

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Gasztroretentív szilárd gyógyszerformák előállítása

Dr. Haimhoffer Ádám

Témavezető: Dr. Fenyvesi Ferenc



DEBRECENI EGYETEM
Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2022

Gasztroretentív szilárd gyógyszerformák előállítás

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a gyógyszerészeti tudományok tudományágban

Írta: Dr. Haimhoffer Ádám okleveles gyógyszerész

Készült a Debreceni Egyetem Gyógyszerészeti Tudományok doktori iskolája
(Farmakológia programja) keretében

Témavezető: Dr. Fenyvesi Ferenc

Az értekezés bírálói:

Dr. Pál Szilárd, PhD
Dr. Herczeg Mihály, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Tósaki Árpád, MTA doktora
tagok: Dr. Pál Szilárd, PhD
Dr. Herczeg Mihály, PhD
Dr. Almási Attila, PhD
Dr. Nagy Zsombor Kristóf, PhD

Az értekezés védésének időpontja:

Debreceni Egyetem In vitro Diagnosztikai Tömb előadóterme
2022. július 4. 10:00 óra

Tartalom

1.	Bevezetés	4
2.	Célkitűzés.....	8
3.	Anyagok és módszerek	9
4.	Eredmények	18
5.	Megbeszélés	25
6.	Összefoglalás	30
7.	Köszönetnyilvánítás	31

1. Bevezetés

A gyógyszeripar napjaink egyik legfőbb húzóágazatának tekinthető, a világgazdaság jelentős forgalmát teszi ki. A 2019-es adatok alapján évi közel 1250 milliárd USA dolláros forgalmat bonyolított csak a gyógyszeripar. A szilárd gyógyszerformák erős piaci megjelenését jól mutatja, hogy az FDA statisztikája alapján a 2019-ben új onnan forgalomba hozott gyógyszerek esetén, 54%-ban szilárd orális készítményekről beszélhetünk.

A gyógyszerhordozó rendszereket (Drug Delivery Systems, DDS) öt generációba sorolhatjuk. Az első generáció a konvencionális gyógyszerkészítmények, mint például kapszulák, tabletták és granulátumok, míg ezek bevonattal ellátott verziójuk már a második generációhoz tartoznak. A harmadik generációba tartoznak a szabályozott hatóanyag leadórendszerek, míg a negyedik és az ötödik generáció esetén már célzott terápiás rendszerekről beszélhetünk: monoklonális antitestek, nanorobotok vagy génterápia.

A régi és újonnan szintetizált hatóanyagok esetén is egyre nagyobb mértékben kerülnek elő a konvencionális gyógyszerhordozók hátrányai. Egyes hatóanyagok farmakokinetikai sajátosságai miatt különlegesebb gyógyszerhordozók fejlesztését igénylik. Az egyik ilyen számunkra fontos szabályozott hatóanyagleadó rendszer a gasztroretentív formuláció. Ezek a készítmények a gyomorban maradnak és ott elnyújtottan adják le hatóanyagukat. Azok a farmakonok, amelyeknek a felszívódási ablaka a *dudodenum* vagy *jejunum* szakaszára esik, lúgosabb pH-n kevésbé stabil vagy rossz az oldékonysága, pontencionálisan alkalmassá válnak arra, hogy a biohasznosulásukat gasztroretentív (GR) készítményekkel fokozzuk.

A gasztroretentív készítmények tervezésénél elengedhetetlen a gyomor és béltraktus megfelelő ismerete. A gyomor elhelyezkedését tekintve a hasüregben baloldalon helyezkedik el a rekeszizom alatt. Az emésztőrendszer legtagabb része, képes akár nyugalmi térfogatának többszörösére is tágulni. A gyomrot az alsó *oesophagális* izom és a *pylorus* záróizom határolja el a nyelőcsőtől, az *oesophagus*-tól, és a vékonybél első szakaszától, a *duodenumtól*. A gyomor fiziológiás motorikus működésének három fő feladat van: a tárolás, az őrlés és a gyomortartalom továbbítása a bélrendszer felé. A proximális gyomornak, a fundusnak és corpusnak együttesen a táplálék befogadása a fő feladata. Az antrum az őrlésben, keverésben és chymus továbbításban vesz részt. A két rész eltérő működésének oka, az eltérő simaizomzat felépítés és azt szabályozó idegek különbözősége. A 3/min frekvenciájú

periodikus depolarizálódást, bazális elektromos ritmusnak (BER) nevezzük. A BER a Cajal-féle sejtekről áttevődik az elektromosan kapcsolt simaizomsejtekre, ezáltal az izomzat összehúzódik a *pylorus* irányába. Az éhező állapotra jellemző mozgások 2-3 óránként jelentkeznek, melyeket Wilson és Washington szerint a 4 részre osztható migráló mioelektromos komplex (MMC) jellemzi: I. fázis (bazális fázis): 40-60 percig tart, ritka kontrakciók jellemzik, II. fázis: 40-60 percig tart, egyre erősödő és sűrűsödő akciós potenciálok és kontrakciók jellemzik, III. fázis: 4-6 percig tartó erős és sűrűn jelentkező kontrakciókból áll, ebben a fázisban továbbítódik a táplálék a duodenum felé, IV. fázis: 0-5 percig tart, a III. fázist vezeti át az I.-be. Jóllakott állapot a II. fázishoz hasonló, mely elősegíti a táplálék megfelelő őrlését és homogenizálást az emésztő nedvekkel, de MMC ilyenkor nem tapasztalható, a gyomor mozgása lelassul.

Gasztroretentív gyógyszerkészítmények alatt azokat a bevételre szánt gyógyszerkészítményeket értjük, melyeknek a gyomorban való tartózkodási ideje megnyúlt, azaz gátolt a gyomorból való kiürülésük és mindeközben elnyújtott hatóanyag leadásra képesek. GR gyógyszerhordozó létrehozására számos lehetőséget találunk az irodalomban.

A külső mágneses téren alapú GR gyógyszerformák esetén, a készítményt egy mágneses tér kialakítására alkalmas eszköz tartja a megfelelő helyen, a megfelelő ideig. A gyógyszerkészítmény a hatóanyag mellett mágnesezhető anyagokat is tartalmaznak (neodímium-vas-bór ötvözetet (NdFeB), vas vagy vas-oxid részecskéket). A technológia hátrányai miatt alkalmazásuk nem terjedt el, annak ellenére, hogy jobb biohasznosulást értek el vele több hatóanyag esetén is.

Az első bioadhezív/mukoadhezív GR rendszert Park and Robinson írta le elsőnek még 1984-ben. A mukoadhézió során a mucin tartalmú nyálkahártyát használják fel a készítmények helyhez kötéséhez. Segédanyagként alkalmazhatunk természetes és mesterséges polimereket is, mint például poliakrilátok, hidroxipropil-metil-cellulóz (HPMC), szukralfát, dextrán, tragakanta, tamarind, vagy Na-alginát.

A méretnövekedésen alapuló GR rendszereket két csoportra oszthatjuk, a gyomorsavban duzzadó és kitekeredő gyógyszerformákra. A készítményekkel szemben támasztott alapvető 3 szabály, hogy olyan kisméretűek legyenek bevételkor, hogy azt a betegek könnyedén le tudják nyelni, a gyomornedvvel érintkezve gyorsan változtassák meg alakjukat, és a hatóanyag leadás után olyan méretűre csökkenjenek, erodálódjanak, hogy a

gyomorból ki tudjanak ürülni. Az irodalmi adatok alapján a nyitott pylorus nagysága akár 12,8 mm is lehet. Az ennél nagyobb készítmények a lebomlásuk során végig gyomorban maradnak így megnő a gasztroretenciós idejük. A jellemző polimerek melyeket alkalmaznak kitekeredő forma esetén politejsav-glikolsav-kopolimer vagy cellulóz, míg duzzadó forma esetén akril-amidot, guar gumit, Na-alginátot vagy polivinil-alkohol.

Az utolsó nagyobb csoportba azok a GR rendszerek tartoznak, melyek sűrűségükből kifolyólag képesek a gyomorban tovább maradni. Az alacsony sűrűségű készítmények a gyomor tartalom felszínén úszva, míg a nehezebb készítmények a gyomor fenékre, azaz *antrum* görbületi részébe lehorgonyozva növelik a retenciós időt. Clarke és munkatársai leírták, hogy $2,5 \text{ g/cm}^3$ sűrűség feletti készítmények gyomorban való tartózkodási ideje megnövekszik, a lesüllyedés következtében, mely nehezíti a továbbjutást a duodenum felé. A készítmények formulálása során, nagy sűrűségű segédanyagokat alkalmaznak, erre a legalkalmasabb a bárium-szulfát, alumínium vagy más nehéz inert segédanyag (cink-oxid, titán-dioxid, vaspor). A csak alacsony sűrűségen alapuló készítményeket két csoportba oszthatjuk, a gázképződésen alapuló és nem gáz képződésen alapuló rendszerekre. A gáz csapdázódást kihasználó rendszerek esetén, egy duzzadásra képes mátrixba egy gázképző segédanyagot keverünk bele, így a keletkezett gáz megragad, csapdázódik a mátrixban, csökkentve annak látszólagos sűrűségét. A készítmények az esetek majdnem 100%-ban széndioxid képződésén alapulnak, melyhez nátrium-hidrogénkarbonátot alkalmaznak legtöbbször és Na-alginát, etilcellulóz, kitozán vagy hidroxipropil-metil-cellulóz (HPMC) polimerrel kombinálják. A nem gázképződésen alapuló GR rendszerek, legfontosabb előnyei gázképződéses rendszerekkel szemben, hogy a 0. pillanattól már lebegnek a gyomortartalomban, általában keményebb struktúrával is rendelkeznek, mely ellenáll a gyomor őrlő mozgásainak. Napjaink legújabb technológiái, melyek alacsony sűrűségű gasztroretentív gyógyszerhordozók kialakítás irányulnak, az olvadék alapú extrudálással vagy az olvadékok habosításával valósulnak meg. Az olvadék alapú extrudálás során a megolvasztott mátrixhoz olyan segédanyagot adnak hozzá folyadék vagy szilárd állapotban, melyek az extruderből kijöve, felfújja a készítményt. A kész extrudáltumot méretre vágják és kapszulába töltve vagy segédanyagokkal tablettává préselve érik el a végleges gyógyszerformát.

Korábban a Tanszéken kidogozottunk egy új gasztroretentív készítmény előállítására irányuló technológiát, mely során az olvadé szuszpenziókat képesek vagyunk habosítani légköri nyomáson. A módszer segítségével azonnal, a 0. másodperctől, lebegő, kis sűrűségű,

szilárd bevételre szánt egyszeri dózisú gyógyszerformákat tudunk előállítani. A sztearinsav (SA) és polietilén-glikol 4000 (PEG 4000) keveréket tartalmazó összetételeink 1 g/cm^3 alatti sűrűséget értek el a habosítási protokoll után. A készítmények gasztroretencióját *in vitro* vizsgálatokkal támasztottuk alá. Az eredmények fényében felmerült az ipari gyárthatóság megvalósítása, mely ihlette a disszertációm témáját.

2. Célkitűzés

PhD értekezésem céljául tűztük ki, hogy az irodalomba leírt gasztroretentív készítményeknél előnyösebb, jobb gyógyszerhordozót állítsunk elő a következők szerint:

- a tanszéken korábban kidolgozott és szabadalmi eljárásra bocsátott új gyártási technológiát átültessük egy folyamatos gyártásra alkalmas berendezésre
- a mértéknöveléssel az ipari szereplők számára is érdekes és innovatív gyártási eszköz tervezése és megépítése
- a gyártóeszköz kritikus paramétereinek meghatározása és optimalizálása
- kontrasztanyagok gyógyszerhordozó fejlesztése
 - *in vitro* és *in vivo* vizsgálata
- verapamil-HCl tartalmú alacsony sűrűségű hab kapszula előállítása
 - *in vitro* jellemzése irodalmi és gyógyszerkönyvi vizsgálatok által
 - *in vivo* biohasznosulás vizsgálata

3. Anyagok és módszerek

Anyagok

A gyógyszerformulálás során Ph. Eur. minőségű alapanyagokkal dolgoztunk, melyeket a Molar Chemicals Kft-től (Halásztelek, Magyarország) kerültek beszerzésre, többek között polietilén-glikol 4000 (PEG 4000), sztearinsav (50-es típus; SA), laktóz-monohidrát, bárium-szulfát (BaSO_4) és verapamil-hidroklorid (VER). A kísérletekhez és vizsgálatokhoz felhasznált minden egyéb anyagot és reagenst analitikai tisztaságban a Sigma-Aldrich Kft.-től (Budapest, Magyarország) rendeltük meg. A kemény zselatinkapszulák (Coni-Snap, 00-as méret) a Capsugel (Morristown, NJ, USA) cég ajándéka volt. Az *in vivo* állatkísérletek során felhasznált Fischer-344 patkányokat (n=3, hím) az Animalab Kft. (Budapest, Magyarország), míg a Beagle fajtatisztakutyákat (n=6, nőstény) a WOBE Kft. (Budapest, Magyarország) tenyésztette és szállította számunkra. Az állatok altatásához és érzéstelenítéséhez CP-Ketamin (ketamine hydrochloride 10%; Produlab Pharma BV, Hollandia), CP-Xylazin (xylazine-hydrochloride, 2%; Produlab Pharma BV, Hollandia), Seduxen inj. (diazepam, 0.5%; Richter Gedeon Nyrt., Magyarország) és Forane (Izoflurán, Abbott Laboratories Kft. Magyarország) gyógyszereket alkalmaztunk a vizsgálatok során.

Gyártóberendezés fejlesztése

A QUICKfoamcell Lab[®] folyamatos gyártásra alkalmas berendezést a QUICK 2000 Kft.-vel (Tiszavasvári, Magyarország) közreműködve terveztük és építettük meg, úgyhogy alkalmas legyen a tanszéken már korábban kidolgozott habosítási eljárás folyamatossá tételére. A készülék két fő részre osztható: egy olvasztótégelyre és egy habosító cellára. Az olvasztótégely 600 ml végtérfogatú olvadék befogadására alkalmas, köpenyfűtéssel termosztálható, zárható edény, melynek az alján egy 8 mm széles kiadagolónyílás található. A tartály további részegysége egy 4 lapátos propellerkeverő (IKA EURO-ST D), mely a fedelén keresztül a tartályba nyúlva biztosítja az olvadék homogén keverését az olvasztási fázisban. A kiadagoló nyíláshoz csatlakozik egy Watson-Marlow 114 ST perisztaltikus pumpa, mely a megolvadt homogén szuszpenziót továbbítja a habosító cellába. A habosító cella kapacitása 30 ml, mely gyártás során lecsökken körülbelül a felére a habosító szár benyúlásakor, ez függ a használt szár átmérőjétől és a benyúlás mélységétől. A cella 3 db nyílással rendelkezik: a diszperziós olvadék beadagolási nyílása, a gázbemenet és a habosított termék kiadagoló nyílása. Továbbá a cella is, az olvasztótégelyhez hasonlóan, köpenyfűtéssel biztosítja az olvadék állandó hőmérsékletét a cellán belül. A gáz diszpergálása az olvadékba egy IKA[®]

ULTRA-TURRAX® T-25 digitális homogenizálóval történik, amelyhez S25 N - 10G szárat alkalmaztunk. Gáz bevezetését úgyszintén egy Watson-Marlow 114 ST típusú perisztaltikus pumpa végezte. A hab kiadagolását egy vezérelt csípőszelep végzi (TAKASAGO PK-6405-NC).

A gyártások során mindig 150 gramm anyagot habosítottunk a következők szerint. A PEG 4000-et és a SA-t kimértük táramérlegen és megolvasztottuk az olvasztótégelyben, miközben kíméletes kevertetést alkalmaztunk. Ezután az inert anyagot vagy hatóanyagot diszpergáltuk az olvadékban. Első lépésben a habosító cellát töltöttük a fel a habosítandó olvadtszuszpenzióval, az olvadék beadagoló perisztaltikus pumpa segítségével. Minden habosítási ciklus után a meleg, képlékeny habot 00 méretű kemény kapszulákba töltjük, és hagyjuk szobahőmérsékleten megdermedni.

Gyártási hőmérséklet optimalizálása

A hőmérséklet befolyásoló hatásának meghatározásához a gyártóberendezéssel 20 kapszulát különböző hőmérsékleten állítottunk elő, míg a további gyártási paramétereket változatlanul hagytuk. A cella hőmérsékletét 56, 58 vagy 60 °C-ra állítottuk be: az alkalmazott gáz mennyisége 2 ml volt, 0,25 ml/s gázbefecskendezési sebességgel, a beadagolt olvadék mennyisége és sebessége: 2ml és 0,25ml/s. A keverőtengelyt 15 000 fordulat/perc sebességen tartottuk. A kontroll minták a habosítási folyamat nélkül készültek.

Az előállított habok sűrűségét a következő módszerrel határoztuk meg. A 00 méretű kapszula tömege 118 ± 7 mg és 0,91 ml a gyártó specifikációja szerint. Minden kapszulát teljesen megtöltöttünk olvadékkal, és a megszilárdulás után a kapszulákat lezártuk és meghatároztuk az adatokból a töltet sűrűségét.

Kritikus paraméterek optimalizálása

A folyamatos gyártás optimalizálására Box-Behnken faktoriális kísérlettervezést használtunk, mely során a gyártásokat véletlenszerűen, azaz randomizálva végeztük el eltérő időpontokban. A független változóként a következő paramétereket alkalmaztuk: a gáz mennyiségét (ml), a gáz beadagolási sebességét (ml/s), és a keverőfej fordulatszámát (rpm), melyek kritikus paraméternek tekinthetők a folyamatos gyártásra nézve, ezáltal hatással vannak a termék látszólagos sűrűségére. Ezt a három kísérleti tényezőt variáltuk a tervezés során, 3 szinten, 12 sorozatban, amelyeket a 3. táblázatban mutatunk be. A gáz térfogatát 0,1-4 ml között változtattuk, míg a gázbefecskendezés sebessége 0,02-0,5 ml/s között változott, a

keverő fordulatszámát 3000-25000 fordulat/perc között állítottuk be. Az eredmények kiértékelése során a TIBCO Statistica® 13.4 (StatSoft Hungary, Budapest, Magyarország) szoftvert használtuk. A 3D válaszfelületek ábrázolása során egy változót megtartottunk a középső síkban és regressziós modellnek megfelelő válaszfelületet hoztunk létre.

Bárium-szulfát tartalmú kontrasztanyag mintafejlesztés

Minta gyártás

A BaSO₄ tartalmú mintákat az alábbi összetétel alapján gyártottuk le, 30% BaSO₄, 50% PEG 4000 and 20% sztearinsav. A gyártási paramétereket a következőképpen állítottuk be: 2,5 ml gáz injektáltunk be 0,25 ml/s sebességgel miközben 15000 rpm fordulatszám mellett diszpergáltuk a gázt az olvadt közegben. A meleg habot műanyag hengerekbe öntöttük (d: 5 mm, h: 50 mm) és megszilárdulás után egységes méretre vágtuk (d: 5 mm, h: 5 mm).

Sűrűség meghatározás

A habosítás előtti és habosítás utáni minták sűrűségének meghatározásához a következő módszert alkalmaztuk. A méretre vágás után, a BaSO₄ tartalmú minták 5 mm átmérőjű és magasságú szabályos henger alakú matematikai testeket formáltak. A minta tömegét analitikai mérleggel határoztuk meg, a mért tömeg és a számított térfogat hányadosaként határoztuk meg a sűrűséget.

Mikro-CT

A szilárd készítmények habszerkezetének és a pórusok jellemzésére mikro-CT (SkyScan 1272 compact desktop) készülékkel felvételeket készítettünk a habokról, az alábbi paraméterek mellett: felbontás: 5 µm, pixelméret: 1344x2016, gerjesztő feszültség: 50 kV; gerjesztő áramerősség: 200 µA, Flat field korrekciót és Geometriai korrekciót alkalmaztunk. A mikro-CT felvételeit SkyScan NRecon program (Version: 2.0.4.2) segítségével rekonstruáltuk, melyeken utólagos igazítást, sugárkeményedési korrekciót, gyűrűműtermék csökkentését és simítást végeztünk. DICOM and BPM formátumba mentettük ki a képeket.

2D/3D analízis során a CTAn szoftverét használtuk. A kiértékelés során sűrűség alapú analízist végeztünk mely során Thresholding, ROI shrink-wrap, Reload, 2D and 3D Analysis plugins alkalmaztunk. Szürke határértéke a buborékoknak 0-40 közötti volt, az analízis előtt ROI-val eltávolítottuk a háttérét. A 3D ábrázolást CTVox szoftverben értékeltük ki és színskálával kódoltuk.

Állományelemzés

A minták állományváltozásának *in vitro* nyomon követésére Brookfield CT3 (Torontó, Kanada) állományvizsgáló készüléket alkalmaztunk. A kiindulási száraz mintákat szobahőmérsékleten vizsgáltuk anélkül, hogy kioldóközegbe merítettük volna őket. A vizsgálat során három véletlenszerűen kiválasztott mintát 50 ml pH=1,2-es sósavas pufferbe helyeztünk, amit 37 °C-on kevertettük 100 rpm fordulatszámon. A mintákat 0, 30, 60, 120, és 240 percig hagytuk a kioldódó közegben. A mérés során a mintákat az oldalukra fektetve a mintatartó fémasztalra tettük és felülről összenyomtuk 0,50 mm/s sebességgel egy próbatesttel (TA25/1000 akril henger, átmérő: 50,8 mm, magasság: 20 mm). A vizsgálat a teljes összenyomásig vagy 4500 grammnyi ellenállás érzékeléséig történik. Az idő függvényében ábrázoltuk a testet ért terhelést (g), a textúra változásainak valós idejű bemutatásához.

In vivo gasztroretentív vizsgálat

A minta *per os* adagolás utáni elhelyezkedésére, a gyomorban való tartózkodási idejének meghatározására, ezáltal a gasztroretencióra való alkalmasságának vizsgálatára, *in vivo* gasztroretentív vizsgálatot végeztünk patkány modellen. Az *in vivo* kísérletek során 16 hetes, 250-300 g súlyú hím Fischer-344 patkányokat (n=3; Animalab Kft., Budapest, Magyarország) használtunk. Az állatokat standard körülmények között tartottuk 23±2°C-on 50±10% páratartalom mellett, mesterséges megvilágítással 12 órás cirkadián ritmussal. A félszintetikus diéta (VRF1; Akronom Kft., Budapest, Magyarország) és az ivóvíz *ad libitum* elérhető volt minden állat számára. Az állatkísérletek során nem alkalmazottunk invazív beavatkozásokat, így etikai engedélyre nem volt szükséges a kísérletek elvégzéséhez. A laboratóriumi állatokat minden ide vonatkozó magyar törvénynek, állatjóléti iránymutatásnak és az Európai Unió-s előírásnak megfelelően tartottunk és kezeltünk. A *per os* adagolásához a patkányokat kisállat altató készülékben 3%-os izofluránnal (Forane) altattuk el. A 15 mg BaSO₄-ot tartalmazó tabletta anatómiai elhelyezkedését teljes test szkenneléssel határoztuk meg 0,5 és 2 óra elteltével nanoScan SPECT/CT (Mediso Kft., Magyarország) berendezés segítségével. A következő beállítási paraméterek mellett: röntgenső feszültség 60 kVp, áramerősség 86 mA, expozíciós idő 170 ms vetítésenként, voxel mérete 1×1 mm.

Verapamil tartalmú kapszula fejlesztés

Kapszula gyártás

Három verapamil tartalmú kompozíciót gyártottuk le a QUICKfoamcell Lab[®] gyártóberendezéssel növekvő sztearinsav tartalom mellett. A gyártás során a habosító cella hőmérséklete: 56 °C, a többi paramétert változatlanul hagytuk. A formulációkat 00 Coni-Snap típusú zselatin kapszulákba adagoltuk.

Sűrűség meghatározás

A megszilárdult formulációk sűrűségének meghatározására a gyártási hőmérséklet optimalizálása fejezetben leírt módszert alkalmaztuk. A kapszula mérete, tömege és térfogata megegyező volt a korábbi adatokkal.

Pásztázó elektronmikroszkópos képalkotás és kémiai elem analízis

A készítmények tört felszínéről, a hab struktúra és szerkezet vizsgálatára elektronmikroszkópos felvételeket készítettünk, Hitachi Tabletop Mikroszkóppal (TM3030 Plus, Hitachi High-Technologies Corporation, Tokió, Japán). A mintákat kettétörtük, majd grafit tartalmú kétoldalú ragasztószalaggal rögzítettük a mintatartó lemezhez. A mérések során a felszínen nem alkalmaztunk aranyozást vagy más bevonatot. A felvételek vákuum alatt 5 kV elektron gyorsító feszültséggel készítettük. A törtfelszínről továbbá kémiai elem analízist is végeztünk Bruker EDX 70 detektorral, mely során klór és oxigén elemeket vizsgáltunk.

Kioldódás vizsgálat

A kioldódási vizsgálatokat a VIII. Magyar Gyógyszerkönyv által előírt módszerrel végeztük. Kioldó közegnek 900 ml pH=1,2 sósavas puffert alkalmaztunk, melynek kémhatását minden oldatkészítéskor ellenőriztük asztali pH-mérővel (Mettler Toledo Seven Easy, Inlab Expert Pro elektród). A kioldáshoz Erweka DT800 kioldódás vizsgáló berendezést alkalmaztunk, forgólapátos módszerrel. A vizsgálatot 3-3 párhuzamos, összetételenként random módon kiválasztott kapszulával végeztük, 10 óra hosszáig (600 perc). A mintavétel automatikusan történt 3 ml kioldóközeg levételével kémcsövekbe, az alábbi időpontokban: 5, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480, 600 perc. Ezután a mintákat 0,25 mikronos fecskendőszűrőn szűrtük meg és a kioldó közeggel 5-szörösére hígítottuk. UV-VIS spektrofotométert (Shimadzu UV-1601) használtunk a kioldódott hatóanyag mennyiségének meghatározásához, amit a verapamil-HCl abszorpciós maximumán mértünk vissza (278 nm).

A kioldódási adatokat grafikusán elemeztük, mely során nullad-rendű, elsőrendű, Korsmeyer-Peppas, Higuchi és Weibull modellek illeszkedését vizsgáltuk.

Gyártás validálás

A gyártás validálása során a V2 készítmény összetétele alapján gyártottuk le a verapamil tartalmú kapszulát különböző időpontban, a leírt gyártási protokoll paramétereit követve. Összehasonlították a gyártási sarzsok sűrűségét, hatóanyagtartalmát és kioldódási profilját. A hasonló kioldódási görbék összehasonlítására a következő statisztikai módszereket alkalmaztuk: f1: különbözőségi faktor (difference factor) f2: hasonlósági faktor (similarity factor).

Cella szerkezet vizsgálat mikro-CT-vel

A V2 összetételű kapszuláról a fentebb leírt módszerrel felvételeket készítettünk.

Felhajtó erővizsgálat

Simons és Wagner [39] munkája alapján, úszó készítmények felhajtóerejének detektálására alkalmas készüléket építettünk. Közvetlenül a tenziométer (Attension) karjára egy mintatartóhálót erősítettünk, mely a vízfelszín alá nyomta a kapszulát. Az eredő felhajtóerőt közvetetten a háló súlyváltozásából számítottuk ki. A méréseket 500 ml pH=1,2-es pufferben, 37 °C-on, folyamatosan keverés mellett végeztük, hogy az *in vitro* kioldódási vizsgálatokhoz hasonló körülményeket teremtsünk.

Állomány elemzés

Az állomány elemzést a korábbi BaSO₄ rész állomány elemzés fejezetben leírtak alapján végeztük el, a vizsgálat során az előzőekben leírtaktól eltérően 900 ml kioldóközeget alkalmaztunk, melyhez 20 csepp 5 m/m%-os Sicovit® Tartrazine (BASF, Ludwigshafen, Németország) festékanyagot adtunk, hogy az átnedvesedést vizuálisan is nyomon tudjuk követni. Az állományelemzéshez 0, 60, 180, 300, 420, illetve 600 perc után vettünk mintát. Az állományelemző géppel megnyomott mintákról fényképeket készítettünk.

Erózió és vízfelvétel vizsgálat

A készítmények vízfelvételét, erózióját, és visszamaradt minta tömeget a következő módszerrel határoztuk meg. A minták kezdeti tömegét (m_{kezdeti}) a kísérlet előtt feljegyeztük, majd a kioldódás vizsgálat fejezetben leírtak szerint a kioldóberendezésbe helyeztük. 1, 3, 5, 7 és 10 óra elteltével a mintákat óvatosan kivettük a kioldóközegeből egy műanyaghálo segítségével, és analitikai mérlegen megmértük nedves minták tömegét (m_{vizes}) a felesleges víz eltávolítása után. Ezután a mintákat szárítószekrénybe (Memmert SFE 550, Memmert

GmbH, Németország) 45 °C-on tömegállandóságig szárítottuk, majd újra lemértük a tömegüket ($m_{\text{száraz}}$).

Hosszútávú és gyorsított tárolási körülményeket követő kioldódási teszt

A készítmények eltarthatóságának vizsgálatára stabilitási vizsgálatot végeztünk az ICH irányelvei szerint [93]. Tíz kapszulát légmentesen záródó üvegtartályban lezárva a klímakamrába (ICH110, Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach, Németország) helyeztük gyorsított tárolási körülmények között ($40 \pm 2^\circ\text{C}$, $75 \pm 5\%$ relatív páratartalom) 3 hónapig. Másik tíz kapszulát szintén légmentesen záródó tartályban tároltunk két évig szobahőmérsékleten. A vizsgálatok végén a minták megjelenését vizuálisan vizsgáltuk. *In vitro* kioldódási vizsgálatot végeztünk a stabilitás bizonyítására. A kioldódási vizsgálatot a Kioldódási vizsgálat fejezetben leírtak szerint hajtottuk végre. Az hatóanyag leadások összehasonlítására hasonlósági, f_2 és különbség, f_1 faktorokat számoltunk, mely során referencia mintának a friss mintával végzet kioldódást vettük alapul.

Biohasznosulás *in vivo* vizsgálata

A farmakokinetikai vizsgálatokat a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottság (DE MÁB) és a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH) engedélyével valósultak meg, betartva a nemzeti (1998. évi XXVIII. törvény az állatok védelméről és kíméléséről) és az Európai Unió (2010/63/EU irányelv) előírásokat. A kísérletekbe hat darab nőstény Beagle kutyát (10 ± 0.5 kg) vontunk be, melyeket $15\text{--}21^\circ\text{C}$, $50 \pm 10\%$ páratartalom, és 12 órás cirkadián ritmusban tartottunk. A kutyák számára biztosított volt a korlátlan ivóvíz és napi 300 g pelletált táp. 21 napos akklimatizációs időt tartottunk a kísérletek előtt a 3R tökéletesítésének jegyében. A farmakokinetikai vizsgálatot két lépésben hajtottuk végre, 7 napos kimosási időszakot hagyva a két formuláció között, ezzel is csökkentve a szükséges állatok számát az állat jóléti szempontokat figyelembe véve. A gyógyszer beadások előtt 12 órával az élelmet megvontuk a kutyáktól, de a vízhez való hozzáférést továbbra is biztosított volt számukra. A vérmintákat a *v. cephalica* kanülálásával vettük. A mintavétel után a kanült öblítésére 3 ml steril *sol. saline*-t fecskendeztünk be, és nátrium-heparin oldatot használtunk véralvadástgátló szerként.

A vizsgálat első részében 10 ml 50 mg tartalmú verapamil oldatot adtunk be orálisan a kutyáknak ($n=6$). Három milliliter vérmintát vettünk *v. cephalica*-ból 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 és 24 órával a *per os* beadás után. A vérmintákat a levételt követően egyből lecentrifugáltuk (3500

fordulat/perc 10 percig), és a plazma részt begyűjtöttük majd -80 °C-on tároltuk a hatóanyagkoncentráció visszaméréséig. A 6 órás mintavétel után az állatok számára újra elérhető volt az élelem.

Az egy hetes kimosási időszakot követően a kísérlet második fázisában 120 mg verapamil tartalmú habosított kapszulát adtunk szájon át a kutyáknak (n=6). A további eljárás (mintavételi idő, mintamennyiségek, plazma elválasztás és tárolás) megegyezett fentebb leírtakkal.

Gasztroszkópia

A verapamilos kapszulák beadása után 2, illetve 4 óra elteltével, gasztroszkópiát végeztünk, hogy megbizonyosodjunk arról, hogy a szilárd gyógyszerhordozó a gyomorban tartózkodik, az állatok gyomortartalmáról videofibroszkóppal (PENTAX Medical Ultrasound Video Fiberscope, EB19-J10U, HOYA Corporation, Shinjuku-ku, Tokió, Japán) rövid videókat rögzítettünk. A vizsgálat előtt az állatokat intramuszkuláris ketaminnal (10mg/tkg), xilazinnal (1mg/tkg) és diazepammal (0,2mg/tkg) érzéstelenítettük.

Plazma verapamil koncentrációjának meghatározása

A mintákat -80 fokos fagyasztás után kiolvastottuk és folyadék-folyadék extrakciós mintaelőkészítést alkalmazva feldolgoztuk. 250 µl levett mintához 0,50 ml foszfát puffert (pH=6,0) adtunk hozzá. A pH=6,0 foszfát puffert az Európai Gyógyszerkönyv szerint állítottuk elő [94]. Ezután 1,5 ml TBME-etil-acetát (1:1, V:V) keverékével extraháltuk a mintánkat 5 percig vortexeléssel 30 rpm-en. Centrifugálás (4000 G, 8 percig) után a felülúszó szerves fázist lepipettáztuk, és nitrogén bepárló segítségével 40 °C-on teljesen bepároltuk [95]. A kivált maradékot 500 µl LC mozgófázisban oldottuk fel, és Thermo Accela +LTQ XL LCMS készülékkel mértük vissza. A kromatográfiás elválasztás során Kinetex XBC18 oszlopot (100 × 2,1 mm, 2,6 µm) alkalmaztunk. A mobil fázis 0,1% hangyasavas metanol (A) és 0,1% vizes hangyasav oldat(B) keveréke volt. A mérés során eluens gradienst használtunk a következők szerint: 0,00 perc 70% B, 2,00 perc 0% B, 3,10 perc 70% B és 5,50 perc 70% B. Az oszlop hőmérsékletét 40 °C-on tartottuk, az áramlási sebesség 0,3 ml/percre állítottuk be és a mérések során 10,0 µl mintát injektáltunk minden esetben. Az optimális ESI ionizációs paraméterek a következők voltak: fűtőtest hőmérséklete: 200 °C; köpenygáz: N₂; áramlási sebesség: 10 arb; segédgáz áramlási sebessége: 5 arb; porlasztási feszültség: 5 kV; kapilláris hőmérséklet: 275 °C; és a kapilláris feszültség: 23,50 V. A minta méréseket pozitív ion

üzem módban (MS) végeztük. A verapamil $[M+H]^+$ iontömegét (455 m/z) SIM módban detektáltuk.

Az eredményeket Graphpad Prism 6.1 szoftverrel értékeltük ki, és a relatív biohasznosulást meghatároztuk.

Statisztikai analízis

A statisztikai elemzéshez GraphPad Prism[®]-et (6.01-es verzió, GraphPad Software Inc.) használtunk. Két minta összehasonlítása esetén t-próbát végeztünk, míg több minta esetén ANOVA-t. Szignifikáns ANOVA teszt esetén, több mintát egymással Tukey-féle post hoc teszttel, míg több mintát és a kontrollt Dunnett-féle post hoc teszttel hasonlítottunk össze. A különbségeket $p < 0,05$ értéknél tekintettük szignifikánsnak.

4. Eredmények

Gyártási paraméterek optimalizálása

A gyártó berendezés a Debreceni Egyetem Proof of Concept program finanszírozásának köszönhetően valósult meg.

A gyártási paraméterek meghatározásának során elsőnek a gyártási hőmérsékletet vizsgáltuk. A kísérlet célja megtalálni azt legalacsonyabb hőmérsékletet, ahol olvadék már habosodik, de még nem dermed be a gépbe kiadagolás közben. Az előkísérletek során, meghatároztuk a szükséges olvadék átáramlási sebességet és szükséges mennyiségét, továbbá az elektronikus elcsípő szelepek és apparátusok késleltetésének beállításait.

Ezután a gyártási paraméterek középső értékeivel eltérő hőmérsékleten 60, 58 és 56 °C végeztük el a habosítást. A hőmérséklet csökkentésével csökkent a látszólagos sűrűség. A kezdeti olvadék sűrűség $1105 \pm 29,83 \text{ mg/cm}^3$, mely az 56 °C-on történt gyártás hatására $817,1 \pm 15,71 \text{ mg/cm}^3$ változott. A kontrol, vagyis kiindulási értékhez viszonyítva minden esetben, 60, 58, illetve 56 °C-on is, szignifikáns (****, $p \leq 0,0001$) csökkenést tapasztaltunk.

A gyártási paraméterek optimalizálása faktoriális kísérlet tervezéssel történt. Három változtatható gyártási paramétert vizsgáltunk, melyeket kritikus paraméternek gondoltunk az előkísérletek alapján. Laktóz diszpergáltunk az olvadékban, mely nem oldódott be a mátrixba így előkísérleteink alapján stabilizálhatja a hab képződést azáltal, hogy növelte az adott hőmérsékleten a viszkozitást, anélkül, hogy a dermedési hőmérséklet csökkent volna. A változtatható, kritikus gyártási paraméterek középső értékének a hőmérséklet befolyásoló hatását vizsgáló kísérleti értékeket vettük alapul. Az értékeket ezután csökkentettük és növeltük, hogy megvizsgáljuk a habosításra gyakorolt hatásukat. A fordulatszám közel lineárisan befolyásolja a habosodás mértékét a növekvő fordulatszám emelésével, azaz növeli a gáz diszpergálás hatékonyságát az olvadékban a növekvő fordulatszám. Az injektált gáz mennyiség során ez a linearitás eltűnik, egy optimális mennyiség után a habosodás mértéke romlik, a látszólagos sűrűség növekszik. A gáz beadagolási sebessége esetén ugyanezt a hatást figyelhetjük meg. Az eredmények alapján megállapíthatók az ideális gyártási paraméterek. A habosodás növeléséhez minél nagyobb fordulatszám javasolt. A további kísérletek során 15000rpm-et használtunk, a gép túlterhelésének elkerülése érdekében, és a fordulatszámon tapasztalt hatékony diszpergáló képesség miatt. Az ideális gáz gázbeadagolási sebesség és mennyiség esetén egy tartományt határozhatunk meg, melyen belül nincs

szignifikánsan kedvezőbb eredmény, a beadagolt mennyiség 2,5-3,5 ml-nek, míg a sebesség 0,25ml/s 0,35ml/s között található. A kísérleteink során a legkisebb értékeken dolgoztunk, tehát 2,5 ml gáz adagoltunk az olvadékhoz 0,25ml/s-mal, míg 15000 rpm mellett végeztük az agitációt.

Bárium-szulfát tartalmú formuláció

Sűrűség meghatározás

A bárium-szulfát tartalmú minták kiindulási sűrűsége $1107 \pm 108,18 \text{ mg/cm}^3$, melyet $507 \pm 45,48 \text{ mg/cm}^3$ -re csökkentettünk a habosítási eljárásunkkal, mely több mint 54% tömegvesztésnek felel meg egységnyi térfogatot vizsgálva. Az egységnyi méretre vágott mini minták, az első perctől úszási tulajdonságot mutattak. A minták 4 órán keresztül folyamatos úszási tulajdonságot mutattak, az állományuk egyben maradt nem estek szét.

Mikro-CT

A habosított készítményről és a kiindulási olvadékból öntött mintákról mikro-CT felvételeket készítettünk. A diszpergált BaSO_4 részecskék fehéren világítanak a felvételeken, mert nagymértékben elnyelik a röntgensugarakat, míg a sötétebb foltok a készítményen belüli üregeket ábrázolják. A habosítás nélküli minta esetén a kontrasztanyag szemcséi nagyobbak és néhol elvétele egy-egy üreg látható, mely a kontrasztanyag eloszlása során csapdázódott a mátrixba. Ezek mérete jóval nagyobb, mint a habosítás után látható keresztmetszeti képen jelenlévő üregeké. A habosított készítmény homogén eloszlásban tartalmaz az üregeket.

A rekonstruált felvételekről eltávolítottuk a mátrixot és a visszamaradt buborékokat ábrázoltuk, ezután szoftveresen kiértékeljük a látható buborékok méreteloszlását. Az átlagos buborék méret $40 \mu\text{m}$ körüli, melyhez egy homogén eloszlás társul, a buborékok 93,2% a 0-100 μm tartományba esik.

Állományelemzés

Állományelemzés során a készítményt 4500g-os terheléssel összenyomtuk 0, 30, 60, 120, 240 perccel a kioldóközegbe helyezés után, a készítményen mérhető terhelést az idő függvényében ábrázoltuk. A 0. percben a készítmény szerkezete az 1500g terhelésre összetör, melyet a görbén látható letörések jeleznek. A 30. percben egy kisebb képlékeny, átmedvesedett réteg található a minta szilárd magja körül, a csúcs letörés ezért később jelenik meg és kevesebb törést tartalmaz, a kisebb át nem medvesedett mag miatt. 60. percnél az átmedvesedés

nagyobb mértékű, de még tartalmaz szilárd magot, mely a 120. és 240. percre teljesen átnedvesedik. A készítmény magas sztearinsav tartalma miatt a 4 óra elteltével is egy könnyen kivehető, egyben lévő mini tablettáról beszélhetünk, annak ellenére, hogy a gyomor őrlő mozgásának a minta már nem áll ellen.

In vivo gasztroretentív vizsgálat

A BaSO₄, mint kontrasztanyag lehetőséget nyújtott számunkra, hogy a készítmény elhelyezkedését tanulmányozzuk az emésztőrendszeren belül. Az állatokról CT felvételeket készítettünk 30 perc, illetve 2 óra után. A készítményünk fél óra elteltével a gyomorban található meg, az állat le tudta nyelni a készítményt egyben és jól lokalizálható a gyomorban. 2 óra elteltével az állatról készült felvételen látható, hogy a készítmény továbbra is a gyomorban helyezkedik el. A mérete csökkent az erózió által, de a gyomorból nem ürült ki. A 4. órában a készítmény már nem volt megtalálható az állat gyomrában, eliminálódott onnan.

A kísérlet bizonyította, hogy az alacsony sűrűségű készítményünk képes a gyomorban maradni akár 2 óra hosszán keresztül is. Ezen eredményeink tükrében kezdtük meg a verapamilos formulációk gyártását és *in vitro*, *in vivo* vizsgálatait.

Verapamil tartalmú formuláció

Sűrűség meghatározás

A legyártott összetételek sűrűségét határoztuk meg első lépésben. A töltet tömegének és a kapszulák kalibrált térfogatának hányadosával meghatároztuk a legyártott habok sűrűségét. A leghatékonyabb habosodást a V2 esetén értük el, melyben 12,5% sztearinsav található. V3, illetve V1 esetén a habosítás kevésbé volt hatékony. Fontos megemlíteni, hogy ezekben az esetekben is a kitűzött 1,00 g/cm³ sűrűség alatti eredményeket kaptunk, mellyel már alkalmas lenne a készítmény a gasztroretenció elérésére. Az eredmények alapján elmondható, hogy a lipofil összetevő növelése nem növeli egy ponton túl a habosodás mértékét, pont ellenkezőleg rontotta a készítmény sűrűség csökkenését. A kiindulás összetétellel összehasonlítva elmondható, hogy minden esetben 14%-nál nagyobb csökkenést tapasztaltunk átlagosan, ez a V1 és V3 esetén alig volt nagyobb, csupán 14,3%, illetve 14,5%, míg a V2 esetén ez 27,2% adódott. A kiindulási sűrűséghez képest minden esetben $p \leq 0,0001$ volt, tehát szignifikánsnak tekinthető. A V2 minta esetén is szignifikánsan alacsonyabb sűrűséget kaptunk a V1, illetve V3-hoz hasonlítva.

SEM és kémiai elem analízis

SEM segítségével felvételeket készítettünk a készítményeink törtfelszínéről. A V1 és V2 esetén azonos felszínt figyelhetünk meg, de a V2-ben több a látható buborék. A két minta esetén a mátrixba ágyazódva figyelhető meg a verapamil kristályok, ezek a kristályok a buborékok mentén egy vékony mátrix film réteg mögött helyezkednek el és stabilizálják a diszpergált buborékokat. A V3 esetén egy teljesen eltérő felszínt figyelhetünk meg. Habár a mátrixban is látható buborékok és hatóanyag kristályok, az üregek pontosabb szemrevételezésekor megfigyelhető, hogy a vékony mátrix réteg ennél az összetételnél nem borítja a kristályokat, betüremkednek ezáltal az üregekbe, azaz a buborékokba.

A kémiai elemanalízis vizsgálata során a V3 mintát vizsgáltuk meg a jelenség pontosabb leírása miatt, kék színnel a klóratomban dús elemek láthatóak, melyek a verapamil-HCl kristályok. Piros színnel jelenik meg az oxigénatomban dús mátrix, mely körbe öleli a kristályokat, de tör felszínen nem borítja be őket.

Kioldódás vizsgálat

A hatóanyag kioldódási vizsgálata alátámasztotta az elnyújtott hatóanyag leadást. A készítményeinket a vizsgálat során folyamatosan nyomon követtük vizuálisan és elmondhatjuk, hogy a teljes kioldás alatt folyamatosan a kioldóközeg tetején úsztak. A növekvő sztearinsav tartalom csökkentette a kioldódás hatékonyságát (DE), V1 esetén ez 70,03% volt, míg a V3 esetén ez lecsökkent egészen 68,43%-ig. A görbékre grafikusán illesztettünk nullad, első és Korsmeyer-Peppas modelleket, a görbék az elsőrendű kinetikához illeszkedtek a legjobban.

Gyártás validálás

A preformulációs vizsgálataink eredményét figyelembe véve V2-es összetétellel kaptuk a legígéretesebb eredményeket, ezért a további vizsgálatokat és a gyártás validálását ezzel az összetétellel végeztük el. Gyártás validálás során a 3 párhuzamos időben eltérő gyártást hajtottunk végre.

A gyártási sarzsok során kapott kapszula tömegek szignifikánsan nem különböznek egymástól. Egyadagos gyógyszerkészítmények tömegének egységességének (Ph. Hg. VIII. 2.9.5.) vizsgálata alapján egyenként kell lemérni az egyadagos készítmény húsz, véletlenszerűen kiválasztott egységének tömegét és meghatározni az átlagtömeget. Az átlagtömegtől a megadott 7,5 százalékos eltérésnél nagyobb mértékben legfeljebb két egyedi

tömeg térhet el, a megadott érték kétszeresét pedig egyetlen egyedi tömeg átlagtól való eltérése sem haladhatja meg. A tömegegységesség vizsgálatát mind a 3 sarzs teljesítette, 7,5%-nál egyedül a sarzs II.-ben találtuk 1 kapszulát melynek az eltérése 8,8% volt az átlagtól. A hatóanyagtartalom esetén az átlagtól való eltérés 85-115%-os gyógyszerkönyvi határértéken belül maradt. A sarzsok kioldódási profilját összehasonlítva, elmondható, hogy a preformulációs V2-höz hasonlítva mind hasonlósági faktor alapján mind különbözőségi faktor alapján hasonlóak a kioldódási profilok.

Cella szerkezetvizsgálat mikro-CT-vel

A cellás szerkezetet mikro-CT segítségével is megerősítettük. A buborék méreteloszlása és mátrixon belüli eloszlása homogén, a töltet szélén nem látható felhalmozódás vagy buborékok összeolvadás nagyobb, szférikus buborékokká. A buborékok 89,2% a 20-120 µm-eres tartományba esnek, az átlagos buborék méret 78 µm.

A készítményről készítettünk rekonstruált képeket, ahol a nyílt és zárt pórusokat ábrázoljuk. A képeken piros színnel jelenek meg a nyílt pórusok, melyek a felszínnel egybenyílnak, a kapszula tok leoldódása után. A pórusok csak kis hányada nyitott a felszín felé, a nyitott üregek nagy része egymásba olvadva a készítmény széleinél üregrendszert alakít ki.

Állományelemzés

Az állományelemzés eredményeit összegezve, a szobahőmérsékleten tartott száraz mintán (0. perc) a 4500g terhelés hatására, nem észlelhető törés, roppanás. A 60. és 180. percben úgyszintén nem figyelhető meg törés, roppanás, viszont, ami egyértelműen látszik a görbék lefutásáról, hogy az origóból való indulás után a terhelés nem lineárisan nő, mindkét esetben egy szigmoid görbe lefutás figyelhető meg a görbe első szakaszán, ami egy ponton, amikor kemény magot eléri a próba test, lineárisra vált. Az origó és a görbe lefutásának megváltozása közötti időből kiszámítható az átnedvesedett réteg vastagsága, mely a 60. perces minta esetén, 0,62 mm-nek adódik, 180. perces minta esetén ez a réteg már 1,75 mm vastag a szilárd mag körül. Az átnedvesedés tehát lassan megy végbe és 3 óráig 4500 grammos terhelésnek ellenálló mag található a készítményben. A 300., illetve 400. percre a görbék lineáris részét több helyen is törések törik meg. A 600. percnél a törések teljesen eltűnnek a görbéről teljesen átnedvesedett a készítmény és számítások alapján a készítmény vastagsága 7,00 mm, ami kiindulási átmérőhöz képest 1,18 mm el csökkent az erózió miatt.

Erózió és vízfelvétel vizsgálat

Az eróziós vizsgálat során a készítmény folyamatosan erodálódott. A készítmény tömeg a kioldódás során közel állandó maradt, a felvett víz tömege és a visszamaradt minta tömegének összege $90,65 \pm 1,85$ %-a volt a kiindulási tömegnek a vizsgálat teljes ideje alatt.

Az állomány változásról mikro-CT felvételeket is készítettünk. A kapszulák mérete alig vagy nem csökken a hatóanyag leadás során, a mátrix tartalom folyamatosan kioldódik és felszabadul a hatóanyag. A mikro-CT felvételek kiértékelés során a kiindulási 75%-ban mátrixot, 25% pórust tartalmazó keresztmetszeti képe a kapszulának az idő előrehaladtával megváltozott. A teljes mátrix a készítmény összefelületére vetítve lecsökkent 25%-re és 75%-ban pórusokat tartalmazott. A készítményünkről ezen információk fényébe kijelenthetjük, hogy nem duzzad, viszont a megtartott nagy porozitású szerkezetébe képes vizet adszorbeálni.

Felhajtóerő vizsgálat

A készítményünk az első pillanattól kezdve úszni képes a gyomortartalom felszínén, melyet a kioldódás és állomány elemzés során vizuálisan, fényképekkel bizonyítottunk. A ténye, hogy úszik a kapszula nem kielégítő, a gyomor örlő mozgása miatt fontos, hogy mekkora felhajtó erőt generál a kapszula, mellyel késleltetheti a gyomorból való továbbhaladást. A felhajtóerő görbe 3 szakaszra tagolható az első szakasz az első 30 percet foglalja magába, ekkor egy lineárisan csökkenés figyelhető meg, ami a kapszula héj megduzzadása miatt következik be, mely növeli a látszólagos sűrűségét a készítménynek. A következő szakasz egy felszállóág, mely során a készítményünkről leoldódik a kapszulahéj és ezáltal lassan csökken a látszólagos sűrűség, ezáltal a kapszula felhajtóereje növekszik. Az utolsó szakaszban egy plató szakasz figyelhető meg, a készítmény tömeg nem változik és térfogat változás is minimálisra tehető, így a generált felhajtóerő állandónak tekinthető.

Hosszútávú és gyorsított tárolási körülményeket követő kioldódási teszt

Tárolási körülményeket követő kioldódási vizsgálat során egy rövidebb, forszírozott körülményeken és egy kétéves szobahőmérsékleten tárolt minták kioldódását vizsgáltuk. A kioldódási görbék hasonlóak egymáshoz, ezt hasonlósági és különbözőségi faktorok számításával is bizonyítottuk. Elmondható, hogy a minták 2 évig eltartható szobahőmérsékleten a kioldódási profil változása nélkül.

Biohasznosulás *in vivo* vizsgálata

A verapamil tartalmú kapszuláinkkal relatív biohasznosulási vizsgálatot végeztünk el, mely során 50 mg verapamil tartalmú oldattal hasonlítottuk össze a hatóanyag plazma koncentrációját. Két órával a kapszula bevétele után egy gyomortükrözést hajtottunk végre az állaton, mely bizonyította, hogy az úszó kapszulánk a gyomorban helyezkedik el. A kapszula esetén a maximum koncentrációt a 4. órában értük el, míg az oldat esetén ez fél óra után volt detektálható. A GR hordozó 5-ször több ideig tudta a terápiás 50 ng/ml plazma szint felett tartani a gyógyszerkoncentrációt. A két gyógyszerformát összehasonlítva elmondható, hogy 99,3%-os biohasznosulást értünk el. Az *in vivo* – *in vitro* korreláció alapján elmondható, hogy egy késleltet hatás után lineáris összefüggés állfent a hatóanyag leadása és felszívódása között. Az *in vitro* kioldódás vizsgálattal így megjósolható a készítmény *in vivo* mérhető koncentrációja.

5. Megbeszélés

A PhD munkám célja volt a tanszéken szilárd habok előállítására korábban kidolgozott, szakaszos gyártási technológia gépesítése, folyamatos gyártásra alkalmassá tétele gyártóberendezés fejlesztésével. A munkánk első fázisában megterveztük, megépítettük a gyártóberendezést. A gyártógép kritikus paramétereit feltártuk és kísérletesen megállapítottuk az ideális gyártási körülményeket. A munkánk során egy kontrasztanyag mini tablettát és egy verapamil tartalmú kapszulát fejlesztettünk, melyeknek *in vitro* és *in vivo* tulajdonságait tanulmányoztuk.

A gyártóberendezésünk kapacitása folyamatos gyártással eléri óránként a 300-500 kapszulát. A habosító berendezés, Quickfoamcell, két részre osztható, az olvasztótégely, melynek kapacitása 600 milliliter, könnyedén növelhető a szükséges térfogatig. A tartály felfűthető 70 °C fokig, mely számos polimer és segédanyag olvadáspontjához elegendő. A berendezés működése egy kezelőpanelen keresztül irányítható, a fűtés és a szelepek nyitása szabályozható. A habosodás fő színtere a habosító cella, ahol az olvadékba gázt diszpergálunk erőteljes keveréssel, a végső gyógyszerforma kialakítására pedig kapszulatokokat alkalmaztunk, melyben az olvadékok lehülve és kapszula sapkával lezárva elnyerték végső formájukat. A 00-ás kapszulák térfogata 0,91 ml, mely az elkészült hab sűrűségétől és hatóanyag 10-30 tömegszázalékos tartalmától függően, akár 300 mg farmakont is tartalmazhat kapszulánként. Ez számos már publikált gasztroretentív hatóanyag terápiás dózisának tartománya, így széles körben is alkalmazható a készítményünk. Az ideális gyártás hőmérséklet az általunk használt PEG és sztearinsav keverékű mátrix esetén 54-56 °C közé tehető, ezen a hőmérsékleten a mátrix még képlékeny, nagy viszkozitással rendelkezik a gázok csapdázáshoz, de még elég meleg, hogy a kapszulákba kiadagolva azokat teljesen, nagyobb buborékok nélkül feltöltse. Ez összetételenként változhat, mert a hatóanyagok és további segédanyagok befolyásolják az olvadék viszkozitását és dermedési hőmérsékletét, ezáltal a gyártási hőmérsékletet is nagy mértékben befolyásolják. A gyártás során kritikus paraméternek találtuk a hozzáadott gáz mennyiségét és sebességét tovább a diszpergálási fordulatszámot. A keverő fej magasabb fordulatszámon lineárisan csökkentette a hab sűrűségét, míg a másik két paraméter esetén egy optimális tartományt tudtunk meghatározni faktoriális kísérlettervezéssel. A magasabb gáz beadagolási sebesség és mennyiség esetén azt feltételeztük, hogy a beinjektált gáz egy nagy buborék "dugót" hoz létre a keverőszár körül. Ji Ma és kollégái leírták, hogy a folyadékba beinjektált gáz esetén a sebesség növelése exponenciálisan növeli a buborék méretét, melyek leválnak az injektor végéről. A képződött

nagyobb buborékok rontják a keverés hatásfokát ezzel a habosodás mértékét, mely jól korreál a kapott faktoriális kísérlettervezés eredményeivel. A hozzáadott gáz mennyisége esetén a ki mennyiség nem eredményezett megfelelő sűrűség csökkenést, míg a több gáz hozzáadása esetén sem figyelhetünk meg javuló eredményt. Ennek háttérében a megnyúlt keverési idő állhat, mely a habos struktúra szétválását eredményezheti.

A bárium-szulfát tartalmú minták esetén jobb habosodást értünk el, mint a korábban publikált szakaszos üzemű metronidazolt tartalmazó készítmények gyártása során, a minták sűrűsége 54% csökkent, míg a szakaszos üzemű berendezés esetén ez csak 36%-ra tehető. Ennek háttérében a jobb hatásfokkal bíró ultra-turrax-os keverés állhat, mely nagyobb hatásfokkal rendelkezik, mint a korábban használt négyszálú keverőfej. Az 507 mg/cm^3 sűrűség által a mini tabletták a 0. perctől nem gázképződésen alapuló úszási képességgel rendelkeznek. A technológiánkat összehasonlítva más folyamatos gyártásra alkalmas készülékkel, melyekben CO_2 gáz szabadul fel az extrudálás során, és így nagy porozitással rendelkező készítményt eredményez, kisebb sűrűség csökkenést értünk el. Ennek ellenére sok hátrányosságot kiküszöböl a technológiánk az extrudálásos technológiához képest, kisebb hőmérséklet is elegendő, nincs visszamaradt gázképző oldószer és egyszerű, könnyen kivitelezhető technológia. A készítmény mikro-CT felvételein jól láthatók a fehér színű, röntgensugár- elnyelő BaSO_4 részecskék és a nagyfokú porozitás a készítményen belül. A porozitás homogénen oszlik meg a készítményben, az átlagos buborék átmérőnk 40 mikrométeresnek adódott, mely esetén már nagy porozitásról beszélhetünk. Az irodalomban nagy porozitásúnak írják le a 200-300 μm nagyságú homogénen elhelyezkedő pórust tartalmazó készítményeket. A teljes térfogat 44%-a levegő, melyeket zárt üregek építenek fel, így a buborék térfogathoz nagy felület társul. A homogén eloszlás, a kis buborék méret és a teljes térfogathoz viszonyított gáztérfogatot és a gáztérfogathoz társuló felület méretét figyelembe véve, a legyártottok BaSO_4 tartalmú kontrasztanyagok mátrix tablettánk nagy porozitásának tekinthető. A kialakult szerkezet zárt cellásnak nevezhető mivel a gázbuborékok majdnem teljes hányad zárt, nem nyitottak a külső környezet felé. A készítmény szobahőmérsékleten kemény, de 15 N-os terhelés esetén összetörhető. Ez a törési szilárdság kisebb, mint a hasonló méretű tabletták vagy pelletek átlagos szilárdsága, de már elég erős ahhoz, hogy ellenálljon a gyomor őrölmozgásainak míg teljesen át nem nedvesedik. A textúraelemzés eredményei alapján, a minták teljes nedvesedése 120 perc alatt következik be, de a BaSO_4 minták ez után is egy darabban maradtak a vizsgálat során. A BaSO_4 oldhatatlan vízben, így nem segíti elő a kioldódása a mátrix gyengülését, erózióját, ezáltal

hozzájárulhat a mátrix megmaradásához, a minta keménységének és textúrájának megőrzéséhez. A textúra vizsgálat során a minta összenyomásával kis mennyiségű víz távozott a kis tablettákból, melynek feltételezett oka lehet a BaSO_4 részecskék rossz nedvesedése. A bárium-szulfátot régóta alkalmazzák, mint kontraszt anyag, diagnosztika során vagy készítmények testen belüli elhelyezkedéséről kaphatunk információt. A mintákat könnyen kimutathatjuk CT-vel és *in vivo* vizsgálatban könnyen azonosíthatóak a bélrendszeren belül. A vizsgálat fényében megerősíthető, hogy a BaSO_4 -tartalmú minták legalább két óra hosszáig a gyomorban tartózkodnak és nem ürülnek ki a gyomorból, annak ellenére, hogy a minták mérete csökkent. Az alacsony sűrűségű minták a gyártási technológiával alkalmas a gasztroretencióra.

A kutatásunk második felében egy szisztémás hatással bíró, rossz biohasznosulással rendelkező hatóanyag formulálásával foglalkoztunk. Célunk volt a verapamil-HCl biológiai hozzáférhetőségének növelése a kidolgozott technológiával. A forgalomba lévő verapamil tartalmú retard készítményeket gyakori adagolás jellemzi a megfelelő terápiás hatás elérése érdekében, ezen hiányosság kiküszöbölésére alkalmas a GR rendszerek alkalmazás. A verapamil hőstabilitása is kedvező az általunk kidolgozott technológiához, a verapamil-HCl nem olvad meg, nem figyelhető meg kristályszerkezet változás és rövid ideig történő melegítés során sem bomlik el. A verapamil tartalmú szilárd hab előállítása során az előállított olvadékok magasabb olvadáspontja miatt a habcellák hőmérséklete $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ -kal magasabbra kellett emelni, mint a korábban alkalmazott BaSO_4 összetételnél. Három különböző sztearinsav tartalmú kompozíciót gyártottunk le 15%-os verapamil-HCl-tartalommal, mely kapszulánként 80-120 mg verapamilt tartalmaztak, ami megfelel az irodalomban és a forgalomban lévő készítmények esetén elérhető hatóanyagtartalomnak. A sztearinsavtartalom 10%-ról (V1) 12,5%-ra (V2) történő növelése segítette a habszerkezet kialakulását, ahogyan azt Vasvári és munkatársai korábban leírták, de fontos megemlíteni, hogy a túl magas sztearinsav tartalom csökkentette a habzást. A V3 esetben tapasztalt sűrűség növekedés oka lehet a hatóanyag részecskék nedvesedésének megváltozása a mátrix összetétele miatt. A SEM-felvételekkel alátámasztottuk a szilárd részecskék megváltozott elhelyezkedését. A V3 összetétel esetén a verapamil kristályok az üreg belső felületén találhatók, míg a V1 és V2 esetében a mátrixban eloszlának el, így mátrix fedi őket. A habosítás során fény derült arra is, hogy a hatékonyságot nem csak a mátrix hidrofilitásától függ, tapasztalataink szerint a szilárd fázis részecskemérete is jelentősen befolyásolja a habosítás mértékét. A korábban leggyártott kontrasztanyag minták esetén a kisebb hatóanyag részecskék ($314 \pm 115\text{ nm}$), BaSO_4

felhasználásával kisebb sűrűségű terméket állítottunk elő, míg a nagyobb átlagos részecskeméretű ($13,4 \pm 11,2 \mu\text{m}$) verapamil esetén nagyobb sűrűséget tapasztaltunk. A hatóanyag kioldódási vizsgálata során mind a három összetétel elnyújtott hatóanyagleadó mechanizmus mutatott. A forgalomban lévő készítményekkel összehasonlítva a hatóanyag-felszabadulás lassabb, elnyújtottabb, mint a Magyarországon is forgalomba lévő Isoptin SR esetén tapasztalható, de hasonló kinetikát mutat a Calaptin SR-rel összehasonlítva, habár ez a készítmény jelenleg országunkban nem elérhető. A formulációs vizsgálatokat figyelembe véve a V2-es minta a legideálisabba további vizsgálatainkhoz és *in vivo* biohasznosulás elvégzésére. A validálás során három párhuzamos gyártást végeztünk el és hasonlítottunk össze, a validálási eredmények megfelelnek az FDA ajánlásának és a GMP előírásainak. A mikro-CT felvételeken a készítmény nagy porozitást mutat, a buborékok eloszlása a mátrixban homogén, és az üregek méreteloszlása is monodiszperz. Általánosan elmondható, hogy a felszínre nyitott pórusok gyorsíthatják a kioldó közeg bejutását a készítmény belsejébe, így előidézve a gyorsabb dezintegrációt, amivel a kioldódás sebessége nő, azonban a kapszulánk esetén kevés nyitott pórusról beszélhetünk, így jelenlétük nem járul hozzá jelentősen a készítmény eróziójához. Az oldódás során végzett textúraelemzés alapján, a minták 300. percig kemény maggal rendelkeznek és csak a külső felszínük nedvesedik át, mely az idő haladtával egyre nő. A kemény mag ellenáll a 45 N erőhatásnak, így várhatóan a gyomor által kifejtet 1,5-2 N erőnek ellenállhat hosszú ideig. A kioldódás végén a kiindulási tömeg 30 %-a visszamarad, a visszamaradt mátrix képlékenyé vált, amely így már a gyomor őrlő és kavarási mozgásának köszönhetően könnyen szétmállik, törik és eltávolítható a gyomorból. A PEG 4000 és a verapamil kioldódik a mátrixból jó vízoldhatóságuk okán, míg az SA lipofil tulajdonsága miatt vízben nem oldódik, így visszamarad a készítményből. A készítmény nem mutatott duzzadási képességet a kioldó közegben, PEG 4000-re nem jellemző a duzzadás. A klímakamrában, emelt hőmérséklet és páratartalomban történő tárolás után végzett kioldódási vizsgálat során a készítményt az eredeti friss készítménnyel összehasonlítva megfelelt a támasztott elvárásoknak mind a hasonlósági és különbözőségi faktorok esetén. Hasonló eredményt kaptunk a kiterjesztett, 2 éves standard körülmények között tárolt kapszulák esetén is. A kioldódási vizsgálatok eredményei bizonyították, hogy a verapamil tartalmú szilárd habmátrixban nem következik be olyan jelentős változás, amely befolyásolná a hatóanyagkioldódását. Az *in vivo* farmakokinetikai vizsgálat során bizonyítottuk, hogy az általunk gyártott VER tartalmú GR rendszer képes jelentősen megváltoztatni a verapamil farmakokinetikai paramétereit. A vizsgálat során állatmodellnek kutyákat alkalmaztunk, mert a humán és a kutya emésztőrendszeri tulajdonságai nagyban

hasonlítanak. A gyomor mérete arányaiban megfelel az emberének, a gyomornedv pH-ja, gyomor motilitása megfelelő és közel hasonló pylorus nyílással rendelkeznek. A verapamil oldat esetében a verapamil *in vivo* plazmakoncentrációja korrelál a publikált hagyományos verapamil-HCl tablettáékéval, mint például a Staveran-nal. A kísérleteink során, azért használtunk tiszta verapamil oldatot, hogy a verapamil segédanyagok nélküli felszívódását is tanulmányozzuk a GI-traktusból és pontosabb képet kapjunk a farmakokinetikai tulajdonságáról. A habosított formulációkat összehasonlítva, a forgalomba lévő retard tablettával, az Isoptin SR-el, megfigyelhető, hogy a t_{max} eltolódik. Az éles csúcs helyett egy plató szakasz figyelhető meg melynek csúcspontja 4. óránál található, miközben már az első órától kezdve a plazmaszint a terápiás tartományban található. 99,3 %-os relatív biológiai hasznosulást értünk el a készítményünkkel, ami jó eredménynek számít a forgalomba lévő más GR készítményeket figyelembe véve. A 2 órás gasztroszkópián bizonyítottan megtalálható a gyomorban a készítményünk, mely a 4. órára már kiürült. Az összehasonlításnál figyelembe kell venni, hogy a kutyák gyomor mozgása közel kétszerese is lehet a humánénak, ami eredményezhette a vártnál gyorsabb erodációt, illetve a vizsgálat üres gyomorban történt. Az *in vivo* eredmények korrelációját vizsgáltuk a kioldódási eredmények függvényében. Az *in vitro* - *in vivo* korreláció alapján, jól előre jelezhető az *in vivo* felszívódás az *in vitro* kioldódási vizsgálatokkal. A nagy porozitású verapamil hab alkalmazásával a gasztroretentív alkalmazás megvalósítható, ahol elnyújtott hatóanyagleadás és a gyomorban való visszatartást egyszerre érvényesül. Eredményeinket tekintve elmondható, hogy sikeresen létrehoztunk egy folyamatos gyártásra alkalmas eszközt, melynek a kritikus paramétereit optimalizáltuk. Sikeres formulációt hajtottunk végre kontrasztanyaggal és szisztémás hatással rendelkező hatóanyaggal. A készítményünk alkalmasságát gasztroretencióra mind *in vitro* és *in vivo* bizonyítottuk. Kutatásunk alapjait képezhetik a szilárd gyógyszerformulák előállításának, melyeket a gasztroretención kívüli terápiás területeken is alkalmazhatók.

6. Összefoglalás

A doktori munkám során egy új berendezést terveztünk és építettünk meg, mely alkalmas alacsony sűrűségű GR hordozó előállítására olvadt diszperziók habosításával. A habosítási folyamatot Box–Behnken faktoriális kísérletitervezéssel optimalizáltuk, hogy meghatározzák az ideális, leghatékonyabb beállítást, és a lehető legnagyobb porozitással rendelkező szilárd habot hozzuk létre. BaSO₄ tartalmú mintákat gyártottunk, melyek alacsony sűrűséggel rendelkeznek. A nagy porozitást mikro-CT-vizsgálattal bizonyítottuk. Savas kioldóközegben textúra analízist végeztünk a minták *in vitro* nedvesedésének jellemzésére. A kontrasztanyagot és a PET/CT-t használtuk a habosított készítmény *in vivo* gasztroretenciójának bizonyítására patkánymodellben. Verapamil tartalmú gasztroretentív kapszulákat állítottunk elő a berendezéssel, majd az *in vitro* és *in vivo* viselkedést vizsgáltuk. A termék látszólagos sűrűségét optimalizáltuk a sztearinsav figyelembevételével, mely után a gyártást is validáltuk a megfelelő összetételre. A mikro-CT-vizsgálatok eredményei zárt cellás szerkezetet mutattak, ahol az üregek nagyobb része kisebb átmérővel rendelkezik, mint 120 mikrométer. A textúra elemzés eredményei megerősítették a kemény belső mag szerkezetet, még 5 órás kioldódás után is. A PEG tartalmú mátrix folyamatos eróziója ellenére, a minták folyamatos úszási tulajdonságot mutattak a kioldódás során. Vizsgálataink igazolták, hogy az elsőrendű hatóanyag leadás 2 éves tárolás után is megmaradt. Az *in vivo* farmakokinetikai vizsgálat igazolta a hatóanyag elnyújtott felszabadulását a mátrixból, a maximális gyógyszer plazmakoncentrációt 4 órával a beadás után érte el. Verapamil oldathoz képest 99,3%-os relatív biohasznosulást értünk el. Eredményeinket összegezve megállapíthatjuk, hogy a habosító berendezésünkkel sikeresen fejlesztettünk alacsony sűrűségű, nagy porozitású szilárd olvadék alapú kapszulát folyamatos gyártással, mely gasztroretentív tulajdonságait *in vivo* vizsgálatokkal is alátámasztottuk.

7. Köszönetnyilvánítás

Köszönet illeti témavezetőmet, Dr. Fenyvesi Ferencet, amiért segítette PhD munkámat és a disszertációm elkészültét. Témavezetése alatt bármikor fordulhattam hozzá segítségért és számíthattam tanácsaira és szaktudására.

Ezúton is köszönöm Prof. Dr. Vecsernyés Miklós Dékán Úrnak és Dr. Kovácsné Prof. Dr. Bácskay Ildikó Dékánhelyettes asszonynak és tanszékvezető asszonynak, hogy a tanszékén a kutatásomat elkezdhettem és folytattathattam. Hálás vagyok, hogy kutatómunkám során lehetőséget biztosítottak külföldi konferenciákon való részvételre. Továbbá segítették fél éves Olaszországi szakmai gyakorlatomat.

Köszönöm Dr. Vasvári Gábornak, hogy TDK munkám alatt mentorált és bármikor számíthattam szakmai segítségére. Köszönöm a lelkesítését a PhD munkám során és a barátságát.

Szeretném megköszönni a társszerzők munkáját is, akik segítségre voltak a disszertáció alapjául szolgáló közlemények megírásában. Köszönöm, hogy nyitottak voltak a közös munkára és a kísérleteket, méréseket és kiértékeléseket legjobb szaktudásukkal végezték el.

Szeretném megköszönni kollégáimnak a támogatást és biztatást, akikkel az évek alatt barátság is kötődött, Dr. Pető Ágotának, Dr. Kósa Dórának és Dr. Nemes Dánielnek.

Köszönettel tartozok a Gyógyszertechnológiai Tanszék munkatársainak, Dr. Váradi Juditnak, Dr. Ujhelyi Zoltánnak, Dr. Fehér Pálmának, Dr. Réti-Nagy Katalinnak, Dr. Arany Petrának, Dr. Rusznyák Ágnesnek, Dr. Sinka Dávidnak, Horányiné Körei Máriának, Szilágyi Erikának, Gulyás Évának, Bátoriné Pataki Brigittának, amiért munkájukkal és szakmai támogatásukkal hozzájárultak eredményeimhez. Köszönöm továbbá Nagyné Vaszily Máriának, Sipos Szilviának és Lakatos Szilviának fáradhatatlan munkájukat.

Végül, de nem utolsó sorban, óriási hálával tartozok szeretett Családomnak, többek között szeretett szüleimnek, testvéremnek és menyasszonyomnak, akik kitartóan támogattak a PhD-s éveim alatt és segítenek egész életemben.

Továbbá szeretnék köszönetet mondani a pályázatoknak, melynek keretében megvalósulhattak a PhD disszertációm kísérletei és elkészülte. Doktori munkámat támogatta

az 3.6.3-VEKOP-16-2017-00009 projekt ösztöndíja, valamint a „Proof of Concept” (PoC-008) programja a Debreceni Egyetemnek. A disszertáció elkészítését a GINOP-2.3.4-15-2020-00008 számú projekt is támogatta. alapjául szolgáló kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium által meghirdetett Tématerületi Kiválósági Program (TKP2021-EGA-18) támogatta.



Nyilvántartási szám: DEENK/90/2022.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Haimhoffer Ádám

Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Haimhoffer, Á.**, Vasvári, G., Budai, I., Béres, M., Deák, Á., Németh, N., Váradi, J., Sinka, D. Z., Bácskay, I., Vecsernyés, M., Fenyvesi, F.: In Vitro and In Vivo Studies of a Verapamil-Containing Gastroretentive Solid Foam Capsule.
Pharmaceutics. 14 (2), 1-18, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics14020350>
IF: 6.321 (2020)
2. **Haimhoffer, Á.**, Vasvári, G., Trencsényi, G., Béres, M., Budai, I., Czomba, Z., Rusznyák, Á., Váradi, J., Bácskay, I., Ujhelyi, Z., Fehér, P., Vecsernyés, M., Fenyvesi, F.: Process Optimization for the Continuous Production of a Gastroretentive Dosage Form Based on Melt Foaming.
AAPS PharmSciTech. 22 (5), 1-9, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1208/s12249-021-02066-y>
IF: 3.246 (2020)

További közlemények

3. Rusznyák, Á., Malanga, M., Fenyvesi, É., Sente, L., Váradi, J., Bácskay, I., Vecsernyés, M., Vasvári, G., **Haimhoffer, Á.**, Fehér, P., Ujhelyi, Z., Nagy, B. J., Fejes, Z., Fenyvesi, F.: Investigation of the Cellular Effects of Beta- Cyclodextrin Derivatives on Caco-2 Intestinal Epithelial Cells.
Pharmaceutics. 13 (2), 1-14, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics13020157>
IF: 6.321 (2020)





4. Pető, Á., Kósa, D., **Haimhoffer, Á.**, Fehér, P., Ujhelyi, Z., Sinka, D. Z., Fenyvesi, F., Váradi, J., Vecsernyés, M., Gyöngyösi, A., Lekli, I., Szentesi, P., Marton, A., Gombos, I., Dukic, B., Vígh, L., Bácskay, I.: Nicotinic Amidoxime Derivate BGP-15, Topical Dosage Formulation and Anti-Inflammatory Effect.
Pharmaceutics. 13 (12), 1-17, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics13122037>
IF: 6.321 (2020)
5. **Haimhoffer, Á.**, Dossi, E., Béres, M., Bácskay, I., Váradi, J., Afsar, A., Rusznyák, Á., Vasvári, G., Fenyvesi, F.: Preformulation Studies and Bioavailability Enhancement of Curcumin with a 'Two in One' PEG-[beta]-Cyclodextrin Polymer.
Pharmaceutics. 13 (10), 1-18, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics13101710>
IF: 6.321 (2020)
6. **Haimhoffer, Á.**, Fenyvesi, F., Lekli, I., Béres, M., Bak, I., Czagány, M., Vasvári, G., Bácskay, I., Tóth, J., Budai, I.: Preparation of Acyclovir-Containing Solid Foam by Ultrasonic Batch Technology.
Pharmaceutics. 13 (10), 1-15, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics13101571>
IF: 6.321 (2020)
7. Fenyvesi, F., Nguyen, T. L. P., **Haimhoffer, Á.**, Rusznyák, Á., Vasvári, G., Bácskay, I., Vecsernyés, M., Ignat, S. R., Dinescu, S., Costache, M., Ciceu, A., Hermenean, A., Váradi, J.: Cyclodextrin Complexation Improves the Solubility and Caco-2 Permeability of Chrysin.
Materials. 13 (16), 3618-3629, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ma13163618>
IF: 3.623
8. Arany, P., Papp, I., Bodroginé Zichar, M., Csontos, M., Elek, J., Regdon, G., Budai, I., Béres, M., Gesztelyi, R., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Vasvári, G., **Haimhoffer, Á.**, Fenyvesi, F., Váradi, J., Vecsernyés, M., Bácskay, I.: In Vitro Tests of FDM 3D-Printed Diclofenac Sodium-Containing Implants.
Molecules. 25 (24), 1-31, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25245889>
IF: 4.411
9. **Haimhoffer, Á.**, Rusznyák, Á., Réti-Nagy, K., Vasvári, G., Váradi, J., Vecsernyés, M., Bácskay, I., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Fenyvesi, F.: Cyclodextrins in Drug Delivery Systems and Their Effects on Biological Barriers.
Sci Pharm. 87 (4), 33-53, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/scipharm87040033>





10. Vasvári, G., **Haimhoffer, Á.**, Horváth, L., Budai, I., Trencsényi, G., Béres, M., Dobó Nagy, C., Váradi, J., Bácskay, I., Ujhelyi, Z., Fehér, P., Sinka, D. Z., Vecsernyés, M., Fenyvesi, F.: Development and Characterisation of Gastroretentive Solid Dosage Form Based on Melt Foaming.
AAPS PharmSciTech. 20 (7), 1-11, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1208/s12249-019-1500-2>
IF: 2.401
11. Argenziano, M., **Haimhoffer, Á.**, Bastiancich, C., Jicsinszky, L., Caldera, F., Trotta, F., Scutera, S., Alotto, D., Fumagalli, M., Musso, T., Castagnoli, C., Cavalli, R.: In Vitro Enhanced Skin Permeation and Retention of Imiquimod Loaded in [béta]-Cyclodextrin Nanosponge Hydrogel.
Pharmaceutics. 11 (3), 1-17, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics11030138>
IF: 4.421
12. Vasvári, G., Kalmár, J., Veres, P., Vecsernyés, M., Bácskay, I., Fehér, P., Ujhelyi, Z., **Haimhoffer, Á.**, Rusznyák, Á., Fenyvesi, F., Váradi, J.: Matrix systems for oral drug delivery: formulations and drug release.
Drug Discov. Today Technol. 548, 1-10, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ddtec.2018.06.009>

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 49,707

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
9,567**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2022.02.21.

