendezés kritikus paramétereinek és technikai eltéréseinek megfigyelése és
- a vizsgált gyógyszerformák hasonlósági (f2) és különbözőségi (f1) faktorról történő kiértékelése.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Anyagok

3.1.1. Hatóanyag – diklofenák-nátrium

A diklofenák, egy nemszteroid gyulladásgátló, amely megfelelő alkalmazhatóságának köszönhetően világszerte az egyik leggyakrabban felírt gyógyszer.

Az Európai Gyógyszerkönyvnek [Ph.Eur.] megfelelő, diklofenák sóját, a mikronizált diklofenák-nátriumot (DS, nátrium-[(diklorofenil)amino]-fenilacetát, TEVA-Human Co., Debrecen, Hungary) választottam hidrofil hatóanyagként.

3.1.2. A félszilárd készítmények elkészítése

Vizsgálatomban különböző félszilárd összetételeket, hidrogéleket, organogéleket, gél-emulziókat, olaj a vízben és víz az olajban típusú krémeket fejlesztettem és vizsgáltam.

A saját fejlesztésű készítményeket két, forgalomban lévő referencia gyógyszerhez hasonlítottam. A **referencia hidrogél (REF HG)** és **referencia gél-emulzió (REF GE)** a Diclofenac-Ratiopharm® (Ratiopharm Hungaria Kft. Budapest, Hungary) és Voltaren Emulgel® 1% gél (Novartis Hungaria Consumers Healthcare Kft., Budapest, Hungary) magyar gyógyszerkészítésként került megrendelésre.

3.2. Módszerek

3.2.1. Reológia

A reológiai mérések HAAKE RS1 (Thermo Electron, Németország) kúp-lap rendszerű reométerrel történtek (1/35 TI). Minden mérés háromszor, $25 \pm 0,1$ °C-on lett megismételve. A nyírási sebesség 0,1 1/s-100 1/s tartományban volt beállítva.

A fel- és leszálló ág felvétele kontrollált nyírási sebességgrádiensű rotációs méréssel történt ($\Delta\gamma/\Delta t = 0,333$), és az eredmény $\tau = f(\gamma)$ reogram and $\eta = f(\dot{\gamma})$ viszkozitásgörbe formájában lett rögzítve. A tixotropia a fel- és leszálló [Pas/s] ág közötti területet jelentette. Az eredmények kiértékelése RheoSoft 2.84 verziójú programmal történt.

3.2.2. Biofarmáciai vizsgálatok

3.2.2.1. *In vivo* vizsgálat

A készítmények *in vivo* hatékonysága a karragén kiváltotta ödéma vizsgálattal lett tesztelve. A vizsgálatokat Magyarországon a Szegedi Tudományegyetem Állatetikai Bizottsága (IV/01758-6/2008) engedélyezte. Hím Wistar patkányokon (150-181 g) történt a tesztelés. A vizsgálatok kivitelezése 24 ± 1 °C-on, légkondicionált szobában lett kivitelezve. Az állatok 12 óra világos/12 óra sötét körülmények között étel-ital ellátással '*ad libitum*' voltak tartva. Minden vizsgálat kivitelezése a nap azonos időpontjában (du. 1-4 óra) történt, annak érdekében, hogy a farmakológiai hatás mérésében a napi ritmus ingadozásából származó tényezők kizárva legyenek. Minden patkány csak egyszer lett tesztelve. A készítmények alkalmazása előtti napon minden patkány hátának (15 cm²) alaposan leborotválása történt, és 5 perces 2,5-3,5%-os izoflurán (Forane® solution, Abbott Laboratories, Budapest, Magyarország) anesztézia alkalmazása közben, Veet® szőrtelenítő krémmel (Reckitt Benckiser, Massy, Franciaország) epilálva lett. Az

állatok bőrének tisztítására vizes vatta szolgált. Az állatok szárítása 10 percen keresztül, infralámpa alatt történt.

A vizsgálat napján az állatok altatása Forane® oldattal lett kivitelezve, majd a különböző összetételek vizsgálata zajlott rajtuk. Az állatok epilált hátára mindegyik készítményből 300 mg minta alkalmazása történt. A kezelés után 1 órával a helyi gyulladáshozos reakció kiváltása 0,1 ml karragén szubplantáris injekció (Viscarin, Marine Colloids Inc., Springfield, USA) jobb talpba történő fecskendezésével zajlott. A karragén oldat koncentrációja, amely fiziológiás sóoldatban készült, 0,5% volt. A bal talp karragén befecskendezése nélkül, kontrollként szolgált. A talpödéma az injekció beadása után pletizmométerrel (Hugo Sachs Elektronik, March, Németország) lett lemérve.

A gyulladáshozos válasz értékelése a karragén- és sóoldattal befecskendezett talp térfogatának különbségéből adódott.

3.2.2.2. In vitro vizsgálat

3.2.2.2.1. Penetrációs/abszorpciós vizsgálat

A vizsgálathoz 0,45 µm pórusnagyságú cellulóz-acetát membránokat (Porafil, Macherey-Nagel GmbH, Düren, Németország és Pall Life Sciences, Batavia, USA) használtam. A diffúziós felület 1,767 cm² volt. A penetrációt különböző kenőcsalapanyagokból (n=12) és 2 referencia gélből, izopropil-mirisztátba áztatott, szintetikus cellulóz-acetát membránokkal vizsgáltam.

A kioldóközeg a bőrfelületen és a *stratum corneum* keresztüli penetrációt szemlélte. 5,4 ± 0,1 pH-jú (Orion Star pH, Thermo Electron Co., Szingapúr) foszfát puffert választottam kioldóközegnek. A puffer hőmérsékletét a bőr hőmérsékletének megfelelően 32 ± 0,5°C-ra állítottam.

A minták abszorbanciáját UV spektrofotométerrel (Unicam Helios α UV-Vis Spectrophotometer, Cambridge, Anglia) 275 nm hullámhosszon mértem le, és diklofenák tartalmukat kalibrációs görbe segítségével határoztam meg. Az üres kenőcsalapanyagokat (DS nélküli összetételek) szintén vizsgáltam, de a vizsgálatok során a diklofenák tartalmú mintákhoz viszonyítva az abszorbanciájuk 2% alatt maradt: ezeket nem vettem figyelembe.

A kísérleteket háromszor végeztem el. Az eredményeket, általános szabályként három tizedesjegyre kerekítettem.

3.2.2.2.1.1. Vizsgálati berendezés

Kísérleteimben a 6 cellával rendelkező és automata mintavevő készülékkel felszerelt **Franz vertikális diffúziós cellát** (Hanson Research Co., Chatsworth, USA) használtam. A receptor fázis térfogata 7 ml volt. Az előzetesen IPM-be (lásd fent) áztatott membránokat a cellák tetejéhez rögzítettem. Keverési sebességnek 450 rpm-et állítottam be. A membránok felületére (a különböző összetételek típusától és konzisztenciájától függően) 0,24-1,65 g kenőcsmintát helyeztem. A készülék 0,5, 1, 2, 3 and 6 óra elteltével 800 µl mintát vett és a kivett mennyiséget friss kioldóközeggel pótolta.

3.2.2.2.2. Hatóanyag-felszabadulás

Lásd a 3.2.2.2.1. *Penetrációs/abszorpciós vizsgálat* részt. A DS hatóanyag felszabadulási értékeit nem impregnált, de foszfát pufferbe áztatott cellulóz-acetát membránon vizsgáltam.

3.2.2.2.1. Vizsgálati berendezések

A **Franz vertikális diffúziós cellát** használtam.

A penetrációs/abszorpciós vizsgálathoz hasonlítva a különbség az, hogy a membránokat, amelyeket a cellák tetejéhez rögzítettem, előzőleg foszfát puffer oldatba áztattam (lásd fent).

A **módosított USP készülék az SR8-Plus Dissolution Test Station modified holding cell**el felszerelt (Hanson Research Co., Chatsworth, USA), félszilárd gyógyszerformák vizsgálatára kifejlesztett változata. Ezt kizárólag hatóanyag felszabadulási vizsgálatokban alkalmazzák. A készülék 70 ml térfogatú 8 cellát tartalmaz. 0,40-0,70 g-os mintákat helyeztem a kicsi kenőcscella tartók membránjának felületére, amelyeket ezután a kioldóközeget tartalmazó üvegedényekbe süllyesztettem. A keverési sebességet 100 rpm-nek állítottam be. A Franz cellánál leírt időintervallumoknál, kézzel, 2 ml-es mintákat vettem.

3.2.3. A statisztikai összehasonlítás adatai és módszerei

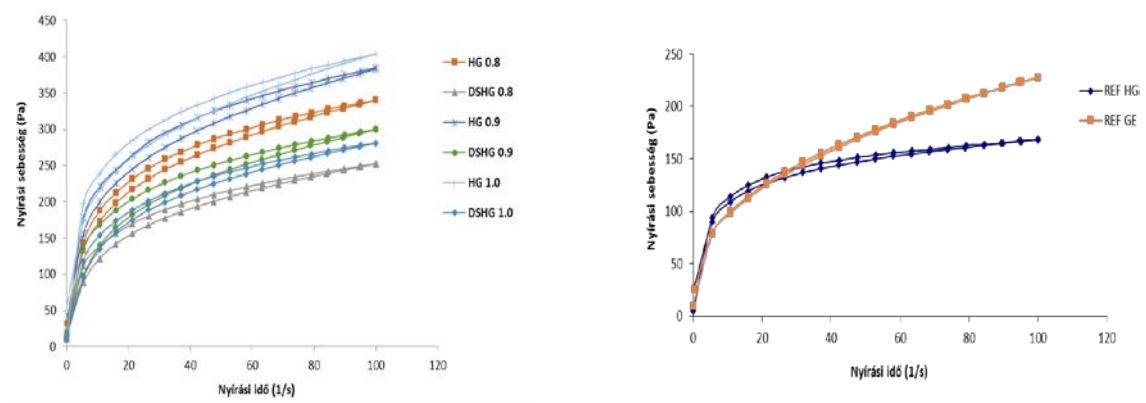
A CI-k 95%-os szignifikancia szintnél, Shah és munkatársainak egyszerű módszerét használva, meghatározható konfidencia intervallumok ($p < 0,05$).

Nem teljesen lineáris görbék összehasonlítására a szilárd gyógyszerformák kioldódás vizsgálatából származó módszereket használtam, amelyekben nem a látszólagos értékeket, hanem magukat a grafikonokat hasonlítják össze. Ez a különbözőségi (f_1) és hasonlósági (f_2) faktor.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A vizsgált készítmények reológiai tulajdonságai –hidrogélek

A hidrogélekben a DS inkorporáció nem befolyásolta jelentősen a viszkozitást (**1. ábra**). Megállapítható, hogy a hidrogélek struktúrája – ahogyan a referencia termékeké is -, könnyen deformálható. A hidrogél minták folyási, viszkozitási tulajdonságai és folyáshatára a referencia termékekhez hasonló volt. A folyáshatár és a nyírási erő csökkenésével a termékek kenhetősége nőtt, amely terápiás gyulladáscsökkentő hatást eredményezett.



1. ábra a) Hidrogélek és b) referencia készítmények folyásgörbéi

4.2. A biofarmáciai adatok eredményei

4.2.1. Az *in vivo* adatok értékelése

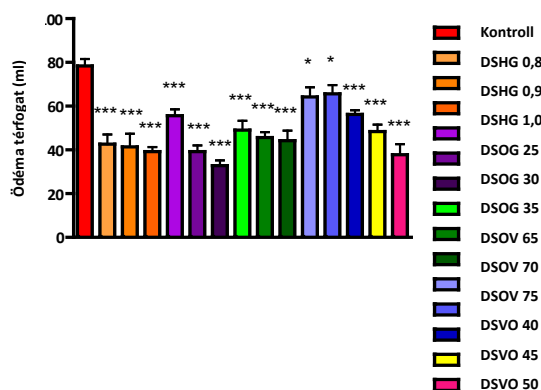
A készítmények *in vivo* hatékonyságát karragén indukálta ödéma teszttel mértem le.

Ezután az eredményeket, annak érdekében, hogy IVIVC-t határozzak meg, az *in vitro* penetrációs és hatóanyag-felszabadulási értékekhez viszonyítottam.

Az eredmények (átlag swelling %) könnyen áttekinthetőek a **2. ábrán**. A referencia készítményekhez viszonyítva az 1%-os (w/w%) diklofenák-nátrium 40 és 45%-os v/o krémekben ($p < 0,05$, *-gal jelölve) csak mérsékelt ödéma gátló hatást fejt ki. Az aktív hatóanyagot 1%-ban (w/w%) tartalmazó 50%-os v/o krémekben, az o/v kenőcsalapanyagokban, a hidrogél és organogél összetételekben és a két forgalomban lévő referencia készítmény esetében a nem kezelt csoporthoz viszonyítva az ödéma csökkentő hatás hatásosnak bizonyult ($p < 0,001$, ***-gal jelölve). A legjelentősebb gyulladáscsökkentő hatást a 35%-os emulgenst tartalmazó organogél esetében mértem, amely hatás szignifikánsabb volt mindkét referencia termékénél. A legalacsonyabb értéket a 45%-os víztartalmú v/o formulációnál tapasztaltam.

Csóka és munkatársai vizsgálatához hasonlóan, az *in vivo* vizsgálatokban én is a hidrogél mintákat találtam hatékonyak.

Az *in vivo* vizsgálatokban a készítmények átlagából számított sorrend a következő: referencia gél-emulzió > hidrogélek > organogélek > o/v krémek > referencia hidrogélek > v/o krémek.



2. ábra 1%-os diklofenák-nátriumot tartalmazó, különböző összetételű készítmények patkányokon mért, karragén kiváltotta ödéma gyulladáscsökkentő hatása

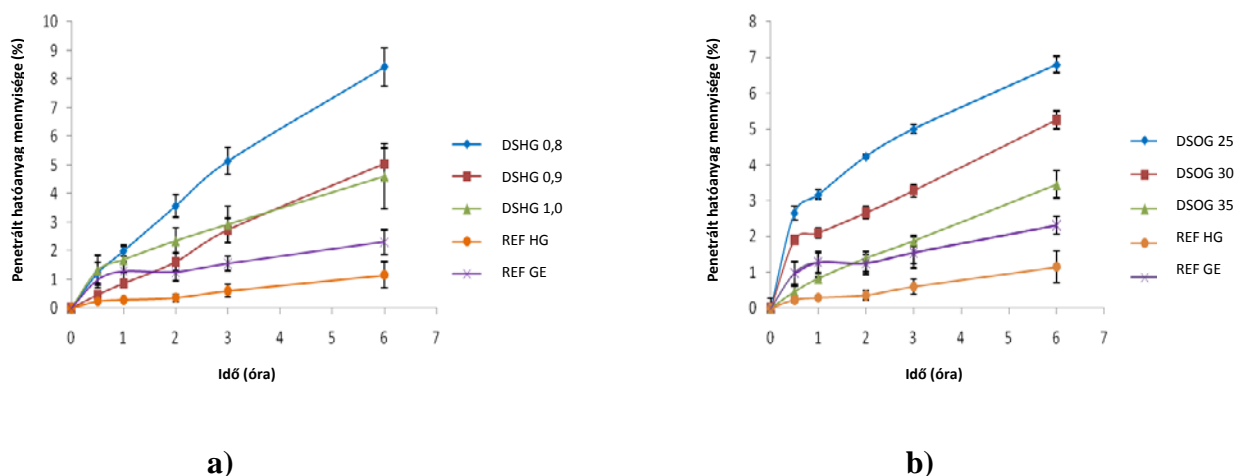
Több, mint a saját fejlesztésű készítményeim fele érte el és haladta meg a referencia hidrogél ödéma csökkentő hatását, és egy készítményem lépte túl a referencia gél-emulzió értékét.

4.2.2. Az *in vitro* penetrációs/abszorpciós adatok értékelése

Az *in vitro* penetrációs eredmények alapján, alacsony penetrációjuknak köszönhetően, több termékem kizárható lett volna a vizsgálatból, habár hatásosnak bizonyult az *in vivo* vizsgálatokban.

Vizsgálataimban a Franz cellát használtam.

A 3. ábra mutatja az IPM-mel impregnált membránon mért, idő függvényében meghatározott (%-os) penetrált diklofenák-nátrium mennyiségét.



3. ábra a-b) Az IPM-mel impregnált szintetikus membránon mért, idő függvényében meghatározott kumulatíván penetrált diklofenák-nátrium mennyisége

Látható, hogy minden készítményem elérte a törzskönyvezett (referencia) gélek penetrációs értékét (1,16% a referencia hidrogél és 2,31% a referencia gél-emulzió esetében). A 0,8% polimert tartalmazó hidrogél mintáim mutatták a legjelentősebb *in vitro* penetrációs értéket (8,41%) és a referencia hidrogél értéke volt a legkisebb.

A szórás mértéke 0,46%-tól (DSOG 25) 2,29%-ig (DSHG 1,0) változott.

Az IPM-mel impregnált membránon keresztüli penetráció a következő sorrendben alakult:

hidrogélek > organogélek > v/o krémek > o/v krémek > referencia gél-emulzió > referencia hidrogél.

4.2.2.1. *In vitro* penetráció – *in vivo* korreláció

Az *in vitro* penetrációs és *in vivo* eredmények között, különböző illesztésekkel mérsékelt ($x < 0,90$), jelentős ($0,90 < x$) vagy nem létező korrelációt állapítottam meg.

Az IPM-mel átítatott membrán esetében a legjobb korrelációt az o/v krém és organogél mintáknál, lineáris illesztés, valamint az o/v krémek esetében power trend line illesztéssel mértem. A v/o krémek esetében nem mértem jelentős IVIVC-t.

Megállapítható, hogy az o/v krémeknek volt a legjobb az illesztése (0,9732 and 0,9714) és a v/o krémeknek a legrosszabb (0,0403 and 0,0228) lineáris és power trend illesztés esetén is.

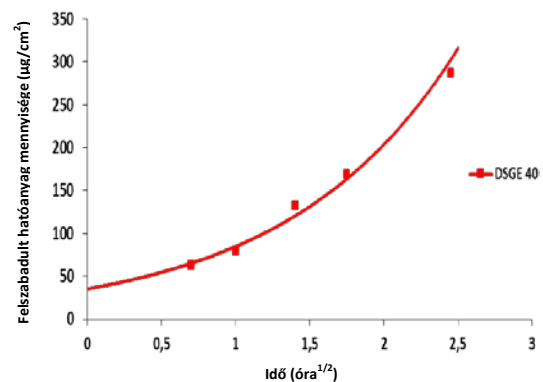
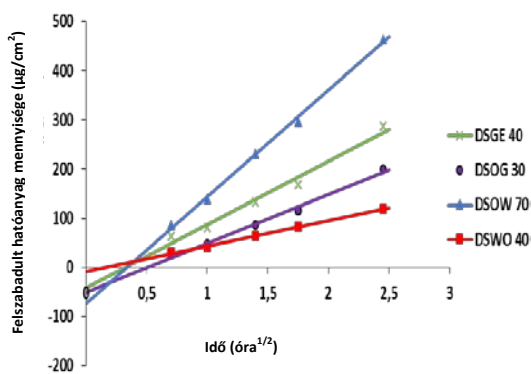
Csóka és munkatársainak vizsgálatával szemben, korrelációt találtam az organogélek és o/v krémek esetében, valamint mérsékelt korrelációt a hidrogélek esetében.

Az eredményeim értékelése alapján a hidrogél és organogél mintákat javaslom klinikai használatra.

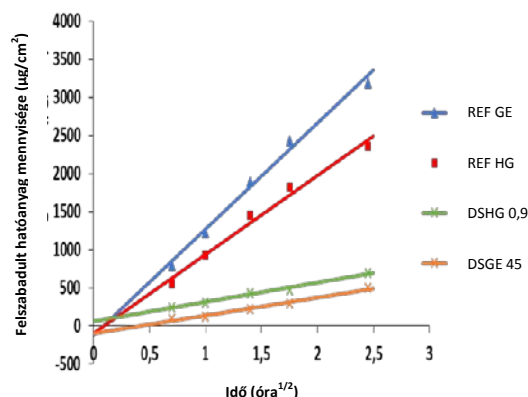
4.2.3. Az *in vitro* hatóanyag-felszabadulási adatok értékelése

4.2.3.1. A félszilárd készítményekből történő diklofenák hatóanyag-felszabadulás jellemzői és cellulóz-acetát membránon keresztüli átjutása

Vizsgálataimban a Franz cellával és módosított USP berendezéssel lemerített legmagasabb hatóanyag-felszabadulási eredmények 1100 és 2500 μg között voltak. A **4.** (Franz cella) és **5. ábrán** (módosított USP készülék) láthatóak a tipikus görbék.



4. ábra a) A Franz cellával mért, felszabadult diklofenák-nátrium mennyisége (a legjobb lineáris illesztés) és **b)** nem-lineáris, exponenciális illesztés)

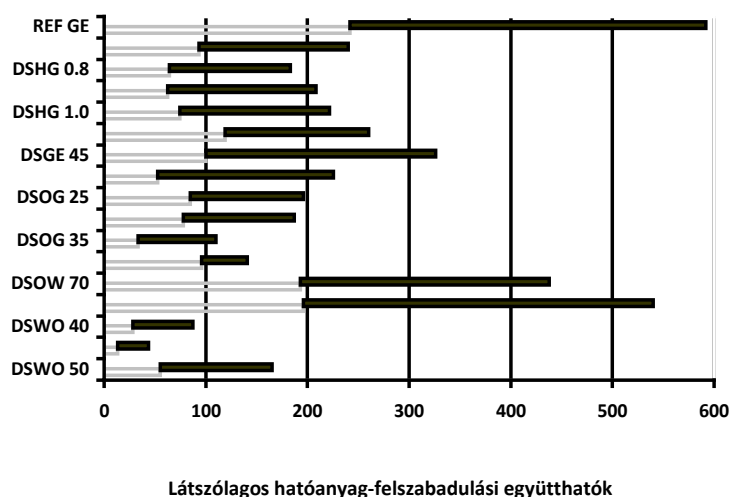


5. ábra A módosított USP módszerrel mért, felszabadult diklofenák-nátrium mennyisége (a legjobb lineáris illesztés)

4.2.3.2. Konfidencia intervallumok összehasonlításának statisztikai értékelése

A látszólagos hatóanyag-felszabadulási együtthatók CI-jét kiszámoltam és összehasonlítottam az *in vivo* %-os értékekkel.

A CI-k a 6. ábrán láthatóak.



6. ábra A Franz cellával mért látszólagos hatóanyag-felszabadulási értékek

Az adatok összehasonlításának célja a szignifikáns különbségek ($p < 0,05$) megállapítása volt.

Habár csak kevés információt eredményezett, megállapítottam, hogy az *in vitro* értékek CI-je elég széles volt.

4.2.3.2.1. A különbözőségi és hasonlósági faktorokon alapuló statisztikai összehasonlítás

Az f_{1rel} and f_{2rel} értékek minden esetben hasonló eredményt adtak, amikor a két görbét „különbözőnek” ($f_{1rel} > 10$) vagy „nem hasonlónak” ($f_{2rel} < 50$) állapítottam meg.

A faktorok használata sokkal pontosabb leírást ad a görbék különbözőségéről (nem hasonlóságáról) mint a látszólagos hatóanyag-felszabadulási együtthatók CI-jei. Csak a DSHG görbék módosított USP-vel történő mérése során tudtam nem különbözőséget/hasonlóságot megállapítani.

4.2.3.3. *In vitro* hatóanyag-felszabadulás – *in vivo* korreláció

A munkám ebben a részében az *in vivo* %-os gyulladási adatok és az átlagos, látszólagos hatóanyag-felszabadulási együtthatók vagy a diklofenák 6 óra alatt felszabadult, két *in vitro* módszerrel mért Q (kumulatív mennyiség [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]) értékei között állítottam fel korrelációt.

4.2.3.3.1. A meredekségek (látszólagos hatóanyag-felszabadulási együtthatók) és swelling eredmények közötti értékek

A módosított USP-vel vagy Franz cellával mért eredmények *in vivo* gyulladáscsökkentő adatokkal történő összehasonlítása esetén nem állítottam fel korrelációt. Ezért általánosan elmondható, hogy egyik módszer sem alkalmas az IVIVC előrejelzésére. A két *in vitro* módszerre szintén érvényes ez a megállapítás.

Ennek ellenére, az egy összetételen belüli összetevők koncentrációjának változtatásával, a DSHG, DSOG és DSOV készítmények módosított USP-vel mért *in vitro* és *in vivo* eredményei között jó korrelációt tapasztaltam. A DSHG, DSOV és DSVO formulációk Franz cellával mért és *in vivo* értékei között valamivel gyengébb korrelációt figyeltem meg. Mindkét *in vitro* módszer esetében a DSOV krémeknél mértem a legjobb IVIVC-t. A módosított USP és Franz cella használatával, a DSOG és DSVO összetételeknél, a két *in vitro* módszer közül csak az egyik adott elfogadható korrelációs értéket.

4.2.3.3.2. A Q és gyulladási érték közötti korreláció

A 6 óra alatt mért Q értékek korrelációja a meredekségeknél mért értékekénél jóval alatta maradt. A meredekséget a hatóanyag-felszabadulás mértéke határozta meg.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkám célja a félszilárd gyógyszerformák hatóanyag penetrációjának és hatóanyag-felszabadulásának vizsgálata és a mérésekre alkalmas módszerek „regulatory science” szempontból történő értékelése volt.

5.1. Félszilárd gyógyszerformák *in vitro* hatóanyag-felszabadulása

Munkám eredményei:

- Félszilárd gyógyszerformákból történő hatóanyag-felszabadulási vizsgálatokban hasonlítottam össze a módosított USP és Franz cella tulajdonságait. Ismereteim szerint eddig még nem írtak le a szakirodalomban hasonló vizsgálatot.
- Megállapítottam, hogy a hatóanyag-felszabadulás nem teljesen diffúzió kontrollálta folyamat volt, az $\text{idő}^{1/2}$ függvényében mért hatóanyag-felszabadulási adatok nem voltak teljesen lineárisak. Tudomásom szerint, a szakirodalomban ez a megállapítás szintén nem szerepel. Azért, hogy pótoljam ezt a hiányosságot, a félszilárd gyógyszerformák hatóanyag-felszabadulási görbéinek vizsgálatára, a szakirodalomban elsőként bevezettem a (relatív) f_2 hasonlósági (valamint az f_1 különbözőségi) faktort.

5.2. *In vitro-in vivo* korreláció

- Félszilárd készítményeim gyulladáscsökkentő hatást mutattak és csökkentették a karragén indukálta patkányödémát. Több mint a készítményeim fele érte el vagy haladta meg a (forgalomban lévő) referencia hidrogél ödémacsökkentő hatását.
- Eredményeim klinikai alkalmazása lehet, hogy a hidrogél és organogél mintáim jelentős gyulladáscsökkentő hatást mutattak. Mindkét formuláció reológiai tulajdonságai jó kenhetőséggel rendelkeztek. Meghaladták a referencia gél-emulzió eredményeit és szignifikáns IVIVC-t mutattak a penetrációs vizsgálatokban. Ennek ellenére, a referencia gélek esetében nem állapítottam meg korrelációt az *in vitro* és *in vivo* eredmények között.
- A vizsgálataim azt mutatták, hogy nem impregnált cellulóz-acetát membrán használatakor sem a módosított USP, sem a Franz cella nem alkalmas IVIVC felállítására, habár az említett *in vitro* és *in vivo* vizsgálatok ezt feltételeznék.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

- I. **Éva Petró**, Ágnes Balogh, Gábor Blazsó, István Erős, Ildikó Csóka: *In vitro and in vivo evaluation of drug release from semisolid dosage forms*. Pharmazie 66 (2011) 936-941. **IF: 1,006**
- II. **Éva Petró**, István Erős, Ildikó Csóka: *Review of in vitro drug release test methods statistical evaluation to compare dissolution profile of semisolid dosage forms - Part I*. J. Appl. Pharm. Sci. 02 (2012) 180-181. **IF: -**
- III. **Petró Éva**, Erős István, Csóka Ildikó.: *Félszilárd gyógyszerformák fejlesztése – A hatóanyag felszabadulás és bioekvivalencia vizsgálatok alapjai (Alkalmazott elvek, módszerek és berendezések: Irodalmi áttekintés) I. rész*. Gyógyszerészet 56 (2012) 131-137. **IF: -**
- IV. **Petró Éva**, Erős István, Csóka Ildikó.: *Félszilárd gyógyszerformák fejlesztése – A hatóanyag felszabadulás és bioekvivalencia vizsgálatok alapjai (Alkalmazott elvek, módszerek és berendezések: Irodalmi áttekintés) II. rész*. Gyógyszerészet 56 (2012) 195-202. **IF: -**
- V. **Éva Petró**, Tamás L. Paál, István Erős, Alexander S. Kenneth, Gabriella Baki, Ildikó Csóka: *Drug release from semisolid dosage forms: a comparison of two testing methods*. Pharm. Dev. Technol. (2014) 1-7. doi: 10.3109/10837450.2013.867446 **IF: 1,333**
- VI. Anita Kovács, **Éva Petró**, István Erős, Ildikó Csóka: *The role of dissolution testing in quality control*. Per. Pol. Chem. Eng. 58 (2014) 17-20. **IF: 0,269**
- VII. **Éva Petró**, Tamás L. Paál, Ildikó Csóka: *Comparison of non-linear release curves*. (Közlésre összeállítva)

Összesített IF: 2,608

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ ELŐADÁSOK

- I. **Petró Éva:** *Normák és irányelvek szerepe a félszilárd gyógyszerformák hatóanyag kioldódásának validálásában*, PhD Tudományos Nap, Szegedi Akadémiai Bizottság Székháza, 2008. november 27., Szeged
- II. **Petró Éva**, Csóka Ildikó, Erős István: *Félszilárd gyógyszerformák hatóanyag kioldódásának validálása*, Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XIV., 2009. november 13-15., Budapest, Gyógyszerészet 53. 2009/11 Suppl. I., S100. (P-70.)
- III. **Éva Petró**, Ildikó Csóka, István Erős: *Validation process of drug release from semisolid dosage forms*. 7th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, March 8-11 2010 Malta, Valletta (P206.)
- IV. **Éva Petró**, Ildikó Csóka, Ágnes Balogh, Gábor Blazsó, István Erős: *In vitro and in vivo evaluation of drug release from semisolid dosage forms*. 8th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology and 4th International Graz Congress for Pharmaceutical Engineering, September 16-18 2010 Graz, Austria (PDD08)
- V. **Petró Éva**, Csóka Ildikó, Balogh Ágnes, Blazsó Gábor, Erős István: *Félszilárd gyógyszerformák in vitro és in vivo vizsgálata*, Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság XVI. Gyógyszertechnológiai Konferencia és VIII. Gyógyszer az Ezredfordulón Konferencia, 2010. október 20-22., Siófok (EA-22)
- VI. Baracsi Zita, **Petró Éva**, Erős István, Csóka Ildikó: *In vitro hatóanyag felszabadulási vizsgálatok validálása Franz vertikális diffúziós cella és USP 2 kenőcscella esetén*, Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság XVI. Gyógyszertechnológiai Konferencia és VIII. Gyógyszer az Ezredfordulón Konferencia, 2010. október 20-22., Siófok (P-3)
- VII. **Petró Éva**, Csóka Ildikó, Erős István: *Félszilárd készítmények hatóanyag liberációjának meghatározására szolgáló módszerek (diffúziós cellák) összehasonlító vizsgálata*, Magyar Kémikusok Egyesülete Kozmetikai Szimpózium 2010, 2010. november 18., Budapest

- VIII. **Éva Petró**, Ágnes Balogh, Gábor Blazsó, István Erős, Ildikó Csóka: *In vitro and in vivo investigation of drug release from semisolid products in case of synthetic membrane and rat skin*. Skin Forum 12th Annual Meeting, March 28-29 2011 Frankfurt, Germany (P24.)
- IX. **Petró Éva**, Erős István, Csóka Ildikó: *In vivo-in vitro korreláció félszilárd rendszerek esetében*, Magyar Kémikusok Egyesülete Kozmetikai Szimpózium 2011, 2011. november 17., Budapest
- X. **Éva Petró**, István Erős, Ildikó Csóka: *Dissolution testing of semisolid dosage forms*. 8th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, March 19-22 2012, Turkey, Istanbul (P162.)
- XI. **Petró Éva**, Erős István, Csóka Ildikó: *Hatóanyag felszabadulás félszilárd gyógyszerformákból – módszerek és eszközök*, Molekulától a gyógyszerig, Szeged, 2012. május 24-25.
- XII. **Petró Éva**, Csóka Ildikó, Erős István: *Ex vivo módszerek a biológiailag aktív anyagok liberációjának kutatásában*, Magyar Kémikusok Egyesülete Kozmetikai Szimpózium 2012, 2012. november 22., Budapest
- XIII. **Petró Éva**, Erős István: *Biológiailag aktív anyagok szabaddá válása krémekből, gélekből és gélemulziókból*, Magyar Kémikusok Egyesülete Kozmetikai Szimpózium 2013, 2013. november 21., Budapest
- XIV. **Petró Éva**, Csóka Ildikó, Erős István: *Félszilárd dermatológiai mátrixok gyógyszerleadását meghatározó tényezők*, Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XV., 2014. április 10-12., Budapest (P-116.)