



Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszerésztudományi Kar
Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet

Ph.D. értekezés tézisei

ÚJ FORMULÁLÁSÚ CIPROFLOXACIN-HIDROKLORIDOT TARTALMAZÓ SZÁRAZ PORINHALÁCIÓS RENDSZER FEJLESZTÉSE

Dr. Benke Edit

Gyógyszerész, Gyógyszerész-közgazdász

Témavezető:
Dr. habil. Ambrus Rita

SZEGED

2023

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Gyógyszertechnológia Program
Programvezető: *Prof. Dr. Csóka Ildikó*, tanszékvezető egyetemi tanár

Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet
Témavezető: *Dr. habil. Ambrus Rita*

Dr. Benke Edit

ÚJ FORMULÁLÁSÚ CIPROFLOXACIN-HIDROKLORIDOT TARTALMAZÓ SZÁRAZ PORINHALÁCIÓS RENDSZER FEJLESZTÉSE

Komplexvizsga-bizottság:

- Elnök:** *Prof. Dr. Révész Piroska*, Szegedi Tudományegyetem,
Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszertechnológiai és
Gyógyszerfelügyeleti Intézet
- Tagok:** *Prof. Dr. Bácskay Ildikó*, Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar,
Gyógyszertechnológiai Tanszék
Dr. habil. Aigner Zoltán, Szegedi Tudományegyetem,
Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszertechnológiai és
Gyógyszerfelügyeleti Intézet

Bíráló bizottság:

- Elnök:** *Prof. Dr. Dombi György*, *kandidátus*, Szegedi Tudományegyetem,
Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszeranalitikai Intézet
- Opponensek:** *Dr. Váradi Judit Ph.D.*, Debreceni Egyetem Gyógyszerésztudományi Kar,
Gyógyszertechnológiai Tanszék
Dr. Nagy Attila Ph.D., Wigner Fizikai Kutatóközpont, Szilárdtestfizikai és
Optikai Intézet, Budapest
- Titkár:** *Prof. Dr. Szatmári István*, Szegedi Tudományegyetem,
Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerkémiai Intézet
- Tag:** *Dr. Schelz Zsuzsanna Ph.D.*, Szegedi Tudományegyetem,
Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet

SZEGED

2023

1. BEVEZETÉS

Az inhalációs terápia már régre visszanyúlik, azonban a pulmonális hatóanyagbevitel kutatására és termékek fejlesztésére leginkább az utóbbi két – három évtizedben helyeződött nagy hangsúly. Ennek megfelelően számos cég és kutató csoport specializálódott erre a területre. A piacon elérhető termékek és a kutatások is jellemzően még a lokális terápiára (például asztma, cisztás fibrózis (CF), tuberkulózis, stb.) fókuszálnak. Az antibiotikumok inhalációs terápiában való alkalmazása kiváltképp sok lehetőséget rejt magába, hiszen több tüdőbetegsére jellemző bakteriális infekció kezelése lokálisan történhet a szisztémás mellékhatások jelentős csökkenése mellett az orális bevitelhez képest. Még nem sok antibiotikum tartalmú inhalációs termék van a piacon, azonban számos kecsegtető formulációt publikáltak már. A ciprofloxacín hidroklorid (CIP), mint széles spektrumú flouroquinolin antibiotikum inhalációs alkalmazásában nagy potenciál van.

A PDD megvalósításának négy fő kategóriája ismeretes: nebulizátorok, lassú köd beléggzők (Soft Mist Inhalers – SMIs), hagyományos túlnyomásos elven működő aeroszolok (pressurized metered-dose inhalers – pMDIs) és száraz porinhalációs készítmények (Dry powder inhalers – DPIs). Ezek közül a DPI rendszerek fejlesztése kapta az utóbbi időben a legnagyobb fókuszot számos előnyös sajátossága miatt. A DPI-ok esetében egyrészt megkülönböztetnek tradicionális hordozó alapú rendszereket, amikor a mikronizált hatóanyag nagyméretű hordozóval alkot interaktív fizikai keveréket. A mikronizált hatóanyag pedig lesöprődik inhalációs során a nagyméretű hordozó felületéről. A másik csoportot pedig a hordotómentes DPI-ok alkotják, amelyek esetében különféle előállítási módok, illetve alkalmazott segédanyagok teszik lehetővé a jó aerodinamikai sajátosságot. Mindkét fentebb említett DPI csoport rendelkezik előnyös sajátosságokkal és fejlesztési lehetőségekkel, azonban előnyös sajátosságaik kombinálása új fejlesztési vonalat vetít előre, ami még kiaknázatlan.

A DPI termékek hatékonyságát a – DPI formuláció mellett – befolyásolja az alkalmazott DPI készülék is, hiszen a megfelelő aerodinamikai eredmény eléréséhez hozzájárul az adagolórendszer felépítése, jellemzői, DPI-formuláció és az eszköz közötti adhézió is. Mindemelett a DPI kapszulák sajátosságai szintén befolyásolhatják az inhalációs porok aeroszolizációját, aerodinamikáját és stabilitását, így nem csak a formulációk csomagolására szolgálnak. A betegeknek szintén nagy szerepe van a DPI porok aeroszolizációjában és tüdődepozíciós eredményében, például a légzési manőver és a lélegzetvisszatartási idő vonatkozásában. Összességében a DPI gyógyszerformák fejlesztése kihívást jelent, de számos kiaknázatlan lehetőség rejlik bennük.

Rövidítések: AFM – atomerő-mikroszkóp (Atomic Force Microscope); BH – légzés visszatartási idő (breath-hold time); CF – cisztás fibrózis; CIP – ciprofloxacín-hidroklorid; D [0,5] – Geometriai átmérő; DPI – száraz porinhalációs készítmény (Dry powder inhaler); EF – emittált frakció; ET – extrathoracalis légutak; EtOH – etanol; EXH – kilégzési frakció (exhalation fraction); F_{adh} – adhéziós erő; FPF – finom részecske frakció (fine particle fraction); ICH – Nemzetközi Harmonizációs Konferencia (The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use); IH 70 – Inhalac[®] 70; GEL – Zselatin (Gelatine); GEL-PEG – Zselatin-polietilén-glikol (Gelatine-polyethylene glycol); HPMC – Hidroxipropil-metilcellulóz; LUNG – hörgő és acináris részek; MgSt – magnézium-sztearát; MMAD – átlagos aerodinamikai átmérő (mass median aerodynamic diameter); MXK – Meloxikám-kálium; NaSt – nátrium-sztearát; PDD – pulmonális hatóanyagbevitel (pulmonary drug delivery); pMDI – hagyományos túlnyomásos elven működő aeroszol (pressurized metered-dose inhaler); RH – relatív páratartalom (relative humidity); R_{RMS} – négyzetes közép-érdesség (Root means square roughness); RSC – Maradék oldószertartalom (Residual solvent content); SEM – pásztázó elektronmikroszkóp (Scanning Electron Microscope); SMI – lassú köd belégző (Soft Mist Inhaler); spd – porlasztva szárított/porlasztva szárítás (spray dried/spray drying); XRPD – Porröntgen diffrakció (X-ray Powder Diffraction); W_{adh} – adhéziós munka; W_c – kohéziós munka

2. CÉLKITŰZÉSEK

A Ph.D. munka célja egy új formulálású, CIP-et, mint antibiotikumot tartalmazó DPI mikrokompozit kifejlesztése és vizsgálata volt, amely egyesíti a tradicionális a hordozó alapú és a hordozómentes formulák előnyeit, és megfelelő stabilitással rendelkezik. A végső cél egy jól alkalmazható DPI hatóanyag-formuláció létrehozása volt cisztás fibrózis és krónikus bronchitis kezelésére. A munka fő lépései a következők voltak:

- I. Szakirodalmi áttekintés a PDD előnyeiről a szájon át történő beadás módjával szemben. A CF és a krónikus bronchitis hasonló patofiziológiai lefolyásának és az antibiotikumterápiás beavatkozási lehetőségeinek feltárása ebben a progresszív folyamatban. A PDD lehetőségek azonosítása és a forgalomban lévő inhalációs antibiotikum készítmények összegyűjtése. Továbbá a DPI rendszerek adagolásának hatékonyságát befolyásoló tényezők összegyűjtése és a bennük rejlő lehetőségek feltárása.
- II. **Hordozó alapú** CIP-tartalmú DPI rendszer fejlesztése, amely esetében a hordozó részecskék magnézium-sztearáttal (MgSt) vannak felületkezelve, és az előzetesen porlasztva szárítással (spray dried – spd) előállított hatóanyag szemcsék e részecskék felületére vannak keverve. Ilyen módon a piacon lévő tradicionális hordozó alapú DPI formulációknál jobb *in vitro* tüdődepozíciós eredmények várhatók.
- III. Annak vizsgálata, hogy a CIP-tartalmú **hordozómentes** DPI minták előállítása során a törzsoldatban használt különböző oldószer arányok hogyan befolyásolják porok habitusát és következésképpen *in vitro* aerodinamikai eredményeiket. A cél az eredmények alapján kiválasztani az optimális oldószer elegyet adott hatóanyaghoz. Célunk, új perspektívák nyújtása a már publikált tapasztalatokon túl, új numerikus kifejezések és összefüggések felhasználásával, amelyek új magyarázatokat adhatnak a témával kapcsolatos ismeretek bővítésére. Ezenkívül a CIP hatóanyagot és nátrium-sztearátot (NaSt) segédanyagként különböző koncentrációkban tartalmazó ko-porlasztva szárított DPI formulációk előállítása, fizikai és *in vitro* tüdődepozíciós

vizsgálata a fentbb említett optimális oldószerkegy alkalmazásával. Ezáltal további fejlesztés kivitelezése a hordozómentes DPI-ok előállítására.

IV. A tradicionális hordozó alapú és hordozómentes DPI formulációk fejlesztése során szerzett tapasztalatok integrálásával CIP-et tartalmazó **új formulálású** DPI mikrokompozit kifejlesztése és fizikai / *in vitro* tüdődepozíciós / *in silico* tüdőszimulációs vizsgálatok, illetve rövid távú stabilitásvizsgálat végrehajtása. Továbbá a fentebb említett DPI minta végleges gyógyszerformájának kifejlesztése, amely magában foglalja a különböző DPI kapszulatípusokban történő tesztelést és egy hosszabb, 6 hónapos stabilitási vizsgálatot az ICH (The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use – Nemzetközi Harmonizációs Konferencia) iránymutatása szerint.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Anyagok

3.1.1. Hatóanyag

Ciprofloxacín-hidroklorid (CIP) – második generációs fluorokinolon antibiotikum – került alkalmazásra a TEVA Gyógyszergyár Zrt. (Debrecen, Magyarország) jóvoltából.

3.1.2. Segédanyagok

Hordozóként α -laktóz-monohidrát, Inhalac[®] 70 (IH 70) (Meggler Group GmbH., Wasserburg am Inn, Németország) került alkalmazásra. Magnézium-sztearát (MgSt) (Sigma Aldrich, Budapest, Magyarország) az IH 70 felületének kezelésére volt használva. A nátrium-sztearát (NaSt) (Alfa Aesar, Heysham, Egyesült Királyság) ko-porlasztva szárítási eljárás során volt segédanyagként alkalmazva. A 96%-os etanol (EtOH, AppliChem GmbH, Darmstadt, Németország) – oldószer – az előállított mikrokompozitok fizikai tulajdonságainak módosítására került alkalmazásra.

3.2. Módszerek

3.2.1. Minták előállítása

Az alábbiakban ismertetésre kerül, hogyan lettek előállítva a tradicionális hordozó alapú, hordozómentes és új formulálású DPI-minták. Tekintettel arra, hogy a hordozómentes minták számos esetben a hordozóalapú készítmények összetevői is, az előállításuk előbb kerül ismertetésre.

3.2.1.1 Hordozómentes kompozitok előállítása

A hordozómentes DPI mintákat CIP vizes oldataiból állítottuk elő (1. táblázat). A CIP koncentrációja a törzsoldatokban minden esetben 0,015 g/mL volt. Az egyik mintában a törzsoldat nem tartalmazott EtOH-t, a többi esetben EtOH-t használtunk folyékony segédanyagként különböző koncentrációban (5%, 10%, 20% és 30%) desztillált víz mellett, az alkalmazott hőmérséklet pedig 65 °C volt. A NaSt-ot tartalmazó mintákat szintén a fentiekben leírtakkal megegyező mennyiségű hatóanyaggal alkalmaztuk, amelyet először desztillált vízben oldottunk. Ezzel párhuzamosan a megfelelő mennyiségű NaSt-ot EtOH-ban oldottuk. Ezután a két fenti oldatot 7:3 arányban elegyítettük (a NaSt-tartalmú minták esetében a törzsoldatban minden esetben 30%-os EtOH-koncentrációt alkalmaztunk). A (ko-)porlasztva szárítási eljárást Büchi B-191 (Mini Spray Dryer, Büchi, Svájc) berendezéssel végeztük, az alkalmazott paraméterek a következők voltak: bemeneti fűtési hőmérséklet 130 °C, kimeneti hőmérséklet kb. 80 °C, szárítólevegő áramlási sebessége 75%, mintaadagoló szivattyú sebessége 5% és a sűrített levegő áramlási sebessége 600 L/h.

1. táblázat CIP-tartalmú hordozómentes DPI fejlesztéshez készült minták.

Minták	CIP (g)	NaSt (g)	EtOH (g)	H ₂ O (g)
CIP _{spd} EtOH ⁰	3,0	-	-	ad 200
CIP _{spd} EtOH ⁵	3,0	-	10,0	ad 200
CIP _{spd} EtOH ¹⁰	3,0	-	20,0	ad 200
CIP _{spd} EtOH ²⁰	3,0	-	40,0	ad 200
CIP _{spd} EtOH ³⁰	3,0	-	60,0	ad 200
CIP _{spd} EtOH ³⁰ NaSt ^{0,5}	3,0	0,0151	60,0	ad 200
CIP _{spd} EtOH ³⁰ NaSt ^{1,0}	3,0	0,0303	60,0	ad 200
CIP _{spd} EtOH ³⁰ NaSt ^{2,0}	3,0	0,0606	60,0	ad 200

3.2.1.2. Hordozó alapú formulációk előállítása

A kiindulási CIP (D [0,5]: 10,51 µm) szemcseméretét szitálással csökkentettük (fonalközi távolság: 25 µm), hogy a tradicionális hordozó alapú formulációk előállítását referenciaként lehetővé tegyük az alkalmazott hatóanyag részecskéknek az inhalációs terápia szempontjából releváns mérettartományba történő csökkentésével. A hordozó alapú DPI formulációkat CIP_{szitált} vagy CIP_{spd} részecskék és hordozó/felületmódosított hordozó felhasználásával állítottuk elő, 1:10 tömegarányban keverve Turbula keveréssel (T2F Turbula System Schatz; Willy A. Bachofen AG Maschinenfabrik, Bazel, Svájc), 30 perces keverési idővel 60 rpm-en. A hordozó (IH70) felületmódosítását a végső formulációkhoz viszonyított 2,0 m/m% MgSt alkalmazásával – 2. táblázat – 4 órás Turbula-keverés mellett végeztük. Így az MgSt vékony filmréteget képezhet az IH felületén, amely módosíthatja annak felületi sajátságait.

2. táblázat CIP-tartalmú hordozó alapú DPI-fejlesztéshez készült minták.

Minták	CIP _{sztált} (w/w %)	CIP _{spdEtOH} ¹⁰ (w/w %)	CIP _{spdEtOH} ³⁰ NaSt ^{0,5} (w/w %)	IH 70 (w/w %)	MgSt (w/w %)
CIP _{sztált} +IH70	9,09	-	-	90,91	-
CIP _{sztált} +IH70_MgSt	9,09	-	-	88,91	2,00
CIP _{spdEtOH} ¹⁰ +IH70	-	9,09	-	90,91	-
CIP _{spdEtOH} ¹⁰ +IH70_MgSt	-	9,09	-	88,91	2,00
CIP _{spdEtOH} ³⁰ NaSt ^{0,5} +IH70_MgSt (új formulálású DPI)	-	-	9,09	88,91	2,00

3.2.2. A keverés egységességének és a valós hatóanyag-tartalomnak a meghatározása

A valós hatóanyag tartalmat minden DPI mikrokompozit esetében vizsgáltuk. Ezeket desztillált vízben feloldottuk, és a CIP tartalmat UV/VIS spektrofotométerrel (ATIUNICAM UV/VIS spektrofotométer, Cambridge, Egyesült Királyság) 276 nm-es hullámhosszon határoztuk meg. A CIP linearitását ebben a közegben a fent említett hullámhosszon előzetesen meghatároztuk. A kalibrációs görbe linearitása $y = 0,0736x$ volt. A meredekség mértékegysége mL/μg.

3.2.3. Stabilitás vizsgálatok

A stabilitási vizsgálatok elvégzéséhez Binder KBF 240 készüléket (Binder GmbH, Tuttlingen, Németország) alkalmaztunk, amely állandó körülményeket biztosít a minták tárolása során. Egy elektronikusan működtetett APT.line™ előmelegítő kamra és hűtőrendszer biztosította a hőmérséklet pontosságát és az eredmények megismételhetőségét 10 és 70 °C közötti hőmérséklet (T) tartományban és 10 és 80 % közötti relatív páratartalom (RH – relative humidity) tartományban. Kétféle stabilitási vizsgálatot végeztünk (3. táblázat).

3. táblázat A stabilitási vizsgálatok részletei.

Stabilitási vizsgálat körülményei	Stabilitási vizsgálat időtartama	Vizsgált formulációk	Alkalmazott DPI kapszula típusok
T: 25 ± 2 °C RH: 50 ± 5%	1 hónap (rövid távú)	CIP _{sztált} +IH70 CIP _{spdEtOH} ³⁰ NaSt ^{0,5} CIP _{spdEtOH} ³⁰ NaSt ^{0,5} +IH70_MgSt	GEL
T: 40 ± 2 °C RH: 75 ± 5 %	6 hónap (hosszú távú)	CIP _{spdEtOH} ³⁰ NaSt ^{0,5} CIP _{spdEtOH} ³⁰ NaSt ^{0,5} +IH70_MgSt	GEL, GEL-PEG, HPMC

3.2.4. Fénymikroszkópos jellemzés

A kapszulák lyukasztásával keletkezett lyukak alakját és területét Leica képanalizátorral (Leica Q500MC, LEICA Cambridge Ltd., Cambridge, Egyesült Királyság) 4x-es nagyításban rögzítettük. Kapszulatípusonként tíz ismétlést végeztünk.

3.2.5. Termogravimetriás mérések

A Mettler Toledo STARe (Mettler Inc., Schwerzenbach, Svájc) készülékkel a DPI kapszulatípusok és DPI formulációk RSC (Residual Solvent Content – maradék oldószertartalom) értékét határoztuk meg. A termogravimetriás vizsgálatok vonatkozásában kapszulánként 3-5 mg mintát mértünk 40 µl-es alumíniumtégelyekbe, és a minták tömegváltozásának hőmérsékletfüggését figyeltük meg 25-350 °C között, 10 °C/perc fűtési sebességgel, nitrogén gázáramlás mellett. A tömegveszteség 110 °C-ig a mintából távozó víz miatt következett be.

3.2.6. Porröntgen diffrakciós analízis (X-ray powder diffraction – XRPD)

A minták szerkezetmeghatározását BRUKER D8 Advance porröntgen-diffraktométerrel (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Németország) végeztük. Cu K λI sugárzás ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) volt a sugárforrás. A vizsgált szilárd állapotú mintákat 40 kV és 40 mA mellett, 3°-40° 2-Theta szögterületben, 0,1 s/lépés lépésidővel és 0,01°-os lépésmérettel monitoroztuk. Az eredmények értékeléséhez a DIFFRACT plus EVA szoftver (Bruker, Brüsszel, Belgium) volt alkalmazva.

3.2.7. Részecskeméret-eloszlás

A minták szemcseméret-eloszlásának meghatározására lézerdiffrakciós eljárással végeztük (Malvern Mastersizer Scirocco 2000, Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Egyesült Királyság). A diszperziós levegő nyomása 2,0 bar volt. Mintánként három mérést hajtottunk végre ismétlésképpen. A szemcseméret-eloszlást a D [0,1], D [0,5] és D [0,9] értékekkel jellemeztük.

3.2.8. Morfológia meghatározása pásztázó elektronmikroszkóppal (SEM)

A kiindulási anyagok/formulációk alakját, felületi jellemzőit és becsült méretét SEM-mel vizsgáltuk (Scanning Electron Eicroscope – Hitachi S4700, Hitachi Scientific Ltd., Tokió, Japán). Az alkalmazott légnyomás tartománya 1,3-13,0 MPa volt. A mintákat argon atmoszférában arany-palládium bevonattal (90 s) vontuk be.

3.2.9. Topológia atomerő-mikroszkópos (AFM) vizsgálattal, és a kifejezett értékek

A képalkotást FLeXAFM atomerő-mikroszkóppal végeztük, amelyet C3000 vezérlőszoftver támogatott (Nanosurf AG, Liestal, Svájc). A dinamikus erőmérési mód kiterjesztése érdekében 300 kHz névleges rezonanciafrekvenciájú, bevonat nélküli TAP-300-AI-G konzolokat (BudgetSensors, Szófia, Bulgária) alkalmaztunk fáziskontrasztos módban. Az adatokat a Gwyddion 2.55 szoftverrel (Cseh Metrológiai Intézet, Brno, Csehország) dolgoztuk fel és elemeztük. A négyzetes középértékeség (Root means square roughness – R_{RMS}) 1. egyenlet szerint a Gwyddion szoftver alkalmazásával lett meghatározva. Minden minta esetében legalább öt részecske és egyenként 0,5 µm x 0,5 µm-es terület lett vizsgálva legalább három különböző helyen.

$$R_{RMS} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i^2} \quad (1)$$

Ebben az egyenletben 'n' a topográfiai profil adatpontjainak száma, 'y_i' pedig az egyenetlenségek (i) távolsága a középvonaltól. A részecskeméretre vonatkozó érdesség (%) értékét az átlagos R_{RMS} (R_{RMS} (átlag)) és az átlagos átmérő (d) – 10 különböző irányultságú átmérő átlaga – alapján kaptuk meg egy adott részecske esetében a következő egyenlet segítségével:

$$\text{Érdesség \%} = \frac{R_{RMS}(\text{átlag})}{d} \times 100 \quad (2)$$

fent említett szoftver lehetővé teszi továbbá, hogy csak a szemcsék felületének egyes mélyedéseit/gödröcskéit mérjük. Minden egyes szemcse esetében legalább három gödröcskét vettünk alapul az átlagértékek megállapításához (a gödröcskék mélysége és szélessége (átlag)). Ezen értékek meghatározásával, valamint a részecske – fentebb tárgyaltak szerint meghatározott – d értékének ismeretében kiszámítottuk a gödröcskék mélységét és szélességét a részecskemérethez viszonyítva (3. és 4. egyenlet). Minden egyes mintánál legalább öt szemcsén végeztünk elemzést.

$$\text{Gödröcskék mélysége \%} = \frac{\text{Gödröcskék mélysége}(\text{átlag})}{d} \times 100 \quad (3)$$

$$\text{Gödröcskék szélessége \%} = \frac{\text{Gödröcskék szélessége}(\text{átlag})}{d} \times 100 \quad (4)$$

3.2.10. A részecskék közötti kölcsönhatások vizsgálata

A minták összetevői közötti interpartikuláris kölcsönhatások vizsgálatához pasztillák lettek előállítva 100 mg anyagból, 1 tonna préserővel (Perkin Elmer hidraulikus prés, Waltham, USA). A nedvesedési peremszöget (Θ) Dataphysics OCA 20 műszerrel (Dataphysics Inc. GmbH, Németország) állapítottuk meg. Mintánként három pasztillát poláros folyadékkal (desztillált víz), másik három pasztillát pedig diszperziós folyadékkal (dijódmetán) cseppentettünk. A cseppentéssel megegyező időben a készülék segítségével másodpercenként felvételt készítettünk 1-25 másodperces időintervallumban. A két különböző folyadék vonatkozásában mindig ugyanazon másodperchez viszonyítva határoztuk meg a nedvesedési peremszöget. A komponensek felületi szabadenergiáját (γ_s), amely két részből tevődik össze: egy diszperziós (γ_s^d) és egy poláris részből (γ_s^p), azaz (γ_s = γ_s^d + γ_s^p), a Wu-féle képlet segítségével számoltuk ki. A kohéziós munka (W_c) a felületi szabadenergia kétszeresének felel meg. Az adhéziós munka (W_{adh}) két különböző anyag között állapítható meg (1 és 2 számmal jelölve), anyagra jellemző diszperziós (γ_s^d), illetve poláris komponens (γ_s^p) értékekből határozható meg, amelyek jelen képlet esetén γ^d-nek, illetve γ^p-nek felelnek meg. A W_{adh} a következőképpen számítható ki:

$$W_{adh} = 4 \left[\frac{\gamma_1^d \gamma_2^d}{\gamma_1^d + \gamma_2^d} + \frac{\gamma_1^p \gamma_2^p}{\gamma_1^p + \gamma_2^p} \right] \quad (5)$$

Az adhéziós erő (F_{adh}) meghatározására a Derjaguin-féle megközelítést alkalmaztuk:

$$F_{adh} = 2\pi \left(\frac{R_A R_B}{R_A + R_B} \right) W_{adh} \quad (6)$$

ahol R_A és R_B az A és B részecske sugara, amelyek közötti adhéziós kölcsönhatást vizsgáljuk.

A szétterületi együttható (S_{12}) – dimenzió nélküli szám – megmutatja, hogy az egyik anyag (1) mekkora valószínűséggel kerül szét a másik anyag (2) felületén. Kétkomponensű rendszerek vonatkozásában az eloszlás jellemzésére szolgál. A szétterület akkor kedvező, amennyiben pozitív értékű az együttható, illetve minél nagyobb ez a szám, annál kedvezőbb szétterületet jelez. Jelen esetben a hatóanyag szemcsék szétterületét vizsgáljuk hordozó vagy felületmódosított hordozó felületén.

3.2.11. *In vitro* aerodinamikai vizsgálat

Andersen-féle kaszkádimpaktor (Copley Scientific Ltd., Nottingham, Egyesült Királyság) *in vitro* vizsgálati eszközként szolgált a formulációk aerodinamikai részecskeméret-eloszlásának jellemzésére. Az impaktor lemezei Span[®] 80 és ciklohexán (1:99) elegyével lett bevonva, majd hagytuk megszáradni. A mérésekhez alkalmazott áramlási sebesség ($28,3 \pm 1$ L/min vagy 60 ± 1 L/min) vákuumpumpával lett beállítva (High-capacity Pump Model HCP5, Critical Flow Controller Model TPK, Copley Scientific Ltd., Nottingham, Egyesült Királyság), tömegáramlás-mérővel lett ellenőrizve (Flow Meter Model DFM 2000, Copley Scientific Ltd., Nottingham, Egyesült Királyság). Az *in vitro* vizsgálatban egy vizsgált mintából három kapszulát alkalmaztunk egyetlen mérés során, a Breezhaler[®] (Novartis, Bazel, Svájc) inhalátor felhasználásával. Minden egyes kapszula esetében a belégzési időt az áramlási sebességhez ($28,3$ L/min vagy 60 L/min) viszonyítva állítottuk be, így a belélegzett térfogat mindig 4 L volt.

Minden egyes *in vitro* vizsgálat után az inhalátort, az alkalmazott DPI-kapszulákat és az impaktor részeit desztillált vízzel öblítettük. A lerakódott hatóanyag mennyiségét UV/VIS spektrofotométerrel (ATI-UNICAM UV/VIS spektrofotométer, Cambridge, Egyesült Királyság) detektáltuk 276 nm hullámhosszon. A fenti adatokból kiszámíthatók a minták *in vitro* aerodinamikai viselkedését leíró kifejezések: emittált frakció (EF), finom részecske frakció (FPF) és részecskék valós-, belégzés során kialakuló átlagos aerodinamikai átmérője (MMAD – mass median aerodynamic diameter).

3.2.12. *In silico* vizsgálat

Az inhalált hatóanyag légutakban történő lerakódásának számszerűsítését a sztochasztikus tüdőmodell segítségével végeztük el. Ebben a tanulmányban a modell legújabb verzióját használtuk, amelyet orvosi aeroszoloakra validáltak. A betegek légzési adatai és a vizsgált formulációk aerodinamikai részecskeméret eloszlásának eredményei voltak a lerakódási modell kulcsfontosságú bevitt értékei.

3.2.13. Statisztikai analízis

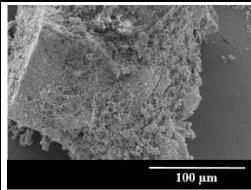
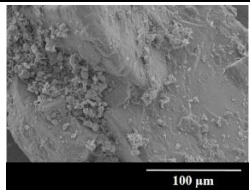
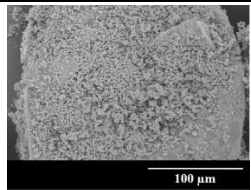
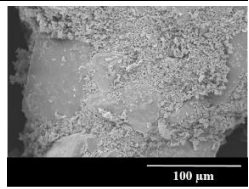

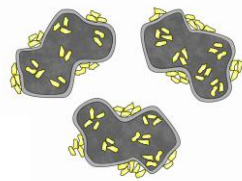


A statisztikai elemzést t-próba számításokkal végeztük, 0,05-ös szignifikanciaszinten és egyszempontos varianciaanalízissel, az online elérhető Social Science Statistics segítségével. Minden közölt adat három megismételt teszt \pm szórása ($n = 3$).

4. EREDMÉNYEK

4.1. CIP-tartalmú, tradicionális hordozó alapú DPI minták fejlesztése

Eddig még tudomásunk szerint nem közölt innovatív formulálású, kiemelekedő *in vitro* aerodinamikai (FPF) eredményű mintát sikerült előállítani, amely már MgSt-tal felületkezelt (mechanikus száraz bevonatú) hordozót tartalmaz és porlasztva szárított hatóanyagot a felületén (CIP_{spd}EtOH¹⁰+IH70_MgSt). Ez a disszertációban ismertetett fejlesztési vonal kiinduló fejlesztése, amely a két rendszer kombinációjának kezdőpontjának tekinthető esetünkben, amely még a tradicionális hordozó alapú rendszerek fejlesztéséhez tartozik. Sőt interpartikulális kölcsönhatások vizsgálata révén (4. táblázat) összefüggést találtunk az interaktív fizikai keverékek fizikai tulajdonságai és *in vitro* tüdődepozíciós eredményei között.

4. táblázat A hordozó alapú DPI minták SEM felvétele és részecskék közötti kölcsönhatások.

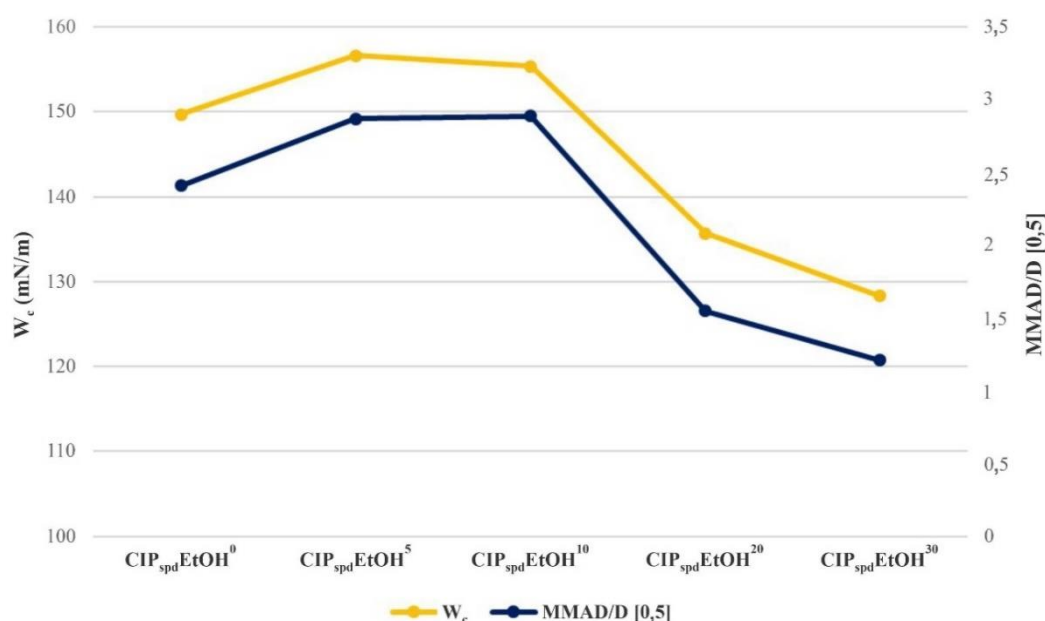
Hordozó alapú minták	CIP _{sztált} +IH70	CIP _{sztált} +IH70_MgSt	CIP _{spd} EtOH ¹⁰ +IH70	CIP _{spd} EtOH ¹⁰ +IH70_MgSt
SEM				
Sematikus képek				
W _{adh} (mN/m)	108,26	78,27	98,72	73,23
F _{adh} (mN)	1,690*10 ⁻³	1,216*10 ⁻³	0,596*10 ⁻³	0,440*10 ⁻³
S ₂₁	1,64	-45,59	16,67	-18,36

Meloxicám-kálium (MXK) esetében is ez a fejlesztés hasonlóképpen kivitelezésre került (az előállítás során csak a hatóanyag változott, az előállítási és vizsgálati módok megegyeztek), amely esetében a minták *in vitro* aerodinamikai eredményei ugyanezt a tendenciát mutatták.

4.2. CIP-tartalmú, hordozómentes DPI formulációk fejlesztése

4.2.1. EtOH koncentráció optimalizálása a törzsoldatban

A munkában új számítási lehetőségként fejezzük ki a részecskeméretre vonatkoztatott érdességet, gödröcskék mélységét és szélességét, valamint az MMAD/D [0,5] arány kohéziós munkával (W_c) való korrelációját (1. ábra). Ezeket az új kifejezéseket és összefüggéseket – legjobb tudásunk szerint – korábban nem publikálták, amely hiánypótló megállapításokat eredményezett.



1. ábra A W_c és az MMAD/D [0,5] értékek tendenciái közötti összefüggés.

Ennek eredményeképpen az oldószerkegyek különböző arányai új perspektívába helyezhetők, mivel a különböző EtOH koncentrációk befolyással vannak a DPI formulációk habitusára és ezáltal az *in vitro* aerodinamikai teljesítményére. Ezek alapján igazoltá vált, hogy miért a kiindulási oldatban 30% EtOH-t tartalmazó vizsgált DPI-formuláció (CIP_{spd}EtOH³⁰) esetében kaptuk a legjobb FPF eredményt (5. táblázat).

5. táblázat A formulációk *in vitro* aerodinamikai sajátságai 28,3 L/min áramlási sebességgel mérve.

Minták	FPF (%)	MMAD (μm)	EF (%)
CIP _{spd} EtOH ⁰	23,58 ± 0,73	7,62 ± 0,13	86,26 ± 0,44
CIP _{spd} EtOH ⁵	11,96 ± 0,16	12,03 ± 0,08	89,57 ± 0,31
CIP _{spd} EtOH ¹⁰	13,05 ± 0,25	10,18 ± 0,16	78,13 ± 0,83
CIP _{spd} EtOH ²⁰	28,51 ± 0,43	5,83 ± 0,03	75,80 ± 0,65
CIP _{spd} EtOH ³⁰	34,39 ± 0,54	5,21 ± 0,11	87,12 ± 0,39

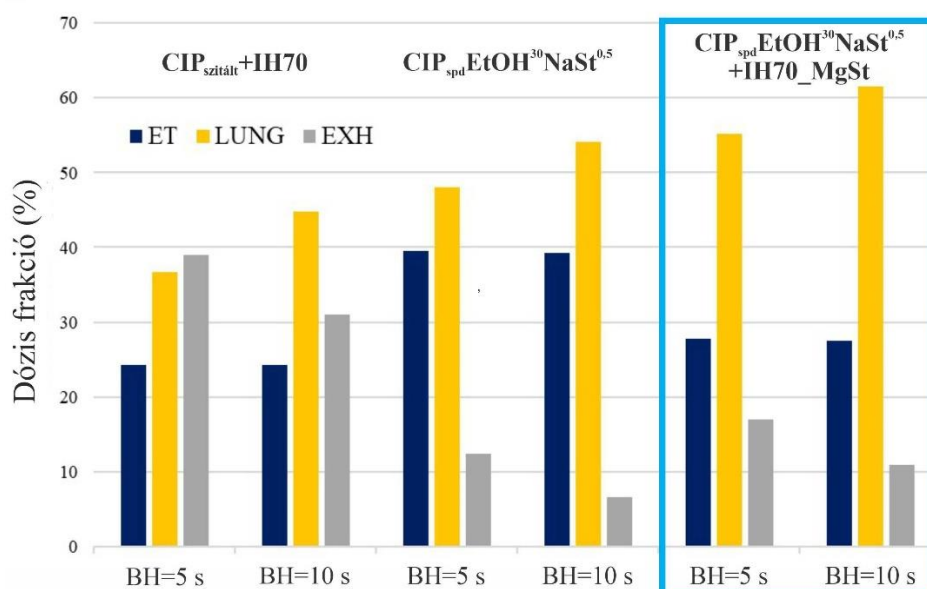
4.2.2 A NaSt koncentráció optimalizálása

A NaSt alkalmazása DPI-ok ko-porlasztva szárításos előállítás során befolyásolja a szemcsék méretét, alakját, ezáltal pozitív hatással van az *in vitro* aerodinamikai eredményekre. Ezt két hatóanyag (CIP és MXK) esetében is alátámasztást nyert, azonban a hatóanyagtól is függ, hogy milyen NaSt koncentráció alkalmazása eredményezi a legjobb *in vitro* aerodinamikai eredményt. A CIP esetében 0,5% NaSt (CIP_{spd}EtOH³⁰NaSt^{0,5} minta) alkalmazása optimális a vizsgálataink alapján.

4.3. Az új formulálású DPI mikrokompozit pulmonális adagolási formájának kifejlesztése

4.3.1. Az új formulálású DPI formuláció összehasonlítása a tradicionális hordozó alapú és a fejlesztett hordozómentes DPI mintákkal

A tradicionális hordozó alapú és a hordozómentes DPI-ok előnyös sajátosságait ötvözve az új formulálású DPI (CIP_{spd}EtOH³⁰NaSt^{0,5}+IH70_MgSt) sikeres fejlesztésnek bizonyult, mivel a kohéziós-adhéziós egyensúly a hatóanyag szemcse fejlesztésével és segédanyagok alkalmazásával volt elérhető, emiatt a legjobb *in vitro* aerodinamikai eredménnyel rendelkezik a fejlesztéseink közül, amelyet az *in silico* szimuláció is alátámasztott (2. ábra). Ráadásul ez a formuláció egy új/harmadik kategóriát képviselhet a DPI-k vonatkozásában a hagyományos hordozó alapú és hordozómentes formulációk mellett, amely újdonság a szakirodalomban. Az *in silico* modellezés pedig azt mutatta, hogy a beteg megfelelő inhalációs technikával tovább javíthatja a tüdődepozíciós eredményeket.

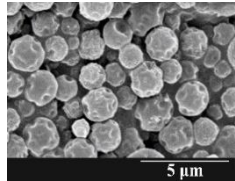
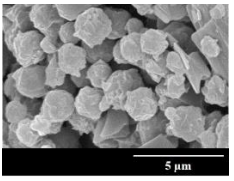
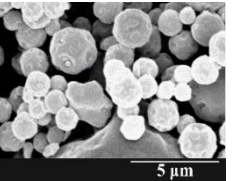
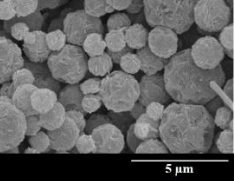


2. ábra A három formulálási módszer összehasonlítása *in silico* szimulációval, különböző légzés visszatartási idők (BH: breath-hold time) alkalmazásával (ET: extrathoracalis légutak, LUNG: hörgő és acináris részek, EXH: kilégzési frakció – exhalation fraction).

4.3.2. Az új formulálású DPI minta rövid távú stabilitási eredményei

Korábban ismertetett három minta, azaz egy tradicionális hordozó alapú ($CIP_{\text{szitált}}+IH70$), a legjobb tüdődepozíciós eredményű hordozómentes ($CIP_{\text{spd}}EtOH^{30}NaSt^{0,5}$) és az új formulálású DPI ($CIP_{\text{spd}}EtOH^{30}NaSt^{0,5}+IH70_MgSt$) minták esetében rövid távú stabilitási vizsgálat lett kivitelezve szobahőmérsékleten, a 3.2.3-as pontban részletezett körülmények mellett. A tárolást követően az új formulálású DPI rendelkezett a legelőnyösebb MMAD és a legjobb FPF eredményekkel 1 hónap után (6. táblázat). A részecskék közötti kölcsönhatások tekintetében megállapítható, hogy a $CIP_{\text{sieved}}+IH70$ W_{adh} -ja a stabilitási vizsgálat során nagy maradt, míg a $CIP_{\text{spd}}EtOH^{30}NaSt^{0,5}$ esetében a W_c jelentősen megnőtt, ami arra utal, hogy ez utóbbi formuláció könnyebben aggregálódik (SEM felvételek is alátámasztják, látható az átkristályosodás). Az eredmények alapján a $CIP_{\text{spd}}EtOH^{30}NaSt^{0,5}+IH70_MgSt$ jobb stabilitással rendelkezik, mint a hordozómentes formuláció (pedig az alkalmazott hatóanyag szemcsék előállítása azonos volt), tehát a MgSt-vel felületkezelt hordozó alkalmazása nem csak a tüdődepozíciós eredményeket, hanem a stabilitást is javította a $CIP_{\text{spd}}EtOH^{30}NaSt^{0,5}$ mintához képest.

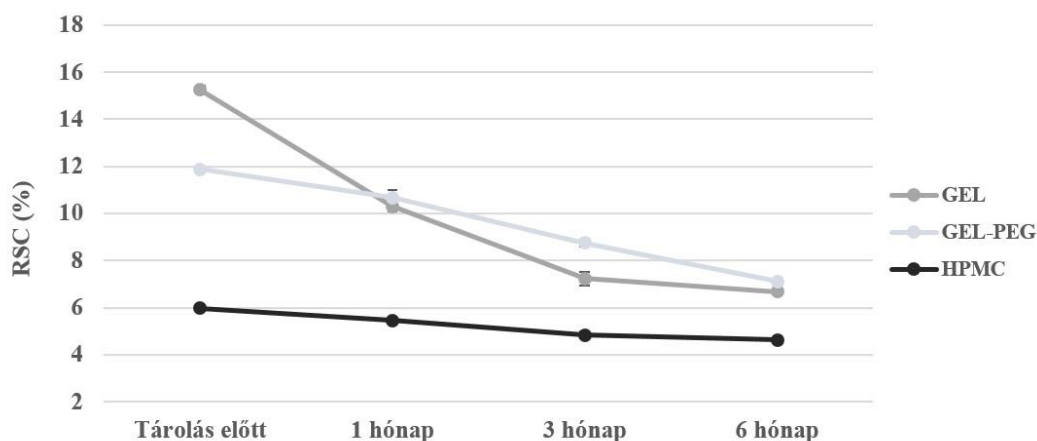
6. táblázat SEM felvételek és *in vitro* aerodinamikai eredmények 28,3 L/perc áramlási sebesség mellett a hordozómentes ($CIP_{\text{spd}}EtOH^{30}NaSt^{0,5}$) és az új formulálású ($CIP_{\text{spd}}EtOH^{30}NaSt^{0,5}+IH70_MgSt$) DPI-formulációk esetében a tárolás előtt és az 1 hónapos rövid távú stabilitási vizsgálat után.

	$CIP_{\text{spd}}EtOH^{30}NaSt^{0,5}$		$CIP_{\text{spd}}EtOH^{30}NaSt^{0,5}+IH70_MgSt$	
	Tárolás előtt	1 hónap	Tárolás előtt	1 hónap
SEM				
FPF (%)	54,27 ± 2,75	30,22 ± 1,82	63,75 ± 1,21	47,12 ± 0,78
MMAD (µm)	4,14 ± 0,18	6,54 ± 0,05	3,47 ± 0,02	5,47 ± 0,35
EF (%)	76,99 ± 3,32	92,32 ± 0,19	90,45 ± 1,80	89,46 ± 1,12

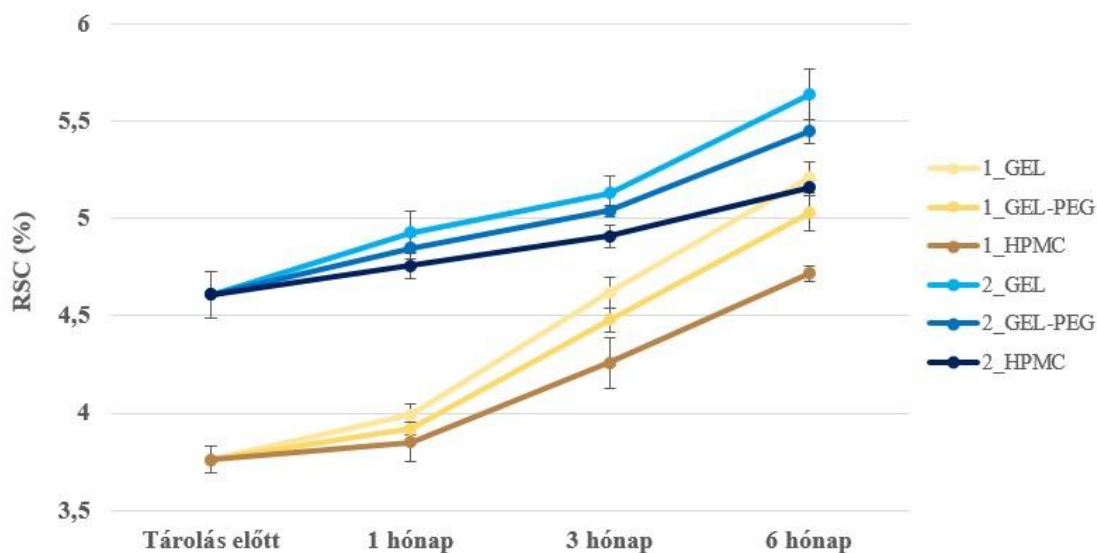
Az *in silico* tüdő modellezés eredménye korrelációt mutatott az új formulálású DPI *in vitro* aerodinamikai eredményeivel. Hangsúlyozni kell, hogy ennek a mintának az ET dózis frakciós értéke még egy hónap elteltével is 30% alatti volt, amíg a másik két minta frissen előállítottan is rosszabb eredményeket mutatott. Összefoglalva megállapítható, hogy az új formulálású DPI kedvező sajátságainak köszönhetően még egy hónapos tárolás után is jobb *in vitro-in silico* aerodinamikai eredményeket mutatott, mint a tradicionális hordozó alapú $CIP_{\text{szitált}}+IH70$ és a hordozómentes $CIP_{\text{spd}}EtOH^{30}NaSt^{0,5}$ formulációk.

4.3.3. Az új formulálású DPI minta hosszú távú stabilitási eredményei különböző kapszulatípusokban

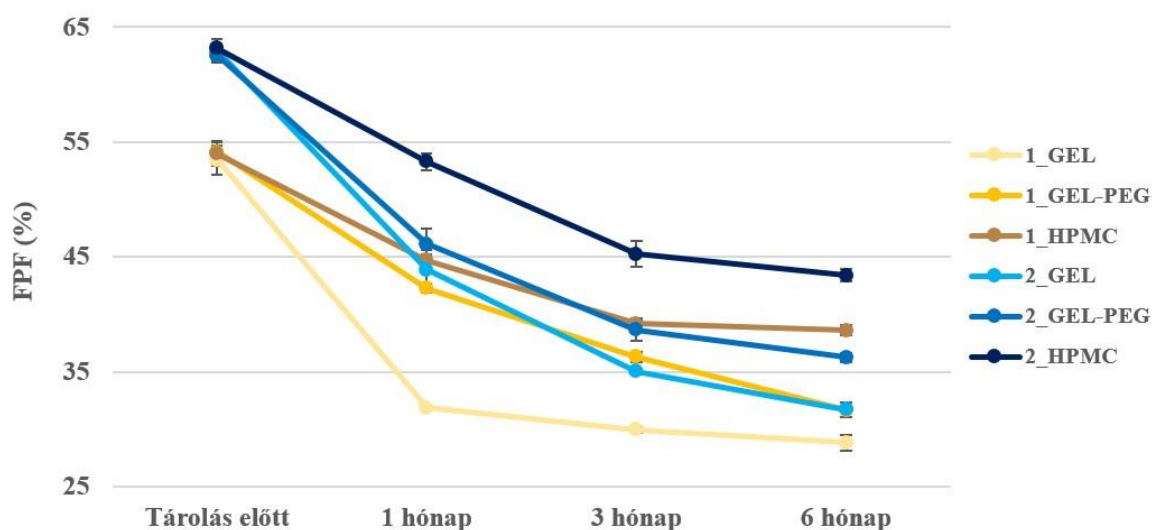
A 4.3.2. pontban ismertetett stabilitási vizsgálat folytatásaként, egyben a gyógyszerforma fejlesztés utolsó pontjaként $CIP_{spd}EtOH^{30}NaSt^{0,5}$ és $CIP_{spd}EtOH^{30}NaSt^{0,5}+IH70_MgSt$ (további mintajelöléseknél: 1 és 2) formulációk esetében az ICH-irányelvnek megfelelően 40 ± 2 °C-on, 75 ± 5 % RH mellett 6 hónapos stabilitási vizsgálat lett elvégezve. Sőt minden formuláció vonatkozásában GEL, GEL-PEG, HPMC DPI kapszulákban is, hogy elemzésre kerüljön, a DPI kapszulatípusok hogyan hatnak a formulációk stabilitására. Az alkalmazott DPI kapszulák stabilitását külön vizsgáltuk a fentebb említett körülmények között.



3. ábra A kapszulafalak RSC értékei a hosszú távú stabilitás vizsgálat során.



4. ábra Az (1) és (2) formuláció RSC értékei a hosszú távú stabilitás vizsgálat során, különböző DPI kapszulatípusokban tárolva.



5. ábra Az (1) és a (2) készítmény FPF-eredményei 28,3 L/min áramlási sebesség mellett a hosszú távú stabilitás vizsgálat során, különböző DPI kapszulatípusokban tárolva.

A végső adagolási forma fejlesztésének fontosságát a DPI kapszulák típusainak a formulációk stabilitására és aerodinamikai tulajdonságaira gyakorolt hatásának vizsgálatával igazoltuk. Ugyanaz a kompozit eltérő stabilitással és így aerodinamikai sajátságokkal rendelkezik a különböző DPI kapszula típusokban. A DPI kapszulák RSC (3. ábra) és fénymikroszkópos eredményei alátámasztották azt az állítást, hogy a GEL és a GEL-PEG típusú kapszulák akkor kezdenek el törni, amikor az RSC értéke az optimális tartomány alá csökken. A töredezésük miatt a keletkező lyukak szabálytalan alakúak és nagyok lettek, viszont a részecskék dezaggregációja kevésbé volt hatékony, ami viszont csökkentette az FPF-értékeket. A HPMC kapszulák azonban megtartották rugalmasságukat és 6 hónap elteltével, a kapszulafal darabjai nem törtek le a lyukasztás során, a lyukak szabályos alakúak maradtak. Az RSC- és XRPD-elemzés és a SEM-felvételek is megerősítették, hogy a GEL és GEL-PEG kapszulákban tárolt DPI porok részecskéi szabálytalan alakúvá váltak az átkristályosodás miatt (feltételezzük, hogy a nedvesség átkerült a DPI porokba – 4. ábra –). A habitus változás legkevésbé a HPMC kapszulákban tárolt kompozitoknál figyeltük meg, ezért az FPF-értékek kisebb mértékben csökkentek (5. ábra). Összességében a kezdeti, majdnem azonos FPF értékek 6 hónap elteltével a HPMC kapszulák esetében voltak a legkedvezőbbek mindkét vizsgált DPI formuláció esetében. Az új formulálású DPI eredményei a stabilitási vizsgálat után kedvezőbbek voltak, mint a hordozómentes kompozit az összes DPI-kapszulatípus esetében. Érdekes lehet a DPI-formulációk különböző kapszulákban történő vizsgálatára összpontosítani a tüdőgyógyászati - DPI fejlesztések során, mivel ugyanazon formulációk eltérő stabilitási és ezáltal aerodinamikai tulajdonsággal rendelkeznek a különböző DPI-kapszulatípusokban.

Napjainkban a DPI-kapszulák szerepének tanulmányozására nagy hangsúlyt helyeznek nemzetközi szinten is. Ez a munka rávilágított a téma fontosságára, ami már más kutatócsoportokat is ösztönzött a terület kutatására és publikálására. Az ismertetett CIP-et tartalmazó, új formulálású DPI a leírtak szerint új lehetőséget jelenthet a tüdőbetegségek terápiájában (CF és krónikus bronchitis esetén a közvetlen és közvetett patofiziológiai folyamatok kezelésének vonatkozásában) a *per os* antibiotikum készítmények helyett.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Összegezve, a disszertáció célkitűzéseivel összhangban a következő megállapítások tehetők:

I. A szakirodalmi áttekintés során megállapítottuk, hogy a **CF és a krónikus bronchitis betegségek hasonló patofiziológiai folyamatot mutatnak, amelyet az antibiotikum-kezelés közvetlenül és közvetve is enyhíthet/lassíthat. A pulmonális hatóanyagbevitel** lehetőséget biztosít arra, hogy a bevitt antibiotikum lokálisan hasson a tüdőbetegségben, ezáltal **kisebb dózis szükséges és gyorsabb hatást érhetünk el az orális gyógyszeradagoláshoz képest.** Számottevő inhalációs antibiotikum tartalmú készítmény már elérhető a piacon, jellemzően nebulizátorok és DPI-k, de számos további inhalációs antibiotikum tartalmú DPI készítményt publikáltak a közelmúltban. **A pulmonális hatóanyagbevitel négy megvalósítási lehetősége közül a DPI-k fejlesztését tartjuk a legígéretesebbnek a sajátosságaik alapján,** és a következőkben erre fókuszáltunk. Az inhalációs (DPI) porok hatékonysága több tényezőtől függ:

- Egyrészt nagyon fontos a kiváló fizikai-kémiai és stabilitási tulajdonságokkal rendelkező **DPI formulációk** fejlesztése. Megállapítottuk, hogy mind a tradicionális hordozó alapú, mind a hordozómentes DPI formulációk fejlesztésében nagy lehetőségek rejlenek, de a két irányzat előnyös tulajdonságait ötvöző formulációkat korábban csak meglehetősen kezdetleges, tesztelési szinten publikálták.
- A második tényező az **inhalátorok** sajátosságai, beleértve azok vázkialakítását – a DPI készüléket – és az alkalmazott DPI kapszulákat, mivel a tüdőbetegségben szenvedők számára előnyös lehet egy kis ellenállású inhalátor a részecskék aeroszolizációja és dezaggregációja, valamint aerodinamikai tulajdonságai miatt, és a forgalomba hozott DPI kapszulák is eltérően befolyásolhatják a részecskék tulajdonságait, amit szintén vizsgálni szükséges.
- A harmadik befolyásoló tényező a **beteg compliance/adherencia**, és különösen az, hogy a beteg hogyan alkalmazza az inhalációs technikát.

Mindezen irodalmi háttérismeretek és a kutatócsoport korábbi tapasztalatai alapján a **ciprofloxacín-hidrokloridot (CIP), mint fluorokinolon antibiotikumot tartalmazó tradicionális, hordozó alapú és hordozómentes DPI kompozitok fejlesztésére került sor. Ezekből a fejlesztésekből a doktori munka újdonsága az új formulálású DPI előállítás volt.**

E formuláció vonatkozásában fizikai vizsgálatok, *in vitro* - *in silico* tesztelés, stabilitás vizsgálatok és gyógyszerforma fejlesztés lett végrehajtva a tradicionális hordozó alapú és hordozómentes formulációkkal összehasonlítva. A fejlesztés egyes szakaszaiban elért eredményeket a következő pontok részletezik.

II. **A tradicionális hordozó alapú DPI irányvonalat egy innovatív formulációval fejlesztettük, azaz porlasztva szárított (spd) CIP alkalmazása magnézium-sztearáttal (MgSt-tal) felületkezelt nagyméretű Inhalac® (IH) hordozó felületén (CIP_{spd}EtOH¹⁰+IH70_MgSt).** A fejlesztés jobb *in vitro* tüdődepozíciós eredményt produkált, mint a tradicionális hordozó alapú (a kereskedelmi forgalomba hozott legtöbb termékekkel azonos formulálási elv szerint előállított) vagy önmagukban a fentebb említett formuláció esetében felhasznált porlasztva szárított szemcsék. Ezt a fejlesztést a CIP és még egy másik hatóanyag (meloxicám kálium – MXK) *in vitro* aerodinamikai részecskeméret eloszlás vizsgálati eredményei is alátámasztották. Mindkét esetben a **részecskék közötti kölcsönhatások** korrelációt mutattak az interaktív fizikai keverékek fizikai tulajdonságai és az *in vitro* tüdődepozíciós eredmények között.

III. **A hordozómentes inhalációs porok fejlesztésének első lépéseként vizsgáltuk, hogy a CIP spd-hez használt kiindulási oldat oldószer-összetételének megváltoztatása,** konkrétan az EtOH koncentrációjának növelése (0-30%) a desztillált víz mellett hogyan befolyásolja az előállított minták habitusát és ezáltal az *in vitro* aerodinamikai eredményeket. **Az EtOH jelentős hatással van a minták habitusára** a víz és az EtOH eltérő párolgási sebessége miatt, elsősorban a morfológiai tulajdonságokra, ami jelentős befolyással bír a részecskék közötti kölcsönhatásokra és az *in vitro* aerodinamikai viselkedésre is. Megállapítottuk, hogy a **30%-os EtOH-koncentráció alkalmazása a kiindulási oldatban nyújtja a legjobb eredményeket (CIP_{spd}EtOH³⁰).** A szakirodalomban először használtuk a részecskeméretre vonatkoztatott érdesség, gödröcske mélység és gödröcske szélesség kifejezéseket az AFM mérésekkel kapcsolatban, illetve a W_c és MMAD/D [0,5] értékek trendjei közötti összefüggést is újdonságnak találtuk, ami újabb magyarázatot jelenthet a minták inhalációs viselkedésére.

A hordozómentes formulációk fejlesztésének következő lépéseként **különböző NaSt-koncentrációk (0-2 %) felhasználásával ko-porlasztva szárított CIP tartalmú mintákat állítottunk elő.** A minták előállítása során a porlasztva szárítás kiindulási oldataiban már 30%-os EtOH-t használtunk a korábban leírtak szerint desztillált víz mellett. A minták fizikai és *in vitro* aerodinamikai eredményei alapján a **0,5% NaSt-t tartalmazó ko-porlasztva szárított formuláció (CIP_{spd}EtOH³⁰NaSt^{0,5}) bizonyult a legjobbnak.**

IV. **A tradicionális hordozó alapú és hordozómentes fejlesztési eredmények (II-III. pont) kombinálásával egy új formulálású DPI kompozit (CIP_{spd}EtOH³⁰NaSt^{0,5}+IH70_MgSt) előállítása valósult meg,** amely így NaSt-tal ko-porlasztva szárított CIP szemcséket tartalmazott

(30%-os EtOH tartalommal a kiindulási vizes oldatban) nagyméretű IH hordozó felületén, amelyet MgSt-tal előzetesen felületkezeltünk. **Ez a kompozit egy új/harmadik kategóriát jelent a DPI-k előállításában a tradicionális hordozó alapú és hordozómentes formulációk mellett, amely újdonságnak számít a szakirodalomban.** Ez a formuláció mutatta a legjobb *in vitro* aerodinamikai karaktert a doktori értekezésben bemutatott minták közül, kiemelve, hogy mind a hordozó alapú, mind a hordozómentes fejlesztések figyelemre méltóak és önmagukban is sikeres fejlesztéseknek tekinthetők. ***In silico* vizsgálatokat végeztünk az új formulálású DPI mintán,** és arra a következtetésre jutottunk, hogy a beteg megfelelő inhalációs technikával (10 s légzés-visszatartási idő) tovább javíthatja a tüdődepozíció mértékét. Továbbá a **rövid távú, szobahőmérsékleten végzett stabilitás vizsgálat** azt mutatta, hogy 1 hónap elteltével ez a formuláció még mindig kedvező stabilitással és jobb tüdődepozíciós eredményekkel rendelkezik, mint a tradicionális hordozó alapú referencia minta (CIP_{sztat}+IH70) és a hordozómentes fejlesztés (CIP_{spd}EtOH³⁰NaSt^{0.5}).

V. **Az új formulálású DPI minta esetében 6 hónapos stabilitás vizsgálatot végeztünk az ICH-irányelvnek megfelelően, három különböző DPI-kapszulatípusban tesztelve,** így alakítva ki a készítmény végleges gyógyszerformáját. Az összehasonlítás érdekében ugyanazon vizsgálatokat végeztük a CIP_{spd}EtOH³⁰NaSt^{0.5} minta vonatkozásában is. Az új formulálású DPI minta 6 hónap elteltével is jobb tüdődepozíciós eredményeket mutatott, mint a hordozómentes mikrokompozit. Továbbá a HPMC DPI kapszula használata mindkét kompozit esetében a legjobb stabilitást biztosította.

A munka újdonság tartalma/gyakorlati jelentősége:

- Az irodalmi áttekintés rámutatott arra, hogy nagy lehetőségek rejlenek az **antibiotikumokat** tartalmazó inhalációs készítmények fejlesztésében, mivel ezek **közvetlen és közvetett módon is lassíthatják a CF és a krónikus bronchitis hasonló patofiziológiai lefolyását.** Előnyös sajátosságaik alapján a ciprofloxacín-hidroklorid (CIP) tartalmú száraz porinhalációs (DPI) rendszerek fejlesztését tűztük ki célul. A **DPI-okkal kapcsolatban világossá vált, hogy három pillért** (DPI formulációk, DPI eszközök és kapszulák, a beteg szerepe) **kell figyelembe venni a hatékonyság maximalizálása érdekében. Fejlesztésünk már a terápiás megközelítés felé halad.**
- A Ph.D. munka keretében egy innovatív hordozó alapú formuláció került kifejlesztésre, amely magnézium-sztearáttal (MgSt) Turbula-keverés során felületkezelt nagyméretű Inhalac® (IH) hordozó felületén porlasztva szárított (spd) CIP-t tartalmaz, amelynek fejlesztési jogosultsága más hatóanyag (meloxicám kálium – MXK) esetében is megerősítésre került. Ez a megoldás túlmutat a tradicionális hordozó alapú formulációkon, és meghaladja a porlasztva szárított hatóanyag tüdődepozíciós eredményét, így **alapként**

szolgál más hordozó alapú rendszerek kifejlesztéséhez. A munka rávilágít a hordozó-hatóanyag és az hatóanyag-hatóanyag részecskék közötti kölcsönhatások tanulmányozásának fontosságára is, mind a fejlesztés elősegítése, mind pedig az egyes formulációk inhaláció során tanúsított viselkedésének magyarázata érdekében.

- A pulmonális hatóanyagbevitelre porlasztva szárítással előállított hatóanyag szemcsék esetében megállapításra került, hogy a porlasztva szárítás során alkalmazott kiindulási oldószerarányok jelentős hatással lehetnek az *in vitro* tüdődepozíciós eredményekre. Jelen esetben a CIP vonatkozásában **a kiindulási oldatban** desztillált víz mellett használt **EtOH mennyiségének változtatása jelentősen befolyásolta az előállított részecskék habitusát, amely az *in vitro* aerodinamikai sajátságokat is befolyásolta.** A munka eredménye a CIP vonatkozásában az oldószer összetétel optimalizálás volt. Továbbá a Ph.D. munka rávilágít az porlasztva szárítás során használt kiindulási oldószerkevegyekkel végzett előzetes kísérletek szerepére a DPI-ok fejlesztésében.
- A Ph.D. munka során új kifejezések is alkalmazásra kerültek az AFM mérések vonatkozásában (részecskeméretre vonatkoztatott érdesség, gödröcske mélység és gödröcske szélesség), amelyekről tudomásunk szerint korábban még nem számoltak be a szakirodalomban.
- A CIP-tartalmú DPI-minták esetében új összefüggés került megállapításra, az MMAD/D [0,5] arány korrelál a W_c (kohéziós munka) eredményekkel, amelyről szintén nem számoltak még be a szakirodalomban. A korreláció új megközelítésből ad magyarázatot az *in vitro* tüdődepozíciós eredményekre.
- A CIP és az MXK esetében hordozómentes NaSt-tal ko-porlasztva szárított DPI formulációk előállítására nemzetközi szinten először került sor, és sikeres fejlesztést eredményezett.
- A hordozó alapú és hordozómentes fejlesztési eredményeket kombináló új formulálású DPI kifejlesztése / NaSt-tal ko-porlasztva szárított CIP szemcsék (30%-os EtOH tartalommal a kiindulási vizes oldatban) nagyméretű IH hordozó felületén, amelyet MgSt-tal előzetesen felületkezeltünk/, amellyel az inhalációs porok új kategóriáját vezettük be. Ennél fogva a jövőben a hagyományos hordozó alapú és a hordozómentes formulációk hatékony kombinációja új irányvonalat adhat a DPI rendszerek fejlesztésének nemzetközi szinten.
- Az új formulálású DPI kompozit gyógyszerforma kifejlesztése rávilágított arra, hogy a különböző DPI kapszulatípusok hogyan befolyásolhatják a formulációk habitusát, stabilitását és *in vitro* aerodinamikai viselkedését.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ KÖZKEMÉNYEK

1.) **Benke E.**, Szabóné Révész P., Hopp B., Ambrus R.: Hordozó alapú száraz porinhalációs rendszerek jellemzése és fejlesztési lehetőségei. *Acta Pharmaceutica Hungarica*, 87, 59-68 (2017).

Q4, IF₂₀₁₇: -, Idézettség: 4 (Független idézés: -)

2.) **Benke, E.**, Szabóné Révész, P., Ambrus, R.: Innovatív technológiájú ciprofloxacín-hidroklorid tartalmú száraz porinhalációs rendszer fejlesztése. *Acta Pharmaceutica Hungarica*, 87, 49-58 (2017).

Q4, IF₂₀₁₇: -, Idézettség: 3 (Független idézés: -)

3.) **Benke, E.**, Farkas, Á., Balásházy, I., Szabó-Révész, P., Ambrus, R.: Szárazporinhalációs készítmények bevitelére alkalmas eszközök és modern szerelékek aktualitásai I. *Gyógyszerészet/Pharmacy*, 62, 131-139 (2018).

Q: -, IF₂₀₁₈: -, Idézettség: 2 (Független idézés: -)

4.) **Benke, E.**, Hopp, B., Farkas, Á., Balásházy, I., Szabó-Révész, P., Ambrus, R.: Szárazporinhalációs készítmények bevitelére alkalmas eszközök és modern szerelékek aktualitásai II. *Gyógyszerészet/Pharmacy*, 62, 195-201 (2018).

Q: -, IF₂₀₁₈: -, Idézettség: -

5.) R. Ambrus, **E. Benke**, Á. Farkas, I. Balásházy, P. Szabó-Révész: Novel dry powder inhaler formulation containing antibiotic using combined technology to improve aerodynamic properties, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 123, 20-27 (2018). (<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.07.030>)

Q1, IF₂₀₁₈: 3,532, Idézettség: 18 (Független idézés: 11)

6.) **E. Benke**, Á. Farkas, I. Balásházy, P. Szabó-Révész, R. Ambrus: Stability test of novel combined formulated dry powder inhalation system containing antibiotic: Physical characterization and *in vitro-in silico* lung deposition results, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 45, 1369-1378 (2019). (<https://doi.org/10.1080/03639045.2019.1620268>)

Q2, IF₂₀₁₉: 2,365, Idézettség: 11 (Független idézés: 6)

7.) **E. Benke**, Á. Farkas, P. Szabó-Révész, R. Ambrus: Development of an Innovative, Carrier-Based Dry Powder Inhalation Formulation Containing Spray-Dried Meloxicam Potassium to Improve the *In Vitro* and *In Silico* Aerodynamic Properties. *Pharmaceutics*, 12, 535 (2020). (<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12060535>)

Q1, IF₂₀₂₀: 6,321, Idézettség: 16 (Független idézés: 10)

8.) **E. Benke**, P. Varga, P. Szabó-Révész, R. Ambrus: Stability and *in vitro* aerodynamic studies of inhalation powders containing ciprofloxacin hydrochloride applying different DPI capsule types. *Pharmaceutics*, 13, 689 (2021).

Q1, IF₂₀₂₁: 6,525, Idézettség: 3 (Független idézés: 3)

9.) **E. Benke**, C. Winter, P. Szabó-Révész, E. Roblegg, R. Ambrus: The effect of ethanol on the habit and *in vitro* aerodynamic results of dry powder inhalation formulations containing ciprofloxacin hydrochloride. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16, 471-482 (2021). (<https://doi.org/10.1016/j.ajps.2021.04.003>)

D1, IF₂₀₂₁: 9,273, Idézettség: 5 (Független idézés: 4)

10.) **E. Benke**, P. Szabó-Révész, R. Ambrus: Development of meloxicam potassium-containing co-spray-dried inhalation powder with sodium stearate. *Acta Pharmaceutica Hungarica*, 91, 75-82 (2021).

(<https://doi.org/10.33892/aph.2021.91.75-82>)

Q: -, IF₂₀₂₁: -, Idézettség: -

Σ IF: 28,032

Σ Idézettség: 62 (Σ Független idézés: 34)

ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ ELŐADÁSOK

Verbális prezentációk

- 1.) **Benke E.**: Meloxicam és meloxicam-kálium tartalmú hagyományos száraz porinhalációs készítmények fejlesztése. SZTE ÁOK-FOK-GYTK-ETSZK TDK Konferencia, Szeged, 2016. 10. 23-24.
- 2.) Ambrus R., **Benke E.**, Farkas Á., Balásházy I., Szabóné Révész P.: Hagyományos és új generációs száraz porinhalációs rendszerek fejlesztése. XIII. Magyar Aeroszol Konferencia: Pécs, 2017. 04. 19-21.
- 3.) **Benke E.**: Új irányvonal a hagyományos száraz porinhalációs készítmények előállításában. XI. Kárpátaljai Tudományos Diákköri Konferencia, Beregszász, Ukrajna, 2017. 05.19.
- 4.) Ambrus R., **Benke E.**, Farkas Á., Balásházy I., Szabó-Révész P.: Development of a novel formulated, pulmonary microparticle (new generation DPI) containing antibiotic agent with improved aerosolization efficiency. 7th BBBB Conference on Pharmaceutical Sciences: Balatonfüred, 2017. 10. 05-07.
- 5.) **Benke E.**: Innovatív és tradicionális száraz porinhalációs rendszerek előállítása és vizsgálata krónikus tüdő megbetegedések antibiotikus és gyulladáscsökkentő kezelése céljából. Magyar Tudomány Ünnepe rendezvénysorozat, SZAB Gyógyszerésztudományi Szakbizottság előadóiülés: Szeged, 2017. 11. 09.
- 6.) **Benke E.**: Cisztás fibrózis kezelésére alkalmas száraz porinhalációs rendszerek fejlesztése. Szegedi Tudományegyetem Sófi József A Szegedi Tehetségekért Alapítvány Ösztöndíj Konferencia, Biológia Doktori Iskola Kategória. Szeged, 2018. 03. 14.

- 7.) **Benke E.**, Szabóné Révész P., Ambrus R.: Szerkezeti stabilitás és a szerkezeti változás hatása az aerodinamikai eredményekre ciprofloxacín-hidroklorid tartalmú száraz porinhalációs termékek esetén. MKE Kristályosítási és Gyógyszerformulálási Szakosztálya Kerekasztal Konferenciája, Balatonszemes, 2018. 05. 04-05.
- 8.) **Benke E.**: Antibiotikum tartalmú száraz porinhalációs rendszerek fejlesztése mucoviscidosis kezelésére. EFOP 3.6.3-VEKOP-16-2017-00009 pályázat keretein belül megrendezett I. SZTE-ÁOK PhD Szimpózium, Szeged, 2018. 06. 22.
- 9.) **Benke E.**: Ko-porlasztással előállított, hordozómentes száraz porinhalációs készítmények vizsgálata. XIII. Clauuder Ottó Emlékverseny, Budapest, 2018. 11. 22-23.
- 10.) **Benke E.**: Fluorokinolon antibiotikum tartalmú száraz porinhalációs termékek stabilitási vizsgálata és inhalációs kapszula típusok tanulmányozása. EFOP 3.6.3-VEKOP-16-2017-00009 pályázat keretein belül megrendezett II. SZTE-ÁOK PhD Szimpózium, Szeged, 2018.11.30.
- 11.) **Benke E.**: Új trendek a pulmonális gyógyszerformulálás területén. EFOP 3.6.3-VEKOP-16-2017-00009 pályázat keretein belül megrendezett II. SZTE-ÁOK PhD Szimpózium, Szeged, 2018.11.30.
- 12.) **Benke E.**, Ambrus, R., Szabó-Révész, P.: Formulation and investigation of novel, carrier-based dry powder inhalation system. I. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science, Szeged, 2019.01. 31. DOI: <https://doi.org/10.14232/syrptbrs.2019.op13>
- 13.) **Benke E.**, Varga P., Kozma G., Szabó-Révész P., Ambrus R.: Investigation of capsule-based dry powder inhalation systems. 8th Interdisciplinary Doctoral Conference, Pécs, 2019.05.24-25.
- 14.) **Benke E.**, Szabó-Révész P., Ambrus R.: Characterization of dry powder inhalation systems using an organic solvent to reach special micrometric properties. II. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science, Szeged, 2020.01. 23-24. DOI: [10.14232/syrptbrs.2020.op20](https://doi.org/10.14232/syrptbrs.2020.op20)
- 15.) Varga P., **Benke E.**, Szabóné Révész P., Ambrus R.: Hordozómentes porinhalációs rendszerek előállítása és gyógyszerforma vizsgálata. XIV. Magyar Aeroszol Konferencia: Visegrád, 2019. 10. 02-04.
- 16.) Ambrus R., **Benke E.**, Varga P., Szabó-Révész P.: Formulation and stability testing of inhalable powder preparation containing an antibiotic agent. Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XVI. (online), 2020. 09. 10-12.
- 17.) **Benke E.**, Szabó-Révész P., Ambrus R.: Stability test of novel pulmonary formulation for further application in cystic fibrosis. Proceedings of the EFOP-3.6.2-16-2017-00006 (LIVE LONGER) project (online), 2020.10.16.
- 18.) **Benke E.**, Szabó-Révész P., Ambrus R.: Role of sodium stearate on co-spray-dried meloxicam potassium-containing dry powder inhalation systems. 9th Interdisciplinary Doctoral Conference (online), 2020. 11. 27-28.
- 19.) **Benke E.**, Szabó-Révész P., Ambrus R.: Development of NSAID containing dry powder inhalation formulation co-spray-dried with sodium stearate, Drug Delivery to the Lungs (online), 2020.12.09-11.
- 20.) **Benke E.**, Winter C., Szabó-Révész P., Roblegg E., Ambrus R.: Effect of solvent compositions on habits and *in vitro* aerodynamic results of spray-dried pulmonary formulations. III. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science, Szeged, 2021.01. 20-22. DOI: [10.14232/syrptbrs.2021.op17](https://doi.org/10.14232/syrptbrs.2021.op17)
- 21.) Révész P., **Benke E.**: Terápiaszpecifikus gyógyszerfejlesztés, fókuszban a krónikus tüdőbetegségek: COPD és cisztás fibrózis a transzlációs medicina tükrében. Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság: E-learning (online), 2021.08.31.

Poszter prezentációk

- 1.) **Benke, E.**, Chvatal A., Szabó-Révész, P., Ambrus, R.: Formulation of lactose-based dry powder inhalers by surface treatment containing different habit of active agent. 2nd European Conference on Pharmaceutics: Krakko, Lengyelország, 2017.04.03-04.
- 2.) **Benke E.**, Szabó-Révész P., Ambrus R.: The effect of sodium stearate on the aerosol performance of meloxicam potassium using a carrier-free procedure. 7th BBBB Conference on Pharmaceutical Sciences: Balatonfüred, 2017. 10. 05-07.
- 3.) **Benke, E.**, Zsembery, Á., Szabó-Révész, P., Ambrus, R.: Development of novel formulated meloxicam potassium containing dry powder inhaler systems. 12th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology and Regulatory Affairs. Szeged, 2018. 09. 20-22.
- 4.) **Benke E.**, Farkas, Á., Balásházy, I., Szabó-Révész P., Ambrus R.: New formulation approach for dry powder inhalers to improve CF/COPD inhalation therapy. 6th International Workshop on Lung Health. New approaches to respiratory diseases, Nizza, Franciaország 2019.01.17-19.
- 5.) **Benke E.**, Varga P., Szabóné Révész P., Ambrus R.: Antibiotikum tartalmú száraz porinhalációs készítmények kapszula alapú formulálása és stabilitási vizsgálata. Gyógyszertechnológiai és Ipari Gyógyszerészeti Konferencia. Siófok, 2019. 09. 26-28.
- 6.) **Benke E.**, Szabó-Révész P., Ambrus R.: The effect of ethanol on aerosolization properties of spray-dried inhalation powders. Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XVI. (online), 2020.09.10-12.

Ezt a munkát támogatta az Új Nemzeti Kiválósági Program (ÚNKP) 2016-tól 2021-ig; az EFOP-3.6.2-16-2017-00006 „LIVE LONGER - Modern orvostudományi diagnosztikus eljárások és terápiák fejlesztése translációs megközelítésben: a laboratóriumtól a betegágyig” projekt; az EFOP 3.6. 3- VEKOP-16-2017-00009 projekt, a 20391-3/2018/FEKUSTRAT Hungary; a CEEPUS CIII-RS-1113 rövid távú hallgatói mobilitási ösztöndíj (Grazi Egyetem, Ausztria); a Szegedi Tudományegyetem „Open Access Fund”, a Richter Gedeon Nyrt. Centenárium Alapítványa; a TUDFO/47138-1/2019-ITM, és a SimInhale COST Action MP140.

*Hálás vagyok témavezetőmnek, **Dr. habil. Ambrus Ritának** a Ph.D. tanulmányaim során nyújtott tudományos útmutatásáért, bátorításáért és támogatásáért. Külön köszönettel tartozom **Prof. Dr. Szabó-Révész Piroska** professzor asszonynak, aki szintén sok szakmai útmutatást nyújtott számomra. Köszönettel tartozom a Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet minden tagjának, társszerzőimnek a tudományos támogatásukért.*

*Hálás vagyok **szüleimnek** és **barátaimnak** a Ph.D. tanulmányaim során nyújtott szeretetükért, támogatásukért és megértésükért.*