

MTA DOKTORA ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**SZEMCSEMÉRETCSÖKKENTŐ ELJÁRÁSOK A MODERN
GYÓGYSZERFEJLESZTÉSBEN; NAZÁLIS ÉS PULMONÁLIS
HATÓANYAGBEVITEL**

Dr. Ambrus Rita

Készült a

Szegedi Tudományegyetem

Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézetében



2023. Szeged

Artia79_68_23

FONTOSABB FOGALMAK MAGYARÁZATA

Aggregátum: erős kötésben lévő vagy egymással egyesült szemcsékből álló részecske (EU definíció).

Agglomerátum: gyenge kötésben lévő részecskék vagy aggregátumok halmaza, amelynek külső felülete az egyes alkotóelemei külső felületeinek összegével hasonló méretű (EU definíció).

Diszperzitásfok: a szemcsék méretének (átmérő, hossz) reciproka.

Generikumok: bioekvivalens készítmények azonos gyógyszerformában és dózisban; *generikum plusz* esetében innováció a formát illetően; *szuper generikum* esetében pedig csökkentett dózis, jobb oldékonyság, gyorsabb oldódási sebesség). Ez utóbbi esetében nem elegendő a bioekvivalencia vizsgálat (teljes klinikai vizsgálatra van szükség).

„Holding time”: a prediszperzió eltartási ideje, amely alatt fizikai-kémiai sajátságait a gyógyszerformulálásig megtartja.

Innováció: új, vagy jelentősen javított termék (áru vagy szolgáltatás) vagy eljárás; új marketing-módszer, vagy új szervezési-szervezeti módszer bevezetése - Oslo kézikönyv alapján (OECD és az Európai Bizottság -Eurostat által készült kézikönyv 3. kiadása, 2015).

Kavitációs őrlés: nagyintenzitású ultrahang (UH) vagy nagynyomású homogenizálás (HPH) által kiváltott szonikus vagy hidrodinamikai kavitáció, ami a szilárd részek deformációját, törését idézi elő.

Ko-őrlés: hatóanyag/ok és segédanyag/ok térben és időben történő együttes őrlése. Ko-őrlő anyag(ok) az(ok) a segédanyag(ok), amely(ek) az őrlés hatékonyságát befolyásolják.

Ko-porlasztás: hatóanyag/ok és segédanyag/ok térben és időben együttes porlasztva-szárítása.

Nanoanyag: olyan természetes anyag, szándékolatlanul előállított mesterséges anyag vagy szándékosan előállított anyag, amely önmagában vagy azonosítható alkotórészecske formájában aggregátumokban vagy agglomerátumokban jelen lévő szilárd részecskékből áll (EU definíció).

„nano-in-micro/extrafine” inhalációs forma: nanoméretű hatóanyag részecske mikroméretű (5-10 µm) vagy extrafinom (1-2 µm) hordozóban.

Őrlő anyag/őrlőtest: a száraz és nedves közegben végbemenő mechanikai erőhatás kiváltására alkalmas, nagy kopásállóságú, eltérő anyagú és méretű golyók/gyöngyök (acél, kerámia, cirkónium stb.).

Prediszperzió: szemcseméretcsökkentéssel előállított mikro- vagy nanoméretű hatóanyagot tartalmazó diszperzió, amely optimalizálást követően gyógyszerforma előállításához használható fel.

Részecske/szemcse: a környezetétől fizikailag egyértelműen elhatárolható kicsiny anyagdarab; önálló molekulák nem minősülnek részecskének (EU definíció).

„Ready-to-use” termék: szemcseméretcsökkentő eljárás során optimalizált prediszperzió, amely inhalációs terápiában alkalmazható szereléssel használható kész formulációt képez.

I. BEVEZETÉS

A modern gyógyszer technológia célja olyan stabil készítmények kutatása és fejlesztése, amelyek hatóanyaga megfelelő helyen és időben szívódik fel és fejt ki hatását. A korszerű szemcseméretcsökkentő eljárások (mikro-, szubmikro- és nano-mérettartomány) alkalmazása minőségi ugrást jelent a meglévő gyógyszerek hatás-optimalizálásában, valamint újabb készítmények formulálását teszi lehetővé különböző megbetegedések terápiájában.

A hatóanyagok mikronizálásával és nanonizálásával gyorsabb oldódási sebességet érünk el, s ezzel növelhetjük a készítmény biológiai hasznosíthatóságát. Azonban a kívánt méret elérése különleges szemcseméretcsökkentő (dezintegráló és integráló) eljárásokat igényel, különös tekintettel a nanotechnológiára. Ez utóbbi esetében a nagyobb energiabefektetés és a hosszabb műveleti idő egyaránt fokozza az adhéziós és kohéziós erők működését, ami a prediszperziók instabilitásához vezethet. A termékek stabilizálására a műveleti paraméterek optimalizálása mellett segédanyagok jelenlétére is szükség van. Nem véletlen, hogy a gyógyszeripar folyamatosan kutatja és fejleszti azokat a szemcseképzési eljárásokat („particle engineering”), amelyek a gyógyszerforma és beviteli kapu szempontjából optimális terméket eredményeznek. Ezt a folyamatot támogatja a minőség alapú kísérlettervezés (QbD), ami magába foglalja a kritikus gyártási folyamat mutatóit, valamint a kritikus termékparamétereket is. Ez az új tendencia a tervezési tér (Design space) ismeretét is megköveteli.

A megnövelt biológiai hatékonyságú mikro- és nanorészecskék már alkalmasak arra, hogy akár alternatív beviteli kapukon (tüdő, orr), a máj (emésztőtraktus) megkerülésével jussanak el a receptorhoz. A modern gyógyszerfejlesztés jövője tehát az innovatív eljárásokkal előállított termékek irányába mutat, amelyek akár csökkentett hatóanyagtartalmat, bizonyos esetben célzott terápiát és gazdaságosabb gyártást jelenthetnek.

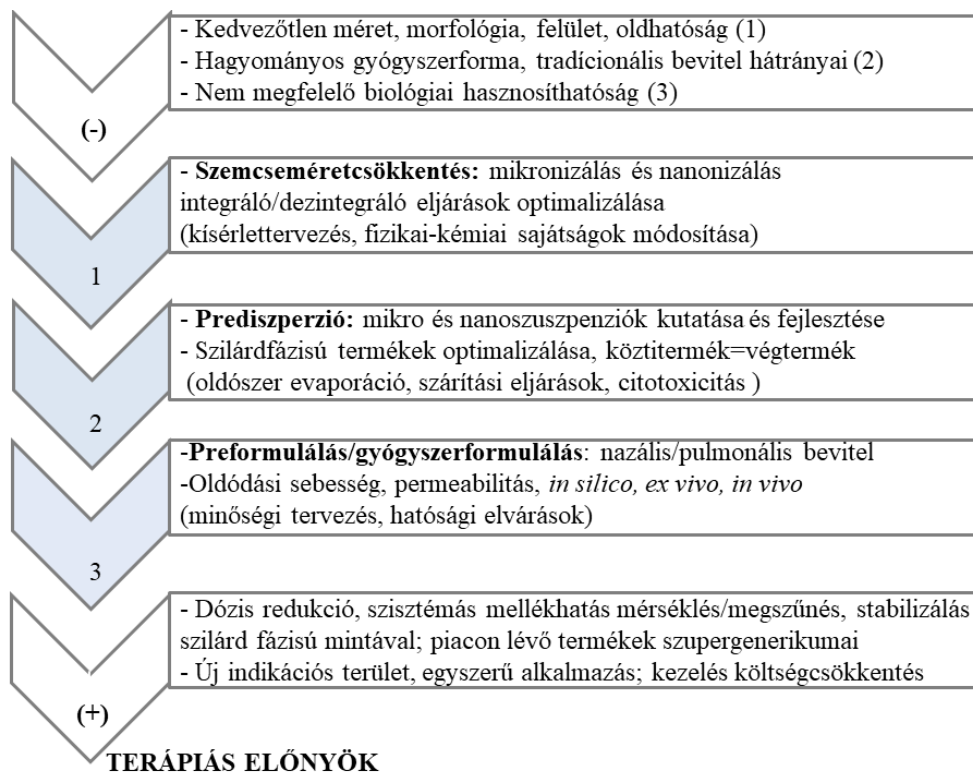
Az alternatív beviteli kapuk vonatkozásában a mikrorészecskék kutatása és fejlesztése elsősorban a pulmonális terápiában jelent új vonatkozásokat, különös tekintettel a tüdőt érintő krónikus tüdőbetegedésekben (helyi hatás). A nanorészecskéket tekintve a szisztémás és centrális hatás elérése céljából pedig az intranazális bevétel került előtérbe.

A jövőbeni tendenciákat tekintve, jelen munka hozzájárulhat a hozzáadott értéket képviselő gyógyszerkészítmények fejlesztéséhez, lehetővé téve számos kórkép hatékonyabb kezelését.

II. CÉLKITŰZÉSEK

A kedvezőtlen fizikai-kémiai sajátságú hatóanyagok hagyományos úton történő formulálása és gyógyszerbevetele a szervezetbe nem megfelelő biohasznosíthatóságú készítmények alkalmazásával jár. Ezen problémafelvetés technológiai megoldásaira doktori értekezésemben az alábbi célok megvalósítását tűztem ki (1. ábra).

Korszerű, innovatív szemcseméretcsökkentő eljárások kutatása és fejlesztése, modell hatóanyagok fizikai-kémiai sajátságainak megváltoztatásával, prediszperziók előállítására. Kísérlettervezéssel megjelölni az ipar számára is hasznosítható technológiákat, valamint vizsgálati módszerek (*in vitro*, *ex vivo* és *in silico*) fejlesztése által olyan ismeretanyag megszerzése, amely segíti a modern gyógyszerkészítmények fejlesztését és gyártását.



1. ábra Doktori értekezés célkitűzései, várható terápiás előnyei

1) A száraz/nedves őrlési paraméterek és a nano-precipitációt befolyásoló faktorok monitorozása, oldószer elpárolgatáson alapuló alternatív energiaforrások alkalmazása, összetételek és előállítási paraméterek tervezése **1-5 µm** illetve **100-500 nm** szemcseméret-tartományok elérése céljából a rendszerek stabilizálása polimerekkel, a fizikai-kémiai kölcsönhatások tanulmányozása.

2) Különböző szemcseméretcsökkentő eljárások kutatása és fejlesztése innovatív technológiai megoldásokkal (adott habitusú szemcsék képzése) **prediszperziók** (nanoszuszpenziók folyékony, illetve szilárd formulációi) előállítása, a termékek, egyes esetben a köztitermék végtermékként történő **optimalizálása** (stabilizálószer, szárítási eljárások, összetétel, toxicitás), preformulálása.

3) Továbbá preformulációs vizsgálatokkal meghatározni az alternatív bevitel (pulmonális, nazális) szempontjából is szükséges additíveket és azok alkalmazható koncentrációit különböző gyógyszerformák esetén. Ezeket alapul véve innovatív, nanoméretű hatóanyagot tartalmazó termékösszetételek kutatása és fejlesztése, amelyek alkalmasak lehetnek **intranazális és pulmonális** bevitelre pl. neurodegeneratív és allergiás kórképek (meloxicám-, lamotrigin-, loratadin-tartalmú **orppor** és **orrspray**), valamint krónikus obstruktív tüdőbetegségek kezelésére (meloxicám-tartalmú **inhalációs por**).

Összeségében a végső cél tehát a szemcseméretcsökkentő eljárások és az alternatív kapuknak megfelelő formulációk kettős terápiás előnyének kihasználása (dóziscsökkentés, ezáltal mellékhatások mérséklése, valamint a hordozórendszereknek köszönhetően targetálás megvalósítása). Ezáltal új lehetőségek nyújtása pl. gyors fájdalomcsillapítás és gyulladáscsökkentés, valamint a központi idegrendszeri kórképek kezelése. A formulálási stratégiának és beviteli kapunak köszönhetően új indikációs utak megnyitása már meglévő farmakon esetében, ezáltal módosult terápiás protokollok és korszerű gyógyszerkészítmények hatékony alkalmazására, valamint hosszútávon a kezelés költségsökkentése is várható.

III. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Hatóanyagok: Meloxikám, MEL (Sigma- Aldrich Kft, Magyarország); Meloxikám kálium monohidrát, MELK (Egis Zrt, Magyarország Nifluminsav, NIF (Richter Nyrt, Magyarország); Ibuprofén, IBU, Loratadin, LOR, Lamotrigín, LAM, Gemfibrozil, GEM (Sigma- Aldrich Kft, Magyarország).

Segédanyagok: Poli(vinil-alkohol), PVA (Sigma Aldrich Kft, Magyarország); Poli(vinil-pirrolidon) PVP K25, PVP C30 (BASF, Németország); Poliszorbát 80, Tween 80 (VWR International Kft, Magyarország); Poloxamer 188 (Sigma Aldrich Kft.); Polietilén-glikol, PEG 4000, PEG 6000, PEG 20 000 (Sigma Aldrich Kft.); Nátrium-hialuronát, HA (Richter Nyrt, Magyarország Mannit (Sigma Aldrich Kft); Ciklodextrin, CD (Cyclolab, Budapest); Leucin, LEU (Sigma Aldrich Kft, Magyarország); Ammónium-hidrogén-karbonát, AB (Molar Chemicals Kft, Magyarország Laktóz, InhaLac[®], IH70 (Meggles excipients and technology, Németország), Trehalóz dihidrát (VWR International Kft., Magyarország); Magnézium-sztearát, MgSt (Roth Hungary, Magyarország), etanol, metanol, aceton, etil-acetát, benzil-alkohol, triacetin (Sigma Aldrich Kft).

Minták előállítása céljából használt kísérlettervezés, szemcseméretcsökkentő eljárások és módszerek

Kísérlettervezésnél alkalmazott programok: Minitab 14 (Minitab[®] Statistical Software, Minitab, LLC, USA), MODDE 11.1 Software (Umetrics, Svédország), Lean QbD Software[®] qbdworks.com (2014 QbDWorks LLC., USA).

Száraz és nedves őrlés valamint kombinált precipitációs eljárásoknál Fritsch Pulverisette 6 Bolygómalom, Fritsch GmbH, Németország és Retsch PM 100 MA, Retsch GmbH, Németország; acél golyókkal és cirkónium oxid őrlőgyöngyökkel; nagy intenzitású ultrahang (UH) (Hielscher UP 200S, 200W, Németország) statikus és dinamikus elrendezés, hőmérséklet (Julabo, Németország), amplitudó és ciklus kontrollal perisztaltikus pumpa (Heidolph PD5006 Pumpa, Anglia) kettősfalú átfolyó rendszerrel; nagy nyomású homogenizátor (HPH) (Avestin Emulsiflex C3, Kanada), manuálisan szabályozható ciklusszám, hőmérséklet kontrollal berendezések kerültek alkalmazásra.

Alternatív energiaforrásokkal asszisztált precipitációs technikák kivitelezésére egy és nyolcfűvőkás (Aitecs SEP-10S fecskendő pumpa, Litvánia) elektroporlasztót; egyedi összeállítású hideg plazma reaktorkamrát és CEM Discover (CEM Company, Anglia) kémiai szintetizáló laborméretű mikrohullámú berendezést használtunk.

A porlasztva-szárítást (spd) Büchi B-191 „Mini” porlasztva szárító és B-90 „Nano” porlasztva-szárító (BÜCHI Labortechnik AG, Svájc) berendezéssel végeztük. A *fagyasztva-szárító* berendezés Scanvac CoolSafe 100-9 Pro típusú (LaboGene ApS, Dánia) eszköz volt. A ható- és segédanyagok fizikai keverékeit az előállított mintákkal megegyező arányban Turbula keverőben (Turbula WAB, Systems Svájc) kevertettük, majd kontrollként alkalmaztuk.

Fizikai-kémiai tulajdonságok meghatározása

A minták *méretének meghatározása* Leica Q500MC optikai mikroszkóppal (Leica Microsystems, Németország), Malvern Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd., Egyesült Királyság), a szubmikronos szemcseméret, polidiszperzitási index és felületi feszültség (Zetapotenciál, ZP) meghatározását fotonkorrelációs spektroszkópiával végeztük (PCS) (Zetasizer NanoZS[®], Malvern Instruments; Malvern, Egyesült Királyság) eszközökkel történt. A *morfológiát* pásztázó elektronmikroszkóppal elemeztük (Hitachi S-4700, Hitachi Scientific Ltd., Japán). A minták látszólagos és tömörített *sűrűségének* meghatározását Engelsmann

Stampfvolumeter (J. Engelsmann AG, Németország) (Ph. Eur., 2022) segítségével végeztük. A nedvesedési peremszög meghatározását, polaritást, *interpartikuláris kölcsönhatások* elemzését OCA cseppkontúr analizáló készülékkel (Dataphysics OCA 20, Dataphysics Instruments GmbH, Németország), „Sessile-drop” módszerrel végeztük. A hatóanyag mennyiségét *spektrofotometriásan* határoztuk meg (Unicam UV/VIS) (Thermo Fisher Scientific Inc., Egyesült Államok) (n = 3).

Szerkezeti vizsgálatok

A *porröntgen diffrakció felvétele* (XRPD) Bruker D8 Advance diffraktométerrel (Bruker AXS GmbH., Németország) végeztük. A *termoanalitikai* méréseket Mettler Toledo STARE termoanalitikai készülékkel (Mettler Inc., Svájc) végeztük. A kialakult *kölcsönhatások, kémiai stabilitás* vizsgálatára AVATAR330 FT-IR spektrométert (Thermo Nicolet, Unicam Magyarország Kft.) használtunk.

Gyógyszerforma vizsgálatok

A termékekből történő *hatóanyagfelszabadulást* forgólapátos kioldókészülékben határoztuk meg. A *diffúziós vizsgálatokat* vertikális Franz diffúziós cellával végeztük pufferoldatok alkalmazásával (Hanson Microette Topical and Transdermal Diffusion Cell and Autosampling System, Hanson Research, Chatsworth CA, Egyesült Államok). A hatóanyag flux (J) és permeabilitási koefficiens értékeit (Kp) is meghatároztuk. A donor fázisban maradt hatóanyag mennyiséget Agilent 1260 RP-HLPC-vel detektáltuk. A hatóanyag diffúzióját *horizontális diffúziós készülékkel* (Side-Bi-Side™ Grown Glass, USA) is vizsgáltuk. *Módosított permeabilitási vizsgálati módszer fejlesztése* (geometriai paraméterek változtatása és valós idejű mérés kivitelezése), validálása és az eredmények értékelése alapján az inline hatóanyagkoncentráció detektálása AvaLight DH-S-BAL spektrofotométerrel) és AvaSpec-2048L transzmissziós merülő szonda (AVANTES, Apeldoorn, Hollandia) alkalmazásával történt. Az *ex vivo* mérésekhez a permeabilitási tesztet humán orrnyálkahártyán (mucoperiostium) végeztük (etikai engedély száma: IV/3880-1/2021/EKU) a legmagasabb in vitro diffúziót mutató készítmények esetében. A permeabilitás-vizsgálatokat pulmonális formulációk esetében szintén módosított horizontális diffúziós készülékkel valósítottuk meg. Az Andersen-féle készülék (ACI, Andersen Cascade Impactor) a VIII. Magyar Gyógyszerkönyvben hivatalos („D” készülék, Copley Scientific LTd., Egyesült Királyság), amely alkalmas különböző készítmények aerodinamikai tulajdonságainak meghatározására, tüdő depozíció prediktálására. Az *in silico* vizsgálatokat a Környezetfizikai Laboratóriuma által továbbfejlesztett sztochasztikus tüdőmodell alkalmazásával végeztük, amely a légutakba belélegzett részecskék transzportját és depozícióját vizsgálja.

Sejtkultúra és *in vivo* vizsgálatok

A sejt-életképességi vizsgálatokat A549 humán alveoláris epitelsejt eredetű adenokarcinóma sejtvonalon végeztük (ATCC®, USA, A549 a tüdő adenokarcinóma sejtvonal) és RPMI 2650 nazális epiteliális laphámsejtes sejtvonalon vizsgáltuk. Gyulladáscsökkentő hatás vizsgálata során *in vitro*, az RPMI 2650 sejteket 6 lyukú lemezre oltottuk és a legnagyobb nem citotoxikus koncentrációval kezeltük őket. Az *in vivo* vizsgálatokat Sprague–Dawley patkányokon végeztük per os, intravénás (IV) és intranazális beadást követően, igazodva a hatóanyag terápiás dóziséhoz és a testtömeghez. A vérbe és agyba jutott hatóanyag-koncentrációt elemeztük. A minták analitikai elemzése LC-MS-MS technikával történt. A vér-mintákban lévő hatóanyag mennyiségét Agilent 1260 HLPC-vel detektáltuk. A farmakokinetikai paramétereket PK Solver 2.0 szoftver segítségével határoztuk meg.

Stabilitási 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) Binder KBF 240 (Binder GmbH, Tuttlingen, Németország) berendezésben. A tesztet 25 ± 2 °C, 40-50-75 \pm 5% RH végeztük.

Statisztikai analízis

A statisztikai elemzés TIBCO Statistica® 13.4. szoftverrel történt (Statsoft Hungary, Budapest, Magyarország). A statisztikai szignifikancia meghatározása Student-féle t-teszt szolgált. A változásokat statisztikailag szignifikánsnak tekintettük, ha $p < 0,05$. A statisztikai értékelést a Statistical for Windows programmal végeztük és az eredmények között tapasztalt változásokat egyszempontos varianciaanalízissel határoztuk meg.

A kutatások során alkalmazott kísérleti és vizsgálati módszerek részletes leírása a K1-K32 közleményekben megtalálható. Az elektroporlasztás és plazma-szintézis eljárások kísérleti berendezéseit Dr. Radacsi Norbert állította össze, a sejt kultúrákat (Dr. Deli Mária és mtsai, Dr. Burián Katalin és mtsai), *in silico* (Dr. Farkas Árpád) és *in vivo* (Dr. Gáspár Róbert és mtsai) vizsgálatok elvégzését kooperációban valósítottuk meg.

IV. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK, MEGÁLLAPÍTÁSOK

4.1 Innovatív szemcseméretcsökkentő eljárások prediszperziók előállítása és vizsgálata

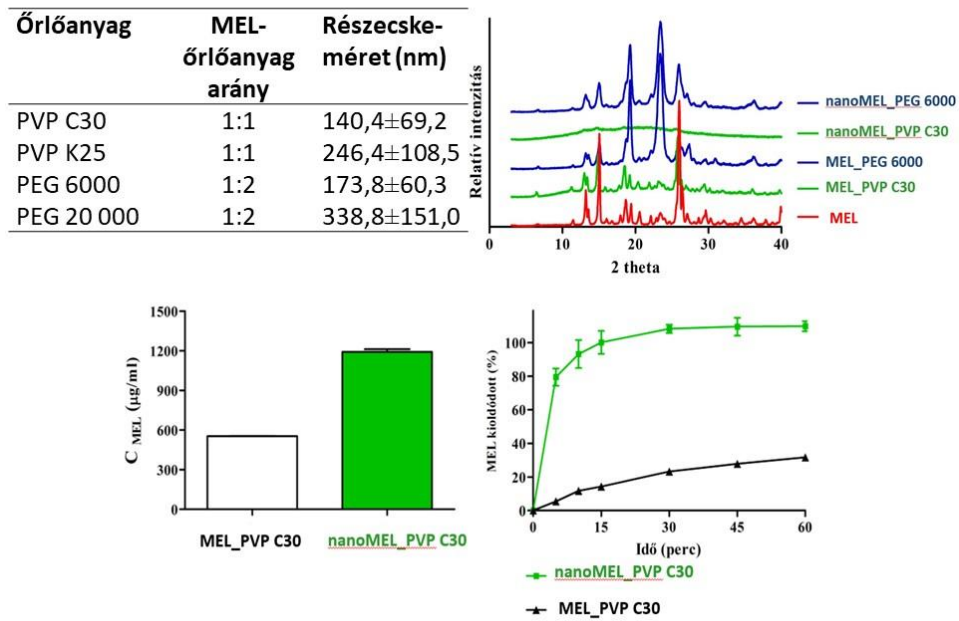
4.1.1 Szemcseméretcsökkentés lehetőségeinek tanulmányozása dezintegráló eljárásokkal, mikro- és nanodiszperzió előállítása száraz ko-örléssel

T1. Bolygómalomban, száraz ko-örléssel történő nanonizálás során, az acélgolyók mellett alkalmazott ko-örlő segédanyagok csökkentik az ütközés által átadott kumulatív örlési energiát, és stabilizálják a terméket (K1) (1. táblázat).

1. táblázat Polimerek mennyiségének befolyása az örlési energiára

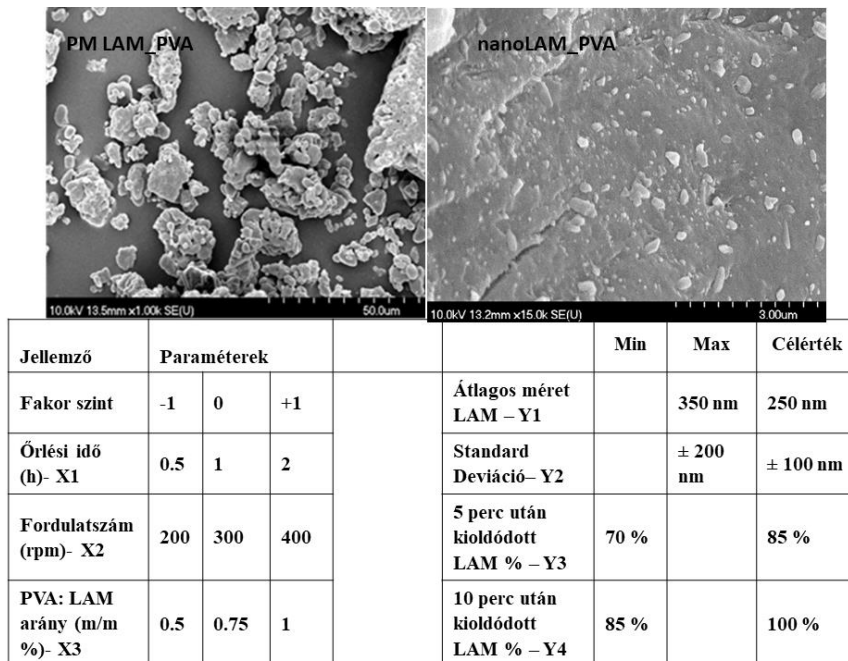
Fordulatszám (rpm)	Kollízió frekvenciája (s ⁻¹)	Kumulatív örlési energia (kJg ⁻¹) Meloxicám : segédanyag arány			
		1:0	1:0,5	1:1	1:2
200	240	8,56	5,71	4,28	2,85
300	360	28,89	19,27	14,45	9,63
400	480	68,50	45,67	34,25	22,83

T2. Amorf és/vagy kristályos nanorészecske előállítását az örlési eljárás optimalizálásával, valamint az amorf, szemi-kristályos vagy kristályos ko-örlő segédanyagok helyes megválasztásával lehet elérni. A ko-örlő segédanyagok (pl. PVP, PEG, PVA, mannit) alkalmazásával a szemcseméret csökkentésén túl a kristályszerkezet letörésének mértéke, valamint a hatóanyagok (MEL, LAM, NIF) oldódási sebessége és oldékonysága is befolyásolható (2. ábra) (K1, K2, EK1).



2. ábra Segédanyagok befolyása a szemcsék méretére, kristályosságára, oldékonyságára és oldódási sebességére (nanoMEL_segédanyag:ko-őrölt nanonizált minta)

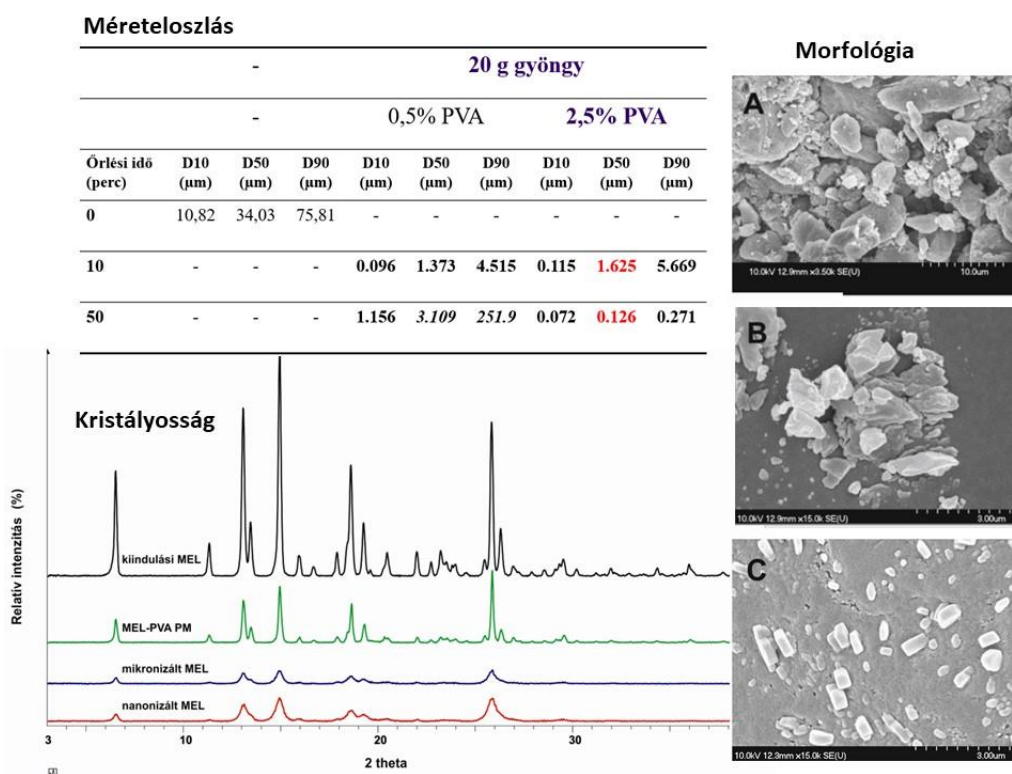
T3. A száraz ko-őrlés kritikus minőségi paramétere (CQA-k) közül a szemcseméret és annak eloszlása, illetve a hatóanyag felszabadulása, míg a kritikus gyártási folyamat-paraméterek (CPP-k) esetében a hatóanyag:segédanyag arány, valamint az őrlési idő és sebesség a legkritikusabb paraméterek a nanorészecskék előállítása során (3. ábra). Design Space (tervezési tér) validálásával költség és időhatékony módon mintaelőállítási módszer optimalizálható (K2, K3, EK2).



3. ábra A száraz őrléses eljárás optimalizálása, lamotrigin nanorészecskék előállítása (PM: fizikai keverék; nano LAM_PVA: ko-őrölt, nanonizált hatóanyagot tartalmazó keverék)

4.1.2 Szemcseméretcsökkentés lehetőségeinek tanulmányozása dezintegráló eljárásokkal, mikro- és nanoszuszpenzió előállítása kombinált nedves ko-örléssel és kavitáción alapuló technológiával

T4. A bolygómalom és a gyöngymalom előnyeinek kombinálásával fejlesztett nedves őrléses eljárás alkalmas a hatóanyagok kíméletes nanonizálására (4. ábra). Az alkalmazott polimeroldat viszkozitása, valamint a 0,3 mm átmérőjű cirkónium-oxid gyöngyök együttesen teszik lehetővé a műveleti idő csökkentését, elő-örlés és felületaktív anyag alkalmazása nélkül eredményeznek kívánt szemcseméretű terméket (100-500 nm).

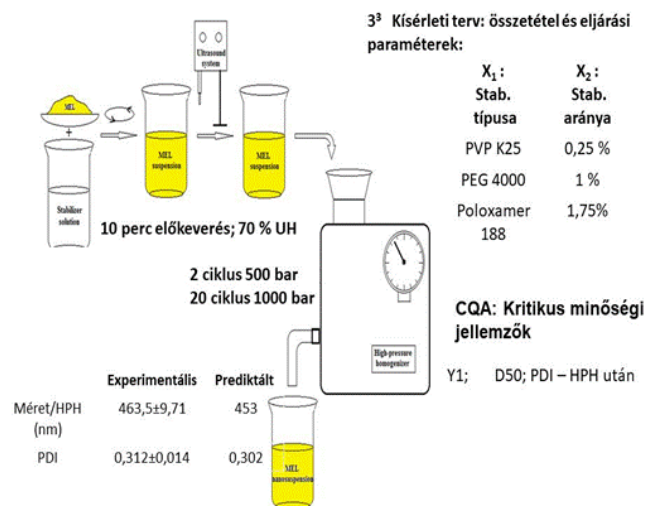


4. ábra A kombinált ko-örlés hatása a meloxicám fizikai-kémiai sajátságaira (A-kezeletlen, B-10 perces őrlés, C-50 perces őrlés)

Az őrlő gyöngyök mennyisége csökkenthető a hatóanyag mennyiségének növelésével, valamint ezzel a hatóanyag kristályossága is szabályozható. A prediszperzió stabilizálása szilárd hordozó felületére történő rögzítéssel vagy szárítási eljárásokkal valósítható meg (K4, K5, K6).

T5. Az ultrahangos kavitáció alkalmas, alacsony hőmérsékleten végbemenő (~40 °C) nedves őrléses eljárás segédanyag jelenlétében történő mikronizálásra. A hatóanyag kristályos szerkezete a kezelés hatására nem törik le, kristályossági foka nem változik, bomlás nem prediktálható. Mind a statikus, mind a dinamikus elrendezés esetén igazoltuk, hogy a kis mintatérfogot, nagy amplitudó, 0,75 szonotród pozíció eredményezi a fajlagos felület növelését, mikronizált részecskék előállítását (K7, K8, EK3).

T6. Pre-szonikálással, felületnedvesítő stabilizáló (0,2-1% koncentráció) jelenlétében előállított mikrosuszpenzió (6-7 µm) nagynyomású homogenizálása nanodiszperziók (400-500 nm) előállítását teszi lehetővé, ahol minőségtervezéssel (QbD, DoE) igazoltuk a prediktált, illetve experimentális adatok korrelációját. Ezáltal az előállítási folyamat megértése, megfelelő alkalmazása, a gyógyszerforma előállítására alkalmas prediszperzió minősége biztosított, szárítási folyamattal kombinálva szilárd orodiszperz gyógyszerformaként stabilizálható (5. ábra) (K9).



	D50 (µm) UH 10 perc	D50 (nm) HPH	PDI HPH
MEL	13,65	-	-
MEL PVP 0,25%	5,92	496,80	0,412
MEL PVP 1%	5,98	609,63	0,290
MEL PVP 1,75%	8,28	780,83	0,461
MEL Polox 0,25%	6,49	700,86	0,460
MEL Polox 1%	5,68	463,50	0,312
MEL Polox 1,75%	6,28	503,43	0,384
MEL PEG 4000 0,25%	6,53	854,06	0,631
MEL PEG 4000 1,75%	14,34	1125,00	0,793

5. ábra Pre-szonikálás (UH) és nagy nyomású homogenizálás (HPH) befolyása a szemcseméretre segédanyagok jelenlétében

4.1.3 Nanotechnológiai eljárások tanulmányozása integráló eljárások alkalmazásával

T7. Különböző sajátságú modellanyagok esetében kombinált integráló eljárással, kavitáció által asszisztált mikro/nano hatóanyagprecipitáció érhető el. A hatóanyag szemcsék megnövekedett fajlagos felületének felületi nedvesítése és amorf jellege az oldékonyság és oldódási sebesség növekedését eredményezte. Igazoltuk, hogy az oldószer-antioldószeres precipitáció során a folyamatos energiaközléssel a stabilizálók gyors felületi adszorpciója révén a nukleáció sebessége nő, míg a kristálynövekedés gátlása következik be, a PVP K25, illetve Poloxamer stabilizáló szerek (0,2%) fizikai-kémiai kölcsönhatásba kerültek a hatóanyaggal, a keletkezett amorf nanorészecskéket megfelelő módon stabilizálják, ezáltal 7 napos „holding time”-ot is biztosítva (K10, K11, K12, K13, EK4).

T8. Alternatív energiaforrások, összehasonlítva hagyományos kristályosító eljárással (kristályosítás megvalósítása elektrosztatikus tér, nagyfeszültségű hideg plazma szintézis, illetve elektromágneses sugárzás által indukált oldószer evaporáció), új lehetőségként alkalmazhatóak hatóanyagok szemcseméretcsökkentése céljából (2. táblázat).

Mind az elektroporlasztás, mind a hideg plazma-szintézis kristályos, szférikus morfológiájú szubmikronos szemcsék (200-1000 nm) előállítását teszi lehetővé, mivel kristályosodásgátló védőpolimert a folyamat során nem használtunk fel. A nagy feszültségen végbemenő elektroporlasztás és plazma-szintézis a részecskék aggregációjával jár, amit hordozó felületén interaktív fizikai keveréssel, a preformulálás során ki lehet védeni.

A pillanatszerű oldószer elpárolgatást eredményező mikrohullámú szintézisnél a PVP stabilizáló polimer egyedi, amorf hatóanyagsemcsék képzését teszi lehetővé. Alternatív integráló technológiák javasolhatók gyenge oldékonyságú hatóanyagok esetében farmakonjelöltek klinikai tesztelése, hatóanyaggyártás területén, illetve re-formulálás, biohasznosíthatóság javítása céljából (K14, K15, K16, K17).

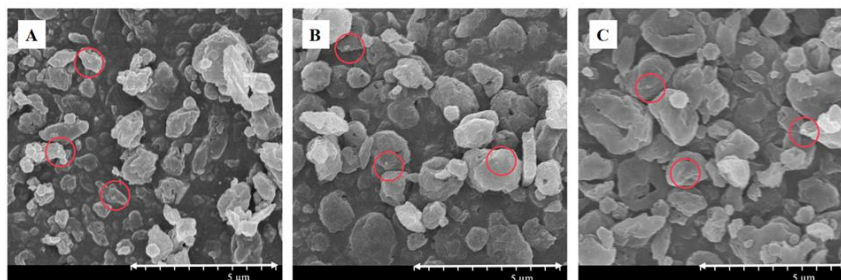
2. táblázat Új megoldások összegzése szervesoldószer gyors elpárolgatására

	Elektro-porlasztás	Plazma-szintézis	Mikrohullám
Előállítási paraméterek	$\Delta U=4.7$ kV; c=20 mg/ml-aceton, d=0,33 mm áramlás: 1,8ml/h T: 25 C°	$\Delta U=3.7$ kV; c=20mg/ml-aceton, frekvencia: 10kHz argon gáz áramlási seb: φ :11 L /m T: 40-70 °C	Powder: 150W/300 W c=20-48 mg/ml-etanol Precipitációs idő: 1.4/2.8 sec T: 120-150 °C
Hatóanyag Szemcsemérete, morfológia	~200-800 nm koncentrációfüggő: tús v. szférikus Mannit-Poloxamer felületen	~400-1000 nm szférikus	~200- 25 000 nm szférikus
Stabilizálás		Mannit-Poloxamer felületen	PVP mátrixban/ felületen
Kristályosság	kristályos (85%)	kristályos (80%)	amorf
Oldódási sebesség	t ₃₀ =60%	t ₃₀ =90%	t ₃₀ =60%

*a fúvóka átmérője (d), az áramlási sebesség (φ), a kezdeti oldat koncentráció (c), a feszültségkülönbség (ΔU), a kapillaris és a földelt tálcá távolsága (D)

T9. Optimalizált, nedvesörléssel előállított nano-prediszperzióból (138±5 nm) a szemcsék nano porlasztva-szárítással történő integrálása közvetlen alkalmazásra használható végterméket biztosít. Javaslatot tettünk szerves oldószermentes összetételekre (szuszpendált hatóanyag, mukoadhezív és diszperzitást fokozó segédanyagokat tartalmazva –PVA-LEU–), amelyek 1-2 mikronos termékként, nanorészecskék agglomerátumait tartalmazva, a gyenge vízoldhatóságú hatóanyag oldékonyságát, oldódási sebességét és permeabilitását 3-4-szeresére javítja (6. ábra). Ilyen formulációkat tudomásunk szerint még nem képeztek és nem vizsgáltak (K18).

A porlasztott termékek mérete extrafinom tartományban található 1,1-1,4 μm , amelyben amorf, nanoméretű MEL szemcsék aggregátuma található. A segédanyagok mennyisége befolyással bír a fizikai-kémiai sajátságokra (oldékonyságfokozás, stabilizálás). A 21-24 mV ZP-értékek a nanoméretű részecskék szuszpenzióban lévő stabilitását támasztják alá (6. ábra).



Minta	D (nm)	Pdl	Zéta-potencial (mV)
Örölt prediszperzió[MEL_PVA]	359,75 ± 12	0,3403 ± 0,057	-23,70 ± 0,85
nanospd[MEL1_PVA_LEU0]	676,70 ± 47	0,543 ± 0,055	-21,35 ± 5,27
nanospd[MEL1_PVA_LEU0,5]	743,25 ± 27	0,502 ± 0,074	-23,30 ± 2,74
nanospd[MEL1_PVA_LEU1]	526,90 ± 20	0,381 ± 0,031	-24,50 ± 1,47

Minta	Oldékonyság [mg/mL]
MEL	0,502 ± 0,002
nanospd[MEL1_PVA_LEU0]	0,701 ± 0,003
nanospd[MEL1_PVA_LEU0,5]	0,695 ± 0,002
nanospd[MEL1_PVA_LEU1]	0,701 ± 0,004

6. ábra Segédanyagok befolyása a porlasztott nanokompozitok morfológiájára, méretére, oldhatóságára és stabilitására (A: MEL1_PVA_LEU0; B: MEL1_PVA_LEU0,5; C: MEL1_PVA_LEU1)

4.2 Prediszperziók innovatív gyógyszerformáinak terápiaszpecifikus fejlesztése alternatív beviteli kapukon keresztül

4.2.1 Nazális gyógyszerformák fejlesztése, *in vitro/in vivo* vizsgálatai

Nanoméretű hatóanyagot tartalmazó nazális gyógyszerforma előállítása céljából MEL, LOR, LAM tartalmú prediszperziók állíthatók elő dezintegráló és integráló eljárásokkal (3. táblázat).

3. táblázat Prediszperziók intranazális formulálása preformulációs és preklinikai vizsgálatok elvégzése céljából

Prediszperzió előállítása; hatóanyag szemcsemérete	Preformulált összetétel	Nazális gyógyszerforma	Jellemzők
Száraz ko-örlés (MEL:PVP C30 1:1 m/m%) 140 nm MEL	MEL -PVP -HA 1 mg/ml -1 mg/ml -5 mg/ml	folyékony nazális forma	nanoszuszpenzió alapú viszkózus folyadék
Nedves ko-örlés (1% MEL, 0,5% PVA) 1,5 µm MEL	MEL-PVA-HA- 1mg/ml-0,2 mg/ml- 5mg/ml	folyékony nazális forma	mikroszuszpenzió alapú viszkózus folyadék
Nedves ko-örlés (1% MEL, 0,5% PVA) 130 nm MEL	MEL-PVA-HA- 1mg/ml-0,2 mg/ml- 5mg/ml	folyékony nazális forma	nanoszuszpenzió alapú viszkózus folyadék
Sóképzés, oldott MELK	MELK-HA 1 mg/ml-5 mg/ml	folyékony nazális forma	viszkózus oldat
Kombinált (UH) precipitálás, 311 nm LOR	LOR-2,5 mg/ml Poloxamer- HA-5 mg/ml	folyékony nazális forma	nanoszuszpenzió alapú viszkózus folyadék
Száraz örlés, 97 nm LAM	LAM-1g PVA-0,8g	orropor	szilárd fázisú diszperzió

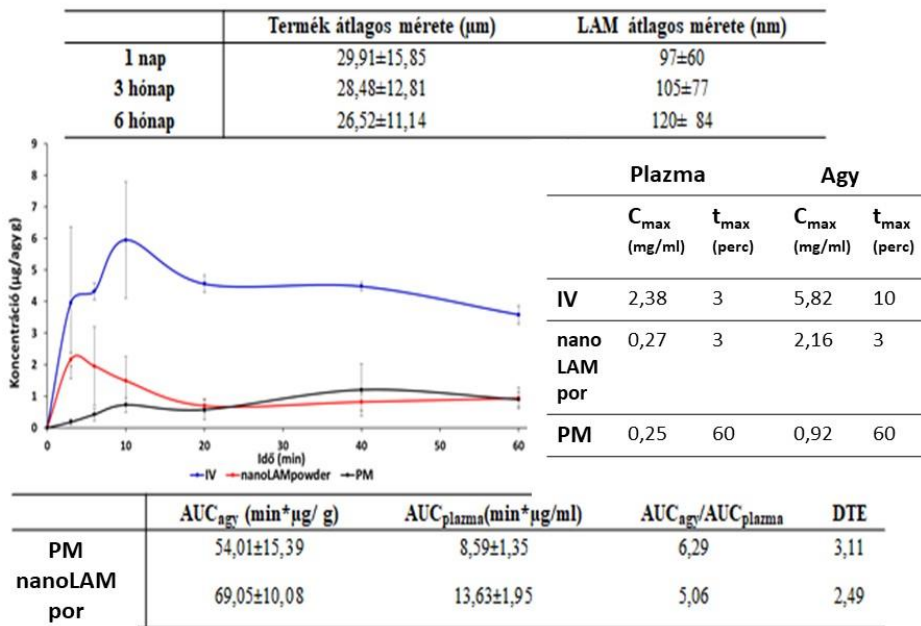
T10. Igazoltuk mikronizált és nanonizált meloxikám-tartalmú prediszperziók alkalmazhatóságát innovatív folyékony nazális gyógyszerkészítmények fejlesztésére. Fizikai-kémiai vizsgálatokkal először minősítettük és vizsgáltuk a meloxikám-kálium alternatív beviteli kapukon történő alkalmazását (EGIS által szabadalmaztatott termék). Megállapítottuk, hogy szintetikus és természetes polimerek interakciója befolyásolja a kioldódást, a PVP-HA tartalmú formuláció gyors („fast release”), míg a PVA-HA alkalmazása esetén a hatóanyagfelszabadulás szabályozott („controlled release”). A nanoMEL-PVA és a MELK intranazális beadása a készítmények nagyobb relatív felhalmozódását (% DTE, hatóanyag targetálási hatékonyság) eredményezte az agyban az axonális transzport révén, mint az IV adminisztráció (K19, K20, K21, EK5).

T11. A szonikálással kombinált anti-oldószeres kicsapás alkalmas eljárásnak bizonyult loratadin-tartalmú prediszperzió preformulálására. Tudomásunk szerint először állítottunk elő loratadin nanoszuszpenzióból formulált intranazális készítményt. Mukoadhezív anyagként HA javasolható különböző koncentrációban, amely befolyásolta a rendszer fizikai-kémiai-reológiai sajátságait. Stabilitás vizsgálat során meghatároztuk a tárolási hőmérsékletet, amely révén megtartotta kedvező sajátságait a forma. *In vivo* tesztekkel igazolva a készítmény terápiás hatékonyságát, ami többszörösére nőtt a bevételre szánt készítménnyel összehasonlítva (K22).

A vizsgált nazális készítmények (T10-11) nem befolyásolják az orrhámsejtek életképességét. MTT-teszt és valós idejű vizsgálat segítségével először igazoltuk, hogy a hatóanyag nanorészecskéket és nátrium-hialuronátot tartalmazó folyékony gyógyszerkészítmények nem toxikusak az emberi orrhámsejtekre (K22).

T12. Száraz ko-örléssel optimalizált nanonizált lamotrigin-PVA prediszperzió mint végtermék nazális porkészítményként alkalmazható, amellyel igazoltuk, hogy bejut a központi idegrendszerbe. A PVA megfelelő mátrixot szolgáltat a LAM nanorészecskék számára a ko-örlés során, ezzel segítve kimagasló *in vitro* és *in vivo* eredmények elérését (K23).

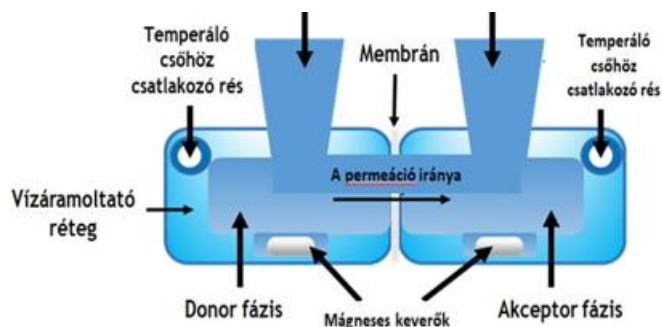
A 7. ábra bemutatja, hogy *in vitro* hatóanyagfelszabadulás- és permeabilitás-vizsgálatok során az optimalizált mintából gyors és nagymértékű LAM felszabadulást és permeabilitást detektáltunk. Az *in vivo* vizsgálatok esetében nanoLAM por és a fizikai keverék kontroll (PM) is 0,555 mg LAM-ot tartalmazott. Ezt az adagot 160-180 g-os hím Sprague–Dawley patkányok (n = 4) jobb orrlyukába adtuk be kis spatulával. Az *in vivo* vizsgálatokban, az IV adott minta esetében, a hatóanyag nagyobb mértékben jutott be a szisztémás keringésbe, mint a nazálisan alkalmazott összetételeknél, amelyek között nem volt számottevő különbség.



7. ábra Nanonizált LAM nazális por jellemzése és *in vivo* vizsgálati eredményei

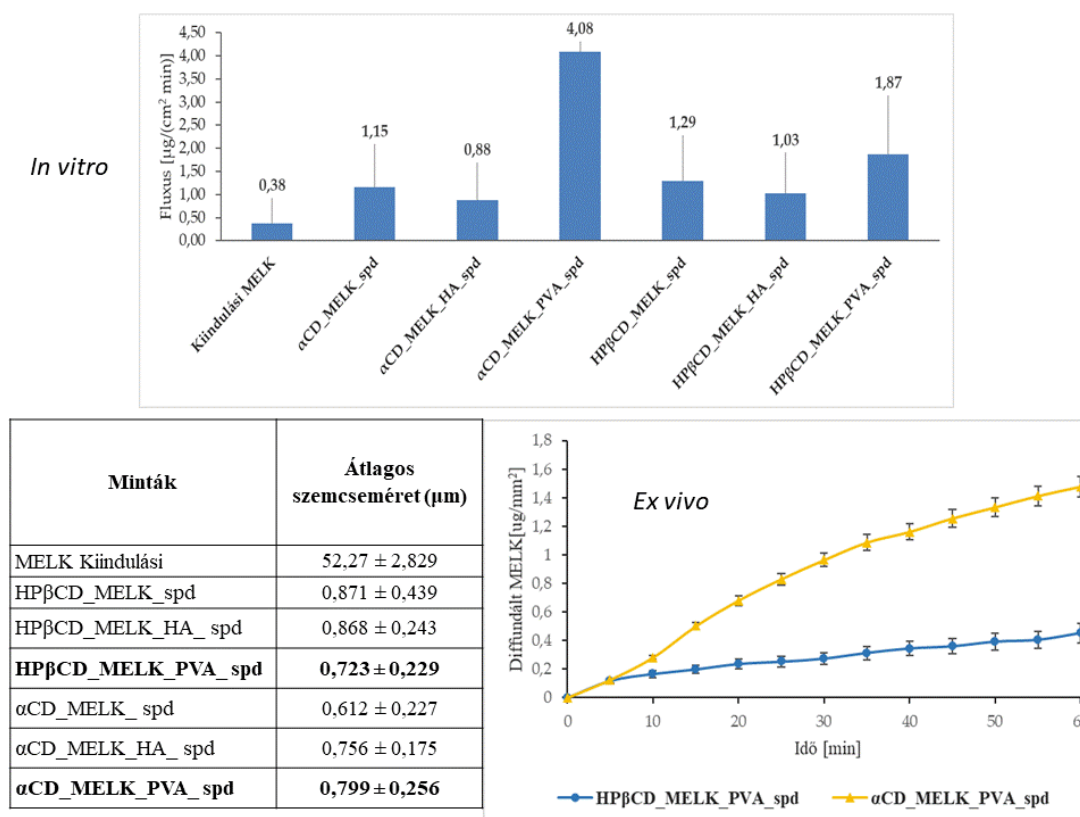
T13. Kifejezetten szuszpenzió- és por forma teszteléséhez diffúziós vizsgáló módszert fejlesztettünk. Összehasonlító méréseket végeztünk a vertikális Franz Cella és az általunk kifejlesztett horizontális cella alkalmazhatóságával kapcsolatban. Megállapítottuk, hogy a vizsgált mikro- és nanoszuszpenziók, szilárd diszperziók esetében a horizontális cella alkalmazása javasolt, mivel kisebb szórás mellett, nagyobb farmakon diffúziót biztosít, köszönhetően a geometria elrendezésnek, a donor fázis folyamatos keverhetőségének és az *in-line* hatóanyag-meghatározás analitikai háttérének.

A módosított diffúziós modell alkalmas a nazális/pulmonális körülményekhez igazodva (szimulált elektrolit oldatok), kis térfogatban (3-9 ml), hatóanyagnak megfelelő membrántípus és impregnálás alkalmazásával a hatóanyag diffúziójának monitorozására, ezáltal akceptor és donor fázisban lévő koncentrációjának meghatározására. Igazoltuk a rendszer *in vitro* és *ex vivo* mérési alkalmazhatóságát. Mérési protokollt dolgoztunk ki, amit validáltunk (K24, K25, K26, EK6) (8. ábra).



8. ábra Sajátfejlesztésű diffúziós modell

A 9. ábra az *in vitro* fluxus érték 15 percnél nagyobb volt a HP-β-CD-t tartalmazó minták esetén, mint az α-CD-t tartalmazóknál, kivéve a PVA-tartalmú termékeket. Az αCD_MELK_PVA_spd-ből volt a MELK permeációja a legnagyobb mértékű (209 μg/cm² 60 perc alatt). A HA jelenléte a MELK *in vitro* permeációjának csökkenését eredményezte a duzzadás visszatartó hatása miatt, míg a PVA jelenléte mindkét CD tartalmú minta esetében jelentősen megnövelte az *in vitro* permeációt. A különbség az αCD_MELK_PVA_spd és a HPβCD_MELK_PVA_spd minták között az *ex vivo* mérések során jobban érzékelhető volt (1,47 μg/mm² és 0,45 μg/mm²), ami az α-CD HP-β-CD-nél nagyobb permeáció fokozó hatásának tudható be.



9. ábra *In vitro* és *ex vivo* mérési eredmények a szférikus MELK-tartalmú nanoszféra formuláció esetében

4.2.2 Hatóanyagot szállító mikroméretű hordozó rendszerek kutatása és fejlesztése pulmonális alkalmazás céljából

Kutatómunkánk során inhalációs porok (DPI, száraz porinhalációs rendszer) fejlesztésével foglalkoztunk, ahol a szemcseméretcsökkentés és preformulálás együtt valósult meg (dezintegráló és integráló eljárások). Alapul véve az előzetesen már optimalizált prediszerzió összetételeket, illetve a ko-porlasztva szárítás során az előnyös szemcseképzési technológiát új összetételek fejlesztése valósítható meg.

T14. Eljárás- és összetételfejlesztést végeztünk inhalációs porok hordozóalapú és hordozómentes formulálási lépéseinek kombinálásával. Igazoltuk, hogy interpartikuláris kölcsönhatások befolyásolásával (hordozó felületkezelése, hatóanyag habitus módosítása, interaktív fizikai keverék előállítás) kiemelkedően magas tüdődepozíció (~75 % FRF, finom részecske frakció) érhető el, ezáltal új lehetőséget javasolva a hordozóalapú készítmények reformulálására (4. táblázat) (K27, EK7, EK8).

4. táblázat Interpartikuláris kölcsönhatások és *in vitro* aerodinamikai jellemzők

Minták	W_{adh} [mN/m]	F_{adh} [mN]	W_c [mN/m]	FRF (%)		MMAD (μ m)
				< 5 μ m	< 3 μ m	
μ MEL			118,76	27,71 \pm 1,32	15,52 \pm 0,66	6,54 \pm 0,15
μ MEL + IH70	101,16	1,68* 10 ⁻³		24,99 \pm 0,89	14,71 \pm 0,27	7,18 \pm 0,06
μ MEL + IH70_MgSt				31,50 \pm 1,08	19,17 \pm 0,45	7,43 \pm 0,11
MELspd			146,74	59,47 \pm 1,33	37,66 \pm 0,36	3,41 \pm 0,18
MELKspd + IH70	102,67	0,67* 10 ⁻³		59,60 \pm 0,65	35,68 \pm 0,21	3,82 \pm 0,16
MELKspd + IH70_MgSt	76,80	0,49* 10⁻³		72,32 \pm 0,74	46,05 \pm 0,41	3,11 \pm 0,09

W_{adh} :adhéziós munka; F_{adh} : ahéziós erő; W_c : kohéziós munka; FRF: finom részecske frakció; MMAD: átlagos aerodinamikai átmérő

T15. Igazoltuk, hogy egylépéses eljárással mikroszuszpenzióból, „micro-in-micro” hatékony DPI rendszerek képezhetők. Megállapítottuk, hogy a LEU alkalmazásával a belélegezhető frakció növelhető, polimerekkel (PVA, PVP) módosítható a felület, míg a mikronos hordozóval (M) befolyásolható a méret és a szférikus morfológia. A kidolgozott eljárás kifejezetten alkalmas a vízben rosszul oldódó hatóanyagok szemcseméretének csökkentésére és koprolasztva szárítással stabil kristályos és a pulmonális alkalmazásnak megfelelő habitusú mikrokompozit fejlesztésére (K28, K29, EK9).

Oldatból segédanyagok hozzáadásával (LEU, PVA, HA, AB) először állítottunk elő inhalációra alkalmas NSAID tartalmú porózus és nem porózus DPI-eket. Megállapítottuk, hogy a porózus és nem-porózus formuláció biztonságosnak tekinthető A549-es humán alveoláris sejtvonalon 1 mg/ml-es koncentráció alatt. Összehasonlító vizsgálatok eredményei alapján kijelenthető, hogy a kis sűrűségű, nagyobb geometriai átmérővel rendelkező porózus részecskék az *in vitro* és *in silico* aerodinamikai analízise szerint előnyösebb formulációnak tekinthető, mint a nem porózus (K30, K31, EK10).

T16. Optimalizált prediszperzió nano porlasztva-szárítással történő integrálása (diszperzitásfoknövelő segédanyag alkalmazásával) nano-DPI formulálását („nano-in-micro/extrafine”) valósítottuk meg, az innovatív termék nanorészecskék agglomerátumait tartalmazva kis sűrűségű, közel 1 μ m MMAD-val rendelkezve, kimagasló aerodinamikai sajátságokkal, magas tüdődepozíciót jelez előre *in vitro* és *in silico*. A kétlépéses előállítási módszer összekapcsolása adaptálható gyenge vízoldékonyságú hatóanyagok esetén (oldódási sebesség és permeabilitás fokozásával) inhalációs porok előállítására, ami az ipar számára is alkalmazható technológiai újítás (K18, K31).

T17. Olyan vizsgálati protokoll került kidolgozásra, amely az inhalációra szánt szárazpor készítmények kutatásához és fejlesztéséhez teljes körű fizikai-kémiai, szerkezeti, morfológiai és aerodinamikai (*in vitro* és *in silico*) analízist foglal magába. Az *in silico* aerodinamikai modell preformulálási protokollba illesztését először javasoltuk, amely lehetővé teszi az egyénre-szabott gyógyszerfejlesztés korai fázisban történő megvalósítását (5. táblázat) (K28, K29, K30, K31, K32).

5. táblázat Nanonizált MEL-t tartalmazó prediszperzió DPI formulálása

	“Nano-in-micro” formulálás	“Nano-in-extrafine” formulálás
Hatóanyag	MEL: 1,5 mg/ml	MEL: 1,5 mg/ml
Segédanyagok	LEU: 20-40 mg/ml PVA: 2-2,5 mg/ml	LEU: 20-40 mg/ml PVA: 2-2,5 mg/ml
Eljárás	Nedves őrlés-prediszperzió 138 nm, Porlasztva szárítás (165 °C)	Nedves őrlés-prediszperzió 138 nm Nano-porlasztva szárítás (80 °C)
Kitermelés	45-58 %	61-64 %
Morfológia	Szférikus, fánkyszerű, egyenetlen felszín	Szférikus, egyenetlen felszín
Geometriai átmérő	3,1-4,4 µm	1,1-1,5 µm
Kristályosság	Részben amorf (29-58%)	Részben amorf (54-69 %)
Sűrűség	0,20-0,28 g/cm ³	0,30-0,32 g/cm ³
In vitro kioldás	t ₃₀ =	t ₃₀ = 100 %)
Citotoxicitás	Nem toxikus	Nem toxikus
Gyulladáscsökkentő hatás	-	Jelentős
In vitro aerodinamikai tulajdonságok		
EF	72-84%	30-81 %
FRF	73-76%	62-95 %
MMAD	1,5-2,4 µm	1,2-2,2 µm
In silico aerodinamikai tulajdonságok (t_{b-h}=10 s)		
Felső légúti	10-22%	5-34 %
Tüdő/Centrális	22-47%	16-29 %
Kilélegzett/Periféria	32-68%	29-67 %
Terápiás alkalmazási javaslat	Krónikus obstruktív tüdőbetegség, Cisztás fibrózis	Covid-19 okozta tüdőgyulladás, Nem kissejtes tüdőcarcinóma

V. EREDMÉNYEK GYAKORLATI RELEVANCIÁI**1. Szemcseméretcsökkentés: mikronizálás és nanonizálás dezintegráló/integráló eljárások optimalizálása: innovatív technológia**

Szemcseméretcsökkentő eljárások és technológiák paramétereinek optimalizálása (100-500 nm) fontos kutatási és fejlesztési feladat. Az egyes eljárások vonatkozásában ún. **minőség alapú tervezést (QbD)** alkalmaztunk és a **szabályozási háttér** is megvizsgáltuk a termék hasznosíthatósága céljából (EMA, FDA). Ezek az eljárási protokollok minden olyan anyag esetében javasolhatók, ahol a szemcsék habitusának, fizikai-kémiai sajátosságainak módosítására van szükség, amely révén biológiai hatékonyság és feldolgozhatóság is javítható. Ezáltal **gyógyszeripari szakember gyári fejlesztési munkája, illetve szabadalmak bejelentése támogatható.**

Meghatároztuk a szárazőrlés kritikus paramétereit, kockázatbecslést, illetve részletes minőségi analízist végeztünk. **A bolygómalom zárt teret biztosít, ún. kiporzás-mentes eljárásnak tekinthető, ezért az erős hatású hatóanyagok esetén is adaptálható.** Kutatási eredményeink újdonságát az őrlési paraméterek és a polimer mennyiségének optimalizálása jelenti a hatóanyag adott szemcseméretének eléréséhez (őrlés hatékonysága), a **nanoszuszpenzió, mint köztitermék egy lépésben történő környezetkímélő előállításához (innovatív technológia).** A nanomérettartomány ko-őrlő segédanyagok (polimerek, felületaktívanyagok) jelenlétében érhető el.

Két technika előnyeit kombinálva tettünk javaslatot **újszerű nedves ko-örléses eljárás módszerére**, amelyre a kis diszperziós közeg-igény, nagy hatékonyság és léptéknövelhetőség jellemző, mikronizált és nanonizált hatóanyag tartalmú köztitermék állítható elő.

A **statikus szonikáció** nem méretnövelhető, ezért kis mennyiségű minta előállítására alkalmas (**preklinikai mintaelőkészítés**). **Dinamikus szonikációval** nagyobb mennyiségű minta is kezelhető, a módszer **standardizálható és méretnövelhető**.

Az **integráló eljárások** közül a kombinált precipitációs technológiák **kis mennyiségű minta nanoprecipitációjára (kis dózisú anyagok)** javasolható.

Az **alternatív energiaforrások** közül az elektroporlasztással és plazma-szintézissel segédanyag alkalmazása nélkül képezhetők **nanoméretű kristályos szemcsék, amelyek hordozófelületén történő elosztatását javasoltuk a preformulálás során, új lehetőségeket biztosítva gyártásban és preformulálásban.**

Nano porlasztva-szárítással végzett oldószer elpárologtatás technológiai és anyagi paramétereit definiáltuk nanoméretű hatóanyagot tartalmazó szemcsék képzése céljából, amely már **használatra alkalmas végtermék** előállítását is eredményezheti.

A bemutatott szemcseméretcsökkentő eljárások gyógyszerkészítmény fejlesztésre alkalmas prediszperzió előállítására alkalmazhatóak (pl. szárító eljárást követően meloxicám nanorészecskéket tartalmazó orodiszperz liofilizátum).

2. Prediszperzió: mikro- és nanoszuszpenziók kutatása és fejlesztése: innovatív termék

A tanulmányozott folyamatokkal nagy kitermelés érhető el, kíméletes, léptéknövelhető eljárások (laborméret, pilot üzem).

A **prediszperzió** (köztitermék) **stabilizálása** anyagi és technológiai paraméterek optimalizálásával megvalósítható. Folyamatkövetés és -ellenőrzés prediszperziók előállítása során (ipari alkalmazhatóság, reprodukálhatóság, robosztusság).

Szárazörlés alkalmazásával „mikro méretű” kristályokból amorf nanorészecskék állíthatóak elő, amely köztitermékből nazális viszkózus folyadék formulálható.

A kisebb diszperziós közeg-igényű cirkónium oxid gyönggyel történő nedves örlés nagyobb hatékonyságú és kifejezetten ajánlott különböző szemcseméretű hatóanyagot tartalmazó prediszperziók előállítására, amelyből per os, nazális és pulmonális forma is fejleszthető.

Új eljárási protokoll kidolgozása nanorészecskék tüdőbe juttatására. „nano-in-micro” inhalációs termék fejlesztése (innovatív termék).

Horizontális **diffúziós modell fejlesztése**, validálása szuszpenziók, porok vizsgálatára (geometria elrendezés, „real time”, membrán impregnálás, kis térfogat). Inhalációs készítményfejlesztési vizsgálati protokoll ajánlása, *in silico* aerodinamikai modell beépítésével.

3. Preformulálás/gyógyszerformulálás/terápiás előnyök: „value added” készítmények

Orodiszperz és per os alkalmazású készítmények re-formulálásában minőségi ugrást jelent nanorészecskék előállítása, ezáltal a dóziscsökkentés, mellékhatás mérséklése és a biológiai hasznosíthatóság növelése érhető el (meloxicám, gemfibrozil, nifluminsav).

A szisztémás hatású **nazálisan alkalmazott gyógyszerek** száma egyre növekszik. Olyan betegségek esetén érdemes ilyen készítményeket használni, amikor **azonnali gyors hatásra van szükség** (pl. sürgősségi fájdalomcsillapítás, epilepsziás görcsök), a betegség a bélmotilitást is érinti, így az enterális felszívódás változik, valamint amelyek esetén hosszantartó gyógyszeres terápia szükséges és ezzel az egyszerű adagolási móddal növelhető a beteg „compliance” (meloxicám, loratadin). Külön előnyt jelent **hatóanyagok intranazális agyba juttatása, központi idegrendszeri hatás kiváltása** céljából neurodegeneratív kórképek kezelése (meloxicám, lamotrigin).

A meloxicám elsőként választható nem szteroid gyulladáscsökkentő szer, mivel pulmonális alkalmazása során az acetyl-salicilsavra jellemző hiperszenzitivitási reakciók nem észlelhetők. Azonban **ilyen indikációval meloxicám-tartalmú készítmény nincs forgalomban**, először vizsgáltuk annak lehetőségét, hogy inhalációs összetétel formulálásával („szuper generikumként”) megcélazzuk a tüdő bronchiális régióját. Egyéb nem szteroid gyulladásgátlók is alkalmazhatók a lokális gyulladással járó folyamatok visszaszorítására, így újonnan fejlesztett készítmények eljuttatva az alveolusokig potenciális szereplői lehetnek a terápiának. Különböző kórfolyamatok hatékonyabb vagy kiegészítő kezelése: cisztás fibrózis, COPD, tüdőgyulladás stb. **A munka újdonságát jelzi az SZTE Innovációs pályadíjának elnyerése (2023) és ipari megkeresés az összetétel és technológia vonatkozásában.**

A kutatási terület hazai-nemzetközi-ipari partnerségi kapcsolatokat erősítette. Az eredmények segíthetik originális nanogyógyszerek generikus formában történő gyártását, illetve esetleges originális nanogyógyszer fejlesztését.

VI. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

Az értekezés alapját képező közlemények (K1-K32)

- K1-** Kürti, L; Kukovecz, Á; Kozma, G; **Ambrus, R**; Deli, M; Szabó-Révész, P
Study of the parameters influencing the co-grinding process for the production of meloxicam nanoparticles. *Powder Techn.* **2011**, 8, 210-217
IF: 2,08; Q1; Hiv: 32
- K2-** Gieszinger, P; Csóka, I; Pallagi, E; Katona, G; Jójárt-Laczkovich, O; Szabó-Révész, P; **Ambrus, R**
Preliminary study of nanonized lamotrigine containing products for nasal powder formulation. *Drug Des Devel Ther.* **2017**, 14, 2453-2466
IF: 2,935; Q1; Hiv: 6
- K3-** Gieszinger, P; Tomuta, I; Casian, T; Bartos, Cs; Szabó-Révész, P; **Ambrus, R**
Definition and validation of the Design Space for co-milled nasal powder containing nanosized lamotrigine. *Drug Devel Ind Pharm.* **2018**, 9, 1622-1630
IF: 2,367; Q2; Hiv: 4
- K4-** Bartos, C; Szabó-Révész, P; Bartos, Cs; Katona, G; Jójárt-Laczkovich, O; **Ambrus, R**
The effect of an optimized wet milling technology on the crystallinity, morphology and dissolution properties of micro- and nanonized meloxicam. *Molecules*, **2016**, 21(507), 11
IF=2,861; Q1; Hiv: 16
- K5-** Bartos, Cs; Jójárt-Laczkovich, O; Katona, G; Budai-Szűcs, M; **Ambrus, R**; Bocsik, A; Gróf, I; Deli, M A; Szabó-Révész P
Optimization of a combined wet milling process in order to produce poly(vinyl alcohol) stabilized nanosuspension. *Drug Des Devel Ther.* **2018**, 12, 1567-1580
IF: 3,208; Q1; Hiv: 8

- K6-** Bartos, Cs; **Ambrus, R**; Katona, G; Gáspár, R; Márki, Á; Ducza, E; Ivanov, A; Tömösi, F; Janáky, T; Szabó-Révész P
Transformation of meloxicam containing nanosuspension into surfactant-free solid compositions to increase the product stability and drug bioavailability for rapid analgesia. *Drug Des Dev Ther.* **2019**, 13, 4007-4020
IF: 3,216; Q1; Hiv: 8
- K7-** Bartos, C; Szabó-Révész, P; **Ambrus, R**
Optimization of technological parameters by acoustic cavitation to achieve particle size reduction. *Farmacia (Bukarest).* **2014**, 14, 34-47
IF: 1,005; Q2; Hiv: 3
- K8-** Bartos, C; Kukovecz, Á; **Ambrus, R**; Farkas, G; Radacsi, N; Szabó-Révész, P
Comparison of static and dynamic sonication as process intensification for particle size reduction using a factorial design. *Chem Eng Process.* **2015**, 87, 26-34
IF: 2,154; Q1; Hiv: 15
- K9-** Iurian, S; Bogdan, C; Tomuța, I; Szabó-Révész, P; Chvatal, A; Leucuța, S; Moldovan, M; **Ambrus, R**
Development of oral lyophilisates containing meloxicam nanocrystals using QbD approach. *Eur J Pharm Sci.* **2017**, 10, 356-365
IF: 3,466; Q1; Hiv: 20
- K10-** **Ambrus, R**; Kocbek, P; Kristl, J; Sibanc, R; Rajko, R; Szabó-Révész, P
Investigation of preparation parameters to improve the dissolution of poorly water-soluble meloxicam. *Int J Pharm.* **2009**, 7, 153-159
IF: 2,962; Q1; Hiv: 70
- K11-** **Ambrus, R**; Amirzadi, N N; Sipos, P; Szabó-Révész, P
Effect of sonocrystallization on the habit and structure of gemfibrozil crystals. *Chem Eng Techn.* **2010**, 6, 827-832
IF: 1,394; Q1; Hiv: 20
- K12-** **Ambrus R**; Amirzadi N N; Aigner Z; Szabó-Révész P
Formulation of poorly water-soluble gemfibrozil applying power ultrasound. *Ultrason Sonochem.* **2012**, 6, 286-291
IF: 3,516; Q1; Hiv: 11
- K13-** Alshweiat, A; Katona, G; Csóka, I; **Ambrus, R**
Design and characterization of loratadine nanosuspension prepared by ultrasonic-assisted precipitation. *Eur J Pharm Sci.* **2018**, 11, 94-104
IF: 3,532; Q1; Hiv: 25
- K14-** Radacsi, N; **Ambrus, R**; Szunyogh, T; Szabó-Révész, P; Stankiewicz, A; Van Der Heijden, A; Ter, Horst JH
Electrospray crystallization for nanosized pharmaceuticals with improved properties. *Cryst Growth Des.* **2012**, 7, 3514-3520
IF: 4,689; D1; Hiv: 33
- K15-** **Ambrus, R**; Radacsi, N; Szunyogh, T; Van der Heijden, A; Ter, Horst JH; Szabó-Révész, P
Analysis of submicron-sized niflumic acid crystals prepared by electrospray crystallization. *J Pharm Biomed Anal.* **2013**, 7, 1-7
IF: 2,829; D1; Hiv: 12
- K16-** Radacsi N; **Ambrus R**; Szabó-Révész P; Van Der Heijden A; Ter Horst JH
Atmospheric pressure cold plasma synthesis of submicrometer-sized pharmaceuticals with improved physicochemical properties. *Cryst Growth Des.* **2012**, 6, 5090-5095
IF: 4,689; D1; Hiv: 5
- K17-** Radacsi, N; Stefanidis, G. D; Szabó-Révész, P; **Ambrus, R**
Analysis of niflumic acid prepared by rapid microwave-assisted evaporation. *J Pharm Biomed Anal.* **2014**, 6, 16-21
IF: 2,979; D1; Hiv: 11

- K18-** Party, P; Kókai, D; Burián, K; Nagy, A; Hopp, B; **Ambrus, R**
Development of extra-fine particles containing nanosized meloxicam for deep pulmonary delivery: in vitro aerodynamic and cell line measurements. *Eur J Pharm Sci.* **2022**, 13, 106247
IF: 5,112; Q1;
- K19-** Kürti, L; Gáspár, R; Márki, Á; Kápolna, E; Bocsik, A; Veszélka, S; Bartos, C; **Ambrus, R** Vastag, M; Deli, MA; Szabó-Révész, P
In vitro and in vivo characterization of meloxicam nanoparticles designed for nasal administration
Eur J Pharm Sci. **2013**, 7, 86-92
IF: 3,005; Q1: 29
- K20-** Bartos, Cs; **Ambrus, R**; Sipos, P; Budai-Szűcs, M; Csányi, E; Gáspár, R; Márki, Á; B Seres, A; Sztojkov-Ivanov, A; Horváth, T; Szabó-Révész, P
Study of sodium hyaluronate-based intranasal formulations containing micro- or nanosized meloxicam particles. *Int J Pharm.* **2015**, 10, 198-207
IF: 3,944; D1; Hiv: 15
- K21-** Bartos, C; **Ambrus, R**; Kovács, A; Gáspár, R; Sztojkov-Ivanov, A; Márki, Á; Janáky, T; Tömösi, F; Kecskeméti, G; Szabó-Révész, P
Investigation of Absorption Routes of Meloxicam and Its Salt Form from Intranasal Delivery Systems. *Molecules.* **2018**, 13, 784
IF: 3,06; Q1; Hiv: 5
- K22-** Alshweiat, A; Csóka, I; Tömösi, F; Janáky, T; Kovács, A; Gáspár, R; Sztojkov-Ivanov, A; Ducza, E; Márki, Á; Szabó-Révész, P; **Ambrus R**
Nasal delivery of nanosuspension-based mucoadhesive formulation with improved bioavailability of loratadine: preparation, characterization, and in vivo evaluation. *Int J Pharm.* **2020**, 579, 119166
IF: 5,875; D1; Hiv: 29
- K23-** **Ambrus, R**; Gieszinger, P; Gáspár, R; Sztojkov-Ivanov, A; Ducza, E; Márki, Á; Janáky, T; Tömösi, F; Kecskeméti, G; Szabó-Révész, P; Bartos, C
Investigation of the Absorption of Nanosized lamotrigine Containing Nasal Powder via the Nasal Cavity. *Molecules.* **2020**, 15, 1065
IF: 4,412; Q1; Hiv: 9
- K24-** Bartos, Cs; Szabó-Révész, P; Horváth, T; Varga, P; **Ambrus, R**
Comparison of Modern In Vitro Permeability Methods with the Aim of Investigation Nasal Dosage Forms. *Pharmaceutics.* **2021**, 12, 846
IF: 6,525; Q1; Hiv: 5
- K25-** Gieszinger, P; Kiss, T; Szabó-Révész, P; **Ambrus, R**
The Development of an In Vitro Horizontal Diffusion Cell to Monitor Nasal Powder Penetration Inline
Pharmaceutics. **2021**, 6, 809
IF: 6,525; Q1;
- K26-** Varga, P; **Ambrus, R**; Szabó-Révész, P; Kókai, D; Burián, K; Bella, Zs; Fenyvesi, F; Bartos, Cs
Physico-chemical, in vitro and ex vivo characterization of meloxicam potassium-cyclodextrin nanospheres. *Pharmaceutics.* **2021**, 14, 1883
IF: 6,525; Q1; Hiv: 1
- K27-** Benke, E; Farkas, Á; Szabó-Révész, P; **Ambrus, R**
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.* **2020**, 19, 535
IF: 6,321; Q1; Hiv: 7
- K28-** Pomázi, A; **Ambrus, R**; Sipos, P; Szabó-Révész, P
Analysis of co-spray-dried meloxicam-mannitol systems containing crystalline microcomposites. *J Pharm Biomed Anal.* **2011**, 8, 183-190
IF: 2,967; D1; Hiv: 17

K29- Pomázi, A; Buttini, F; **Ambrus, R**; Colombo, P; Szabó-Révész, P
Effect of polymers for aerolization properties of mannitol-based microcomposites containing meloxicam. *Eur Polymer J.* **2013**, 10, 2518-2527

IF: 3,242; Q1; Hiv: 18

K30- Chvatal, A; Farkas, Á; Balásházy, I; Szabó-Révész, P; **Ambrus, R**
Aerodynamic properties and in silico deposition of meloxicam potassium incorporated in a carrier-free DPI pulmonary system. *Int J Pharm.* **2017**, 9, 70-78

IF: 3,862; D1; Hiv: 12

K31- Chvatal, A; **Ambrus, R**; Party, P; Katona, G; Jójárt-Laczkovich, O; Szabó-Révész, P; Fattal, E; Tsapis, N
Formulation and comparison of spray dried non-porous and large porous particles containing meloxicam for pulmonary drug delivery. *Int J Pharm.* **2019**, 8, 68-75

IF: 4,845; D1; Hiv: 32

K32- Party, P; Bartos, Cs; Farkas, Á; Szabó-Révész, P; **Ambrus, R**
Formulation and In Vitro and In Silico Characterization of “Nano-in-Micro” Dry Powder Inhalers Containing Meloxicam. *Pharmaceutics.* **2021**, 18, 211

IF: 6,525; Q1; Hiv: 3

Az értekezés témaköréhez kapcsolódó egyéb közlemények

EK1- Szunyogh, T; **Ambrus, R**; Szabó-Révész, P
Nanonization of Niflumic Acid by Co-Grinding. *Advances In Nanoparticles.* **2013**, 7, 329-335

EK2- Gieszinger, P; Katona, G; Szabó-Révész, P; **Ambrus, R**
Stability study of nasal powder formulation containing nanosized lamotrigine. *Acta Pharm Hung.* **2020**, 90, 27-31

EK3- **Ambrus, R**; Bartos, Cs; Szabóné Révész, P
Eljárési paraméterek optimalizálása szónikus kavitáció alkalmazásával hatóanyag szemcseméret csökkentése céljából. *Acta Pharm Hung.* **2011**, 81, 51-58

EK4- Szunyogh, T; **Ambrus, R**; Szabó-Révész, P
Formation of niflumic acid particle size by solvent diffusion and solvent evaporation as precipitation methods. *J D D S T.* **2012**, 307-312

EK5- Horváth, T; **Ambrus, R**; Völgyi, G; Budai-Szűcs, M; Márki, Á; Sipos, P; Bartos, Cs; Seres, A; Sztojkov-Ivanov, A; Takács-Novák, K; Csányi, E; Gáspár, R; Szabó-Révész, P
Effect of solubility enhancement on nasal absorption of meloxicam. *Eur J Pharm Sci.* **2016**, 7, 96-102

EK6- Horváth Tamás, Ambrus Rita, Szabóné Révész Pirooska
Nazális gyógyszerformák permeabilitási vizsgálata Side-Bi-Side™ horizontális cella alkalmazásával
ACTA PHARMACEUTICA HUNGARICA 85 : 1 pp. 19-28. , 10 p. (2015)

EK7- **Ambrus, R**; Benke, E; Farkas, Á; Balásházy, I; Szabó-Révész, P
Novel dry powder inhaler formulation containing antibiotic using combined technology to improve aerodynamic properties *Eur J Pharm Sci.* **2018**, 8, 20-27

EK8- Benke, E; Varga, P; Szabó-Révész, P; **Ambrus, R**
Stability and In Vitro Aerodynamic Studies of Inhalation Powders Containing Ciprofloxacin Hydrochloride Applying Different DPI Capsule Types. *Pharmaceutics* **2021**, 16, 689

EK9- **Ambrus, R**; Pomázi, A; Reti-Nagy, K; Fenyvesi, F; Vecsernyes, M; Szabó-Révész, P
Cytotoxicity testing of carrier-based microcomposites for DPI application. *Pharmazie* **2011**, 2, 549-550

EK10- Chvatal, A; Alzhrani, R; Tiwari, Amit, K.; **Ambrus, R**; Szabó-Révész, P; Sai, HS. B
Cytotoxicity of inhalable dry powders in A459 human lung cancer cell line. *Farmacia* (Bucharest). **2018**, 66, 172-175