

VÁLASZ

Prof. Dr. Noszál Béla, az MTA kémia tudományok doktorának

„Szemcseméretcsökkentő eljárások a modern gyógyszerfejlesztésben; nazális és pulmonális hatóanyagbevitel” című az MTA doktora fokozat elnyerésére benyújtott értekezésem bírálataira

Tisztelettel köszönöm Noszál Béla Professzor Úr részletes, építő jellegű bírálatát, előremutató szakmai észrevételeit. Köszönöm, hogy kihangsúlyozta a téma fontosságát, amely szerint értekezésem egy kevésbé feltárt, komoly perspektívákkal rendelkező gyógyszerfejlesztési terület. Opponensem bírálatában kiemelte az eredmények jelentőségét, ezáltal a tézispontok elfogadását. A dolgozattal kapcsolatos észrevételekre, szakmai kérdésekre az alábbiakban válaszolok:

-Köszönöm és egyetértek Opponensem „Fontosabb fogalmak magyarázata” című fejezetre tett kritikai észrevételeivel, definíciókra vonatkoztatott források hiányára tett megjegyzésével.

Szükségét éreztem a munka elején kiemelni azokat a fogalmakat, kifejezéseket, amelyek az értekezés témáit tekintve a fejezetekben előfordulnak, technológiai szempontból magyarázatot igényelhetnek. A formai korlátok miatt, 1 oldal terjedelmet nem meghaladva, a legfontosabbnak ítélt 10-15 fogalom megadása mellett döntöttem. Hivatkozásokkal történő alátámasztásokat pedig az irodalmi és kísérletes fejezetekben igyekeztem megadni.

Az aggregátum, agglomerátum, nanoanyag, részecske/szemcse definiálása az Európai Unió javaslata alapján került megadásra:

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX%3A32011H0696>

European C. Commission Recommendation of 10 June 2022 on the definition of nanomaterial 2022;36237:1–5.
<https://doi.org/10.2788/36237>

-A 12. oldalon az áll, hogy „szemcseméretcsökkentő (dezintegráló és integráló) eljárásokat igényel”. Az integráló eljárás nem inkább növeli a szemcseméretet?

Az általam használt kifejezéseket az irodalomból vettem, de elfogadom Opponensem észrevételét, miszerint „szemcseméretcsökkentő (dezintegráló) és szemcseméretnövelő (integráló) eljárásokat igényel”.

- Yadav GV. et al. Nanosuspension: A Promising Drug Delivery System, Pharmacophore 2012. 3, 217-243

-A 13. oldalon levő „Célkitűzések” fejezethez tartozó 1. ábra magyarázata a következő:

Az összefoglaló folyamatábra egy protokollt szemléltet (rendhagyó módon), ahol a (-) jelölés a problémafelvetést, a (+) jelzés pedig a várt eredményeket mutatja. A közbülső lépések (1, 2,

3) az alkalmazott technológiai megoldásokat és vizsgálatokat jelölik. A konkrét célkitűzéseket pedig szövegesen, pontokba szedve (1-3) tüntettem fel a 14. oldalon.

-A 15. oldalon azt írja: „A hatóanyagok fizikai-kémiai sajátágaira a szemcseméret eloszlás, s azok specifikus felülete és az egyes szemcsék morfológiai sajátága nagy befolyással van” Ebben az állításban felcserélődik az ok és okozat. A legfőbb bioreleváns fizikai-kémiai sajátágok (savasság, bázikusság, lipofilitás, termodinamikai oldhatóság) molekuláris jellemzők, melyek nem függenek a szemcsemérettől. Természetesen, függenek a szemcsemérettől egyes fontos gyakorlati tulajdonságok (pl. az oldódás sebessége) de ezek nem az anyag inherens fizikai-kémiai tulajdonságai.

Köszönöm a pontosítást. Természetesen az itt megjelölt szemcseméreteloszlás, specifikus felület, az egyes szemcsék morfológiai sajátága nem tartozik a bioreleváns fizikai-kémiai sajátágok közé.

-Köszönöm, hogy felhívta figyelmemet a **17. oldalra vonatkozó helyesbítésekre (diffúziós réteg vastagság, nagyobb oldódási sebesség)**, illetve R, mint konstans gázállandó használatára.

-A 21. oldalon lévő abláció kifejezés nem található meg a „Fontosabb fogalmak magyarázata” című fejezetben. Mi lesz a plazmaállapotú anyagfelhő sorsa, csökken-e a hatóanyag mennyisége abláció után?

A lézeres abláció szilárd felületről végbemenő anyag eltávolítás lézersugárral történő besugárással. Alacsony lézerfluxus (lézer energiasűrűség, J/cm^2) esetén az anyagot az elnyelt energia felmelegíti, és elpárolog vagy szublimál. Nagy lézerfluxus esetén az anyag jellemzően plazmává alakul.

-Chichkov, B N et al. Femtosecond, picosecond and nanosecond laser ablation of solids, Applied Physics A. 1996. 63 (2), 109–115.

A lézeres ablációs jelenség kísérleti tapasztalataival kapcsolatban az alábbi választ tudom adni:

Az „időfelbontásos, gyorsképképező” vizsgálatok során a besugárzott minta felületén, közvetlenül a felület felett már a lézerimpulzus időtartama alatt egy fényes anyagfelhő figyelhető meg. A termális becslési számítások igazolták, hogy az általunk alkalmazott energiasűrűségek esetén a besugárzott minta legfelső rétegének hőmérséklete elérheti a több ezer K hőmérsékletet. Ez megfelel a termális plazma definíciójának. A plazmafelhőt alkotó anyag már valóban használhatatlan részecskéképzési eljárás szempontjából, mert kémiaiilag elbomlik és többnyire gáz halmazállapotú fragmentumokról van szó, amelyek elhagyják a reakcióteret, veszteséget jelentenek.

A plazmaállapot miatti veszteség minimális, ugyanis a kritikus hőmérséklet csak egy felső nagyon vékony rétegben jön létre (pl. tisztasági vizsgálat 5% alatti bomlásterméket mutatott ki, amely meloxicám esetében meloxicám B gyógyszerészeti standard volt).

-Nagy E. et al A comprehensive analysis of meloxicam particles produced by nanosecond laser ablation as a wet milling technique, Scientific Reports 2022. 12, 12551

-A 22. oldalon lévő összefüggéssel kapcsolatban célszerű lett volna megjegyezni, hogy ez csak akkor érvényes a túltelítettségre, mint metastabil állapotra, ha értéke meghaladja az 1-et. Itt jegyzendő meg az is, hogy a szuperszaturáció kifejezésnek van magyar megfelelője is, a túltelítettség. A nanoprecipitáció leírásához célszerű lett volna hozzátenni, hogy az itt említett kizósószert (anti-szolvens) akkor működik, ha molekulái vagy ionjai erősebben szolvatálódnak mint a kicsapni szánt nanopartikulák molekulái vagy ionjai.

A „Nanoprecipitációs folyamatok” című fejezetben azt írja, hogy „Amikor az anti-oldószerrel való gyors elegyítés után az oldott anyag koncentrációja a telítési koncentrációig (C^*) emelkedik és eléri a kritikus göcképződési koncentrációt (C_n), a kicsapódási folyamat kezdetét veszi.” Valójában, a kicsapódás nem azért veszi kezdetét, mert a kérdéses anyag koncentrációja az anti-oldószerrel való elegyítés után a telítési koncentrációig emelkedik, hiszen az anti-oldószerrel való elegyítéskor a nanoprecipitálendő anyag koncentrációja nem emelkedik, hanem csökken, ami könnyen belátható azzal, hogy az ugyanannyi anyag nagyobb térfogatban található. A precipitáció annak következtében indul meg, hogy az anti-szolvens anyag elvonja a nanoprecipitálendő anyag oldatban tartásához szükséges oldószer molekulák egy részét, vagyis a kicsapatandó anyag fokozatosan deszolvatálódik, aminek következtében a göcképződés, ezzel a precipitáció megkezdődik.

Köszönöm Professzor Úr szakmai észrevételeit és kiegészítéseit a nanoprecipitációs folyamatok részletes leírásával kapcsolatban.

-A 23. oldalon olvasható olvadék-emulgeálási eljárásnál célszerű lett volna megemlíteni, hogy ez abban az esetben működik, melyben a hatóanyag olvadáspontja alacsonyabb, mint az oldószer forráspontja.

Köszönöm kiegészítését a szövegben található „alacsony olvadáspontú hatóanyag” olvadék-emulgeálási eljárásokban történő felhasználhatóságára vonatkozóan.

-Számtalan, a 23. oldalon azt írja, hogy mikrohullám alkalmazásánál „...szilárdfázisú formulálásra alkalmas köztitermék állítható elő”. Hogyan értendő itt a „köztitermék” kifejezés?

Gyógyszer technológiai értelemben, a technológiai folyamatban előállított mintát akkor nevezzük köztiterméknek, amikor arra még további feldolgozás vár (pl. homogenizálás segédanyagokkal, tablettázás, kapszulába töltés), abból a célból, hogy megkapja a beviteli kapunak megfelelő gyógyszerformát.

-A porlasztva szárításos eljárásnál (24. oldal) azt írja, hogy „a folyékony minta atomizációja valósul meg.” Itt nyilvánvalóan megmarad minden anyag molekuláris integritása, tehát nem szerencsés az atomizáció kifejezés használata.

Az atomizáció kifejezést, mint részekre bontásra utaló, folyadék-porlasztási művelet, használatos átvitt értelemben a finom, ködszerű permitté szórás leírására. Természetesen az anyag molekuláris integritása megmarad.

-Salama AH et al Spray drying as an advantageous strategy for enhancing pharmaceuticals bioavailability Drug Deliv Transl Res 2020. 10, 1–12

-A 26. oldalon azt írja, hogy „A nagy energiájú amorf részecskék instabilak, s a tárolás során rekrisztallizálódhatnak.” Mivel az amorf anyag nem kristályos, ezért az ő kristályossá válásuk nem rekrisztallizáció, hanem krisztallizáció. Ugyanez előfordul a 37. oldalon is.

Elfogadom Opponensem észrevételét.

-A 28. - 27. oldalon az „agglomeráció megakadályozása” kifejezéssel találkozunk. Mivel a nevezett idegen szó településföldrajzi összefüggésben használatos (lásd idegen szavak szótára, etimológiai szótár), szerencsésebb lett volna helyette egyéb lehetőleg magyar kifejezést keresni.

Az agglomeráció kifejezés valóban egy településföldrajzi szakkifejezés. Azonban a nanoanyagok, nanotechnológia kifejezésekkel összefüggésben az EU külön definiálja az agglomerátum kifejezést, amiből az agglomeráció kifejezés származik.

-Nichols G. et al A Review of the Terms Agglomerate and Aggregate with a Recommendation for Nomenclature Used in Powder and Particle Characterization, J Pharm Sci 2002. 91, 2103-2281

-A 31. oldalon az olvasható, hogy „Az oldhatóság és a permeabilitás is hatékonyan fokozható a szemcseméret-csökkentéssel.” Szögezzük le, hogy - minden egyéb elképzelés ellenére - a termodinamikai oldhatóság nem függ a szemcsemérettől. Az itt hivatkozott [134] irodalom sem tűnik úgy, hogy erről szólna.

Köszönöm a megjegyzést, egyetértek azzal, hogy a termodinamikai oldhatóság nem függ a szemcsemérettől, ha a hatóanyagot önmagában vizsgáljuk.

-A 43. oldalon említett kémhatás-meghatározásnál nem írja, hogy történt-e és ha igen, milyen pufferekkel pH-kalibrálás.

A pH mérő kalibrálása Thermo Fisher gyári puffer oldatokkal (pH 7 és pH 4) történt kalibráló üzemmódban.

-Szintén a 43. oldalon azt írja, hogy FT-IR abszorbanáciát mértek. Biztos, hogy nem transzmittanciát?

Transzmittancia spektrumot, vagy reciprokának tízes alapú logaritmusaként az abszorbancia spektrumot jeleníthetjük meg. Az FT-IR mérés során beállításaink alapján abszorbancia megjelenítésével tanulmányoztuk a spektrumokat.

-A 47. oldalon azt írja, hogy HPLC-vel detektáltak. Egyrészt, ez valószínűleg HPLC, másrészt az e rövidítésbe foglalt folyadék kromatográfia nem detektálási, hanem elválasztási módszer, amelyhez kapcsolódik a detektálás, pl. UV, MS stb. technikával.

Köszönöm megjegyzését. A HPLC vizsgálat a vérmintában lévő hatóanyag elválasztására volt alkalmas. Az analitikai elemzés LC-MS/MS technikával történt.

-A 48. oldalon a hatóanyag célbajuttatásának hatékonyságára utalva azt írja, hogy egy adott képlettel számoltak, ami nem éppen képlet.

Sajnálom, hogy szövegbe illesztve adtam meg a hatóanyag targetálási hatékonyságának meghatározását, ami a következőképpen számítható:

$$DTE = \frac{(AUC_{agy}/AUC_{vér})_{IN}}{(AUC_{agy}/(AUC_{vér}))_{IV}}$$

ahol az AUC_{agy} a hatóanyag koncentráció / idő görbe alatti területe az agyban (a teljes agyban, annak egy meghatározott részében vagy az agyfolyadékban), az AUC_{vér} a koncentráció alatti terület vs. a gyógyszer időgörbéje a szisztémás keringésben (vér, plazma vagy szérum), intranazálisan (IN) és intravénásan (IV)(vagy más parenterális úton). A DTE értéke $-\infty$ és ∞ között változhat, és az 1-nél magasabb értékek az intranazális beadást követően hatékonyabb gyógyszer szállítást jeleznek az agyba, mint a szisztémás adagolás.

-Kozlovskaya L et al. Quantitative analysis of drug delivery to the brain via nasal route, Journal of Controlled Release, 2014. 189, 133-140

-Lehetne-e magyar megfelelőt használni a számos helyen, többek közt az 51. oldalon előforduló evaporáció és kollízió szavakra?

Köszönöm javaslatát. Az evaporáció, mint elpárolgás és a kollízió, mint ütközés használható magyar megfogalmazásként.

-Az 54. oldalon úgy fogalmaz, hogy „Kijelenthető, hogy a termék minőségét a szemcseméret és annak eloszlása, a ható- és segédanyag típus, azok aránya, valamint az őrlési paraméterek befolyásolják.” Ehhez annyi kommentár fűzhető, hogy e kijelentésben semmi

meglepő nincs, az teljesen megfelel a várakozásoknak, a szerzőnek es munkatársainak érdeme, hogy vizsgálataikkal a fentieket példákkal és kvantitatíve igazolták.

Megerősítem Opponensem megjegyzését. Ezt a kijelentést a QbD –alapú tervezéssel és vizsgálati eredményekkel igazoltuk.

-Igen érdekes szakmai kérdés, hogy milyen kölcsönhatásoknak tulajdonítja, hogy a mannit, mint kristályos segédanyag megnöveli a nifluminsav őrlésének hatékonyságát?

A nagy energiaszükséglet csökkentésére, ami általános probléma a szemcseméret-csökkentő eljárásokban, megfelelő ko-őrle anyagok alkalmazhatóak, amelyek csökkentik a részecskék és az őrlőberendezés közötti súrlódást, illetve ezáltal csökkentik az őrlésre fordított energiát. Korábbi vizsgálataink meloxikám esetében azt mutatták, hogy polimerek alkalmazásával (PVP és PEG) a kumulatív őrlési energia nagysága az őrlemény tömegétől (hatóanyag-segédanyag arányától) függ (*Burgio–Rojac model, Burgio et al. 1991*). Segédanyagok jelenléte befolyásolhatja a felületi feszültséget, az elektrosztatikus feltöltődést, valamint a kis részecskék aggregációját illetve a hatóanyagok kristályosságát is.

A nifluminsav esetében hasonló megállapítást tehetünk (lásd lenti táblázat), mint a meloxikám esetében. Tehát a kumulatív őrlési energia nagysága a bemért tömeg csökkenésével nőtt (Retsch bolygómalom PM 100 2 óra őrlés). Megállapítható az is, hogy a mannitnak, mint kristályos ko-őrle anyagnak a jelenléte csökkentette a kumulatív őrlési energiát (Minta2, Minta3), ami növelte az őrlés hatékonyságát. A hatékonyságot tovább növelte az is, hogy a nifluminsav kristályossági foka változatlan (100 %) maradt a művelet során. Az eredmény pedig kristályos, nanoszemcseméretű (252 nm) nifluminsav volt.

Szakirodalmi adatok és saját eredményeink alapján kijelenthető, hogy segédanyagok jelenlétében az őrlési energia csökkenthető, a kitermelési hozam növelhető, az aggregáció gátolható, nanoméretű hatóanyag részecskék állíthatóak elő (*Kozma G. et al 2016, Dodd A. et al. 2014*).

Az összetétel befolyása a kumulatív őrlési energiára

	Nifluminsav (g)	Mannit (g)	Polxamer (g)	Ütközési frekvencia (1/f)	Kumulatív őrlési energia kJ/g
Minta1	1			480	8.56
Minta2	1	2,5		480	2.44
Minta3	1	2,5	0,25	480	2.28
Minta4	1		0,25	480	6.84
Minta5		2,5		480	3.42
Minta6			0,25	480	34.24

-Burgio N et al. Alloying of the Fe-Zr system - Correlation between Input Energy and End-Products, Nuovo. Cimento. Dell. 1991. 13, 459-476.

-Kozma G. et al. Experimental validation of the Burgio–Rojac model of planetary ball milling by the length control of multiwall carbon nanotubes, Carbon 2016. 105, 615-621

-Dodd A et al. Novel formulation of meloxicam US Patent al Pub. No.: US 2014/0199395 A1 2014.

-Az értekezés - nagyon helyesen - magyar nyelven íródott, összhangban Akadémiánknak a magyar szaknyelv fejlesztésére és ápolására irányuló kizárólag a szakemberek által megvalósítható küldetésével. Mindamelllett, e téren maradtak még az értekezésben ki nem használt lehetőségek, pl. az 55. oldalon imígy hangzó mondatrészben: „A száraz őrléses eljárás optimalizálható DoE (azaz design of experiment) módszerrel, amely során meghatároztuk és validáltuk a ko-őrlés Design Space-et.”

Quality by Design (QbD) (holisztikus minőségügyi fejlesztési modell) és Design Space (tervezési tér), a magyar megfelelők a rövidítések jegyzékében feltüntetésre kerültek, a szövegben sajnos valóban a gyakrabban használt angol kifejezések maradtak.

-A 22. ábrán egyes feliratok a majdhogynem szubmikronos mérettartományba tartoznak. Az orodiszperz és antiszolvens kifejezések hiányoznak a fogalom-jegyzékből.

A 22. ábrán a sárga színnel meloxikám szuszpenzió felírat kevésbé olvasható.

Köszönöm a megjegyzést, miszerint több, egyéb fogalom magyarázatával lehetne kiegészíteni a jegyzéket.

- orodiszperz kifejezés magyarázat: szájban diszpergálódó szilárd formuláció
- antiszolvens kifejezés magyarázat: hatóanyag rossz/gyenge oldószere; termodinamikai szempontból az antiszolvens növeli az oldatban lévő oldott anyag kémiai potenciálját, és ezáltal túltelítettségét, ami kristályok göcképződéséhez és növekedéséhez vezet.

A 23. ábrán különböző összetételű, meloxikám (MEL) tartalmú, nanonizált és referencia minták kioldódási profilját látjuk. A nanonizált minták kioldódási profilja - érthető módon - telítési görbe jellegű, míg a referencia anyagoké az idő függvényében lineáris vagy közel lineáris lefutású. Mi a magyarázata ez utóbbi jelenségnek?

A referencia minták esetében (a liofilezett vagy porlasztva-szárított meloxikám tartalmú nanoszuszpenzióval megegyező összetételű és hatóanyagtartalmú referenciatermékek) a szemcsék átlagosan 40-60 µm nagyságúak, a hatóanyag kioldódását a Tween illetve Poloxamer felületaktív anyagok jelenléte befolyásolja. A felületaktív anyagok által a felületi feszültség csökkentése, illetve szolubilizálás okozza az oldódási sebesség javulását, azonban a nanorészecskékhez képest a hatóanyag kisebb fajlagos felület miatt eltérő a referenciaminták kioldódási profil jellege.

A 79. oldalon az áll, hogy „Az eredmények (85 - 110 µg/cm²) kiemelkedőek voltak, ha azokat a tüdő teljes felületére interpoláljuk.” Hogy értendő itt az interpolálás?

Az interpolálás kifejezéssel nem a matematikai számítások alkalmazására szerettem volna utalni, hanem érzékeltetni, hogy *in vitro* a 2 cm² –es membrán felületen átdiffundált mennyiség a tüdő teljes felületére vetítve többszörösére fokozódik.

Az *in vitro* és *in silico* aerodinamikai vizsgálatok alapján igen jelentős bronchiális és alveoláris kiülepedés prediktálható az inhalációs formuláció esetében (a gyári inhalációs készítményeket meghaladó finom részecske frakciós értékek alapján). A rossz oldhatóságú hatóanyag a formulálási eljárásnak köszönhetően 100%-ban kioldódik, illetve a kezeletlen hatóanyaghoz viszonyítva 4-5-szörös permeabilitás fokozódást tapasztaltunk 2 cm² –es membrán felületen. A tüdő bronchiális és alveoláris geometriája és nagy felszívófelülete miatt (>100 m²) a deponálódott részecskék jobban hasznosulhatnak, mivel a 2 cm²-hez képest nagyobb felületen oszlanak szét, ezáltal és megnövekedett fajlagos felületnek köszönhetően teljes tüdő érintettség, lokális hatás kifejlődés várható.

A 84. oldalon azt írja, hogy „... ez a HA (hialuronsav) és a MEL (meloxicám) közötti interakcióval magyarázható, mely komplexet eredményezett a HA-ban található karboxil csoportok és a MEL-ben a protonálható csoportok között [224].” Hogyan magyarázza ezt a komplexképződést, tekintettel arra, hogy a hialuronsav anionossá pH 3 fölött válik, a meloxicám pedig pH=1 alatt kationos, pH 1 és 4.1 között ikerionos ill. enolos, pH 4.1 fölött pedig anionos formában van jelen.

Az irodalom szerint semleges és enyhén bázikus oldatban a MEL kizárólag anionos, erősen savasban kationos, közötte, a gyenge savas oldatban ikerionos vagy enolos formában fordulhat elő. 4,18-as és semleges pH között kizárólag ionos, dominánsan anionos, de ikerionos formában is előfordul ezért feltételeztük, hogy az 5,6-os pH-jú gyenge savas oldatban még volt protonálható csoport a tiazol gyűrűben.

-Luger P. et al. Structure and physicochemical properties of meloxicam, a new NSAID, Eur J Pharm Sci, 1996. 4, 175-187

A 85. oldalon azt olvashatjuk, hogy „Összevetve a MEL 0.04 mg/ml oldhatóságával a MELK 13.10 mg/ml oldhatósági koncentrációt mutatott, míg pH 5.6 és 7.4 pufferben ezt a jelenséget nem tapasztaltuk, az oldhatósági adatokban jelentős változás nem volt kimutatható.” Hogyan magyarázza az oldhatóság növekedésének elmaradását a nevezett puffer oldatokban, figyelembe véve, hogy pH=4.1 fölött a MEL már változatlan anionos (azaz MELK) formában van.

A meloxicám az NSAID „oxikámok” (4-hidroxi-1,2-benzotiazin-3-karboxamid) csoportjának egyik képviselője. A savi jellege az enol funkciótól ered (irodalmi pK_a: 3,43), míg a tiazol gyűrű N bázicitása csak erősen savas közegben érvényesül, pK_a < 1. Az oldhatóság pH függése az enolos OH disszociációjával keletkező meloxicám anion képződésének

köszönhető. Az ionos forma polaritása miatt oldhatósága a nemionos, semleges formához képest nagyságrendi különbséget mutat.

Egy gyógyszer neutrális (nemionos) formájának és a belőle készített sójának egyensúlyi oldhatósága azonos pH értéken elvileg megegyezik. Ettől eltérő viselkedés ritka és kivételesnek tekinthető, melynek hátterében az eltérő kristályszerkezet és rácsenergia állhat. Jelen vegyület esetében az eredmények a várható, szabályos viselkedést mutatják. Függetlenül attól, hogy meloxicám vagy kristályos meloxicám-kálium volt a minta, adott azonos pH értéken az egyensúlyi oldhatóságuk azonos vagy nagyon hasonló. Jelentős különbség csak a desztillált vízben mért oldhatóságnál volt tapasztalható, ami jól értelmezhető a vizes oldatuk pH-ja között meglévő 2 egység különbséggel. A kálium só lúgosan hidrolizál, így telített vizes oldatának pH-ja 8,15, ami 350-szer nagyobb oldhatóságot biztosít, mint a meloxicámé pH 6-os közegben. Ez az ionizáció mértékében fennálló különbségnek tudható be.

Oldhatósági vizsgálatok eredményei

pH	meloxicám kristályos ($D_{0,9}=93\mu\text{m}$)		meloxicám-kálium kristályos ($D_{0,9}=993\mu\text{m}$)	
	mért pH	S (mg/ml)	mért pH	S (mg/ml)
1,2	1,12	$0,0016 \pm 0,0002$	1,12	$0,0016 \pm 0,0002$
5,6	5,60	$0,017 \pm 0,0001$	5,60	$0,017 \pm 0,0001$
6,8	6,82	$0,272 \pm 0,001$	6,95	$0,342 \pm 0,040$
7,4	7,32	$0,933 \pm 0,054$	7,33	$0,729 \pm 0,0005$
desztillált víz saját pH	5,98	$0,040 \pm 0,004$	8,15	$13,1 \pm 0,015$
egyéb mért pH	5,98 7,70	$0,038 \pm 0,003$ $1,74 \pm 0,20$	7,66 7,85	$1,25 \pm 0,01$ $3,19 \pm 0,14$

-A 86. oldalon érdekes módon mind a szövegben, mind az alábbiakban 31. ábrának nevezi azt

Az ábra A és B része igaz táblázatnak megfelelő stílusban az agyban és plazmában mért *in vitro* és *in vivo* eredményeket mutatja be. Nem szerettem volna két külön táblázatra bontani az eredmények prezentálását.

-A 31. táblázatban az NF4 2.5:5 arány nemde 1:2 arány?

Természetesen igen 1:2 arálynak felel meg, a 2.5:5 számértékekkel a mg/ml koncentrációkra utaltam.

-A 32. ábrán - jelmagyarázat hiányában - több minden csak sejtető, mindamellett több kérdés is felvetődik: a kioldódott LOR %-nál a referenciamintában ugyanannyi LOR volt-e mint az NF4 formulációban? Ha igen, akkor a referenciaminta kioldódási görbéje miért

nem emelkedik tovább a hozzávetőlegesen leolvasható 10%-nál, ha viszont nem, akkor mi az előnye az NF4-nek, tekintve, hogy a maximum érték mindkettőnél, egyformán a 15. percnél beáll. Továbbá, a diffundált LOR görbénél miért nem tapasztalunk platót még 60 percnél sem?

Az NF4 és a referencia azonos mennyiségben tartalmazta a hatóanyagot, ugyanolyan arányban található meg bennük a Poloxamer és a formuláláshoz használt HA, azonban a LOR szemcseméretében volt különbség, amivel magyarázható a kioldódási profilok eltérése. Az első 10 percben a referencia termékből lassan és kis mértékben szabadul fel a hatóanyag, még a nanonizált mintából a kioldódás dinamikusan változik, amely előnyös a nazális bevitel esetében. A megnövekedett fajlagos felületnek köszönhetően, a nanonizált mintánál a hatóanyag 80 %-a, míg a referencia termékből 10 %-a oldódik ki. A membránon keresztül végbemenő diffúzió nem volt olyan gyors, a plató eléréséhez több időre van szükség. Mivel az összetétel HA-t is tartalmaz, ezért feltételezhető, hogy a hatóanyag diffúzióját visszatartja.

-A 32. táblázatban lévő fluxus adatok hatalmas mértékben és nem tendenciózan eltérnek a Franz ill. a Side-Bi-Side cellákon. Mi ennek az oka? Célszerű lett volna ezen értékek mellé megbízhatósági intervallumokat is rendelni.

A 32. táblázatot kiegészítve feltüntettem a szórás értékeket, a statisztika program által számolt konfidencia intervallum 95%-os konfidencia szinten. A diffúziós vizsgálatok során megállapítottuk, hogy a gyógyszerforma (por, folyadék-szuszpenzió, gél) illetve a hatóanyag szemcsemérete (makroméretű vagy nanonizált MEL) alapján különböző mértékben térnek el egymástól a fluxus értékek. Tendenciózan jelentkezik a különbség a nano- és makroméretű hatóanyagot tartalmazó minták között. A vertikális elrendezés esetén a hatóanyag a gél formulációból, míg a horizontális rendszerrel por illetve a szuszpenziós készítményből diffundál legnagyobb mértékben. Az értékek közötti eltérések a két eszköz kialakításával illetve működtetésével is magyarázható. A donor fázis térfogata a Franz cella esetében 0,3 ml, míg a Side-Bi-Side cellánál 3 ml, ebből adódóan a por és szuszpenzió formákból a hatóanyag nagyobb mennyiségben oldódik ki, diszpergálását és nedvesítését a donor fázis folyamatos kevertetése is segíti. A Franz cella donor fázisa kis térfogatú és kevertetés nem történik ebben a kompartmentben, így ebben az esetben maga a gél formuláció dominál, a benne lévő hialuronsav adheziót fokozó hatásának és a nagy koncentrációgrádiensnek köszönhetően .

Intranazális készítmények fluxus (J) értékei Franz és Side-Bi-Side diffúziós cellákon a megbízhatósági intervallumok feltüntetésével.

Minta	Franz cella J ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)	Side-Bi-Side cella J ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)
nanoMEL_PVP C30 por	nem mérhető	38.26 \pm 2.399 (\pm 6.3%) [35.861 – 40.659]
nanoMEL_PVP C30 szuszp	16.20 \pm 1.052 (\pm 6.5%) [15.148 – 17.252]	72.61 \pm 4.934 (\pm 6.8%) [67.676 – 77.544]
nanoMEL_PVP C30 gél	212.44 \pm 20.606 (\pm 9.7%) [191.834 – 233.046]	37.97 \pm 2.241 (\pm 5.9%) [35.729 – 40.211]
MEL_PVP C30 por	nem mérhető	36.96 \pm 3.463 (\pm 9.4%) [33.497 – 40.423]
MEL_PVP C30 szuszp	9.14 \pm 0.962 (\pm 10.5%) [8.178 – 10.102]	25.93 \pm 3.089 (\pm 11.9%) [22.841 – 29.019]
MEL_PVP C30 gél	40.90 \pm 1.437 (\pm 3.5%) [39.463 – 42.337]	13.48 \pm 1.301 (\pm 9.7%) [12.179 – 14.781]

-A 93. oldalon a horizontális elrendezésű off line eredményeknek az in vivo eredményekkel mutatott korrelációja ($R=0.9580$) - mint írja - szorosabb, mint a Side-Bi-Side készülékkel mért adatoknak az in vivo eredményekkel mutatott korrelációja ($R=0.9532$), de vajon ez az eltérés szignifikáns-e?

Összehasonlításra kerültek az *inline* és *online* mérések *in vivo-in vitro* Pearson korrelációs adatai, amelyek alapján megállapítottuk, hogy a korrelációk közt nincs szignifikáns eltérés ($p=0,149$) 95%-os konfidenciaszinten).

-A 109. oldalon azt írja, hogy „az inhalációra szánt termékek teljes körű fizikai-kémiai, szerkezeti, morfológiai és aerodinamikai (in vitro és in silico) analizését teszi lehetővé.” Helyesebb lett volna a „teljes körű” helyett úgy fogalmazni, hogy „széles körű”.

Köszönettel fogadom a helyesbítését.

-Az értekezésben fordulnak elő fogalmazási pontatlanságok es helyesírási hibák

Az értekezés összeállításában jónéhány szokatlan formai megoldás jelenik meg. Például, diszkussziók, a hozzájuk tartozó tézispont-sorszámok, valamint a kapcsolódó publikációk a folyóiratok hatástényezőivel fejezetenként is megtalálhatók, a tézispontokba rendszerezett, szövegesen kifejtett megállapítások pedig a disszertáció végén felsorolva jelennek meg.

A saját közlemények felsorolása és a másutt általában glosszáriumnak nevezett, rendszerint az értekezések végére helyezett fogalom-magyarázati lista e disszertációnak az elejére került, és - az egyébként kis számú - egyetlen nincs megszámozva, így inkább csak az igen likvid oldalszám alapján azonosítható.

Köszönöm Opponensem észrevételeit, amelyek a nyelvhelyességi hibákra, formai megjelenésre vonatkoznak. Nagyon sajnálom, hogy igyekezetem ellenére is maradtak szembetűnő elírások. Az értekezés összeállítása során (formai megkötések hiányában) arra törekedtem, hogy logikailag jól követhető, saját közleményekkel alátámasztott, a fejezeteket bevezető és értékelő részekkel mutassam be a gyógyszer technológiai munkámat.

Végül, még egyszer köszönöm Noszál Béla Professzor Úrnak az értekezés alapos áttanulmányozását, hasznos megjegyzéseit, gondolatébresztő felvetéseit és elismerő szavait. Bízom abban, hogy a kérdésekre adott válaszaimat elfogadja és a védést követően is fenntartja támogató véleményét.

Tisztelettel kérem ezúton az opponensi véleményre adott válaszaim elfogadását.



Szeged, 2024. február 29.

Dr. Ambrus Rita