



**Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszerésztudományi Kar
Gyógyszertechnológiai Intézet**

PhD értekezés tézisei

Meloxicám tartalmú hordozó-alapú porinhalációs rendszer fejlesztése és vizsgálata lokális hatás elérése céljából

Pomázi Anita

Témavezetők:

Prof. Dr. Révész Piroska, MTA doktor
és

Dr. Ambrus Rita, PhD

SZEGED

2013

**Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola**

Gyógyszertechnológia Program

Programvezető: Prof. Dr. Révész Piroska, MTA doktor

Gyógyszertechnológiai Intézet

Témavezető: Prof. Dr. Révész Piroska

Dr. Ambrus Rita

Pomázi Anita

**Meloxicám tartalmú hordozó-alapú porinhalációs rendszer fejlesztése és
vizsgálata lokális hatás elérése céljából**

Szigorlati bizottság:

Elnök: Dr. Erős István MTA doktor, SZTE Gyógyszertechnológiai Intézet

Tagok: Dr. Vecsernyés Miklós PhD, DE, Gyógyszertechnológiai Intézet

Dr. Gáspár Róbert PhD, SZTE Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet

Bíráló bizottság:

Elnök: Dr. Fülöp Ferenc akadémikus, SZTE Gyógyszerkémiai Intézet

Opponensek:

- Dr. Bácskay Ildikó PhD, DE Gyógyszertechnológiai Intézet
- Dr. Stampf György PhD, SE Gyógyszerészeti Intézet

Titkár: Dr. Lázár László PhD, SZTE Gyógyszerkémiai Intézet

Tag: Dr. Institóris László PhD, SZTE Anatómiai Intézet

SZEGED

2013

1. BEVEZETÉS

A korszerű inhalációs gyógyszerkészítmények formulálása a gyógyszeripari fejlesztések aktuális feladata. Lokális és szisztémás támadáspontú farmakonok egyaránt alkalmazhatóak, ugyanis a tüdő, mint alternatív beviteli kapu fiziológiai sajátágaival biztosítja az optimálisan fejlesztett készítmény célba juttatását (Clarke et al., 1984, Charokopos et al., 2009). A korszerű inhalációs rendszerek esetében a formulált készítmény, ezáltal a hatóanyag közvetlenül a célszervbe juttatható, így kis dózisok elegendőek a terápiás hatás kifejtéséhez. A belélegzett hatóanyag mennyisége függ a beteg belégzési kapacitásától, a mukociliáris aktivitástól, valamint a készítmény aerodinamikai sajátosságaitól egyaránt. A tüdő állapota, a belégzési kapacitás egyénekenként eltérő, ezért a terápiás hatás egységesítése érdekében további kutatásokra van szükség az optimális inhalációs összetételek tervezéséhez (Hinds et al., 1999, Hickey et al., 2006). A porinhalációs készítmények formulálása minden esetben két fő lépésből áll: a hatóanyag tartalmú készítmény előállítása, valamint a bejuttatásra alkalmas és a készítmény külső környezettől való megvédésére szolgáló beviteli eszköz fejlesztéséből (Courier et al., 2002, Chiara et al., 2008). A száraz-porinhalációs készítmények kiemelkedő stabilitásukkal, kedvező előállítási költségükkel, valamint az egyszerű alkalmazhatóságukkal emelkednek ki (Clarke et al., 1984). A fejlesztések során a legfontosabb kritérium a szemcseméret, a morfológia, a hatóanyag gyors kioldódása a külső alveoláris pH tartományban, valamint az aerodinamikai sajátosságok biztosítása. A kristályos sajátosságok megtartása a készítmény stabilitása szempontjából kedvező (Buckton 1997, Hickey et al., 2006). A száraz-porinhalációs készítményeket az aerodinamikai tulajdonságok alapján minősítik (Wong et al., 2010). A legfontosabb paraméterek: az aerodinamikai szemcseméret, az átlagos aerodinamikai átmérő, valamint a finom részecske frakció (Ph. Eur. 7.2. 2012).

Napjainkban az új típusú hordozó rendszerek formulálása a készítmény fejlesztés fókuszába került és a korszerű segédanyagok lehetőséget adnak az innovatív porinhalációs készítmények előállításához. A porinhalációs készítmények jelentős hányada hordozó-alapú, amelyben a mikronizált méretű hatóanyag egy speciális felületű laktózzal alkot fizikai keveréket. A fejlesztésben újszerű megközelítés a mannit, mint hordozó alkalmazása az interaktív fizikai keverékek előállításában (Kaialy et al. 2013), valamint ko-porlasztással való együtt alkalmazása, amely a végtermékként szilárd, kristályos, ko-porlasztással előállított mikrokompozitot eredményez.

2. CÉLKITŰZÉS

Munkám egyik célja a száraz-porinhalációs készítmények irodalmi hátterének feltérképezése volt. Ebben a részben összegyűjtöttük a formulálási lehetőségeket, megvizsgáltuk a különböző segédanyagok alkalmazhatóságát az előállítás során.

Munkám fő célja meloxicám (MX) tartalmú mikrokompozitok kutatása és fejlesztése volt, pulmonálisan alkalmazható száraz-porinhalációs készítmény előállítására. Továbbá célul tűztem ki az MX, mint szelektív COX-2 gátló nem szteroid gyulladáscsökkentő bejuttatását a tüdő bronchiális tartományába, helyi hatás kiváltására. A hatóanyag pulmonális alkalmazása új kutatási területet jelent a gyógyszerészeti gyakorlatban. Kísérletes eredmények igazolják a MX antifibrotikus, antioxidáns, analgetikus, gyulladáscsökkentő hatása mellett, a daganatterápiában igen kedvező angiosztatikus tulajdonságát. Vizsgálatok folynak a tüdődaganat kezelésében betöltött szerepéről. Nem-kissejtes tüdőrákban a carcino genesis során a sejtek felszínén expresszálandó COX-2 receptorok számát hatékonyan csökkenti. Emellett a rák kezelésében igen fontos a fájdalomcsillapítás. Az MX elsőként választható nem szteroid gyulladáscsökkentő, mivel pulmonális alkalmazása során nem észlelték az acetyl-salicilsavra jellemző hiperszenzitivitási reakciókat. Azonban ilyen indikációval MX tartalmú készítmény nincs forgalomban, így "szuper generikumként" való formulálása innovatív feladatnak tekinthető.

A kísérletes munka lépései tehát a következők voltak:

- i. kritikus paraméterek meghatározása a preformuláció során: az összetétel, valamint a ko-porlasztás paramétereinek meghatározása abból a célból, hogy a készítmény szemcseméretét, morfológiáját, valamint a hatóanyag külső alveoláris pH-n való gyors felszabadulását biztosítsuk. A mannit (M) alapú mikrokompozitok tulajdonságainak vizsgálata,
- ii. az összetételek citotoxicitásának vizsgálata az alkalmazandó terápiás dózisban,
- iii. különböző segédanyagok (polimerek, aminosav) hatásának vizsgálata az aerodinamikai tulajdonságokra nézve, az összetétel és az eljárás optimalizálása a belélegezhető-frakció növelése céljából,
- iv. a kedvező paraméterekkel rendelkező termékek gyorsított stabilitás vizsgálatának elvégzése és a kritikus paraméterek monitorozása a tárolási idő függvényében azon célból, hogy meghatározzuk, melyek azok az összetételek, amelyeket a továbbiakban *in vivo* állatkísérlet keretein belül vizsgálunk a hatás igazolására, valamint az *in vivo-in vitro* korreláció meghatározására.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1 Anyagok

A munkában alkalmazott vízben nem oldódó hatóanyag tehát a meloxicám (MX). Kémiaileg az enolsav-származékok csoportjába tartozó vegyület, a hivatalos IUPAC neve 4-hydroxy-2-methyl-N-(5-methyl-2-thiazolyl)-2H-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-dioxide). A formulálás során korszerű, a terápiában biztonsággal alkalmazható hordozót és segédanyagokat alkalmaztunk. Indifferens vivőanyagként a β -D-mannitot (M), a szemcsék egyediségét biztosító polimereket (polivinil-pirrolidon K25 (PVP), polivinil-alkohol 3-88 (PVA)) és nedvesedést fokozó segédanyagokat (Poliszorbát 80 (TWEEN)) alkalmaztam. L-leucin (LEU) aminosav hozzáadásával az aerodinamikai sajátságok növelhetőek.

3.2 Módszerek

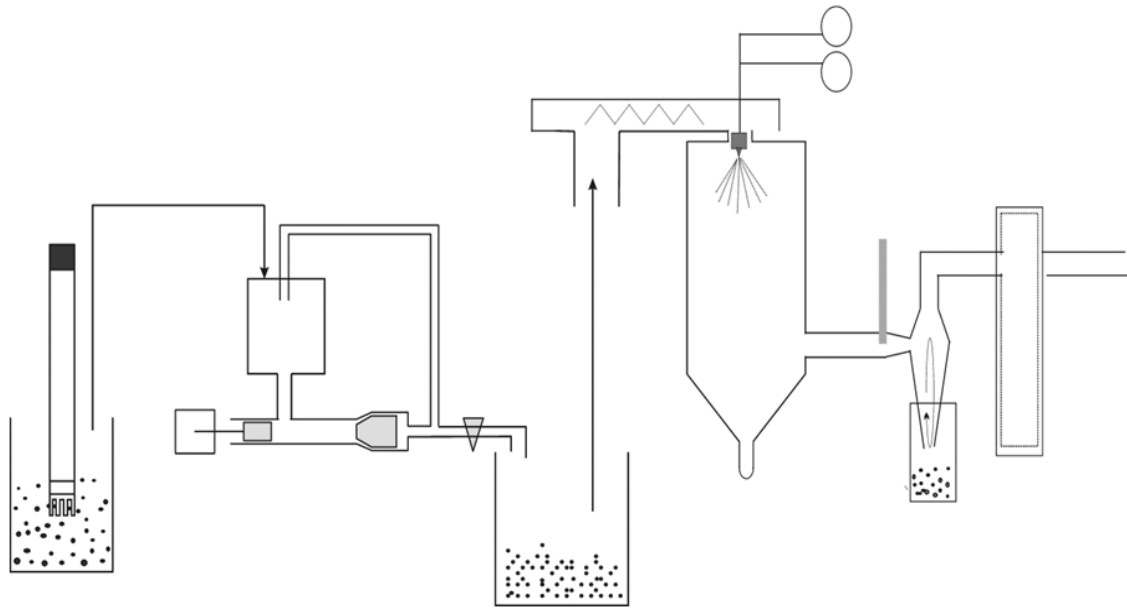
3.2.1 Meloxicám tartalmú mikrokompozitok előállítása

Az összetételeket 100 g-ra vonatkoztatva a **1. táblázat** mutatja.

1. táblázat: egyes komponensek mennyisége a mikroszuszpenzióban

Összetételek	MX (g)	M (g)	PVP (g)	PVA (g)	TWEEN (g)	LEU (g)
MX-M	5	5	-	-	-	-
MX-M-PVP	5	5	0,025	-	-	-
MX-M-PVP-LEU	5	5	0,025	-	-	0,2
MX-M-TWEEN	5	5	-	-	0,05	-
MX-M-TWEEN-LEU	5	5	-	-	0,05	0,2
MX-M-PVA	5	5	-	0,1	-	-
MX-M-PVA-LEU	5	5	-	0,1	-	0,2

A szilárd fázisú termék előállításának folyamatát az **1. ábra** szemlélteti.



MX preszuszpenzió előállítása UT-al

Mikroszuszpenzió formulálása nagynyomású homogenizátorral

Végző forma, a mikrokompozitok kialakítása ko-porlasztással

1. ábra: Mikrokompozitok ko-porlasztással történő előállításának lépései. A ko-porlasztás folyamatában a segédanyagok és a hordozó oldott, míg az MX szilárd, szuszpendált állapotban van jelen.

A szemcseméret csökkentést dezintegráló művelettel, nedves őrléssel végeztük el (Ultraturrax -UT-6500 és 24000 rpm 10 perc). Az UT-vel előállított preszuszpenzióból mikroszuszpenziót készítettünk nagy nyomású homogenizátor (Avestin Emulsiflex C3, Kanada) alkalmazásával. A végző formát porlasztva szárítással alakítottuk ki (Büchi Mini Dryer B-191). A preformulációs vizsgálatok során meghatároztuk az egyes segédanyagok szemcseméretre és a kioldódási sebességre gyakorolt hatását. Megállapítottuk, hogy a mikrokompozitok mérete a pulmonális alkalmazásnak megfelelően az 1-5 μm -es tartományba esik, azonban a termékek aerodinamikai vizsgálata alacsony belélegezhető frakciót eredményezett. Emiatt szükséges volt az összetétel és az előállítási paraméterek optimalizálása. Az összetétel optimalizálásához LEU-t alkalmaztunk az aerodinamikai sajátságok és ezáltal a belélegezhető frakció növelése céljából.

3.2.2 Citotoxicitás meghatározása

A Calu-3 (tüdő epitheliális sejtek) sejteket 96 lyukú tenyésztőlemezre szélesztettük. 1 hét elteltével a sejteket a MX tartalmú, eltérő összetételű termékekkel kezeltük különböző koncentrációban. A termékeket Hank's Balanced Salt oldatban (HBSS) (Sigma) szuszpendáltuk, majd a szuszpenziót a sejtekre helyeztük és 1 órán keresztül 37 °C-on inkubáltuk. Az életképes sejtek által átalakított kék színű formazán festéket izopropanolban oldottuk és az oldatok abszorbanciáját 570 nm-en BMG Fluostar Optima microplate olvasó segítségével mértük, 690 nm-en. Az abszorbancia arányos az életképes sejtek számával.

3.2.3 Szemcseméret

A szemcseméretet lézer diffrakciós eljárással határoztuk meg (Malvern Mastersizer Scirocco 2000, Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK). Megközelítően 2 g terméket mértünk a rezgő tálcára. A diszperziós levegő áramlását 2,0 bar nyomás biztosította.

3.2.4 Pásztázó elektronmikroszkópia

A szemcsék morfológiáját, habitusát pásztázó elektronmikroszkóp segítségével határoztuk meg (Hitachi S4700, Hitachi Scientific Ltd., Japán). A szemcsék bevonását (Bio-Rad SC 502, VG Microtech, Anglia) arany-palládiummal végeztük, a termékek felületén az elektromos vezetés kiváltására 1,3-13 mPa nyomású levegőt használtuk fel.

3.2.5 Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia (FT-IR)

Az FT-IR spektrumot Bio-Rad Digilab Division FTS- 65A/896 FT-IR készülék segítségével vettük fel, 400–4000 cm^{-1} -es intervallumban 4 cm^{-1} -es optikai felbontás alkalmazásával. A méréseket szilárd fázisban standardizált KBr mátrixban végeztük. A 150 mg-os KBr pasztillák préselése 10 tonna nyomáson történt. A préselmények MX-re vonatkoztatott tartalma 0,5 mg volt.

3.2.6 Nedvesedési peremszög meghatározása

A hordozó, valamint a hatóanyag tartalmú rendszerek nedvesedési peremszögét OCA készülékkel határoztuk meg (Dataphysics OCA 20, Dataphysics Inc., GmbH, Németország). 0,15 g száraz port préseltünk Specac hidraulikus présrel 1 tonna nyomással, 10 másodpercen át (Specac Inc., USA).

3.2.7 Nedvességtartalom meghatározása termogravimetriás méréssel

A száraz porok maradék nedvességtartalmának vizsgálatára Mettler Toledo TG 821^e készüléket alkalmaztuk, a program lefuttatását és az eredmények kiértékelését a STAR^e V9.1 programmal végeztük el (Mettler Inc., Schwerzenbach, Svájc) állandó nitrogén gáz átáramoltatása mellett (100 ml min⁻¹).

3.2.8 *In vitro* hatóanyag felszabadulási vizsgálat

A termékek kioldódását a Magyar Gyógyszerkönyvben is hivatalos forgólapátos kioldókészülék módosított változatával határoztuk meg. Megfelelő előtemperálás után az 1,67 mg MX-t tartalmazó terméket a 100 ml 37 °C-os foszfát-pufferbe helyeztük, ahol a külső alveoláris körülményeknek megfelelően 7,4 ± 0,1 pH-t és 100 fordulat/perc fordulatszámot alkalmaztunk. ATI UNICAM UV–VIS spektrofotométerrel abszorbanciát mértünk ($\lambda = 362$ nm), amelyből a hatóanyag tartalom meghatározható.

3.2.9 A hatóanyag felszabadulás értékelése

A kioldódási hatékonyság százalékos értékelését (%DE) minden összetétel esetén meghatároztuk a következő összefüggés szerint: a kioldódási görbe adott t időpontjának megfelelő görbe alatti terület aránya a 100 %-os kioldódásnak megfelelő görbe alatti területhez viszonyítva:

$$\%DE = \left(\frac{\int_0^t y \times dt}{y_{100} \times t} \right) \times 100 \quad (1)$$

Az átlagos kioldódási időt (MDT) a következő összefüggés alapján határoztuk meg:

$$MDT = \frac{\sum_{i=1}^n t_{mid} \Delta M}{\sum_{i=1}^n \Delta M} \quad (2)$$

ahol i a minták, n a mintavételi időpontok száma, t_{mid} két kioldódási időpont átlaga t_i and t_{i-1} , és ΔM a kioldódott hatóanyag mennyisége (mg) a két időpont t_i és t_{i-1} között.

3.2.10 *In vitro* aerodinamikai vizsgálat

Az aerodinamikai sajátságok meghatározására a Gyógyszerkönyvben is hivatalos kaszkád impaktor modelleket alkalmaztuk (The Next Generation Impaktor (NGI); Andersen kaszkád impaktor (ACI) (Copley Scientific Ltd., Nottingham, Egyesült Királyság). A terméket kemény zselatin kapszulába töltöttük (3-as méret) és bevitelre az RS01 eszközt (Plastiape, Olaszország) választottuk. Mindkét impaktor 7 felfogó tányért tartalmaz, amelyet a

részecskék hatékony kitapadása érdekében 1% w/v Span 85-ciklohexán elegyével bevontunk. Az impaktorokat vákuum pumpához csatlakoztattuk (High-capacity Pump Model HCP5, Critical Flow Controller Model TPK, Copley Scientific Ltd., Nottingham, Egyesült Királyság). Az átáramló levegő sebességét ellenőriztük (Flow Meter Model DFM 2000, Copley Scientific Ltd., Nottingham, Egyesült Királyság) és úgy szabályoztuk, hogy a mennyisége 60 l min^{-1} legyen, a bementi nyílásnál. Az egyes tányérokat metanol/puffer (60/40 v/v %) elegyével kvantitatívan mérőlombikba mostuk, majd a hatóanyag mennyiségét UV/Vis spektroszkópiával 362 nm hullámhosszon határozzuk meg.

3.2.11 Stabilitás vizsgálat

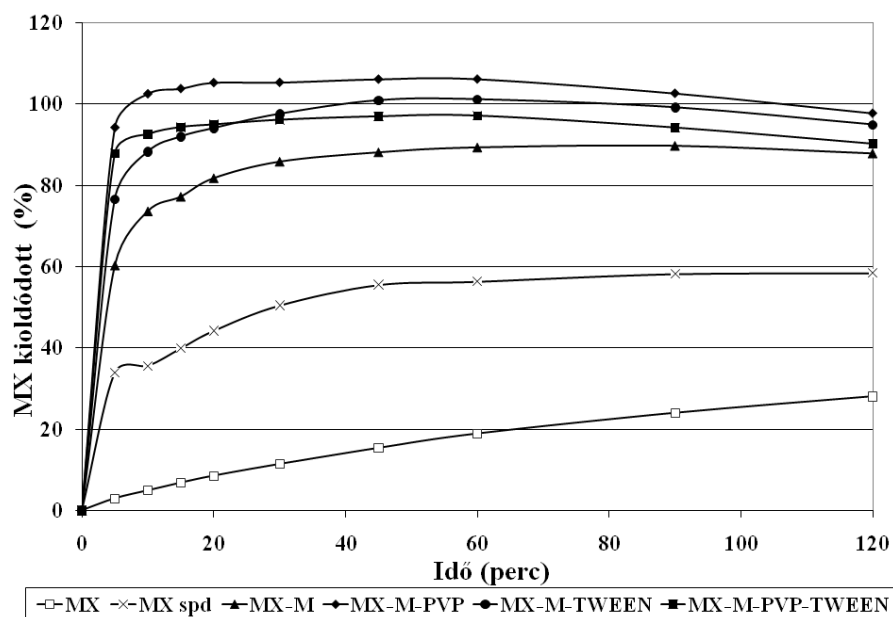
A stabilitás vizsgálatokat nemzetközi irányelvek alapján terveztük meg (ICH - International Conference on Harmonization Q1A (R2) - Stability Testing of New Drug Substances and Products, 2003). A terméket pulmonális célra alkalmas kemény zselatin porkapszulába töltöttük. A mintákat $40 \text{ }^\circ\text{C}$ -on 75%-os relatív páratartalmú (RH) közegben tároltuk 6 hónapon keresztül. A mintavételi időpontok 0. nap, 10. nap, 1 hónap, 2 hónap, 3 hónap és 6 hónap voltak.

3.2.12 Statisztikai analízis

A statisztikai értékelést a Statistical for Windows programmal végeztük el és az eredmények között tapasztalt változásokat egyszempontos varianciaanalízissel határoztuk meg. Akkor tekintettük az értéket szignifikánsnak ha a p érték $< 0,05$.

4. EREDMÉNYEK

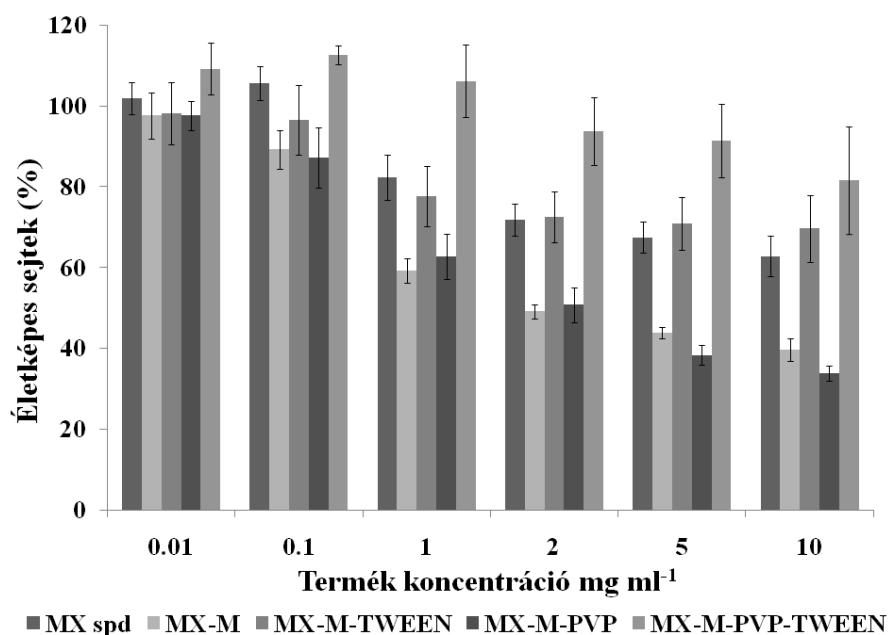
A preformulációs vizsgálatok során meghatároztuk a ko-porlasztás kritikus paramétereit és M alapú mikrokompozit összetételt dolgoztunk ki. Megállapítottuk, hogy a mikrokompozitokból az MX kioldódása szignifikánsan nőtt az összetétel optimalizálásával, mind a kiindulási anyagokhoz, mind a kontroll (MX spd) termékhez viszonyítva. A vizsgálat első 5 percében a termékek 80 % feletti hatóanyag felszabadulást mutatnak (**2. ábra**). A hatóanyag felületén kialakult hidrofil réteg elősegíti a MX pillanatszerű kioldódását.



SD \pm 2 %

2. ábra: MX kioldódása ko-porlasztással előállított rendszerekből. Az alveoláris pH-t 7,4-es foszfát pufferrel modelleztük.

Mivel a hordozó és az alkalmazott segédanyagok pulmonális készítmények komponensei, így elsősorban az MX dózist alapul véve végeztünk toxicitás vizsgálatokat (**3. ábra**).



3. ábra: termékek citotoxicitás vizsgálata. Az életképes sejtek arányát a kezeletlen kontrollhoz viszonyítva százalékban adtuk meg és a koncentráció függvényében ábrázoltuk.

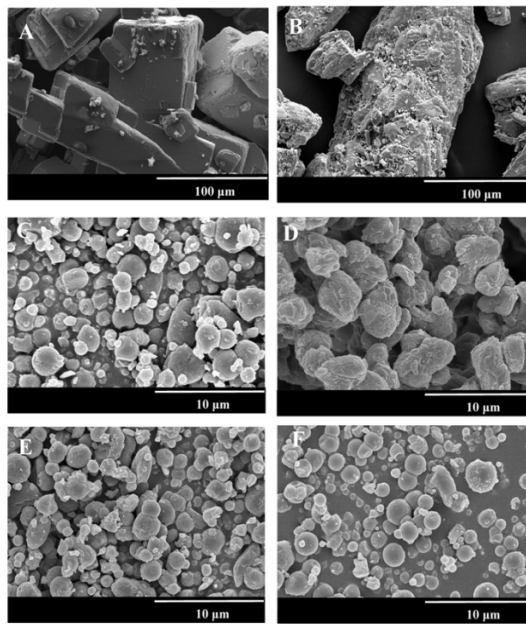
A termékekből 10 különböző koncentrációt készítettünk és a termékek toxicitását 0,01 és 50 mg ml⁻¹-es (MX tartalom: 0,005-25 mgml⁻¹) tartományban vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy a terápiás céllal a tüdőbe juttatott termékek dózisa 0,1 mg ml⁻¹ koncentrációban nem vagy csak igen kis mértékben voltak a termékek toxikusak.

A preformulációhoz kapcsolódóan elvégeztük a termékek szemcseméret eloszlási vizsgálatát is (**2. táblázat**), ami a következő eredménnyel zárult. Az átlagos szemcseméret a hat termék és a kontroll esetében is a pulmonális kritériumoknak megfelelő tartományban van (1-5 µm). A TWEEN-t tartalmazó rendszerekben a D(0,5) valamint D(0,9) - es értékekben is növekedést figyelhettünk meg, amely előrevetíti a kedvezőtlen aerodinamikai sajátságokat.

2. táblázat: termékek szemcseméret eloszlása.

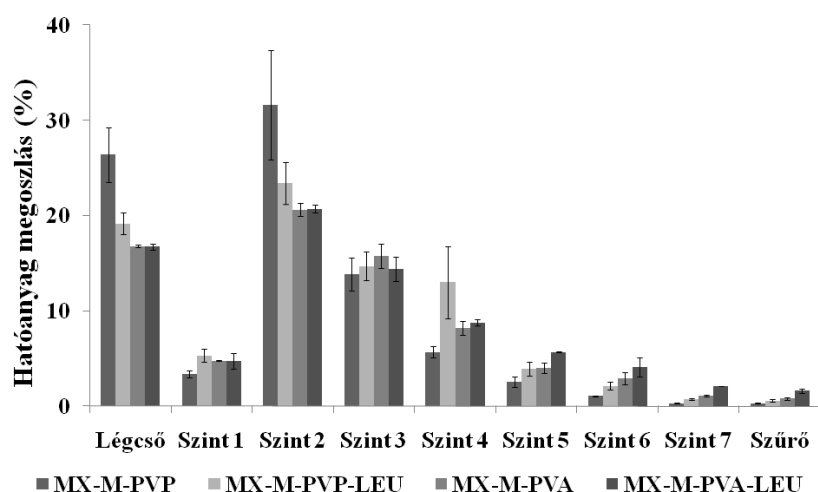
Minta	D(0,1) (µm)	D(0,5) (µm)	D(0,9) µm)
MX kiindulási	8,56	30,85	63,71
M kiindulási	5,32	36,37	65,45
MX-M	1,38	3,09	243,68
MX-M-PVP	1,65	3,29	6,19
MX-M-PVP-LEU	1,53	3,05	5,68
MX-M-TWEEN	2,48	5,09	10,52
MX-M-TWEEN-LEU	2,08	4,16	8,88
MX-M-PVA	1,57	3,11	5,81
MX-M-PVA-LEU	1,72	3,34	7,9

Az elektronmikroszkópos felvételek (**4. ábra**) a kiindulási anyag, a MX (A) és a LEU-al formulált termékek morfológiáját mutatják. A mikronizált PVP (C) és PVA (E) tartalmú termékek esetén a porlasztásra jellemző szférikus morfológia érvényesül. A segédanyagként TWEEN-t (D) tartalmazó termékek SEM felvételein felületi rétegződést figyelhetünk meg, ami a segédanyag kristályosodást gátló hatására vezethető vissza.



4. ábra: a kiindulási MX (A), az M (B) elektronmikroszkópos felvétele, MX-M-PVP-LEU (C), MX-M-TWEEN-LEU (D), MX-M-PVA-LEU (E) képei a ko-porlasztással előállított mikrokompozitok morfológiáját szemléltetik, kontrollként MX-M 1:1 arányú összetételét a termékekkel megegyező technológiával formuláltuk (F).

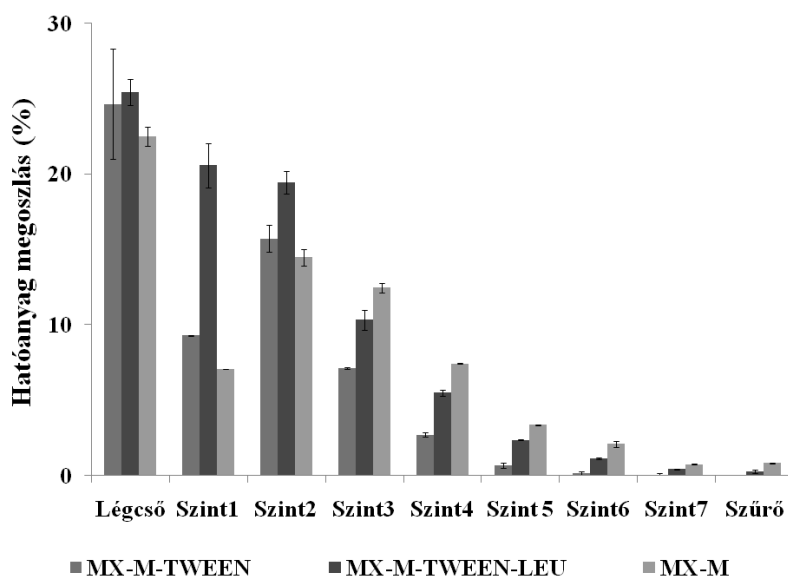
A termékek aerodinamikai tulajdonságának értékelésekor a 2-5 szinteken kitapadó hatóanyag mennyiségét összegeztük, amit a finom részecske frakció (FRF) értékével adtunk meg. Ez az érték akkor optimális, ha nagyobb, mint 50 % (**5. ábra**). A PVP-t és PVA-t tartalmazó rendszereket LEU-al formulálva kedvező értékeket kaptunk, ami a LEU diszperzitást fokozó sajátosságaira vezethető vissza. A FRF a MX-M-PVP-LEU esetben $53,05 \pm 1,13$, míg a MX-M-PVA-LEU mikrokompozitnál $57,5 \pm 1,0$ %-nak adódott.



5. ábra: hatóanyag megoszlása a vízszintes elrendezésű NGI impaktorban. Az áramló levegő sebessége 60 l min^{-1} volt.

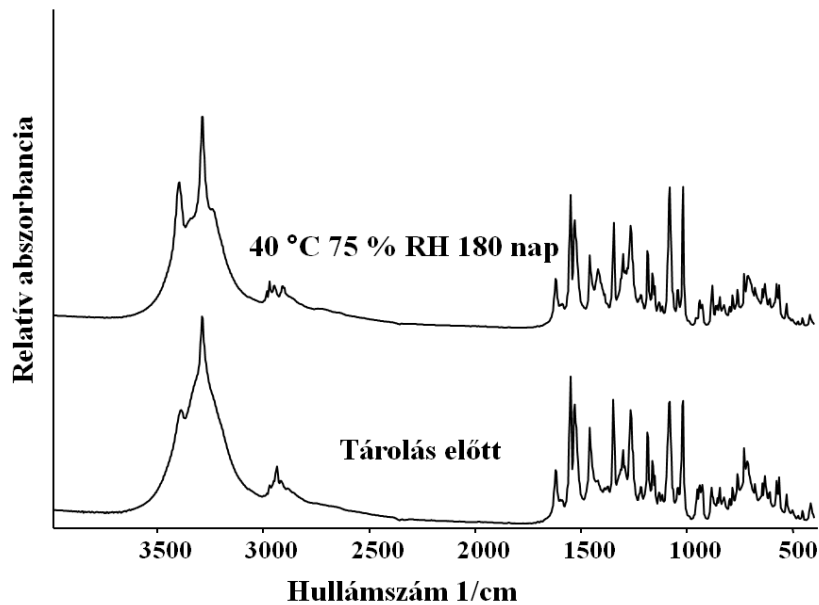
A TWEEN-t tartalmazó rendszerekben az FPF $28,08 \pm 1,66$ volt (**6. ábra**). A TWEEN felületi hatása miatt a szemcsék nem tudnak az áramló levegő hatására dezintegrálódni.

Tehát az összetétel optimalizálása során az MX-M-PVP-LEU, MX-M-PVA-LEU termékeket találtuk alkalmasnak az MX-tartalmú száraz-porinhalációs készítmény fejlesztésére.

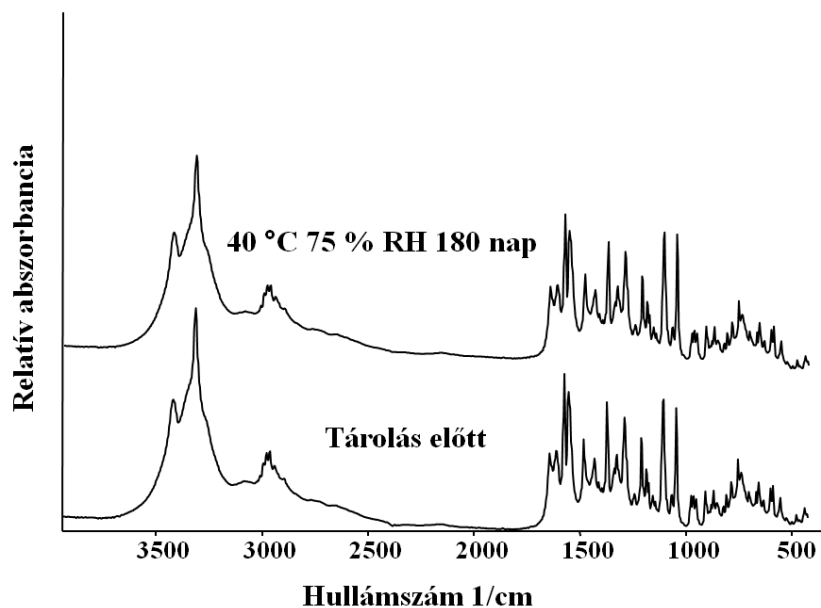


6. ábra: hatóanyag megoszlása a TWEEN-t tartalmazó és a kontroll termék esetében.

Az MX-M-PVP-LEU és MX-M-PVA-LEU rendszerek szemcsemérete, morfológiája és százalékos megoszlása kedvező, így gyorsított stabilitás vizsgálattal követtük nyomon a száraz-porinhalációs készítmények tárolhatóságát. A stabilitási tesztet az új gyógyszerhordozó rendszerekre vonatkozó ICH útmutatás szerint végeztük el. A kémiai stabilitást FT-IR spektroszkópiával vizsgáltuk. **7. és a 8. ábra** a 0. és a 120. napon felvett spektrumokat hasonlítja össze. Az spektrumok értékelésekor megállapítható, hogy a karakterisztikus kötési frekvenciák helyzete nem változott az OH, =O és NH csoportfrekvenciák esetében, valamint bomlásra utaló abszorbanca változást nem tapasztaltunk.. Megállapítható továbbá, hogy a MX-M-PVP-LEU tartalmú rendszer esetében a MX és a PVP között kialakult hidrogén-híd kölcsönhatás erőssége csökken ($3500-3100\text{ cm}^{-1}$) a tárolás során.



7. ábra: MX-M-PVP-LEU FT-IR spektruma tárolás előtt és után. A jellegzetes hullámszám tartomány a 3500-3000 1/cm.



8. ábra: MX-M-PVA-LEU FT-IR spektruma tárolás előtt és után. A karakterisztikus tartományban (3500-3000 1/cm) változást nem tapasztaltunk.

Az aerodinamikai átmérőre vonatkozó kritériumok megegyeznek a szemcseméretre vonatkozókkal, vagyis az 1-5 μm -es tartomány az *in vitro* deponálás esetében is meghatározó. Az eredmények alapján elmondható (**3. táblázat**), hogy mindkét termék a tárolás után is megfelel a száraz-porinhalációs rendszerekkel szemben támasztott követelményeknek.

3. táblázat: a tárolt minták impaktorban való megoszlása. A táblázat a tárolás előtti és utáni értékeket mutatja.

Minta	FRF (%)	Átlagos aerodinamikai átmérő (μm)
MX-M-PVP-LEU tárolás előtt	53,05 \pm 1,13	3,52 \pm 0,13
MX-M-PVP-LEU tárolás után	41,16 \pm 2,81	3,91 \pm 0,45
MX-M-PVA-LEU tárolás előtt	57,50 \pm 1,0	3,04 \pm 0,17
MX-M-PVA-LEU tárolás után	52,5 \pm 2,2	3,39 \pm 0,11

Az eredmények alapján megállapítottuk, hogy az MX-M-PVA-LEU összetételű termék mutatta a legjobb paramétereket stabilitás szempontjából.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkám fő célja MX tartalmú mikrokompozitok kutatása és fejlesztése volt, pulmonálisan alkalmazható száraz-porinhalációs készítmény előállítására. Továbbá célul tűztem ki az MX, mint szelektív COX-2 gátló nem szteroid gyulladáscsökkentő bejuttatását a tüdő bronchiális tartományába, helyi hatás kiváltására. Eredményeimet a következőkben foglalom össze.

- i. Különböző hordozó alapú rendszereket fejlesztettünk az MX bejuttatásának és a kitapadó frakció növelésének érdekében. Meghatároztuk az előállítási paramétereket és a különböző segédanyagok, valamint azok koncentrációjának az MX és a mikrokompozitok szemcseméretére és morfológiájára gyakorolt hatását. A klasszikus megközelítéssel ellentétben (a porkeverék előállítása) az MX tartalmú mikrokompozitokat a MX/M/segédanyagok (PVP, PVA, TWEEN, LEU) ko-porlasztásával egy lépéses folyamatként állítottuk elő. Ez az eljárás új tendenciát képvisel a száraz-porinhalációs készítmények formulálásában.
- ii. Az előzetes citotoxicitás vizsgálatok során igazoltuk, hogy az alkalmazott dózisban a termékek nem gyakorolnak a Calu-3 sejtek életképességére kedvezőtlen hatást, a 24 órás vizsgálat időtartama alatt. Az életképes sejtek aránya jelentős eltérést nem mutatott a porlasztott MX mintához viszonyítva (~ 70%).
- iii. Az előállítási paramétereket a PVA, PVP, TWEEN és LEU alkalmazása mellett optimalizáltuk. Az MX szemcseméretének beállítását követően a szemcseméret a porlasztás során csak kismértékben növekszik, ezáltal a MX szemcseméretének optimalizálása volt a kritikus paraméter ebben a technológiai eljárásban. A mikrokompozitok átlagos szemcsemérete megfelel a pulmonális alkalmazás követelményeinek (3-5 μm). A vizsgálatok alapján azt tapasztaltuk, hogy a polimerek (PVA és PVP) kedvezően módosítják a mikrokompozitok felületét, mintegy aggregáció gátlóként funkcionálnak az összetételben, egyedi szemcséket eredményezve. Megállapítható, hogy a LEU alkalmazásával a belélegezhető frakció növelhető, az *in vitro* vizsgálatok során kedvező kitapadás figyelhető meg a bronchiális traktusnak megfelelő szinteken. A mikrokompozitok FRF értéke, a polimer tartalmú rendszerekben mutat magasabb értéket, egyes esetekben 53%-ot is eléri. Az eredmények alapján megállapítottuk, hogy LEU alkalmazásával a ko-porlasztással előállított MX-M mikrokompozitok inhalációs porként való alkalmazása során a bronchiális traktusban kitapadó rendszereket eredményeznek.

iv. A gyorsított stabilitási vizsgálatok során a relatív páratartalom és a hőmérséklet hatását határoztuk meg a fizikai-kémiai tulajdonságokra és az aerodinamikai sajátságokra egyaránt. Az eredmények azt mutatták, hogy az MX-M-PVA-LEU összetételű mikrokompozitok a gyorsított stabilitási vizsgálatok során fizikai és kémiai szempontból stabilak és a vizsgált tulajdonságok szignifikáns változást nem mutatnak a "friss" termékekhez viszonyítva.

6. Gyakorlati vonatkozások

A fenti eredmények alapján tehát megállapítható, hogy a kidolgozott eljárás alkalmas a vízben rosszul oldódó hatóanyagok szemcseméretének csökkentésére és porlasztva szárítás segítségével kristályos és a pulmonális alkalmazásnak megfelelő szemcseméretű ($< 5 \mu\text{m}$) mikrokompozit állítására. Az MX száraz-porinhalációs készítményként történő formulálása újdonság a helyi gyulladás-csökkentő kezelésben, jelenleg MX-tartalmú száraz-porinhalációs készítmény nincs törzskönyvezve a gyógyszer adatbázisok áttekintése alapján. Megítélésünk szerint, mind a technológia, mind az előállított termék újdonságot hordoz magában, az alábbiak alapján:

- *Innovatív technológia:* a vízben rosszul oldódó MX hatóanyag, vizes mikroszuszpenzióból a segédanyagokkal és a hordozóval együtt porlasztva, új-típusú mikrokompozitot eredményez. A végső gyógyszerforma szilárd fázisú, a hatóanyagot kristályos formában tartalmazza és az egy lépésben kialakított mikrokompozitok szemcsemérete a pulmonális alkalmazásnak megfelelő. A végtermék szférikus formája az aerodinamikai tulajdonságok miatt, a kristályos sajátság megtartása pedig a termék a stabilitása szempontjából igen kedvező.
- *Innovatív termék:* a fejlesztett mikrokompozitok új tendenciát képviselnek a pulmonális hatóanyag felszabadulás terén. A hidrofil karakterű hordozó (M) és a segédanyagok (PVP, PVA, LEU) a hatóanyag felületére tapadva, a rossz vízdékonyságú hatóanyag gyors felszabadulását teszi lehetővé a bronchiális traktust modellező hidrofil környezetben. Az M hordozóként való alkalmazása előnyös a porlasztva szárítás során, ugyanis a paraméterek optimalizálásával az M kontrollált szemcseméretű és morfológiájú részecskéket eredményez, és az így kapott termék megtartja a kristályosságát. A stabilitási vizsgálatok értékelése alapján elmondható, hogy a PVA tartalmú termék fizikai-kémiai szempontból stabilnak tekinthető, az FRF értéke meghaladja a jelenleg forgalomban lévő készítmények aerodinamikai paramétereit.

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK

1. **Pomázi A.**, Ambrus R., Sipos P., Kása P., Szabó-Révész P.
Formulation of Meloxicam microparticles for dry powder inhalation
Pharmaceutical Journal of Slovenia 59 (2008) 119-121
IF:-
2. **Pomázi Anita**, Szabóné Dr. Révész Pirooska, Dr. Ambrus Rita
Pulmonális gyógyszerbevitel, DPI készítmények formulálásának szempontjai
Gyógyszerészet 53 (2009) 397-404
IF.: -
3. Ambrus R., **Pomázi A.**, Réti-Nagy K., Fenyvesi F., Vecsernyés M., Szabó-Révész P.
Cytotoxicity testing of carrier-based microcomposites for DPI application
Pharmazie 66 (2011) 549-550
IF.: 0,869
4. **Pomázi A.**, Ambrus R., Sipos P., Szabó-Révész P.
Analysis of co-spray-dried meloxicam-mannitol systems containing crystalline microcomposites
Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis 56 (2011) 183– 190
IF.: 2,733
5. **Pomázi A.**, Buttini F, Ambrus R., Colombo P., Révész P.
Effect of polymers for aerolisation properties of mannitol-based microcomposites containing meloxicam
European Polymer Journal 49 (2013) 2518-2527.
IF: 2.739
6. **Pomázi A**, Ambrus R., Szabó-Révész P.
Physicochemical stability and aerosolization performance of mannitol-based microcomposites
Journal of Drug Delivery Science and Technology
accepted for publication (2014)
IF: 1,088

EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

1. Ambrus Rita, **Pomázi Anita**, Aigner Zoltán, Petra Kocbek, Juliana Kristl és Szabóné Révész Pirooska
Nanotechnológia, nanokristályok a gyógyszerformulálásban
Gyógyszerészet 52 (2008) 259-264
IF.: -
2. **Pomázi A.**, Ambrus R., Sipos P., Otomo N., Szabó-Révész P.
Effect of a sucrose ester on co-micronized mannitol-based drug formulation
European Journal of Pharmaceutical Sciences 38 (1) (2009) Suppl. 73-74
IF.: -
3. Ambrus Rita, **Pomázi Anita**, Szabóné Révész Pirooska
A nanotechnológia mint új irányvonal a hatóanyagkristályok formulálásában
Magyar Kémiai Folyóirat 3 (2010). 96-100
IF.: -
4. Ambrus R., **Pomázi A.**, Kristl J., Kocbeck P., Szabó-Révész P.
Effect of High-Pressure Homogenization on the Formulation of Micro- and Nanocrystals Containing Poorly Watersoluble Meloxicam
Scientia Pharmaceutica 2010. 78: 571 doi:10.3797/scipharm.cespt.8.LNM03
IF.: -

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ ELŐADÁSKIVONATOK

Szóbeli előadások

Pomázi Anita

Mikrorészecskék előállítása és vizsgálata porinhalációs készítmények formulálása céljából I.
Szent-Györgyi Albert Szakkollégium Konferencia
Budapest, 2008. március.

Pomázi Anita

Lokális hatású porinhalációs rendszerek fejlesztése és gyógyszerforma vizsgálata
X. Clauder Ottó emlékverseny
Budapest, 2011. október.

Pomázi A., Ambrus R., Révész P.

Meloxicam tartalmú porinhalációs rendszerek fejlesztése és stabilitásának vizsgálata
Gyógyszerkémiai és Gyógyszertechnológiai Szimpózium '12
Debrecen, 2012. szeptember 13-14.

Pomázi A., Ambrus R., Révész P.

Meloxicam-tartalmú porinhalációs készítmény stabilitásának vizsgálata
XVII. Gyógyszertechnológiai és IX. Gyógyszer az ezredfordulón konferencia
Siófok, 2012. szeptember 27-29.

Poszter prezentációk

A. Pomázi, R. Ambrus, P. Sipos, P. Kása, P. Szabó-Révész

Formulation of Meloxicam microparticles for dry powder inhalation
7th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology & Bidelivery Systems
Ljubljana, Slovenia, September 2008.

A. Pomázi., F. Buttini., R. Ambrus., P. Colombo., P. Szabó-Révész

Development of dry powder formulations of meloxicam for pulmonary therapy
8th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology
Istanbul, 2012. March 19-22.

A. Pomázi., F. Buttini., R. Ambrus., P. Colombo., P. Szabó-Révész

Effect of polymers for aerolisation properties of mannitol-based microcomposites containing meloxicam
Advanced Macromolecular Systems Across the Length Scales Symposium
Siófok, 2012. június 3-6.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése országos program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.