



**OPTIKAI MÉRÉSI MÓDSZEREK FEJLESZTÉSE ÉS ALKALMAZÁSA
AZ AEROSZOLOK LÉGÚTI KIÜLEPEDÉSÉNEK VIZSGÁLATÁRA**

PhD disszertáció

Kerekes Attila

Témavezető: Dr. Nagy Attila Tibor

MTA Wigner Fizikai Kutatóközpont

Pécsi Tudományegyetem Természettudományi Kar

Fizika Doktori Iskola

2016

Tartalom

I. Bevezetés.....	3
II. Kutatási célok és vizsgálati módszerek.....	5
III. Irodalmi áttekintés.....	7
A humán légzőrendszer és a részecskék depozíciója.....	7
A légutak felépítése.....	8
A légzés folyamata.....	11
Légúti betegségek.....	12
Inhalációs eszközök.....	14
In vivo módszerek áttekintése.....	15
In silico módszerek áttekintése.....	17
In vitro módszerek áttekintése.....	19
Inhalátorok által kibocsájtott aeroszolok vizsgálatára alkalmazott módszerek.....	23
IV. Inhalációs eszközök által generált részecskék méreteloszlásának és sebességének vizsgálata.....	25
A mérési elrendezés.....	26
Az izokinetikus mintavevő egység.....	27
Részecskesebesség meghatározása.....	29
Részecskeméret meghatározása.....	31
Mérési eredmények.....	33
V. Páratartalom méreteloszlásra gyakorolt hatásának vizsgálata.....	40
Tömegmediánhoz tartozó aerodinamikai átmérő meghatározása.....	41
Az optikai képfeldolgozáson alapuló mérési módszer.....	42
Az optikai képfeldolgozáson alapuló mérési módszer validálása.....	44

A klímakontrollált mérőkamra	47
Mérések párásított környezetben	49
Összefoglalás	51
VI. <i>In vitro</i> és <i>In silico</i> áramlástani vizsgálatok idealizált humán légúti modellben	53
Az idealizált légúti geometria felépítése	54
A lézer Doppler sebességmérő kifejlesztése	57
In vitro mérési összeállítás	59
Szimulációs számítások leírása	61
Eredmények	62
Összefoglalás	68
VII. Humán légúti rendszerbe inhalált aeroszokok felületi eloszlásának meghatározása	70
Kísérleti háttér felépítése	71
Belégzés szimulálása pulmonológiai hullámforma-generátorral	72
Kísérletek leírása	74
Eredmények	76
Összefoglalás	83
VIII. Összefoglalás	84
Köszönetnyilvánítás	87
Hivatkozott irodalom	88
Mellékletek	105
1. Aerodinamikai méreteloszlás meghatározása kaszkád impaktossal	105
2. MMAD meghatározása az aerodinamikai méreteloszlásból	106

I. Bevezetés

A humán légúti rendszerbe belélegzett, majd ott kiülepedett részecskék élettani hatásainak vizsgálata napjaink igen fontos kutatási területe. Az egyre nagyobb számban, és egyre szélesebb körben alkalmazott inhalációs készítmények hatékonyan alkalmazhatók a légúti megbetegedések kezelésére, illetve a civilizációs fejlődéssel mindinkább felerősödő, az emberi egészséget érintő környezeti hatások csökkentésére. Az inhalációs gyógyszerbeviteli mód alkalmazása lehetővé teszi bizonyos betegségek esetén a hatóanyagok (pl. szteroidok) nem csekély kockázatot jelentő szisztémás mellékhatásainak minimalizálását. Ezzel a technikával a hatóanyag jelentős részét közvetlenül a tüdőbe, illetve adott készítmény esetén elsődleges célterületként a közepes és a kislégutakba juttatjuk, így maximalizálva a terápiás hatást és minimalizálva a dózist.

Az inhalációs készítmények káros mellékhatásainak a csökkentése, valamint a maximális terápiás hatás elérése érdekében mind a hatóanyagok fejlesztése, mind pedig az inhalációs készülékek áramlástanai paramétereinek a javítása eredményre vezethet. Dolgozatomban ez utóbbi területtel foglalkozom részletesen. Amennyiben a hatóanyagot adottnak tekintjük, úgy a teljes légzőrendszerbeli depozíció mellett a várható hatás függ az eszköz által leadott hatóanyag mennyiségétől, farmakokinetikai és farmakodinamikai paramétereitől, valamint a kiülepedés légzőrendszeren belüli hatékonyságától, annak térbeli eloszlásától.

A légúti depozíciót befolyásoló számtalan tényező közül leggyakrabban a részecskék méreteloszlását említik, mint az adott készítmény hatékonyságát jellemző legfontosabb paramétert. Ez részben igaz ugyan, de az esetek egy jelentős hányadában a

méretből fakadó előnyök nem tudnak megfelelően érvényesülni, mivel egy másik paraméter, mondjuk pMDI (Pressurized Metered Dose Inhaler - túlnyomásos kimért dózisu inhalációs eszköz) használata esetén a szinkronizáció – a készülék működtetése és a belégzés összehangolása – nem megfelelő. A készülék által generált részecskesokaság méreteloszlásának ismerete így mindenképpen szükséges, de semmiképpen sem elégséges a leghatásosabb terápiás eszköz, illetve módszer kiválasztásához, az optimális depozíciós határfok eléréséhez. A készülékeket általában úgy tervezik meg, hogy a célközönség lehető legnagyobb hányadának igényeit kielégítsék, így a lehető legszélesebb körben alkalmazhatók legyenek. Ezzel szemben a célközönség az esetek döntő többségében csak a felületes szemlélő számára homogén, egyedei kisebb-nagyobb mértékben különböznek egymástól, ami azt eredményezi, hogy a bevitt hatásos dózis nagy szórást mutathat. Ezen különbségek azonosításával és a különbözőségek által felvetett kérdések megválaszolásával egy alapján jó termék még jobbra tehető.

Az inhalációs eszközök által generált részecskék áramlástani paramétereinek kutatása nyilvánvaló fontosságú hatékony terápiás eszközök fejlesztése esetén [1]. A környezeti levegőből inhalált szennyező részecskék kiülepedésének lokális inhomogenitása olyan súlyos megbetegedéseknél játszhat kulcsszerepet, mint például a tüdőrák [2]. Mivel a kérdéskör rendkívül összetett, ennek megfelelően az alkalmazott vizsgálati eszközök köre is széles. Pontosan meg kell ismerni – ideális esetben előre kell tudni jelezni – az inhalált részecskék légúti rendszerbeli viselkedését, mérni kell fizikai, kémiai paramétereit, fel kell tudni térképezni a légúti rendszer geometriáját, annak a részecskék depozíciójára, áramlástani jellemzőire hatást gyakorló jellemzőit.

II. Kutatási célok és vizsgálati módszerek

A bevezetőben felvázolt problémák megoldására új optikai és spektroszkópai mérési módszereket dolgoztam ki és alkalmaztam kutatásaim során. Munkám során olyan gyakorlati problémák megoldását tűztem ki célul, amelyeket pulmonológusokkal és a légúti kiülepedés számítógépes szimulációjával foglalkozó szakemberekkel együtt határoztam meg. Ezek a következő pontokban foglalhatók össze:

- egy olyan kutatási, kísérleti háttér létrehozása, amellyel áramlástan és légúti depozíciós szempontból elemezhetjük az inhalációs készítményeket és feltérképezhetjük azok egyedi tulajdonságait,

- új mérési módszerek kifejlesztése, melyekkel hatékonyan meghatározhatjuk az aeroszol gyógyszerkészítmények légúti áramlását és kiülepedését befolyásoló tulajdonságait, valamint a depozíció hatásfokát és eloszlását valóságű tüdőmodellekben,

- a kifejlesztett mérési módszerek és kísérleti berendezések alkalmazása aeroszolak és aeroszol gyógyszerkészítmények tulajdonságainak, áramlásának és kiülepedésének tanulmányozására realisztikus, üreges tüdőmodellekben.

A fenti célokat orvosokkal, mérnökökkel együttműködve valósítottam meg, felhasználva az intézetben több évtizedes múltra visszatekintő optikai mérés technikai hátteret.

A dolgozat összeállításakor törekedtem arra, hogy fejlesztéseim a lehető legszélesebb spektrumban kerüljenek bemutatásra. A kutatási eredményeim részletezése előtt az irodalmi áttekintésben két nagyobb területhez kapcsolódó, a jelen munka szempontjából leginkább releváns ismeretanyagot gyűjtöttem össze. A III. fejezetben

először röviden bemutatom a humán légzőrendszert, annak működését, a legfontosabb inhalációs eszközöket és azokat a betegségeket, melyek terápiája során ezen aeroszol készítményeket használják. Másodsor, sorra veszem a témakörben alkalmazott, a humán légúti rendszerbe inhalált részecskék célterületi depozíciójának vizsgálatához, a részecskefelhő áramlástanai viselkedésének megfigyeléséhez használt eszközöket.

A IV. fejezetben bemutatom, hogy hogyan váltható ki az aeroszol gyógyszerkészítmények vizsgálatára (méreteloszlásuk meghatározása) széleskörűen elterjedt analitikai módszer részecskeszámláláson alapuló optikai mérési eljárással.

Az V. fejezetben bemutatok egy új optikai képfeldolgozáson alapuló eljárást, mellyel a kaszkád impaktorokat alkalmazó, az aeroszol gyógyszerkészítmények méreteloszlásának és jellemző méretének meghatározására szolgáló mérés technikát egészítem ki optikai mérési módszerrel, mely kiválthatja az impaktor tálcákon kiülepedett hatóanyag mennyiségek analitikai meghatározását. Ezt az eljárást alkalmazom a légutakra jellemző magas páratartalomnak a belélegzett aeroszol gyógyszerek méreteloszlására gyakorolt hatásának vizsgálatára.

A VI. fejezetben egy általam fejlesztett lézeres Doppler sebességmérő berendezéssel vizsgálom egy idealizált üvegből készített légúti modellben a felépülő áramlást, és összehasonlítva az eredményeket számítógépes szimulációk adataival, kísérletileg igazolom ez utóbbiak alkalmazhatóságát.

A VII. fejezetben bemutatok egy új mérési eljárást az aeroszol gyógyszerkészítmények légúti kiülepedésének vizsgálatára, melynek során 3D nyomtatással előállított realisztikus tüdőmodellekben Raman-spektroszkópiai módszerrel meghatároztam a kiülepedés felületi eloszlását.

III. Irodalmi áttekintés

A humán légzőrendszer és a részecskék depozíciója

Az ember légzőszervi rendszere számos élettani folyamatban fontos szerepet játszik. A tüdő 8-9 μm átmérőjű, sűrű kapilláris hálózata hatékonyan szűri a vörösvértesteknél nagyobb részecskéket (pl. zsír, csontvelő, tumorsejtek, fehérvérsejt) illetve eltávolítja a vérből a 37 °C - on illékony anyagokat (metabolitok). Képes vérzéscsillapító folyamatokat aktiválni, vagy gátolni, ezáltal a vért a szükség szerinti állapotban tartja. A véredények nyitásával és zárásával nyomáskiegyenlítő funkciót is ellát, de fontos szerepe van a szervezet víz- és sóháztartásában is. Számos biológiailag aktív anyag elválasztására, raktározására, eliminálására, inaktiválására vagy szintézisére is képes, de az *in vitro* depozíciós kísérletek során vizsgált legfontosabb tulajdonsága, hogy belégzéskor a légutak egyfajta aerodinamikai szűrőként is működnek. Az inhalált részecskék mozgását a légúti traktusban olyan tényezők befolyásolják, mint például a részecske mérete, alakja, sűrűsége, elektromos töltése, vízmegkötő képessége, vagy humán oldalról a belégzési térfogat, áramlás, a légzési szünet hossza, vagy a légutak geometriai paraméterei.

A részecskék depozícióját alapvetően három folyamat határozza meg:

- *Tehetetlenségi impakcióval* az 1, 3 és 7 μm aerodinamikai átmérővel rendelkező részecskék 1, 10 és 30%-a ülepedik ki a felső légutakban (a 10 μm -nél nagyobb részecskék közel 100%-a), mivel tehetetlenségük révén nem képesek követni az áramlás vonalát és már korán a légút falának ütköznek.

- *Szedimentációval* a 0,5-10 μm nagyságú részecskék ülepednek ki. Ezek a részecskék követik a belégzés során a légáramlást, elérik az alacsonyabb nyomású középső és perifériás légutakat, ahol a gravitáció hatására kiülepednek.
- *Brown-féle mozgással* a 0,1 μm -nél kisebb részecskék ülepednek ki. A diffúzió és a Brown-mozgás segítségével a részecskék elérik a légutak falait az alsó légúti traktusokban.

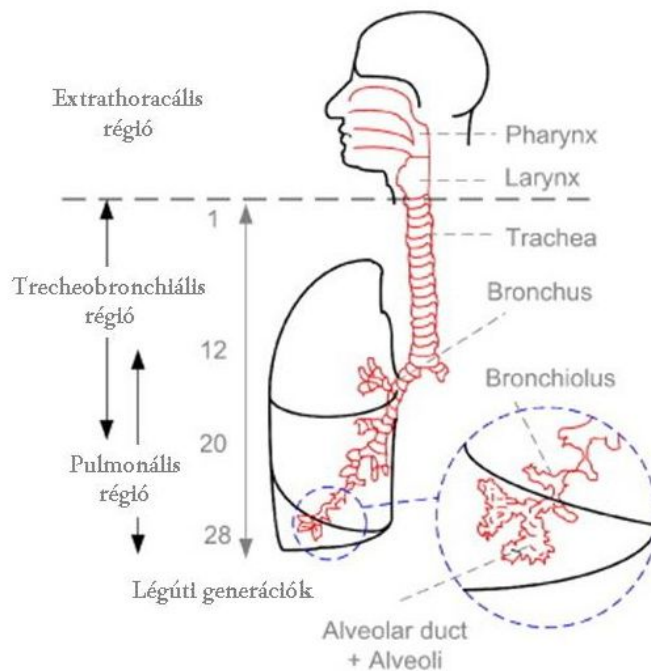
A légúti depozíciót befolyásoló humán tényezők figyelembevételével, illetve finomhangolásával elméletileg optimalizálni lehet az adott méreteloszlású részecskék kiülepedését egy adott légúti traktusra. Megjegyzendő, hogy bár a tüdő jól működik mint aerodinamikai szűrő, ennek ellenére az akár 300 μm hosszúságú azbeszt rostok is képesek elérni az alsóbb légutakat annak köszönhetően, hogy a túszerű részecskék a légáramlásba, annak tengelyével párhuzamosan haladva jóval kisebb méretűnek látszanak [2].

Aeroszlok adott légúti-szegmensbeli kiülepedésének szempontjából fontos humán tényező a légutak geometriai alakja, valamint a ventilációs mechanizmus során felépülő légáramlás. Ahhoz, hogy a depozíciós folyamatban játszott szerepüket jobban megértsük, tekintsük át röviden a légzőrendszer anatómiai felépítését és a ventiláció mechanizmusát [3].

A légutak felépítése

A humán légúti rendszer dichotómiásan (két részre) elágazó bronchusok (hörgő) és bronchiolusok (hörgőcske) sorozata, melyek a kb. 300-900 millió alveolusban (léghólyagocska) vakon végződnek. A gázcsere az alveolusok mintegy 100-150 m^2 -t

kitevő felületén keresztül megy végbe. A légutak az aeroszolok kiülepedésének a szempontjából három régióból állnak.



1. ábra Az emberi légzőrendszer légúti szerkezete [4]

Az első rész a *nasopharingeális* tartomány. Ide tartozik az orrüreg, a szájüreg, a garat és a gége. Az első kettő szerepe a beszívott levegő felmelegítése és párásítása, védve ezáltal az alsóbb légutakat a kihűléstől és a kiszáradástól. Fontos feladatuk továbbá a beszívott levegőből kiszűrni a nagyobb részecskéket, porszemeket, rovarokat, stb. A garat (pharynx) az orr- és a szájüreg mögött elhelyezkedő, 10-12 cm hosszú, izmos falú cső. Ennek alsó részén található a gégefedő, mely a nyelésnél elzárja a gégebemenetet, megakadályozva ezzel, hogy táplálék kerüljön a légcsőbe. A garat után a levegő áramlása a gégen (larynx) keresztül vezet, mely egyben a hangképző szervünk is. A gége ürege alul és felül tágabb, homokóra alakú, melynek középső összeszűkült részén található a kettő hangszalag. A szalagok mozgását a gégeizmok végzik. Belégzéskor a hangszalagok közti rés kitágul, a levegő szabadon tud beáramlani, míg

kilégzéskor összeszűkül, lehetővé téve a hangképzést. A gége vázát porcok alkotják, belső felületét nyálkahártya borítja.

A következő régió az úgynevezett *tracheo-bronchialis* rész, melyet konduktív légutaknak is neveznek. A légutak a légcsőtől (trachea) kezdődően általában 23 eloszlási generációból állnak. Az első 15-18 generáció alkotja a konduktív légutakat, ahol gázcsere nem történik. A légcső keresztmetszeti képe a vázát alkotó 16-20 porcgyűrű miatt D-alakú. Szélessége 2-3 cm, mely a larynxtól 10-12 cm-re két főhörgőre (bronchi principales) oszlik. A főhörgők szerkezete megegyezik a tracheáéval, geometriai paramétereikben azonban különböznek egymástól. A jobb oldali szélesebb, rövidebb és kisebb szöget zár be a függőleges tengellyel, ezáltal a nagyobb részecskék könnyebben jutnak a jobb oldali tüdő középső és alsó lebenyébe, mint a bal oldaliba. A 9-10. hörgőgeneráció után a bronchusok 1 mm-nél kisebb ágakban, a bronchiolusokban folytatódnak, melyek falát már nem merevíti porc. Az alveolust még nem tartalmazó, átlagosan 0,6 mm átmérőjű ág a bronchiolus terminalis [5].

A légutak utolsó, depozíciós szempontból érdekes része a pulmonáris (acináris) tartomány, ahol a légutak falán már alveolusok is találhatóak, így ezek már a gázcsereben is részt vesznek. Az utolsó, körülbelül 7 generáció alkotja a bronchiolus respiratoricust, melyben progresszíven növekvő számban találhatóak alveolusok. A légutak összkétszetszeti felülete egy fordított tölcsérhez hasonlóan a tracheától az alveolusokig nő, míg a légúti áramlási ellenállás éppen fordítva alakul, mintegy 80%-át a nagylégutak (átmérő > 2 mm) adják. Ebben a régióban, pontosabban az alveolusok felületén történik a gázcsere. A hólyagocskák átmérője kb. 0,2 mm, falát sűrűn behálózzák a hajszálerek, melyekben áramló vért egy mindössze 0,5 µm vastagságú fal választ el a beszívott levegőtől. Az alveolusok felületén egy igen vékony, felületaktív folyadékfilm akadályozza meg, hogy azokat a felületi feszültség összeroppantsa. A

gázcsere diffúzió útján megy végbe, melynek hajtóereje a vér és a tüdő belsejének oxigén és szén-dioxid tartalma közötti parciális nyomásgradiens.

A geometriai paramétereken túl az áramlást befolyásoló tényezők között fontos megvizsgálni a légutak felületi tulajdonságait is. Általánosan elmondható, hogy a légutak falát fedő különféle szövetek koncentrikus rétegeinek a vastagsága, sejtes összetétele, de az egyes elemei is a periféria felé változnak, fokozatosan elvékonyodnak, egy sejt vastagságúvá válnak. A légutak falának belső rétegei közül a hám és az azt borító vékony folyadékfilm közvetlenül érintkezik az inhalált levegővel és a benne diszpergált részecskékkel.

Ez a folyadékréteg kétféle összetevőből áll. Az egyik a hámot folytonosan beborító, vizes, magas nyírófeszültségű szol-fázis (perciliaris folyadék), a másik az előbbi felszínén szétterülő alacsony nyírófeszültségű, magas viszkoelaszticitású gélfázis (mucus), mely 5-10 μm vastagságú, különböző méretű cseppekben, tócsákban, mucusmentes felületekkel megszakítva fordul elő [6]. Fontos szerepe, hogy a konduktív légutak falán a mucusban kiülepedett oldhatatlan részecskéket a mucociliaris transzport révén - mely a mucus futószőnyegszerű áramlását jelenti az alsóbb légutaktól orális irányba - kiürítse a szervezetből. Az áramlás fenntartásáért a csillószőrös sejtek a felelősek, melyek a tracheában még teljesen befedik a hámréteget, de a bronchiolus respiratoricus szintjén már csak szigetekben vannak jelen.

A légzés folyamata

A légzés az élet fogalmától elválaszthatatlan élettani funkció, melynek elsődleges feladata az oxigén és a szén-dioxid kicserélődésének folyamatos biztosítása. Ez a gázcsere egy passzív folyamat, az alveoláris légtérbeli és a tüdőbe visszatérő vénás

vérben oldott gázok közötti nyomás-gradiens függvénye, melyet a ventilációs (levegő áramlásának biztosítása) és a perfúziós pumpa (véráramlás biztosítása) összehangolt működése tart fent. A ventilációs pumpa a thoraxból (bordák, légzőizmok, gerinc, stb.) és a tüdőkből áll, ennek mechanikai egyensúlyát az FRC¹ szintje jellemzi.

Belégzéskor a rekeszizom összehúzódik és laposabbá válik, ezáltal nő a mellkas térfogata, mellyel egy időben az alveoláris nyomás az atmoszférikus nyomáshoz képest 2-3 Hgmm-rel csökken. Ennek következtében levegő áramlik a légutakba. A rekeszizom kontrakciója a belégzés alatti térfogat növekedés jelentős részéért (mintegy 75%) felelős. A kilégzés egy passzív folyamat, mely során a rekeszizom elernyed, majd újra bedomborodik a bordák mögé, míg a tüdők rugalmas összehúzódása kipréseli a levegőt a légutakból.

A tüdő funkciójának vizsgálatára széles körben elterjedt gyakorlat a légzésfunkciós paraméterek mérése, melynek során a be- és kilélegzett levegő térfogatát vagy áramlási sebességét mérik. A kapott adatokból következtetni lehet a tüdő aktuális működésére, a légutak esetleges szűkületére és a légző izmok állapotára.

Légúti betegségek

Egy 2012-es WHO (World Health Organization) becslés szerint a világon mintegy 300 millió ember szenved asztmától, és 210 millióan a COPD-től (Chronic Obstructive Pulmonary Diseases²), mely egyben a negyedik leggyakoribb halálozási ok, évente körülbelül 250.000 halálessel [7]. Emellett az asztma számít a gyerekek körében a leggyakoribb betegségnek is. Míg a fejlett országokban a két leggyakoribb halálozási

¹ Functional Residual Capacity- Funkcionális Reziduális Kapacitás: a nyugodt kilégzés után a tüdőben maradt levegő térfogata

² COPD: Krónikus Obstruktív Légzőszervi Megbetegedés

ok, a szívinfarktus és a stroke esetek száma az utóbbi időkben a csökkenés irányába mutat, addig a COPD-s és az asztmás megbetegedések száma folyamatosan nő. Mivel ezen légúti megbetegedések tüneti kezeléséhez az esetek túlnyomó többségében valamilyen inhalációs készítményt használnak, így a depozíciós mérésekhez szükséges infrastruktúra (légúti modellek) tervezése előtt hasznos áttekinteni a betegségek által előidézett, a légúti depozícióra hatást gyakorló patológiai elváltozásokat, amelyek befolyásolják a légzést.

Az esetenként részlegesen reverzibilis *krónikus obstruktív tüdőbetegség* olyan kóros állapotot takar, melyet a légutak krónikus elzáródása jellemez. A COPD fogalomkörébe tartozik a krónikus *bronchitis* és az *emphysema*, melyek igen gyakran együtt fordulnak elő, és az egyenkénti súlyosságuknak megfelelő mértékben járulnak hozzá a kialakult tünetekhez. A *krónikus bronchitis* olyan kóros állapot, amelyhez kapcsolódó patológiai elváltozások a centrális és a perifériás légutakat egyaránt érinthetik. *Emphysema* alatt a bronchiolus terminalisoktól a periféria felé eső légutak falsérüléssel együtt járó permanens, abnormális kitágulását értjük.

A másik igen gyakori légúti megbetegedés az *asthma bronchiale*, mely a reverzibilis légúti obstrukcióval járó megbetegedések csoportjának tagja. Az *asthma bronchiale* rohamokban jelentkező, spontán vagy gyógyszerre reverzibilis diffúz hörgőobstrukció által kiváltott nehézlégzés. A kiváltó okok köre rendkívül széles, melyek az allergénektől (pl. pollenek, állati szőrök, ételek) kezdve az erős fizikai terhelésen, a hideg levegő belégzésén, vagy a vírusfertőzésen át a pszichés hatásokig terjednek emellett, hogy genetikus tényezők is szerepet játszanak a kialakulásában. Diagnosztikai és terápiás megfontolások miatt külön csoportba szokták sorolni a szintén reverzibilis foglalkozási asztmát, mely a munkahelyi porok, gőzök, gázok, füstök

inhalációjával alakul ki. Az *asthma bronchiale* legfontosabb patológiai elváltozása a légutak helyenkénti beszűkülése.

Inhalációs eszközök

Az előzőekben áttekintett két leggyakoribb légúti megbetegedés, a COPD és az asztma esetén is lehetséges a tüneti kezelés. Ennek célja lehet a tünetek megelőzése, a későbbi szövődmények kialakulásának a megakadályozása, a beteg panaszainak az enyhítése, valamint az életminőség javítása. A napjainkban rendelkezésre álló nagyszámú, egymáshoz a kiváltott hatás tekintetében nagyon hasonló szer nem könnyíti meg a kezelőorvos döntését az adott páciens kezeléséhez leginkább illeszkedő készítmény kiválasztásakor. A két betegségcsoport kezelésére részben azonos hatóanyagokat tartalmazó készítményeket használnak, melyeket egymáshoz nagyon hasonlító inhalációs eszközzel lehet a szervezetbe juttatni. Ennek megfelelően az eszközök elsődleges feladata, a kellő mennyiségű hatóanyag adott légúti célterületi depozíciójának a biztosítása. Az is nyilvánvaló, hogy az eltérő élettani sajátosságokkal, légzésfunkciós paraméterekkel rendelkező páciensek nem fogják tudni ugyanazzal a hatékonysággal kezelni az adott készüléket. A megfelelő mennyiségű hatóanyag célterületre juttatásához – a készülék nem megfelelő használata esetén – az alkalmanként bevitt összes hatóanyag-mennyiségnek a sokszorosára lehet szükség, növelve ezzel a szisztémás mellékhatások kialakulásának kockázatát is [8].

Az inhalációs eszközöket alapvetően 3 csoportba lehet sorolni:

1. hajtógázzal működő inhalátorok
2. porinhalátorok
3. gépi porlasztók (kompresszoros vagy ultrahangos porlasztók)



2. ábra A leggyakoribb vényköteles inhalációs gyógyászati készítmények

A napjainkban nagy számban piacra kerülő generikum³ készítmények megjelenésével fokozódott az igény az egyes készítmények depozíció szempontjából fontos paramétereinek a megismerésére.

In vivo módszerek áttekintése

Az aeroszolok légúti depozícióját vizsgáló kutatási módszerek [9] alapvetően három csoportba sorolhatók. Az elsőbe tartoznak az *in vivo* módszerek, melyek közül a leggyakrabban a gamma szcintigráfias [10] mérést alkalmazzák. A technika lényege, hogy például radioaktív nyomjelző anyaggal jelölt részecskéket juttatnak be az emberi légúti rendszerbe, mely annak adott területén deponálódik. Ezen területről kilépő gamma fotonok detektált sugárzási intenzitásának topológikus képe megmutatja az adott térfogatelemben kiülepedett részecskék koncentrációját. Az eljárás segítségével

³ A generikus gyógyszerek, vagy más néven generikumok olyan gyógykészítmények, amelyek ugyanazokat az aktív összetevőket és ugyanolyan arányban tartalmazzák, mint az eredeti gyógyszerek. Így gyógyhatásukat tekintve megegyeznek az eredeti gyógyszerrel, azonban annak áránál jóval alacsonyabb áron kaphatóak. A generikumok az eredeti gyógyszer szabadalmának lejártja után jelennek meg a piacon. (forrás: <http://fogalomtar.eski.hu>).

vizsgálhatjuk a teljes légúti rendszert [11], vagy annak egy kiragadott részletét [12] is. A módszer a gyógyszergyártók körében közkedvelt, mivel szemléletesen megmutatja egy-egy készítmény légúti kiülepedésének hatékonyságát. Gyenge pontja, hogy a depozícióig vezető folyamatokról nem ad információt, így szerepe a kutatás-fejlesztési tevékenységek során az elvárt eredmény ellenőrzésére korlátozódik. Emellett a mérési módszer felbontása viszonylag kicsi, nagyobb részletességű mérések elvégzése csak nehézségek árán kivitelezhető. A légutak komplex szerkezetéből kifolyólag a 2D szintigráfias kép központi része például nemcsak a centrális légutakat, hanem kis légutakat és alveolusokat is tartalmaz. Ha forgó gamma kamerás módszert alkalmazunk (SPECT, single photon emission computed tomography), akkor már rekonstruálható valamelyest a térbeli eloszlás, de a felvétel hosszabb időt igényel, ami alatt a tüdőben már megindulnak tisztulási folyamatok. A PET (positron emission tomography) felvétel rövid ideig tart és kevés jelzőanyag szükséges hozzá [13], de rövid felezési idejű izotópokat igényel, amihez a közelben részecskegyorsítónak kell lennie. Ha a SPECT és PET technikákat CT-vel kombináljuk [14], akkor a morfológiai és kiülepedési információk szuperponálhatók és lényegesen pontosabb kiülepedési képet kapunk. Az *in vivo* mérések az emberi közreműködés igényük miatt nehezen megvalósíthatóak, valamint meglehetősen költségesek is. Jellemző továbbá, hogy az *in vivo* mérésekhez kiválasztott önkéntesek általában a 18-65 éves korosztályhoz tartozó férfiak és nők, a nemüknek és magasságuknak megfelelő normál testsúllyal (illetve attól csak kis mértékben eltérővel) és többé-kevésbé jól definiált légzésfunkciós paraméterekkel. A kiválasztási szempontok között általában szerepel a FEV₁⁴ (forced expiratory volume in

⁴ FEV₁ (Forced Expiratory Volume timed 1,0 sec): az első másodperc alatt kilélegzett levegő mennyisége.

1 sec) paraméter megfelelő szintje (több, mint 85-90-95%) a normál értékhez viszonyítva, vagy a FEV1/FVC⁵ ráta, más néven a Tiffeneau-Pinelli index (<85%), melyet az obstruktív légúti megbetegedés diagnosztizálása során használnak. A felsorolt paraméterek fenti értékei mellett a mérések résztvevői kvázi egészségesnek tekinthetőek, ezért az így kapott eredmények korrelációja a valós esetekkel nem feltétlenül kielégítő. A valóságban az eszközt általában nem ideális körülmények között használják, tehát fontos ilyen esetekben is mérni a depozíciót.

In silico módszerek áttekintése

A második csoportba tartoznak a számítógépes szimuláción alapuló úgynevezett *in silico* eljárások. Az emberi légző rendszerbe inhalált aeroszolok kiülepedésének számítására számos fizikai, matematikai modell készült az elmúlt, mintegy 60 évben [15]. Az első, részletes légúti geometriával rendelkező, széles körben elterjedt modell Weibel nevéhez fűződik [16]. Ez a modell még teljesen szimmetrikus fa-struktúrát használ, mely az egyes generációkhoz tartozó átmérőn és hosszon kívül nem veszi figyelembe az elágazások szögeit, valamint a gravitációs szögeket⁶ sem. A 80-as évek végén kidolgozott sztochasztikus tüdőmodell [17-19] már aszimmetrikus légúti rendszerben számol, a geometriai paraméterek értékét pedig Monte Carlo módszerrel sorsolja. Az eljárás a tüdőmodell felépítésére a tracheo-bronchialis régióban Raabe és munkatársai [20], míg az acináris területeken Haefeli-Bleuer és Weibel [21] által összegyűjtött adatokból létrehozott adatbázist használja. A sztochasztikus tüdőmodell a számításokhoz analitikus eszközöket használ, melyek keretében figyelembe veszi az

⁵ FVC (Forced Vital Capacity) - Erőltetett vitálkapacitás

⁶ Gravitációs szög: az áramlás tengelye és a gravitációs erő iránya által bezárt szög.

impakció (tehetetlenségből eredő kiüledés), a szedimentáció (gravitációs kiüledést) és a Brown-diffúzió hatását is, de a légúti geometriára és az áramlási profilokra nézve már erős egyszerűsítéseket tesz [22-26], így például csak egyenes, vagy hajlított csöveket és egyenletes, vagy parabolikus sebességprofilot használ. Az analitikus modellek egy másik hátránya, hogy a részecske kiüledés légúti elágazásokon belüli inhomogenitását nem írják le, a depozícióról csak egy integrális képet szolgáltatnak.

A szimulációs eszközök következő generációja, egyben napjaink legelterjedtebb technikája a CFD – Computational Fluid Dynamics – áramlástan modellezés, mely matematikailag a részecskéket szállító közeg áramlási terének meghatározását jelenti a megmaradási egyenletek numerikus megoldásával. A két legfontosabb ezek közül az impulzus- és a tömegmegmaradás törvénye, ám ha hőtranszport is jelen van a rendszerben, akkor az energia megmaradás törvényére is szükség van. Az áramlástan feladatok túlnyomó többségében elegendő a Navier-Stokes egyenleteket megoldani. A humán légúti rendszerbeli részecske-depozíció mértékének lokális megállapításához az áramlási teret jellemző mennyiségeket (sebesség, nyomás) a vizsgált térrész minden pontjában meg kell határozni. Ez egyszerű, idealizált geometriák esetén elvileg analitikus módszerekkel kivitelezhető, a valódi légző rendszerben viszont csak numerikus módszerekkel tudjuk megbecsülni egy adott ponton az áramlást jellemző paramétereket. A CFD szimulációk pontossága így egyfelől a feladathoz választott numerikus módszeren, a hozzá rendelt kezdeti- és peremfeltételeken, valamint az elérhető számítástechnikai infrastruktúra kapacitásán múlik.

A fentebb vázolt nehézségek miatt a 90-es évek elején a CFD kódokat egy erősen idealizált, a valós légzőrendszernek csak egy kis szeletét magába foglaló geometriákban használták. Az empirikus eredmények hatására a lokális kiüledéseket és az áramlástan viszonyokat a részecske-depozíció szempontjából kritikus légúti

elágazásokban kezdték vizsgálni [22-25]. A pontos modellszámítások elvégzése érdekében elkészítették az elágazások részletes matematikai leírását [26], kiterjesztették a szimulációkat egynél több elágazásra [27, 28] és az egyenes csövek mellett hajlított csövekben [29] is modellezték a részecskék viselkedését. A töretlen fejlődésnek köszönhetően a kutatások viszonylag hamar kinőtték az idealizált légúti geometriákban való modellezés szabta korlátokat. Az orvosi képalkotó eszközök - computer tomográf és mágneses rezonanciás képalkotás (MRI) - által generált kétdimenziós szeletekből lehetővé vált a valós légutak háromdimenziós rekonstrukciója. A szimulációkhoz a 3D struktúrákat számítási tartománnyá kell alakítani, ehhez pedig közelíteni kell őket valamilyen numerikus ráccsal. Az így megalkotott digitális infrastruktúrában immár a valós légúti geometriához nagyon hasonló áramlási térben lehet elvégezni a kívánt számolásokat [30-32]. A különböző inhalációs eszközök által generált részecskefelhő áramlástan és egyéb, a tervezett szimulációk végeredményeire hatást gyakorló fizikai paramétereit (méret, sűrűség, stb.) megmérve, majd azokat felhasználva, nagymértékben realisztikus kiülepedési számításokat lehet elvégezni, akár konkrét személyekre is. Ezeket a számításokat különböző készítményekre és eszközökre személyre szabottan is lehet alkalmazni.

Napjainkban az *in silico* módszerek fejlődését közvetlenül támogatja az elérhető számítástechnikai kapacitások gyors bővülése, ennek ellenére a bonyolult geometriában mozgó, számos erőhatásnak kitett részecskék pályáit leíró egyenletek megoldása továbbra is számos kihívással terhelt.

***In vitro* módszerek áttekintése**

A harmadik csoportba az *in vitro* módszerek tartoznak. Ezek egyik legszembetűnőbb előnye a számítógépes szimulációkkal szemben, hogy az inhalációs készítmények vizsgálatokor a bemeneti paramétereket egy jól felépített kísérleti infrastruktúra esetén valóban a vizsgálni kívánt inhalációs eszköz biztosítja. Az *in vitro* kísérleteknél a bemenő paraméterek így teljes mértékben realiztikusak lehetnek, ellentétben a számítógépes szimulációs módszerektől, ahol az inhalátor által keltett részecskesokaság jellemző tulajdonságainak parametrizálásakor - melynek eredményeképpen nyert adatok a szimulációkhoz szükséges kezdeti feltételek lesznek - keletkező hibák beépülnek a mérési eredményekbe. Ez az előny egészen napjainkig nem tűnt számottevőnek, ugyanis a kiülepedést befolyásoló egyéb paraméterek is erősen idealizált formában épültek be a modellszámításokba (a légúti modell geometriája, légzési hullámforma), az elérhető technológiai lehetőségek és a már említett véges számítástechnikai kapacitások miatt.

A humán légúti rendszerbeni részecske-kiülepedés *in vitro* vizsgálatához szükséges infrastruktúra egyik fontos eleme a légzőrendszer alkalmasan választott részének modellje. Eleinte a kísérletekhez használt modelleket különböző, a valós légutak geometriai paramétereirehöz hasonló tulajdonságokkal (átmérő, hossz) rendelkező csövek összeillesztésével készítették, majd az így létrehozott elágazásokban mérték a részecske-depozíciót [33]. Ha a csövek optikailag átlátszó anyagból (pl. üvegből) készülnek akkor lehetővé válik az egyes ágakban felépülő áramlási tér vizsgálata valamilyen kontaktusmentes optikai mérési technikával. Így az áramlási sebesség mellett információt kaphatunk a lokális áramlási képek lamináris vagy turbulens voltáról is [34]. Ezáltal a mérések a számítógépes áramlástani szimulációk fejlesztéséhez, validálásához is segítséget nyújthatnak. Az áramlási paraméterek mérésére általában lézeres Doppler sebességmérő, vagy PIV (Particle Image

Velocimetry) eszközt [35] használnak. A depozíciós mérések történhetnek közvetlenül a légúti modell falának adott szegmensén kiülepedett részecskék és a teljes beszívott részecskemennyiség arányának, vagy közvetve, a modell falára ki nem tapadt részecskék és az összes beszívott részecske mennyiség arányának meghatározásával. Utóbbi esetben a modellvégeken kilépő részecskéket összegyűjtik, majd egy alkalmasan választott módszerrel, például gravimetriával [36], vagy fluoreszcens részecskék esetén – a szűrőn összegyűjtött részecskéket etil-acetáttal leoldva – fluoreszcens spektrométerrel [37] meghatározható a modellben kitapadt részecskék aránya. Konkrét inhalációs készítmények tesztelésekor, amikor polidiszperz részecskék kiülepedési hatásfokát vizsgálják, a modell kivezetéseit kaszkád impaktorral monitorozva megmérhetjük az egyes mérettartományokhoz tartozó depozíciós faktort [38]. A közvetlen méréseket általában úgy végzik, hogy a légúti modellbe bejuttatni kívánt részecskéket először valamilyen fluoreszcens anyaggal (uranin) megjelölik [39, 40], majd a kitapadt részecskékről jövő sugárzás intenzitásának detektálásával számolják az adott területen kiülepedett részecskék mennyiségét. Ha a mérésekhez használt modell fala a fluoreszcens sugárzásra nézve nem átlátszó, akkor a modellbe juttatni kívánt részecskéket egy speciális olajból – DEHS (di-ethylhexyl sebacate) – generálják, melyet a ^{99m}Tc metastabil nukleáris izomerrel jelölnék meg. Az így preparált olaj radioaktív, γ -sugárzó, így gamma kamerával detektálhatóvá válik a célterületen kiülepedett részecskék mennyisége [41-43]. Célravezető lehet az is, ha a modellünk szétszerelhető olyan módon, hogy részei elférjenek egy mikroszkóp tárgylemeze és objektívje közt. Ekkor használhatjuk a könnyen beszerezhető, monodiszperz, fluoreszcens polisztirol latex részecskéket, melyek kiülepedés után egyszerűen detektálhatóak fluoreszcens mikroszkóppal [44]. Nem transzparens modellt kaphatunk például a valós emberi légutakból készített öntvény felhasználásával, melynek geometriája azonban

nagymértékben realiztikus [45]. Ilyen modelleken végezték az első, valóban realiztikus légúti geometriai méréseket.

Depozíciós méréseket a széles körben elterjedt technikáktól eltérő módszerekkel is készítettek, például a légúti modell belső falát tintával vonták be, majd hidrogén-kloridot átszívva a rendszeren a kiülepedési határfoknak megfelelő mértékben kifakultak a modell adott részei [46].

A modellkészítésben a valódi előrelépést az úgynevezett *rapid prototyping* (gyors prototípus-gyártás) technika elterjedése jelentette, melyet kombinálva az orvosi képalkotó eszközökkel nagymértékben realiztikus modell készíthető mind a felső, mind pedig a középső légutakról. Mivel a modell geometriája először digitális formában készül el, így a felhasználásával elvégzett mérések eredményei könnyen összehasonlíthatóak a modell digitális változatában készített CFD szimulációk eredményeivel [47, 48]. A módszer egyik gyenge pontja, hogy a gyártási folyamatból adódó felületi érdesség, valamint a felhasznált polimerek optikai tulajdonságai miatt a kész modell nem kellően átlátszó, így az optikai mérés technikák alkalmazásához elengedhetetlen a modell előzetes preparálása [49], ellenkező esetben olyan mérési módszert kell választani, melynek nem feltétele a modell optikai transzparenciája. Ez utóbbi változatnál megfelelő eszköz lehet a már gyakran emlegetett gamma kamera, de mértek már áramlási sebességet mágneses rezonancián alapuló fázis-kontraszt módszerrel is, ahol az áramló közeget hiperpolarizált ^3He gázzal jelölték meg [50].

A kísérleti infrastruktúra kialakítását tovább közelíthetjük a realiztikus feltételekhez, amennyiben a modellben a légáramlást egy légzés-szimulátorral (Pulmonológiai Hullámforma Generátor) állítjuk elő. Így akár konkrét légzési hullámformák depozícióra gyakorolt hatását [51], vagy az áramlási térnek egy adott

pontban, a változó áramlási sebesség miatt bekövetkező megváltozását is vizsgálhatjuk [52].

A realiztikus légúti modelleket és valós hullámformákat alkalmazó *in vitro* kísérleti berendezések a közeljövőben is fontos szerepet fognak betölteni, elsősorban a humán légúti áramlástan és depozíciós szimulációk validálásakor, ám emellett új, más módszerrel egyelőre nem megszerezhető információkat is szolgáltatnak.

Inhalátorok által kibocsájtott aeroszolok vizsgálatára alkalmazott módszerek

Az inhalációs készítmények kiülepedési határfokának jellemzésére általánosan használt paraméter a tömegmediánhoz tartozó aerodinamikai átmérő (MMAD – Mass Median Aerodynamic Diameter), melyet a generált részecskesokasághoz tartozó aerodinamikai részecskeméret eloszlásából (APSD – Aerodynamic Particle Size Distribution) számolunk ki. A gyógyszeripari gyakorlatban az APSD meghatározásának legelterjedtebb eszköze a különféle típusú [53, 54] kaszkád impaktor, melynek egymást követő tálcáin a kiülepedett részecskék aerodinamikai átmérője - egy adott mérettartományon belül - jól definiált. Az impaktor egyes fokozatairól begyűjtött mintákat megfelelően választott analitikai módszerrel (például olyanal, amely kémiai eljárás esetén nem tesz kárt a hatóanyag-molekulákban, optikai módszer esetében pedig figyelembe veszi az adott hatóanyag spektrumának karakterisztikáját) elemezve, a rajtuk deponálódott részecskék, illetve a hatóanyagok (active pharmaceutical ingredients, API) mennyisége (tömege) meghatározható. Az iparági szereplők, valamint a szabályozó hatóságok által egyaránt standard módszernek tekintett nagy teljesítményű folyadék kromatográfia (HPLC) a hatóanyagok széles spektrumára hatékonyan alkalmazható [55, 56]. Mindemellett a HPLC mérések kivitelezhetősége nehézkes és lassú, így számos

eljárást dolgoztak ki az APSD meghatározására, mely technikák - a legtöbb esetben - egyúttal az impaktorok kiváltását is jelentik [57]. Amennyiben az impaktorokhoz keresünk egy gyors, mintaelőkészítést nem igénylő analitikai eljárást, akkor a kvarckristály mikromérleg (QCM) választása megfelelő lehet [58]. Számos előnyös tulajdonsága mellett mindenképpen fontos figyelembe venni, hogy illékony összetevőket tartalmazó minta esetében nem alkalmazható (ilyen számos pMDI készítmény), emellett a kristály felületének bevonása egy, a megfelelő határfokú depozíciót biztosító anyaggal, szintén rontja a mérés pontosságát.

IV. Inhalációs eszközök által generált részecskék méreteloszlásának és sebességének vizsgálata

A gyógyszeriparban napjainkban sem általános gyakorlat az optikai módszerek alkalmazása az inhalációs készítmények paramétereinek a meghatározására, pedig az általánosan elterjedt analitikai kémiai technikákkal összehasonlítva jóval gyorsabb és költségkímélőbb mérések elvégzését teszik lehetővé, kiválóan alkalmazhatók a gyógyszertermékek gyors és költséghatékony tesztelésére, valamint a gyártási folyamat minőségbiztosítására. Mielőtt létrehoztam az aeroszol gyógyszerek vizsgálatához szükséges komplex kísérleti berendezést, szerettem volna tisztán látni, hogy az optikai módszerek mellőzésének van-e valamilyen – napjainkban is releváns – oka, vagy ezért pusztán az iparági sztenderdek a felelősek.

Ennek érdekében meghatároztam a piaci forgalomban kapható készítmények néhány paraméterét, majd összehasonlítottam azokat a gyártó által szolgáltatott adatokkal. A következő két inhalációs aeroszol készítményt vizsgálok dolgozatomban:

- Alvesco (160 µg ciclesonid 60x) HFA⁷ hajtógázas pMDI aeroszol oldat
- Foster (100 µg beclometason / 6 µg formoterol 120x) HFA hajtógázas pMDI aeroszol oldat

Az inhalációs készítmények jellemzésére általánosan használt egyik paraméter az MMAD, a tömegmediánnak megfelelő aerodinamikai átmérő⁸. Az irodalmi adatok alapján az MMAD az Alvesco esetében 1,1 µm [59], míg a Foster esetében 1,3 µm [60].

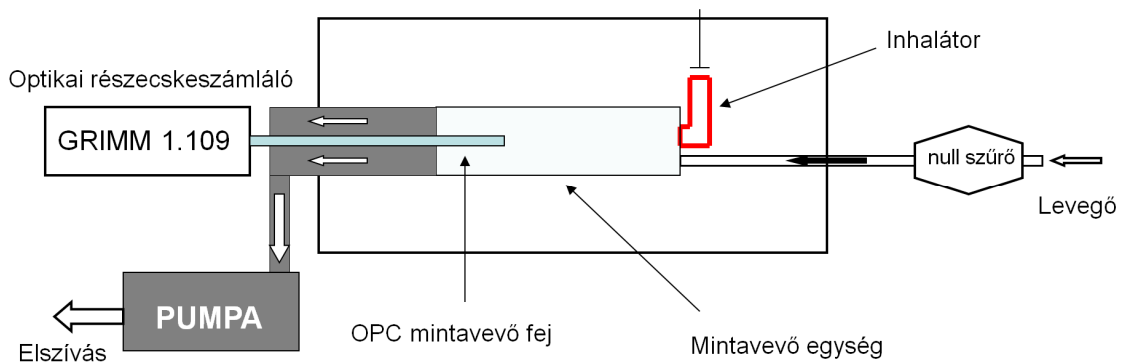
⁷ HFA: Hydro-Fluoro-Alkán

⁸ Aerodinamikai átmérő: egy olyan egységnyi (vízzel azonos) sűrűségű gömb alakú részecske átmérője, melynek ülepedési sebessége a levegőben megegyezik a vizsgált részecske ülepedési sebességével.

Optikai részecskeszámlálóval meghatároztam mindkét készítmény esetében az általuk generált aeroszol részecskék méreteloszlását, valamint lézeres Doppler sebességmérővel megmértem a szájrésznél a porlasztás tengelyére vetített átlagos részecskesebességeket.

A mérési elrendezés

Az optikai részecskeszámláló (OPC – Optical Particle Counter) a mérőtérfogatán keresztülaramló egyedi részecskék átmérőjének mérésére szolgál, amiből a méreteloszlás, valamint a frakcionált koncentráció meghatározható. A részecskék egy pumpával létrehozott áramlás segítségével jutnak a mérőtérfogatba. A megfelelő mérésekhez megterveztem és elkészítettem egy izokinetikus mintavevő fejet, melyet a következő alfejezetben mutatok be részletesen. Az egység illeszkedik a standard MMAD mérések során alkalmazott áramlási értékekhez és a mérőműszer által megkívánt áramlási feltételekhez egyaránt. Ehhez megfelelő pozícióban csatlakoztattam az inhalátorokat, biztosítva, hogy a részecskék a mintavevő cső tengelyével párhuzamosan lépjenek ki az eszközből. A mérési elrendezés sematikus rajza az alábbi ábrán látható:



3.ábra A méreteloszlás meghatározására szolgáló mérési elrendezés sematikus rajza.

A gyakorlatban elterjedt MMAD mérési eszközöknél az inhalátor által generált részecskék egy L-alakú csövön – idealizált szájrészen – keresztül jutnak a mérőeszközbe, ahol a nagyobb részecskék jelentős része a tehetetlenségük miatt még a mintavevő egység előtt deponálódik a falon. Ezáltal az L-alakú cső kiszűri a nagyobb részecskéket, így előleválasztóként működik. Mivel mérési eredményeimet - együttműködés keretében - a sztochasztikus tüdőmodell depozíciós szimulációihoz is fel kívánták használni (mely modell tartalmazza a szájrészt is), így a mintavevő cső kialakítása során nem alkalmaztam az idealizált szájrész-geometriát előleválasztóként. Az eredmények összehasonlíthatósága érdekében ezért meghatároztam azt a méretet, amely felett az L-alakú cső nem engedi át a részecskéket és ezt figyelembe vettem az adatfeldolgozásnál. Ehhez a mintavevő rendszert üzemeltettem az L-alakú csővel és nélküle is, és mértem a laboratórium levegőjében található részecskék méreteloszlását mindkét esetben. A két méreteloszlás statisztikai különbségéből meghatároztam az 50%-os szinten a levágási méretet, ami $5,2 \pm 0,5 \mu\text{m}$ -nek adódott.

A kísérleti elrendezés tervezésekor figyelembe vettem, hogy a választott mérési módszer speciális környezeti és áramlástanai feltételek biztosítását követeli meg a rendszertől. A próbaüzem során kiderült, hogy a mintavevő egységbe nem csak a szűrőn keresztül, de az inhalációs eszközön keresztül is került környezeti levegő, amit a kísérletek során háttérmérésekkel vettem figyelembe.

Az izokinetikus mintavevő egység

A mintavevő egység felépítése alapvetően befolyásolja a mérési eredményeket. Egy nem megfelelően paraméterezett (átmérő, hossz, geometria, anyag, stb.) mintavevő a permetbeli részecskék mért méreteloszlását is torzíthatja. Az általam megépített

mintavevő egység egy 0,5 m hosszúságú és 40 mm belső átmérőjű csőből áll, melyre egyik végén csatlakozik a pumpa és az optikai részecskeszámláló, míg a másik, bemeneti oldalához illeszkedik az aeroszol gyógyszer tartalmazó készülék és a nullszűrő.

Az optikai részecskeszámláló mintavevő fejét a mintavevő egység (cső) tengelyében helyeztem el. A mintavevő fej és az inhalátor szájnílásának távolsága változtatható. Annak érdekében, hogy a mintavétel a mérendő aeroszol-méreteloszlást ne torzítsa, izokinetikus mintavételt valósítottam meg, vagyis úgy választottam meg a mintavevő fej belső átmérőjét, hogy a rajta keresztüláramló levegő sebessége (melyet az optikai részecskeszámláló légárama határoz meg) megegyezzen a körülötte áramló levegő sebességével (amit a csatlakoztatott pumpa és a rendszer ellenállása határoznak meg). A mérőrendszer és a kitűzött feladat áramlási és geometriai paramétereit mellett (40 mm átmérő - 30 liter/perc főgázáram és 1,2 liter/perc részgázáram⁹) a mintavevő fej belső átmérőjére 8 mm adódott. A mintavevő cső hossza 0,5 m, így a kialakuló 0,4 m/s-os áramlási sebesség mellett a mintavevő fejnél már közel lamináris¹⁰ az áramlás.

Az inhalációs eszközöket a mintavevő egység bementi részének középvonalához illesztettem. Az inhalátor permetének középvonalát szintén a mérőkamra tengelyébe pozicionáltam. A mintavevő egységben a pumpával egyenletes, 30 liter/perc térfogatáramú elszívást hoztam létre, mely megfelel az MMAD meghatározásához általánosan használt Andersen-féle impaktor működtetésekor alkalmazott áramlási sebességnek. Az elszívás következtében a mérőkamrában a környezeti levegőhöz képest

⁹ Részgázáram: a vizsgálandó áramlás keresztmetszetének egy részéből mintavételezett áramlás.

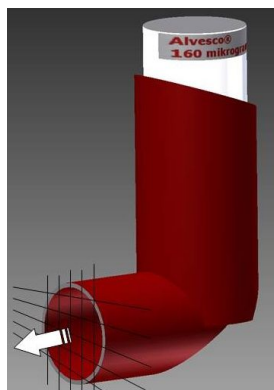
¹⁰ Az adott áramlási paraméterek mellett a számított Reynolds szám értéke $Re \approx 1000$. Ez alapján az áramlás lamináris, amennyiben tudunk biztosítani legalább 2,5 méter kezdeti csőhosszat. Mivel ezt a laboratóriumi körülmények nem tették lehetővé, így nem feltétlenül alakulhatott ki a tökéletes, lamináris áramlás.

létrejövő nyomásesést egy 0,2 μm pórusátmérőjű, kis ellenállású szűrőn (mely a ~ 10 nm-nél nagyobb aerodinamikai átmérőjű részecskéket nem engedi át) keresztül egyenlítetttem ki (null szűrő).

A permet tengelyében a részecskesebesség az inhalátor szájrésztől mért távolságnak a függvénye. Az állítható fej-szájrész távolság lehetővé teszi, hogy a permetek kívánt nagyságú sebességkomponenssel rendelkező helyein végezzük el a mérést.

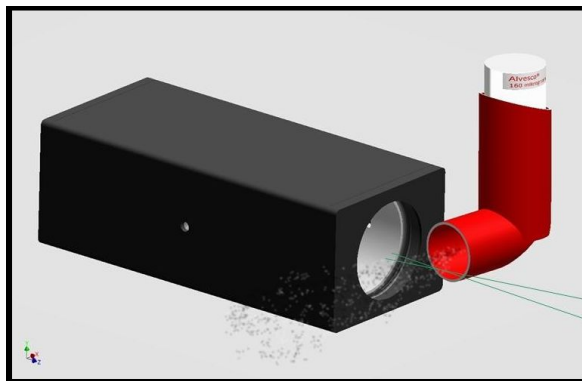
Részecskesebesség meghatározása

A vizsgálandó inhalációs eszközök által létrehozott aeroszol-permetbeli részecskék tengelyirányú sebességét lézeres Doppler sebességmérő (LDA – Laser Doppler Anemometer) technikával határoztam meg. Az általam kifejlesztett berendezés (melyet a VI. fejezetben mutatok be részletesen) kontaktusmentes mérési módszerrel lehetővé teszi az egyedi részecskék adott irányú sebességkomponensének meghatározását [S1]. Az LDA mérési térfogata nagyságrendileg $\sim 10^6 \mu\text{m}^3$, munkatávolsága 40 mm, a legkisebb detektálható részecskeméret 0,5 μm .

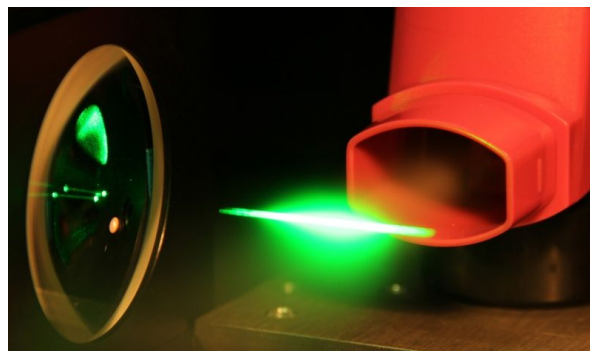


4. ábra Inhalációs eszköz permetének tengelyére merőleges, vizsgált sík szemléltetése

A permet tengelyére merőleges síkban elvégzett méréssel meghatároztam a maximális tengelyirányú sebességkomponenssel rendelkező részecskék kilépési helyét a szájrész keresztmetszetén, ami várakozásomnak megfelelően centrálisan, a permet tengelye mentén helyezkedett el. Az inhalációs eszközöket úgy illesztettem a mérőkamrához, hogy a hengeres mintavevő egység tengelye, az inhalátor szájnnyílásán a maximális tengelyirányú részecske-sebességgel rendelkező pontja és a mintavevő fej tengelye egybeessen. A permet tengelyének meghatározása után megkerestem a kívánt nagyságú sebességkomponenssel rendelkező pontokat, majd beállítottam a szájrész-mintavevő fej távolságokat. Az Alvesco esetében az átlagos áramlási sebesség az inhalátor szájrészénél $6,5 \pm 0,43$ m/s volt, míg a Foster esetében $5,1 \pm 0,35$ m/s.



5/a. ábra Tengelyirányú részecskesebesség meghatározása



5/b. ábra Elrendezés tengelyirányú részecskesebesség meghatározására. A sebességmérő fej által meghatározott érzékelő térfogat sokkal kisebb ($0,001 \text{ mm}^3$), mint a fényszórás miatt a képen is látható fényes térfogat.

Részecskeméret meghatározása

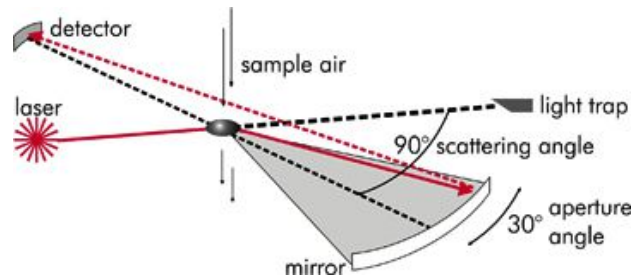
Az MMAD meghatározásához először a különböző aerodinamikai átmérővel rendelkező részecskékhez tartozó tömegkoncentrációkat kell megállapítani. Ha feltesszük, hogy a részecskék sűrűségeloszlása homogén, akkor a tömeg helyett az adott átmérőtartományhoz tartozó összterfoggal lehet számolni. Mivel a vizsgált inhalátor készülékek által generált aeroszolok jó közelítéssel gömb alakúak, és a fenti feltevés szerint egy adott készítmény által kibocsájtott különböző méretű részecskék azonos sűrűségűek, így a valós fizikai méret, az MMAD és az optikai átmérő között egyenes arányossági kapcsolat van. Bármelyiket meghatározva a három közül, a megfelelő arányossági tényező ismeretében kiszámolható a másik kettő is.

A vizsgált készítmények összetevőit összehasonlítva azt találjuk, hogy a permet tömegének meghatározó részét kitevő alkotóelemek a két készítmény esetében megegyeznek. Ennek megfelelően feltételeztem, hogy a két eszköz által generált permet részecskéinek nagyon hasonló a törésmutatója és a sűrűsége, így az optikai átmérők aránya ugyanaz, mint az aerodinamikai átmérőké.

A két készítmény a következő segédanyagokat tartalmazza:

- Alvesco: norflurán (HFA-134a); vízmentes etanol
- Foster: norflurán (HFA-134a); vízmentes etanol; sósav

Az MMAD meghatározásához egy GRIMM 1.109 (Ainring, Németország) típusú optikai részecskeszámlálót használtam. A készülék a 0,25–32 μm tartományban, 31 csatornában méri a részecskék optikai átmérőjét és meghatározza a koncentrációkat az egyes mérettartományokban.



6. ábra Optikai részecskeszámláló működési elve (forrás: www.dustmonitor.com)

A mérési elv a 6. ábrán látható. A kívánt módon előkészített (fókuszált, stabilizált stb.) lézernyaláb és a beszívott mérendő gázáram metszete határozza meg a mérőtérfogatot. A mérőtérfogatba beszívott gáz részecskéiről a megvilágító lézer fénye – gömb alakú, homogén részecskék esetén a Mie-szóráselmélet által leírt módon – szóródik. Egy adott integrálási szög alatt összegyűjtött szórt fény a detektoron elektromos impulzust generál, melyből meghatározható a részecskeméret.

Első lépésben meghatároztam az adott mintavételezési időhöz tartozó összesített részecske-térfogatot, melyhez az egyes tartományokhoz tartozó részecskeszámot (a háttér részecskeszám levonása után) megszoroztam a tartomány középértékéhez tartozó sugárból számolt gömbtérfogattal. A kapott értékeket integráltam a vizsgált mérettartományra, majd megkerestem azt a méretet, ahol az integrál eléri a félértékét, így megkaptam az optikai átmérőket (MMOD - Mass Median Optical Diameter).

A kiértékelést a műszer által átfogott 0,25-32 μm tartományban végeztem el, figyelembe véve az idealizált szájrész (L-alakú cső) hatását. A nagyobb átmérőjű részecskék kisszámú detektálási eseménnyel is jelentősen befolyásolni tudják a végeredményt, mivel az össztérfogat – így esetünkben az össztömeg is – az átmérő harmadik hatványával arányos.

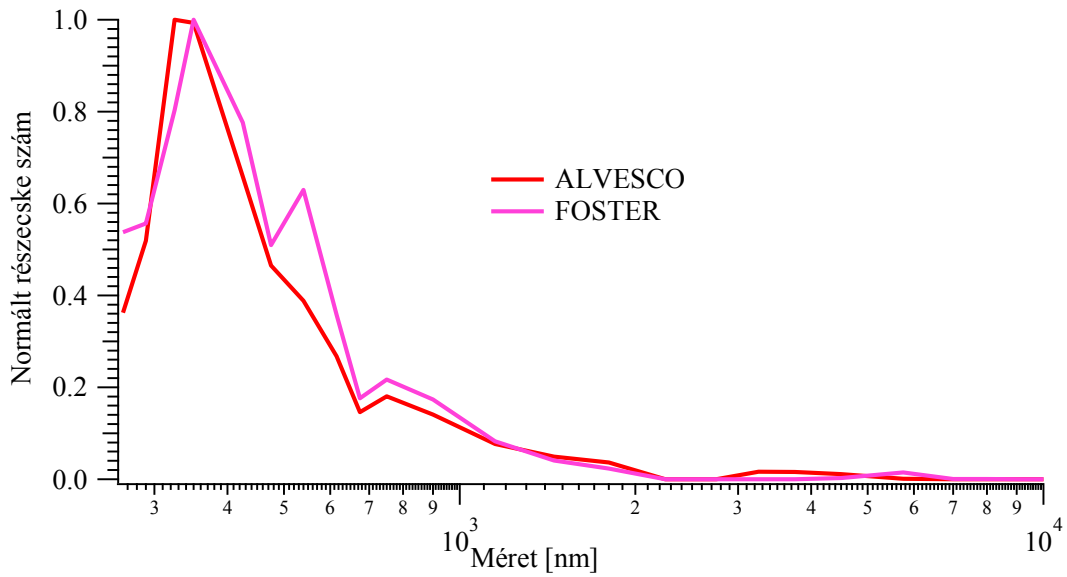


7. ábra A részecskeméret-eloszlás mérés elrendezése.

A két készítményre az MMOD-t először a 7. ábrán bemutatott elrendezés szerint határoztam meg, ami képet ad az eszközből közvetlenül kilépő permet tulajdonságairól. Ezután megismételtem a méréseket a felépített mintavevő egységgel, és az eredményeket összehasonlítottam az irodalmi értékekkel (ebben az esetben voltak ugyanazok a mintavételi körülmények). A mérésekhez használt mintavevő egyenes cső nem tartalmazta az L-alakú előleválasztó részt. Emiatt az MMOD kiszámításakor az 5 mikron feletti tartományt nem vettem figyelembe.

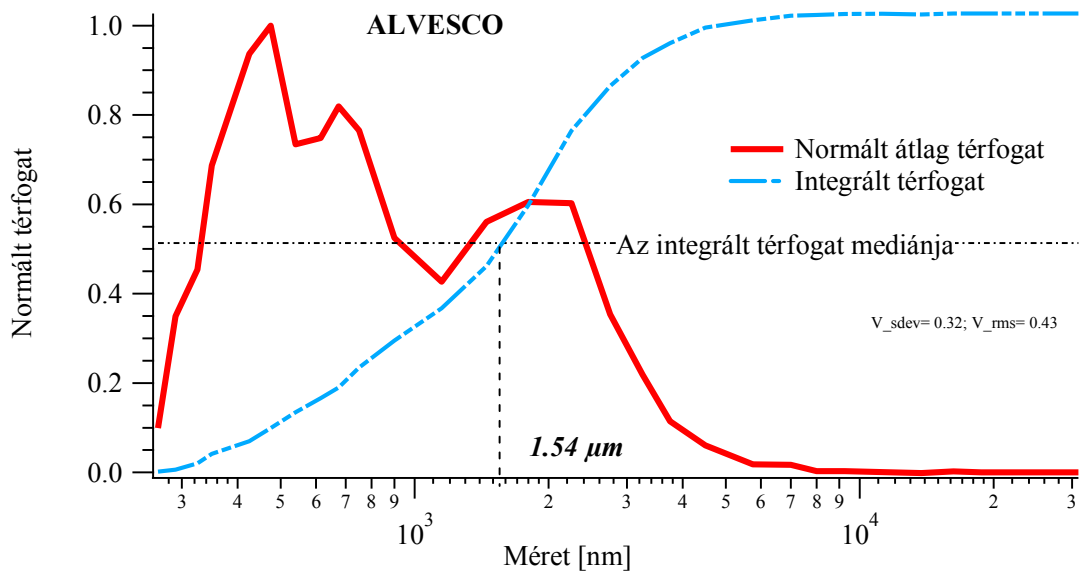
Mérési eredmények

A 8. ábrán látható a két eszköz által generált permet méreteloszlása, melyet közvetlenül a szájrész után mértem a 7. ábra szerinti elrendezésben végzett próbamérések során. Ezekből az adatokból határoztam meg az OPC mérettartományai által definiált csatornáknban a részecskék összterfogatát.

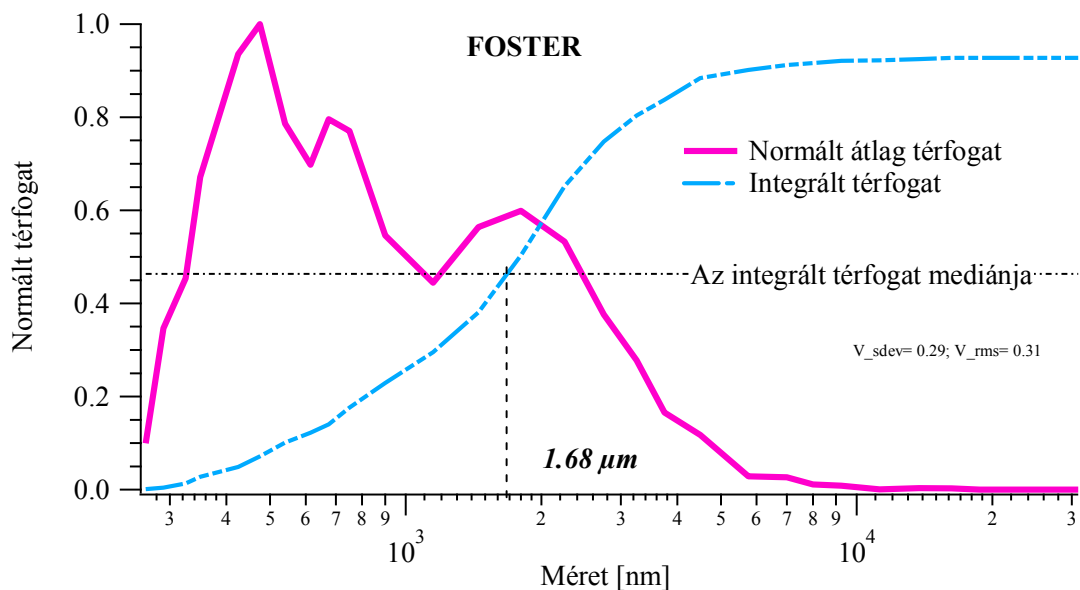


8. ábra A detektált részecskék száma méretük függvényében a próbaméréseknél.

A 9. és 10. ábrán mutatom be a két készítményre az MMOD meghatározásakor kalkulált görbéket.



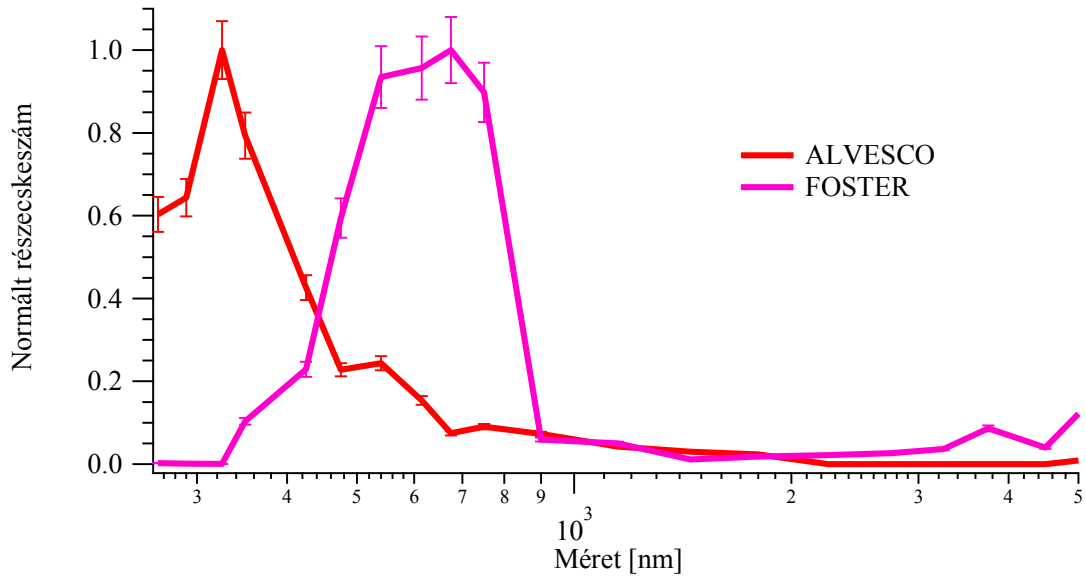
9. ábra Próbamérés az MMOD meghatározására az Alvesco készítményre



10. ábra Próbamérés az MMOD meghatározására a Foster készítményre

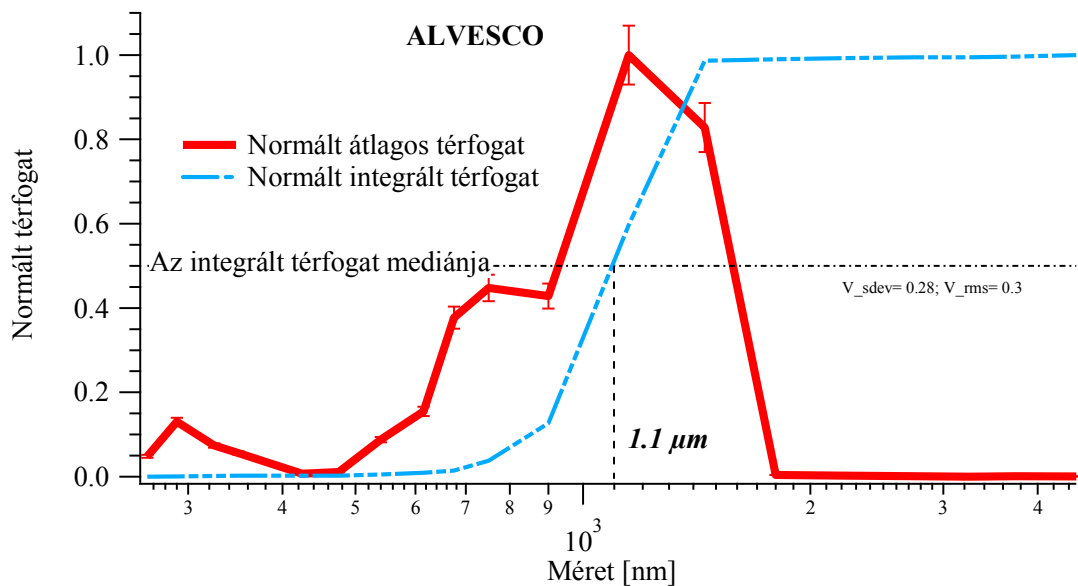
A térfogatot az adott csatornához tartozó átlagos részecskeátmérő által meghatározott térfogat és a csatornához tartozó beütésszám szorzatával számoltam ki. Az ábrákon feltüntettem továbbá az adott átmérőkhöz tartozó integrált térfogatot is, az adott méret alatti összes részecske térfogatát). A diagramokon látható, hogy a vizsgált készítmények által generált részecskesokaság méreteloszlása a 2 mikron alatti tartományban a statisztikai hibahatáron belül megegyezik, szignifikáns eltérés csak a 3 μm fölötti tartományban látható, ahol a Foster készítmény görbéje kevésbé meredek lefutású, tehát több nagyobb méretű részecskét tartalmazott a permet. Az Alvesco átlagos térfogat-felező optikai átmérőjére 1,54 μm -t (9. ábra), a Foster átmérőjére 1,68 μm -t – mértem (10. ábra).

A 11. ábrán látható a két eszköz által generált permet méreteloszlása, melyet a korábban ismertetett, a kaszkád impaktoros mérésekkel azonos körülményeket teremtő mintavevő rendszeren keresztül mértem a 3. ábra szerinti elrendezésben.

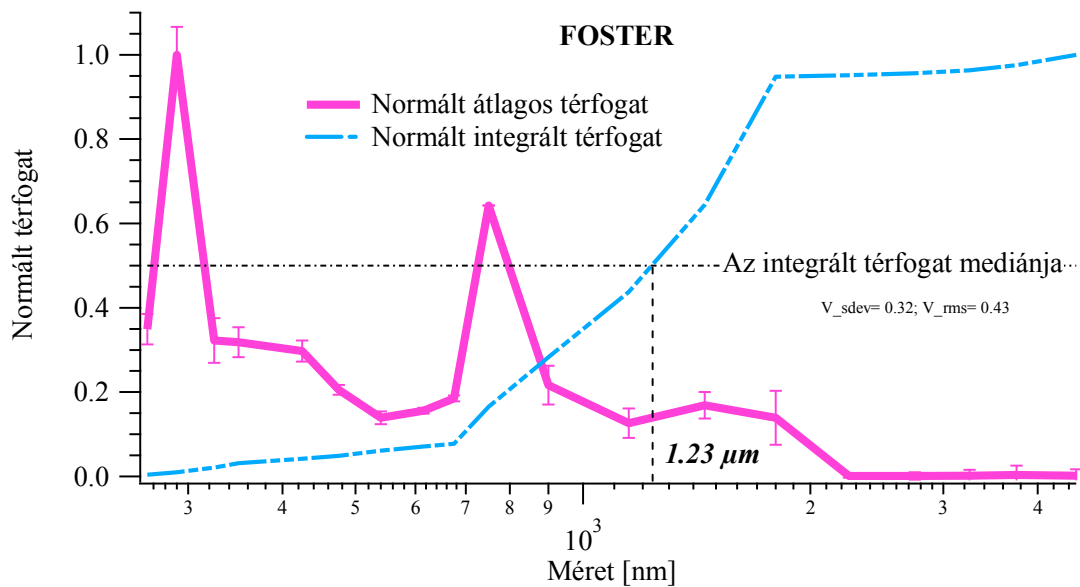


11. ábra A detektált részecskék száma a méretük függvényében a mintavételi rendszeren keresztül, 5 μm -es részecske méretig.

A próbamérések kiértékeléséhez hasonlóan meghatároztam az egyes mérettartományokban a részecskék összterfogatát, valamint kiszámítottam az integrált térfogatot is. Ezek eredményét a 12. és 13. ábrán mutatom be a két készítményre.



12. ábra Az MMOD meghatározására az Alvesco készítményre



13. ábra Az MMOD meghatározására a Foster készítményre

Az ábrák alapján szembevetendő különbségek több tényezőre vezethetők vissza. Míg a készülékek aktiválása után közvetlenül mért eloszlások azt mutatják, hogy a kibocsájtott permetek méreteloszlása hasonló, addig a mintavevő rendszeren keresztül mért eloszlások már szignifikáns eltérést mutatnak mind a kiinduló (szabad térből mintavételezett) állapothoz, mind egymáshoz viszonyítva. A kiinduló állapottól való eltérést egyértelműen a mintavevő rendszer okozza, ami megerősíti az ilyen jellegű mérések standardizálására vonatkozó törekvéseket. A két készítmény által kibocsájtott permetek részecskeméret-eloszlásai közötti különbség oka az utóbbi mérések során a némileg eltérő összetételben (hatóanyag és segédanyagok) és az eltérő kezdeti sebességekben (30%-os különbség) keresendő.

A mérések során kapott MMOD értékek az Alvesco készítményre 1,10 μm, a Foster készítményre 1,23 μm. A mérések során meghatározott statisztikai hibák

figyelembe vételével (n=10 mérés átlagának és szórásának kiértékelésével) az MMOD meghatározásának hibája 10%-nál kisebb.

Összefoglalás

A sebesség-meghatározás eredménye

Első lépésben meghatároztuk az Alvesco és a Foster pMDI inhalációs eszközök által generált részecske-felhő fő áramlási vonalán a szájrésznél mérhető átlagos részecskesebességet. A lézeres Doppler sebességmérés eredményeképpen megállapítottuk, hogy a vizsgált pontban az Alvesco esetében az átlagsebesség 6,5 m/s volt, mely mintegy 30%-kal nagyobb, mint a Foster-nél mért 5,1 m/s. Az eltérés nem jelentős, de az izokinetikus mintavételt feltételező méréstechnikai módszereknél mindenképpen figyelembe kell venni. Megjegyzendő továbbá, hogy az erőteljesebb légúti obstrukcióval rendelkező betegek által elérhető alacsonyabb inspiratórikus áramlási sebesség a kisebb kezdeti sebességű készítmény alkalmazását indokolja, ha a többi paraméter azonos.

A méret meghatározás eredménye

A részecske méreteloszlás meghatározására vonatkozó méréseket a teljes mérettartományra elvégeztük. Az általam tervezett mérési elrendezésben a permet tengelyéből mintavételeztünk, így azon részecskéket, melyek sebességének van egy nem elhanyagolható tengelyre merőleges komponense is, nem detektáltuk, így az átmérő meghatározását is ezen részecskék figyelembevétele nélkül végeztük. A nem kizárólag az áramlási tengely irányába, vagy ahhoz közel eső sebességkomponenssel rendelkező részecskék a szájüreg falán deponálódnak, a nyálkahártyának köszönhetően

a depozíció közel 100%-os, így nem jutnak el a trachea-ig. Az általunk mért részecskesokaság a permetnek tehát azon részét képezi, amely nagy valószínűséggel valóban eljut a kívánt célterületekre. A fentebb vázolt mérési elrendezésben az Alvesco átlagos térfogat (tömeg) - felező átmérőjére $1,1 \mu\text{m}$, míg a Foster esetén $1,23 \mu\text{m}$ adódott.

Az eredmények jó egyezést mutatnak az irodalmi adatokkal, figyelembe véve, hogy gömb alakú részecskéket feltételezve az optikai és aerodinamikai méret közötti különbséget a sűrűség határozza meg, ami a fenti készítmények esetében $\sim 0,8\text{-}1 \text{ g/cm}^3$. A fenti feltételek mellett az eltérés hibahatáron belül van. A mérések gyors kivitelezhetősége, az eredmények azonnali hozzáférhetősége nem elhanyagolható előnyt jelent az optikai módszer javára, így alkalmazása mindenképpen indokolt.

V. Páratartalom méreteloszlásra gyakorolt hatásának vizsgálata

A humán légutakban uralkodó környezeti viszonyok befolyásolhatják az inhalált részecskék méretét, mely hatással lehet a célterületi depozíció mértékére [61]. Különösen nagy jelentősége van a környezeti tényezők depozícióra gyakorolt hatásának a mechanikailag lélegeztetett betegek esetében, akiknél a légutak károsodását megelőzendő a ventiláció során a levegőt mesterségesen fűtik és párásítják. Az ilyen betegeknek az inhalációs készítmények célterületi depozíciójának vizsgálatok jelentős csökkenést tapasztaltak a tüdőben kiülepedett hatóanyag mennyiségében az előzetes várakozásokhoz képest. A csökkenés egyik lehetséges oka a gyógyszercseppek higroszkopikus tulajdonsága.

A páras közeg MMAD-ra gyakorolt hatásának vizsgálatához olyan mérési módszert választottam, mely a gyógyszeriparban általánosan elfogadott kaszkád impaktoros mintavételi technikán alapul. Felépítettem egy kísérleti elrendezést, mely a részecskék frakcionált mintavételére tartalmaz egy kaszkád impaktort, melyet egy általam tervezett klímakontrollált mérőkamrában helyeztem el [S2, S8]. Az APSD gyors, elfogadható pontosságú meghatározására - együttműködés keretében - kidolgoztunk egy optikai mikroszkópián alapuló mérési módszert, mely alkalmas az impaktor tálcákon kiülepedett részecskék relatív mennyiségének meghatározására [S3-S7]. Ennek keretében méréseket végeztem a páratartalom hatásának vizsgálatára, és a módszer validálására [S9]. Ebben a témában szabadalmi igényt nyújtottunk be, melyet az MTA Wigner Fizikai Kutatóközpont szolgálati szabadalomként kíván továbbvinni [S48].

Tömegmediánhoz tartozó aerodinamikai átmérő meghatározása

Az általunk alkalmazott módszer lényege, hogy az impaktor egyes tálcáin, a hozzájuk tartozó fűvókák alkalmasan választott lyukai alatt deponálódott részecskék által létrehozott foltok területének lefedettségét mérjük optikai képelemzés segítségével, majd a kapott értékeket integráljuk a teljes rendszerre. Szintén mérjük a foltok referencia szint feletti magasságát egy nagy pontosságú fehér fényű interferométer segítségével. A két mérés segítségével meghatározható a tálcákon maradt száraz anyag térfogata. Ha feltesszük, hogy a részecskesokaság sűrűsége homogén, akkor a tömeg helyett használhatjuk az adott átmérőtartományhoz tartozó ösztérfogatot.

A mérésekhez a Copley Scientific (Colwick, Nottingham, Egyesült Királyság) által forgalmazott Next Generation Impactor-t (NGI) használtam. Az impaktor 8 db mintagyűjtő edényt tartalmaz, melyek mindegyikét úgy alakítottam át, hogy az edény aljába szilícium lapkát vagy mikroszkóp tárgylemezt helyeztem oly módon, hogy a behelyezett lapka vagy tárgylemez felszíne az edény eredeti aljának a síkjába essen.



14. ábra Preparált impaktor tálcák: a tervezésnél figyelembe vettem, hogy az áramlási viszonyok, legfőképpen az impaktor egyes fokozatain a tálca síkja és a fűvóka közti távolsága ne változzon meg.

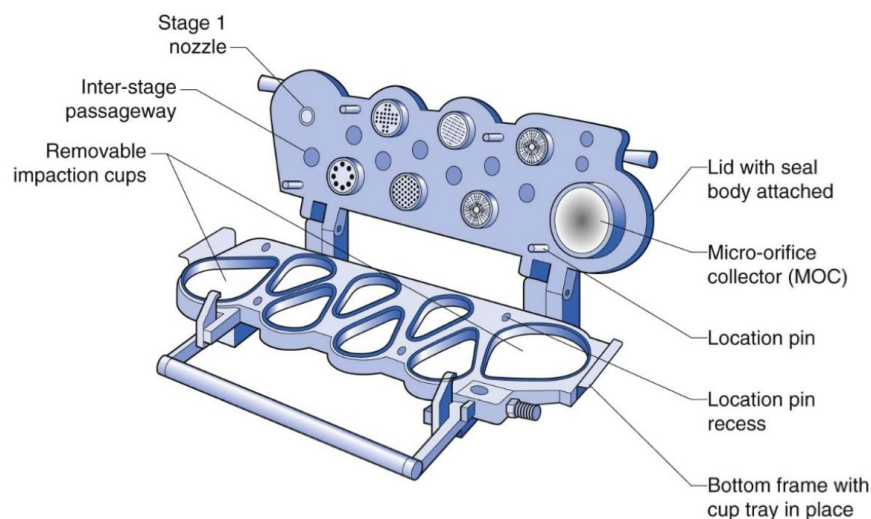
Az így előkészített mintagyűjtő-összeállítás nem változtat az impaktor áramlási paraméterein, mivel a megengedett tartományon belül marad az impaktor fűvókáinak és

a mintagyűjtő edénynek a távolsága. A mintagyűjtő preparálására egyrészt az interferenciás mérések miatt volt szükség, mivel a topológia pontos feltérképezéséhez a mintagyűjtő felületnek nagymértékben simának kell lennie, mely szempontnak az eredeti edény nem felel meg. Másfelől a szilícium lapka ideális hátteret biztosít a Raman-spektroszkópiás mérésekhez is, mely főképp a kombinációs készítmények esetében előnyös.

Az aerodinamikai méreteloszlás és az MMAD kiszámításának módját kaszkád impaktorról mért mennyiségekből az 1. és a 2. Mellékletben található.

Az optikai képfeldolgozáson alapuló mérési módszer

Vizsgálatainkhoz 100 µg-os adagokat szolgáltató szalbutamol-szulfát hatóanyag tartalmú pMDI eszközt (Ventolin) használtunk.

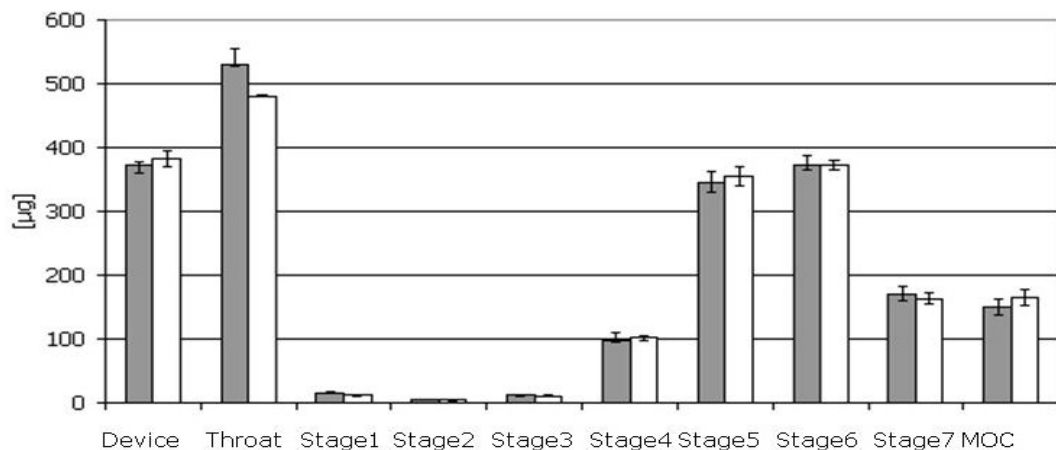


15. ábra. Next Generation Impactor (forrás: Michael E. Aulton and Kevin M.G. Taylor Aulton's *Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines. 4th edition, Elsevier*)

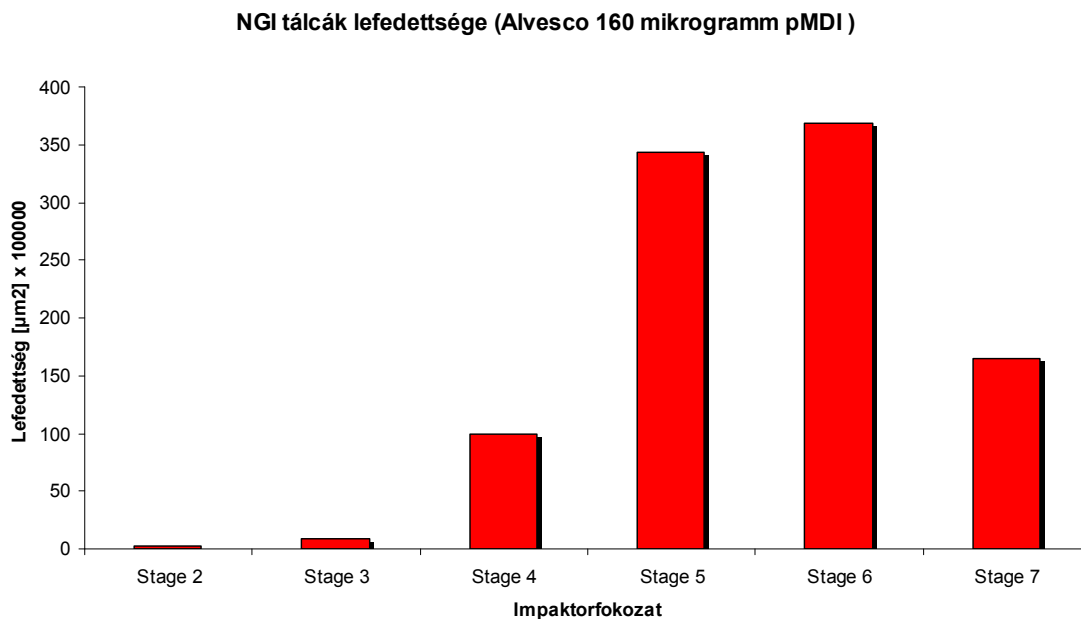
Az impaktorban elhelyezett szilícium lemezekre kicsapódott és beszáradt inhalációs készítményt először optikai képelemzéses módszerrel vizsgáltuk. A képelemzéshez egy Leica DM/LM mikroszkópot használtuk. Annak érdekében, hogy összehasonlítsuk az impaktor csészéibe helyezett szilíciumlapkákra kicsapódott gyógyszer morfológiáját 5X nagyítású objektívvel vizsgáltuk azokat. A borítottság és az átlagos szemcseméret meghatározásához szükség volt a képek digitalizálására, amit egy 3,1 megapixeles felbontású microQ UCMOS03100KPA mikroszkóp USB kamera segítségével értünk el. Az elemzéshez használt elv viszonylag egyszerű, a mikroszkópkamera egy 2084x1536 pixel felbontású képet készít, majd a képen határértékelést végzünk. A szilíciumlapkáról készített felvétel minden egyes pontjának két lehetséges állapota a következő: van rajta gyógyszer vagy tiszta. Az egymás mellett elhelyezkedő képpontok klasztereket alkotnak melyek relatív és abszolút mérete meghatározható. Ezen klaszterek átlagos mérete a mintavétel helyének és a befűjások számának függvényében változik. A mintáról készült felvételek kiértékelését az ImageJ nevű programhoz készült makró segítségével végeztük. Annak érdekében, hogy minimálisra csökkentsük a hiba lehetőségét és pontos eredményeket kapjunk, a program adta lehetőségeket kihasználva azon klasztereket, amelyeknek a képfelismerő hibásan csak a határvonalát ismerte fel, a program automatikusan kitölti és azon nagyméretű klasztereket, ahol már feltételezni lehet a szemcsék egymásra rakódását, több kisebb klaszterre osztja.

Az optikai képfeldolgozáson alapuló mérési módszer validálása

Mivel az impaktor különböző tálcáin összegyűlt anyagmennyiség kvantitatív meghatározását az általunk fejlesztett optikai módszer segítségével kívántam végezni, ezért a módszert először validálni kellett. Ezt az Alvesco 160 µg-os túlnyomásos inhalációs oldatán végeztem el. A mérés során 30 liter/perc áramlási sebességet állítottam be az impaktorhoz csatlakozó pumpa áramlásszabályozójával. A kapott eredményeket összehasonlítottam az irodalomban található, ugyanezen készítmény más analitikai módszerrel (HPLC), de ugyanolyan kísérleti berendezésben (Next Generation Impactor) nyert mérési eredményeivel. Az irodalmi adatok a 16. ábrán láthatóak, míg a mérési eredményeimet a 17. ábrán mutatom be.



16. ábra HPLC eredmények NGI eszközben, 30 l/perc szívási sebesség mellett, 10 adag Alvesco 160 µg-os MDI készítményre [62].



17. ábra. Optikai mérések eredményei az NGI eszközben, 30 l/perc mintavételi áramlási sebesség mellett, Alvesco 160 μg pMDI készítményre.

A kifejlesztett vizsgálati módszer validálásához (vagyis a két eltérő vizsgálati módszer összehasonlításához) egyrésztől összevettem a mérési adataim alapján számított MMAD értékeket az irodalmi adatokkal, majd összevettem a vizsgált tálcákon meghatározott anyagmennyiségek egymáshoz viszonyított arányait a standardnak tekintett HPLC mérések eredményeivel. Ez szemléletesen a két diagram formai hasonlóságát jelenti. Az optikai adatfeldolgozáshoz szükséges mennyiségű és minőségű minta csak az impaktor 2-7. számú tálcáin gyűlt össze, így az összehasonlítást is ezen tálcák esetében végeztem el.

Fokozat	Cutoff méret [micron]	Mért mennyiség
Deviece	-	
Throat/Port	-	
Presep.	-	
Stage 1	11.7	12.1
Stage 2	6.4	2.9
Stage 3	3.9	9
Stage 4	2.3	99
Stage 5	1.36	343
Stage 6	0.83	369
Stage 7	0.54	165
MOC	n/a	142
MMAD:	<u>1.19</u>	mikron
GSD:	1.79	

I. táblázat Az NGI impaktor egyes fokozataihoz tartozó részecskeátmérők és az azokon deponálódott gyógyszerek általánosan mért mennyisége mm^2 -ben

A mérési eredményeim alapján készített diagrammot (17. ábra) összevetve a HPLC mérések eredményeivel (16. ábra) látható, hogy a tálcákon detektált anyagmennyiségek egymáshoz viszonyított arányai mindkét módszer esetében hibahatáron belül azonosak. Bár a vizsgálat során a két ábrán eltérő mértékegységek szerinti mennyiségeket hasonlítok össze, a közöttük fennálló lineáris összefüggés miatt ez elfogadható módszer (feltételezve, hogy a részecskék homogének egy tálcán belül, és a kis hatóanyag-koncentráció miatt a részecskék nem ülepednek egymásra, azaz egyrétegű fedés alakult ki. Az optikai képfeldolgozáson alapuló módszerrel (I. táblázat) az MMAD értékére $1,19 \mu m$ -t kaptam, míg az irodalomban $1,1 \mu m$ szerepel. A kapott 10% körüli különbség az eltérő gyártmányú és típusú kaszkád impaktorokkal végzett MMAD meghatározás során is fellép, így hibahatáron belülinek tekinthető.

A HPLC-s mérésekhez képest a kifejlesztett módszer egyik nagy előnye, hogy míg az előbbi esetében az elemzéshez szükséges anyagmennyiség biztosítása érdekében az inhalátorból 10 adagot szükséges az impaktorba juttatni, addig az optikai mérésekhez

1 adag is elegendő. A fentiek alapján elmondható, hogy az általunk kifejlesztett optikai módszer sikeresen alkalmazható pMDI inhalátorok által keltett aeroszol részecskék aerodinamikai méreteloszlásának meghatározására.

A klímakontrollált mérőkamra

A humán légzőrendszerben uralkodó környezeti viszonyok eltérnek attól, amely mellett az egyes gyártók meghatározzák saját készítményeik méreteloszlását, így az általuk szolgáltatott adatok is finomításra szorulnak. A páras közeg hatásának figyelembevételével növelni tudjuk az *in vivo in vitro* korrelációt. A páras, meleg közegben különböző ideig tartózkodó inhalált részecskék méretváltozásának dinamikája alapvetően befolyásolja az méreteloszlást (APSD-t), így a tüdőben a depozíciós eloszlást is.

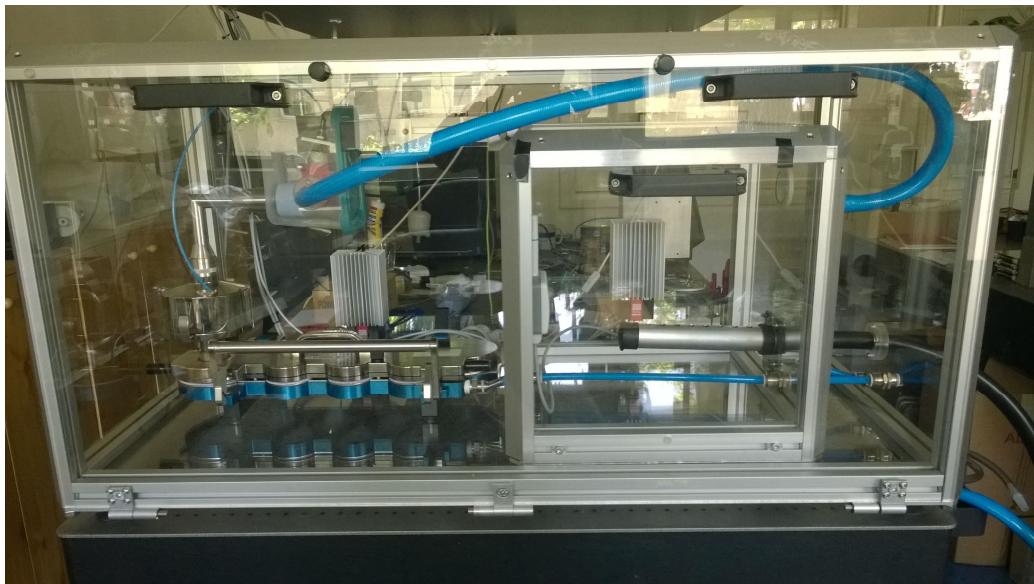
A valós légúti rendszerbe inhalált levegő hőmérséklete gyorsan felmelegszik testhőmérsékletre, valamint páratartalma is közel 100%-ra emelkedik, amit figyelembe vettem a mérőrendszer megtervezésénél.

Az úgynevezett BTPS (Body Temperature Pressure Saturation) szimulátornak a központi eleme egy PEGO Easystem (Via Piacentina, 6/b - 45030 Occhiobello (Rovigo), Olaszország) típusú nagyteljesítményű ipari párasító, mely alkalmas arra, hogy akár egy konstans 300 liter/perc áramlási sebességű légáramban is biztosítsa a 100% relatív páratartalmat. Ezzel a modellbe szívott levegő páratartalmát tetszőleges szintre be tudjuk állítani. Mivel a berendezésen 37 °C-ra fűtött, 90%-os relatív páratartalmú levegőt szívunk át, a vízgőz nem kívánt kicsapódásának elkerülése érdekében a teljes kísérleti összeállítást egy zárt, fűtött térben helyeztem el. Ebbe a

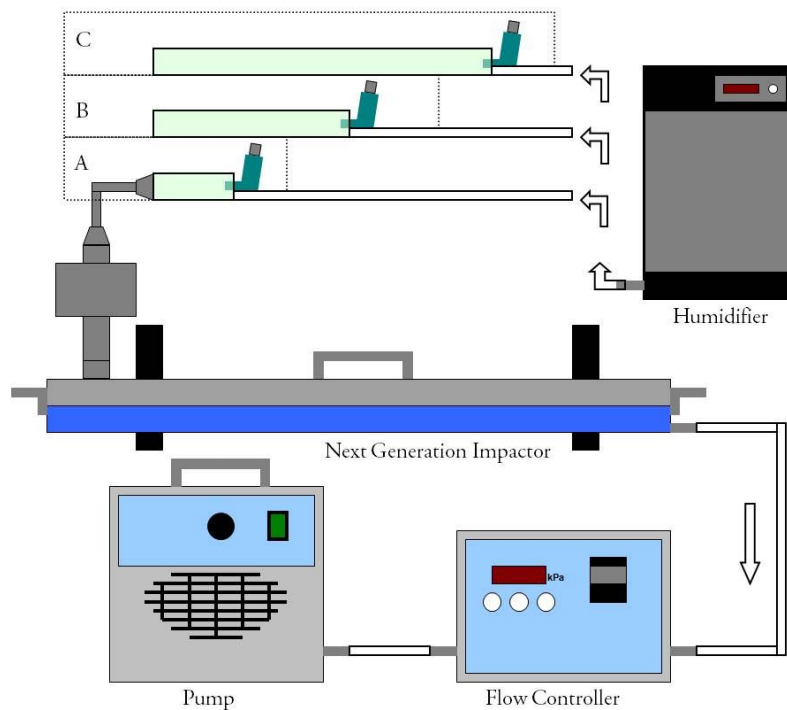
térrészbe telepítettem a Copley NGI kaszkád impaktor mellé egy keringtető ventilátort és egy fűtőpanelt is, hogy biztosítsam a kívánt egyenletes hőmérsékleteloszlást.

A mérést csak a teljes rendszer felfűtése és termosztálása után kezdtem el. A párás környezetben a részecskefelhő tartózkodási idejét az impaktor bemeneti pontjához kapcsolt, változtatható hosszúságú csővel szabályoztam. A mérési összeállítás a 18-19. ábrán látható.

A zárt rendszerben a pMDI eszköz működtetését egy általam fejlesztett pneumatikus szelep biztosította, melynek szinkronizált vezérléséről a hullámforma generátor PLC programja gondoskodott.



18. ábra A klímakontrollált mérőkamra (BTPS szimulációs berendezés). A magas páratartalmú levegő a párasító gépből egy puffer tartályon keresztül kerül a belső kamrába.



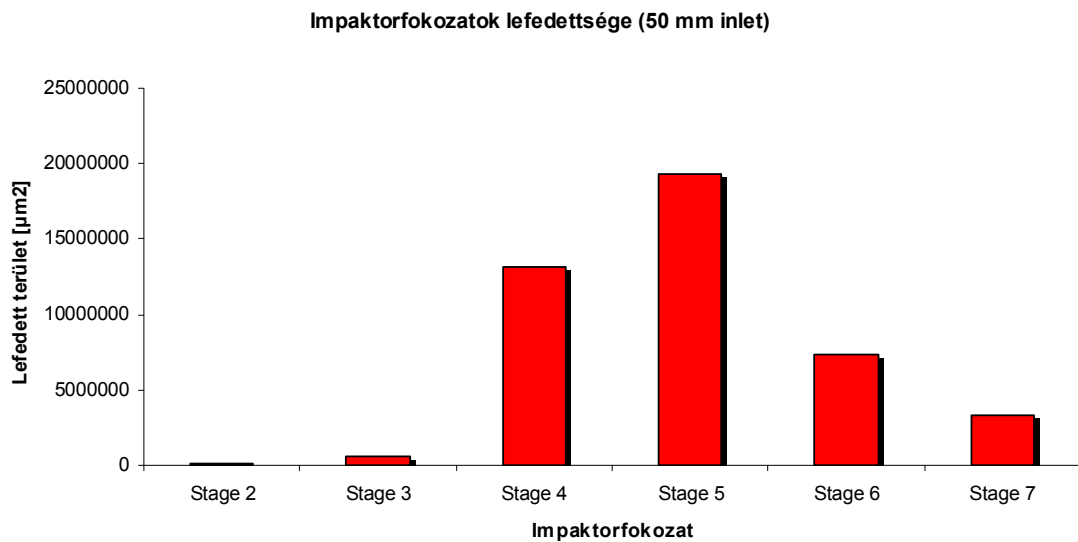
19. ábra Mérési összeállítás párasított közegre

Mérések párasított környezetben

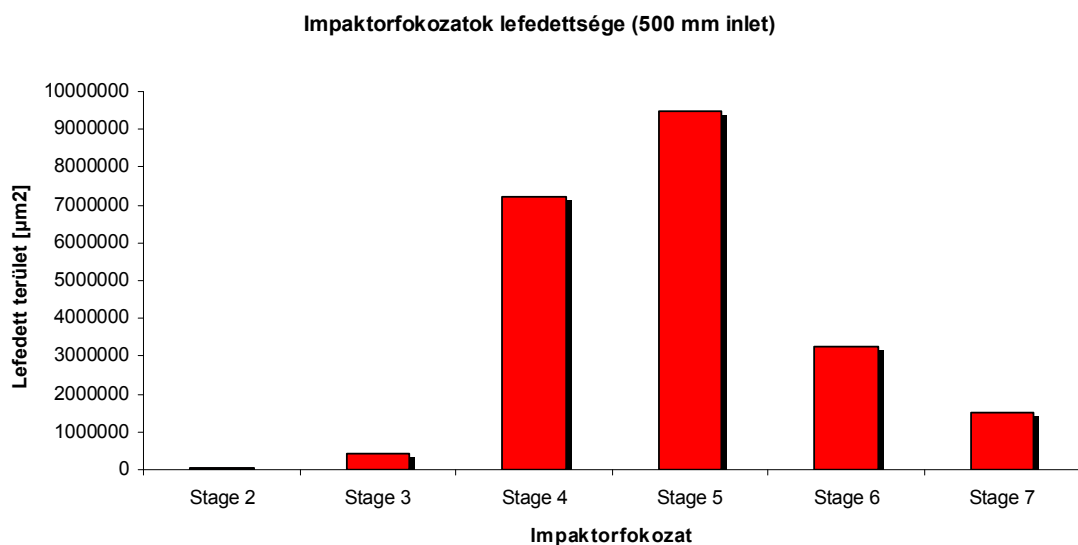
A párasított környezetbeli méréseket Ventolin (szalbutamol-szulfát) túlnyomásos inhalációs készítménnyel végeztem el. A mérések során a csövek hosszát úgy határoztam meg, hogy az impaktorbeli depozíció előtt a részecskék 0,1; 1, illetve 2 s-ot töltsenek el a párasított közegben. Ez utóbbi körülbelül megfelel egy átlagos belégzés idejének.

Az első esetben egy mindössze 50 mm hosszúságú és 40 mm átmérőjű szakaszt telepítettem az impaktor bemeneti része elé, mely az alkalmazott geometria és 30 liter/perc áramlási sebesség mellett 0,1 s átlagos tartózkodási időnek felel meg az aeroszolokra nézve. A rendszer hőmérsékletét 37 °C-ra állítottam be, és a mérés megkezdése előtt vártam 60 percet, hogy a teljes rendszer felvegye a mérőkamra

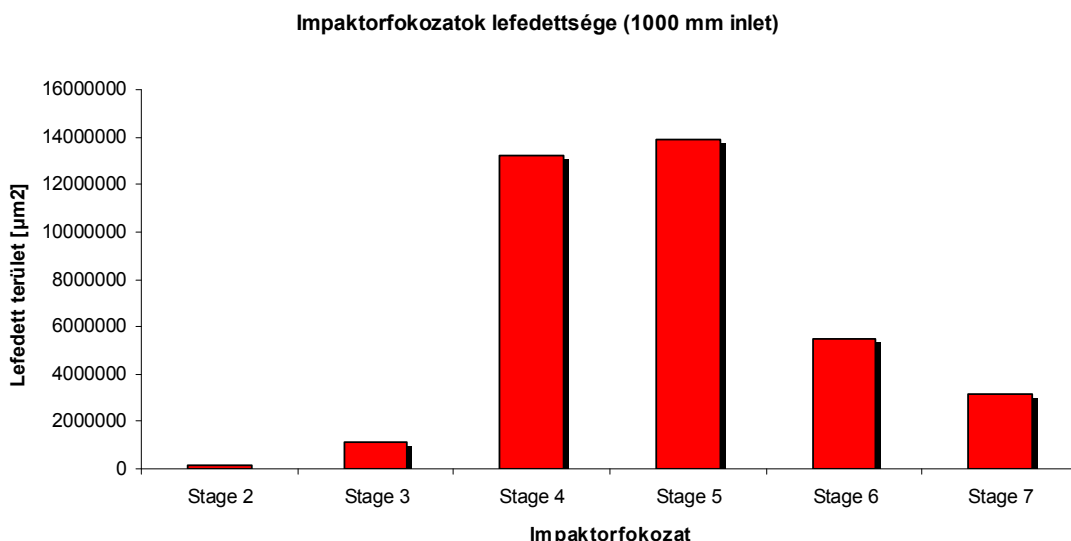
hőmérsékletét. Az MMAD értékére a korábban vázolt eljárást alkalmazva $1,86 \mu\text{m}$ -t kaptam. Az 500 mm-es 40 mm átmérőjű csővel mérve (1 s tartózkodási idő) az MMAD $1,93 \mu\text{m}$ volt, míg az 1000 mm-es csővel mérve (2 s benntartózkodási idő) az MMAD-ra $1,99 \mu\text{m}$ adódott. Az impaktorral mért eloszlásgörbék a 20., 21. és 22. ábrán láthatóak.



20. ábra Az egyes tálcák lefedettsége párásított közegben 50 mm hosszú bemeneti készletetésnél



21. ábra Az egyes tálcák lefedettsége párásított közegben 500mm hosszú bemeneti készletetésnél



22. ábra Az egyes tálcák lefedettsége párásított közegben 1000mm hosszú bemeneti készleteténél

Jól látható az egyértelmű összefüggés a párásított közegben a tartózkodási idő és az MMAD növekedése között, bár a 7% körüli eltérés a két szélsőérték között a hibahatáron van.

Összefoglalás

Részt vettem egy új, optikai képfeldolgozáson alapuló mérési módszer kifejlesztésében, mely az aeroszol gyógyszerkészítmények vizsgálatára széleskörűen használt kaszkád impaktorokkal megvalósítható méréseken alapul. Az elterjedt analitikai kémiai módszerekkel szemben, optikai képfeldolgozás után meghatározható a készítmények aerodinamikai méreteloszlása és a tömegmediánnak megfelelő aerodinamikai átmérő is. A kidolgozott mérési módszert igazoló ellenőrző méréseket végeztem egy kereskedelmi forgalomban kapható készítménnyel, és jó egyezést tapasztaltam az irodalmi adatokkal.

Felépítettem egy kísérleti elrendezést, melyben egy általam megtervezett klímakontrollált mérőkamrában vizsgáltam a páratartalom hatását a méreteloszlásra. A vizsgált készítmény esetében egyértelműen növekedett az MMAD az aeroszolok párasított környezetbeli növekvő tartózkodási idejének köszönhetően. Elmondható továbbá, hogy a vizsgált időtartományban bekövetkező 6,9%-os MMAD növekedés érdemben nem tudja befolyásolni egy adott célterületen deponálódott részecskék mennyiségét.

VI. *In vitro* és *In silico* áramlástanai vizsgálatok idealizált humán légúti modellben

A napjainkban használt depozíciós modellek alapvetően két csoportra oszthatók: analitikus és numerikus modellekre. Míg az analitikus modellben egy erősen idealizált légúti geometriában mozgó részecske trajektóriájának meghatározására analitikus depozíciós képleteket alkalmaznak, addig a numerikus (CFD, Computational Fluid dynamics) modellekben akár realisztikus (CT felvételtől rekonstruált) légúti struktúrában, valós áramlási paraméterek mellett mozgó részecske pályája is szimulálható numerikus algoritmusok segítségével. Ez utóbbi rendszer számos előnye mellett rendkívül érzékeny a kezdeti- és peremfeltételek megválasztására, így leginkább csak a felső légúti depozíciós számításoknál mutatnak megfelelő korrelációt az *in vivo* kísérletek eredményeivel. Az analitikus modellek előnye ezzel szemben, hogy a teljes tüdőre készíthető velük depozíciós számítás. Bármelyik modellt is választjuk elengedhetetlen, hogy a kapott értékeket valamilyen módon validálni tudjuk.

Egy megfelelően felépített kísérleti infrastruktúra jó megoldás lehet mindkét módszer eredményeinek ellenőrzésére [S10-S14, S17-S19]. Ennek megfelelően célul tűztük ki a CFD számítások eredményeinek kísérleti igazolását. A humán légutakban felépülő áramlás karakterisztikájának *in vitro* vizsgálata segít pontosítani a számítógépes modelleket, ezekből következtetni lehet az egyes légúti szegmensekben a depozícióra. A CFD alkalmazásakor egy adott célterületen a depozíció mértékét az egyedi részecskék trajektóriájának a meghatározásával számítják, így a validálás során az áramlástanai jellemzők mérésére törekedtünk [S20].

Az inhalált részecskék sebességének tengelyirányú komponensét az áramlási tér adott pontján monitorozva az ott felépülő áramlás karakterisztikája, turbulenciája meghatározható. Ezek alapján felépítettem egy kísérleti elrendezést, melynek segítségével validáltam a MTA Energiatudományi Kutatóközpont munkatársaival közösen végzett CFD szimulációk eredményeit.

Az áramlástan méréseket ugyanazon idealizált geometriával rendelkező transzparens humán légúti üvegmodell közepső légúti frakciójában végeztem el, melyre a szimulációkat is lefuttattuk. A modellben felépülő áramlási térben a levegőhöz kevert részecskék tengelyirányú sebességét egy általam célirányosan fejlesztett lézer Doppler sebességmérővel határoztam meg. Az egyes méréseket egy adott légúti generáció választott keresztmetszetében, a légutak tengelyére merőlegesen, a teljes keresztmetszet mentén végeztem. A digitális geometria megfelelő szeletéből a CFD szimulációk során nyert eredményeket összehasonlítottam az *in vitro* kísérletek eredményeivel.

Az idealizált légúti geometria felépítése

A teljesen transzparens üvegmodell geometriai adatait, így az egyes ágak átmérőit, hosszait, az elágazások szögeit valós emberi légutak mért adatainak statisztikai átlagából határoztam meg. A szabályos, hengeres geometria viszonylag könnyen elkészíthető, illetve pontosan reprodukálható digitális formában is, így a szimulációs eredmények egyszerűen összevethetők a mérések eredményeivel. A légúti modell üvegből készült, a választott átmérőjű és hosszúságú üvegcsöveket standard üvegtechnikai eljárással olvasztották össze, megfelelő szögben. Az üvegmodell belső felületét mesterséges nyálkahártyával vontam be, amivel biztosítani lehetett, hogy a modell falával érintkező részecskék depozíciós hatásfoka közel 100%-os legyen. Ez –

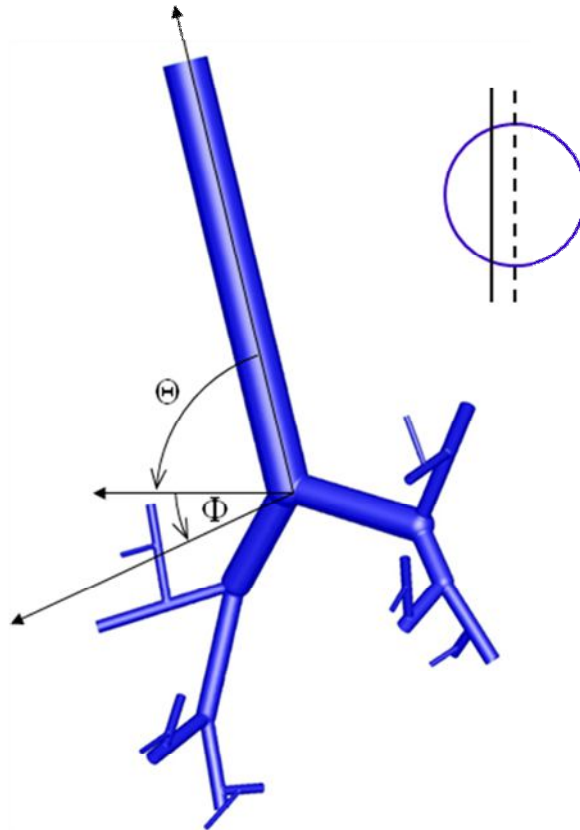
amellett, hogy javítja az *in vivo in vitro* korrelációt – megakadályozza, hogy a részecskék visszapattanjanak a modell belső faláról, melyek a mérési térfogatba kerülve szisztematikus hibát okoznának az áramlási méréseknél.

Sorszám	Generáció	Átmérő [mm]	Hossz [mm]	Θ [fok]	Φ [fok]
1	0	18.4	170	0	0
11	1	13.1	50	135	0
12	1	13.1	57	-115	-175
111	2	8.7	54	160	162
112	2	7.1	29	95	100
121	2	8.7	24	-155	157
122	2	7.1	35	-40	10
1111	3	7.1	30	-173	163
1112	3	7.1	28	-160	95
1121	3	7.1	27	95	100
1122	3	4.2	24	-5	5
1211	3	7.1	20	-150	165
1212	3	7.1	23	165	110
1221	3	7.1	21	-40	10
1222	3	4.2	19	-135	93
11111	4	7.1	7	-173	163
11112	4	4.2	10	-86	-120
11121	4	7.1	10	-160	95
11122	4	4.2	8	-55	0
11221	4	4.2	16	-5	5
11222	4	2.1	17	145	103
12111	4	7.1	14	-150	165
12112	4	4.2	12	130	-165
12121	4	4.2	3	165	110
12122	4	4.2	16	-8	20
12221	4	4.2	13	-135	93
12222	4	2.1	20	10	3
111121	5	4.2	10	-86	-120
111122	5	2.1	24	-172	105
111221	5	4.2	17	-55	0
111222	5	2.1	20	-175	100
121121	5	4.2	5	130	-165
121122	5	2.1	20	-110	93
121221	5	4.2	12	-8	20
121222	5	2.1	20	170	114

II. táblázat Az egyes légúti ágak geometriai paramétereit. A szögek meghatározása a 23. ábra magyarázatában szerepel.

A mesterséges nyálkahártya kialakítására többféle lehetőség kínálkozik. Lehetséges megoldás a kaszkád impaktorok tálcáinak preparálásához használt metanol-

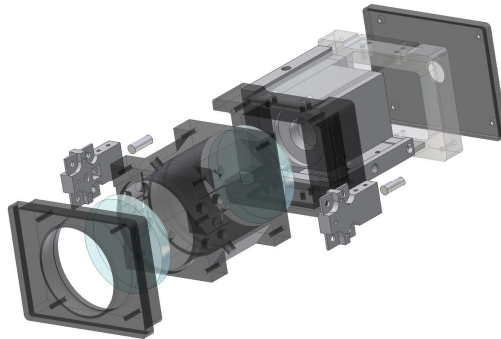
víz 3:1 arányú keveréke [54], vagy a hasonló kísérletekben már kipróbált [63] glicerin-metanol 1:2 arányú keveréke, illetve a szilikon spray (Dow Corning 316) is jó megoldás lehet. Praktikus okokból kísérleteimhez a glicerin-metanol keveréket választottam. A keveréknek egyszerűen állítható a viszkozitása, így könnyű vele dolgozni.



23. ábra. Az üveg légúti modell digitális változata. A Θ szöget a trachea és a baloldali fő bronchus tengelyei által kifeszített síkra vetítve mérjük, míg a Φ szöget ezen síkhoz képest a trachea tengelye körül elforgatva határozzuk meg. A Θ és a Φ szögek pozitív irányát a nyilak jelzik az ábrán. Az egyes keresztmetszetekben a méréseket és a szimulációkat nem közvetlenül a jobb felső ábrán szaggatott vonallal jelölt átmérő mentén végezzük, hanem a folytonos vonal mentén, melyet kísérleti úton határoztunk meg a fényszórás és a reflexió minimalizálásával.

A lézer Doppler sebességmérő kifejlesztése

Az áramlási paraméterek meghatározására kifejlesztettem egy részecske-sebesség mérőt. A lézer Doppler sebességmérőnek már a tervezésénél fontos szempont volt, hogy egy olyan készüléket építsek, amely biztosítja számomra a különböző feltételek mellett megvalósuló mérésekhez szükséges nagyfokú szabadságot, mind a mérőfej konstrukciója által meghatározott paramétereinek a beállításánál, mind pedig a kapott adatok kiértékelésénél. Mivel a méréseket egy szigetelt, hermetikus kamrában terveztem elvégezni, így kiemelt szempont volt a mérőfej méretének csökkentése, valamint kis munkatávolság (40 mm) alkalmazása. Ezen feltételekhez legjobban a visszaszórási geometriai elrendezés illeszkedett, azaz ugyanazon optikai elemeken keresztül valósult meg a levilágítás, mint a detektálás, ami nagyban megkönnyítette a rendszer beállítását (24. ábra).



24. ábra A lézeres Doppler sebességmérő fej összeszerelési rajza.

A vizsgálandó részecskékről szóródó fényt begyűjtő optika megtervezésénél és a detektor kiválasztásánál lényeges szempont volt, hogy az alkalmazás során szóba jöhető legkisebb részecskét is detektálni tudjam [S15, S16]. Mivel a műszer egyik legfontosabb alkalmazási területe az inhalációs készítmények légúti viselkedésének

kutatása, így az inhalációs eszközök által generált részecskék mérettartományának alsó határa jelenti az előzetesen elvárt legkisebb mérhető részecskeméretet. A legelterjedtebb inhalációs készítmények alapvetően két csoportba sorolhatók: az első csoportba tartoznak az úgynevezett DPI (dry powder inhaler – száraz por inhalátor) készítmények, melyek mérete – pontosabban az MMAD – jellemzően a 3-5 μm -es tartományban található. A másik csoportba az MDI (metered dose inhaler – kimért dózisú inhalátor) készülékek tartoznak, melyek által generált részecskék MMAD-ja 0,8-2 μm , így ezek a részecskék jelentik a legkisebb mérendő részecskeméretet. Mivel az MDI készítmények segédanyagként sok esetben etanolt használnak, mely a víznél kisebb sűrűségű, így a valós, – még detektálni kívánt – korrigált legkisebb részecskeméret körülbelül 0,65-0,7 μm . A fentiek figyelembevételével a mérőfejet kis munkatávolságúra, ezzel együtt nagy látószögűre terveztem, ami elősegíti a lehető legtöbb szórt fény begyűjtését. Az gyenge fényviszonyok miatt a detektorra kézenfekvő választás egy lavina fotodióda volt. Előzetes méréseim alapján a detektálási paraméterek lehetővé teszik az akár 0,3 mikron átmérőjű részecskék detektálását is ideális esetben. Ezen az értéken persze ront a kísérletek során használt légúti modell faláról reflektálódó és szóródó fény, mely nyilvánvalóan rontja a jel/zaj viszonyt. Az általam választott Perkin Elmer C30950EH avalanche fotodióda aktív érzékelő felülete 0,8 mm átmérőjű, a sávszélessége 50 MHz. A detektor meghajtására specifikációm alapján saját elektronikát fejlesztettünk, amely tartalmaz egy úgynevezett alapvonal korrekciót is, mellyel kiszűrhető az üvegfalról visszaverődő konstans háttérfény is. A jelfeldolgozó elektronika része egy logaritmikus erősítő, mely megkönnyíti a kis részecskék detektálását. A különböző mérettartományok vizsgálatára a detektor erősítése, valamint a megvilágító lézer intenzitása változtatható. Megvilágításra egy 100 mW teljesítményű, egy longitudinális módusú, 50 m koherencia hosszú, 532 nm hullámhosszúságú frekvencia kétszeresített

Nd:YAG szilárdtest lézert használtam. A lézert és a mérőfejet száloptika köti össze, így a kifejlesztett LDA mérőfejet kompaktabbá és mobilisabbá tudtam építeni.

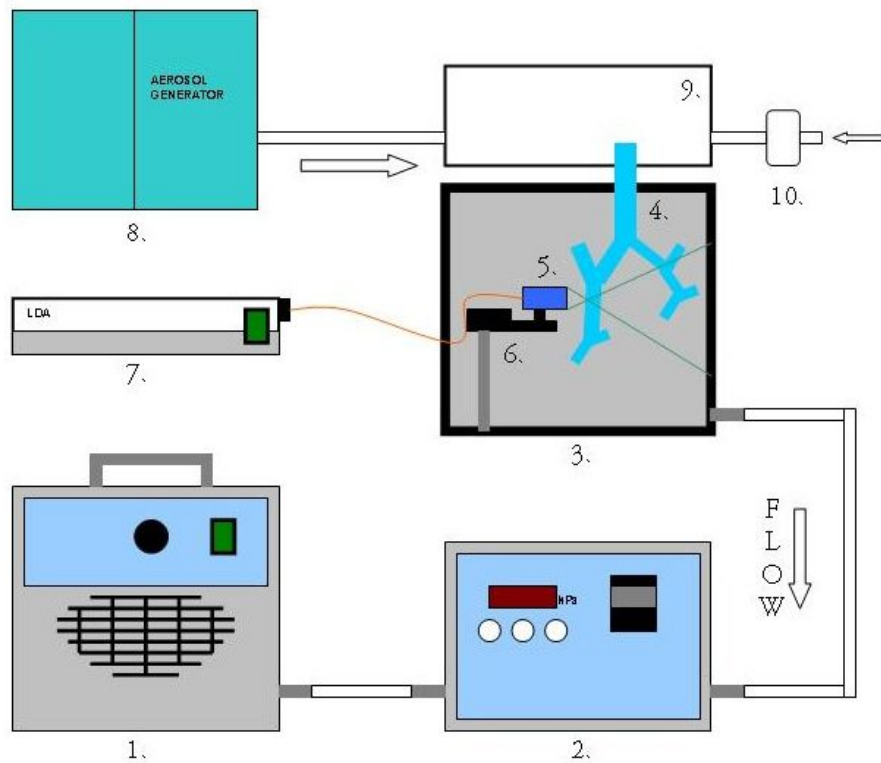
A mérési adatok gyűjtését egy National Instruments gyártmányú adatgyűjtő kártyával oldottam meg, mely 100 MHz mintavételezési sebességre képes két csatornán, így az eszköz által mérhető legnagyobb sebesség a tervezett leképezési geometria esetén 100 m/s fölött van. Az adatok kiértékelését egy célirányosan kifejlesztett Labview szoftverrel végeztem, ami maximális rugalmasságot biztosít a mérés és adatfeldolgozás során. A detektorról beérkező jelek az adatgyűjtő kártyán keresztül kerülnek a számítógépbe, amely elvégzi az értékelhető jelek kiválogatását, a zajszűrést és a megfelelő műveletek végrehajtása után megadja az egyes részecskék sebességét, valamint annak statisztikai feldolgozását is.

A detektálni kívánt részecskék megfelelő láthatósága érdekében a levilágító nyalábot úgy terveztem meg, hogy az általa létrehozott csíktávolság 2-10 μm közé essen, illetve a két érték között változtatni lehessen, így az alkalmazások során várhatóan előforduló legnagyobb átmérőjű részecskék is maximális modulációs mélységű jelet fognak adni. Ez lehetőséget ad a sebességtartomány változtatására is.

In vitro mérési összeállítás

A trachea és a légutak 1-5 generációjának idealizált modelljét egy zárt, külső levegőtől elszigetelt mérőkamrába helyeztem, mely a trachea modellrészen keresztül csatlakozik a keverő puffertartályhoz (25. ábra). Az áramlás beindításához a mérőkamrában nyomásesést hoztam létre egy vákuumpumpa (Copley TPK) segítségével. A kívánt 30 liter/perc térfogatáramot egy áramlásszabályozóval állítottam be. A validáló mérések során a mérőkamrába installáltam egy speciálisan erre a célra

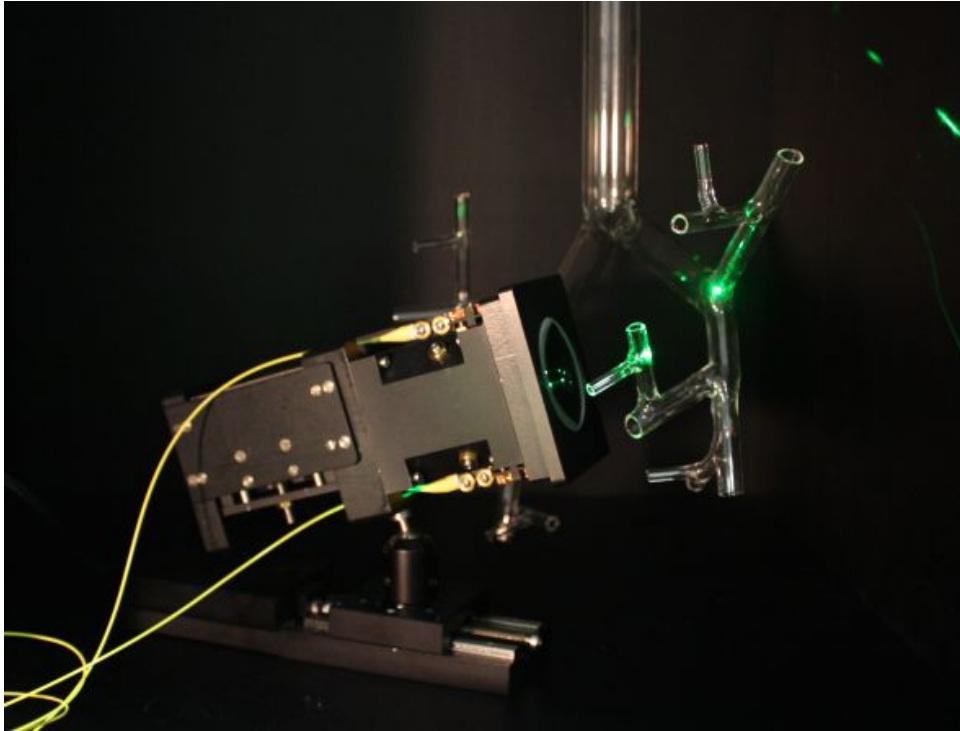
fejlesztett lézer Doppler sebességmérő fejet is, mellyel a modellben felépülő áramlási tér adott irányú sebességkomponensét monitoroztam.



25. ábra Mérési összeállítás. 1 - pumpa; 2 - áramlásszabályozó; 3 - hermetikus mérőkamra; 4 - üveg tüdőmodell; 5 - LDA mérőfej; 6 - transzlátor; 7 - lézer és LDA vezérlő, jel és adatfeldolgozó elektronika; 8 - aeroszol generátor; 9 - keverő és puffer tartály; 10 - null szűrő

Az áramlásba 2 mikronos polisztirén latex jelző részecskéket porlasztottam, melyeket egy GRIMM PG-100 aeroszol generátorral állítottam elő. Az aeroszol generátorból kijövő részecskéket egy diffúziós szárítón keresztül juttattam a keverő puffertartályba. A kamrában a lézer Doppler sebességmérő fejet egy kamrán kívülről vezérelhető lineáris mozgatóra szereltem, mely lehetővé tette a vizsgálandó keresztmetszet pásztázását. A mérési pontokban a sebességet 100 egyedi részecske sebességének átlagából határoztam meg.

A mérési síkokat a választott légúti frakciókban az elágazások csatlakozási pontjaitól 20 mm távolságra jelöltem ki. Az egyes mérési síkok kiválasztásánál elsődleges szempont volt, hogy a mérőleges pásztázáshoz az LDA mérőfej precízen, a megfelelő szögben telepíthető legyen (26. ábra).



26. ábra Az LDA mérőfej és az üveg tüdőmodell a hermetikus kamrában mérés közben.

Szimulációs számítások leírása

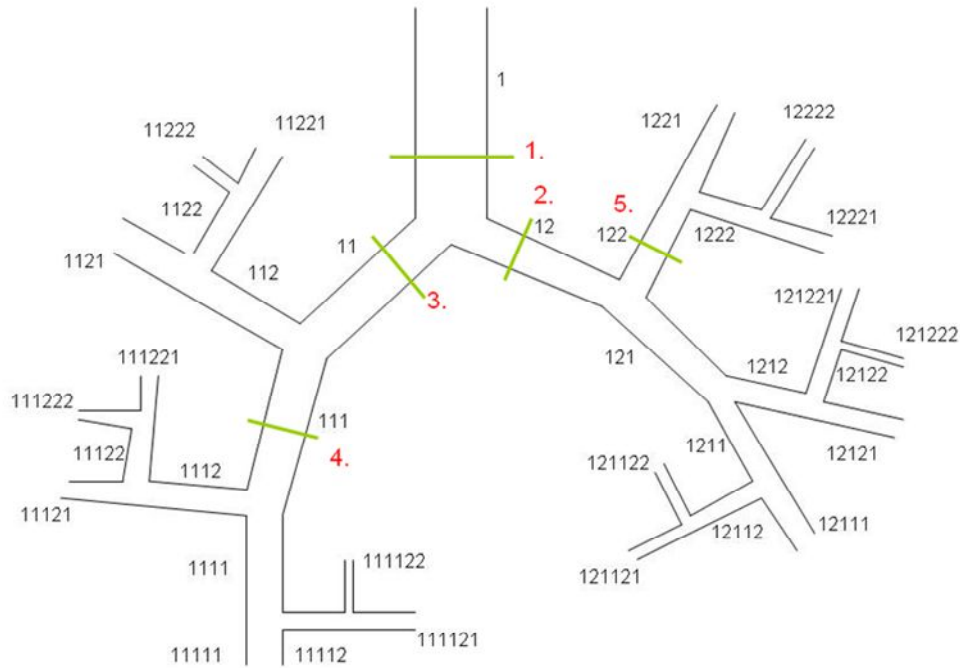
Az áramlási sebességek mérésének a legfontosabb célja, hogy a légúti geometria adott keresztmetszetében mért értékeket összevethessük ugyanazon profil ugyanazon keresztmetszetében számítógépes áramlási modellezés (CFD) segítségével meghatározott értékekkel [S21]. A szimulációs modellszámításokat az MTA Energiatudományi Kutatóközpont Környezetfizikai Laboratórium munkatársaival végeztük. A modellezés folyamata egyaránt tartalmazza a 3D légúti geometria rekonstrukcióját, annak térbeli diszkretizálását, valamint az áramlást leíró

transzportegyenletek megoldását. Erre a célra a GAMBIT előkészítő eszközt és a FLUENT 6.1 CFD szimulációs szoftvert használtuk [64]. A bifurkációkból felépített légúti modell digitális másolatának elkészítéséhez megmértem minden egyes elágazás jellemző méreteit (a főágak és a mellékágak átmérőit és hosszait, az elágazások szögeit), az egymást követő bifurkációk szimmetriasíkjai által bezárt szögeket, majd ezen adatok felhasználásával elkészítettük a digitális felület CAD (computer aided design) technikával. A számítógépes geometriát térháló illesztésével diszkretizáltuk, melynek eredményeként 2,1 millió számítási cellát kaptunk. A háló tervezett inhomogenitása javította a határreteg jellemzőinek, vagyis az ott megjelenő nagyobb sebesség-gradienseknek a pontosabb szimulálását. Ennek érdekében a fal mellett kisebb cellákat alkalmaztunk [65]. Az általam választott 30 liter/perc áramlási sebesség és az adott geometriai paraméterek mellett a létrejövő áramlás valószínűleg átmeneti lamináris és turbulens között [66]. A kis Reynolds-számok esetén használt k-omega modell alkalmas arra, hogy ilyen körülmények között jó közelítéssel leírja a légutakban felépülő áramlást. Esetünkben megfelelő választás lehetett volna a LES (Large Eddy Simulation) módszer is, mely egyre népszerűbb a hasonló szimulációk során [67]. Szimulációinkhoz a k-omega turbulencia modellt választottuk.

Eredmények

A számítógépes szimulációk validálása során biztosítani kell, hogy a nyert adatokat össze lehessen hasonlítani a kísérleti berendezéssel végzett mérések eredményeivel. Ennek érdekében az összehasonlítandó eljárásokat azonos kondíciók, kezdeti- és peremfeltételek mellett hajtottam végre. A választott egyszerű, idealizált, könnyen digitalizálható légúti modellnek köszönhetően gyakorlatilag ugyanolyan

geometriai paraméterek mellett végeztem el a kísérleti méréseket, mint amilyenekben a szimulációk futtatva lettek. Kísérleteim során a részecskék pontos méretét kalibrációs latex részecskékkel biztosítottam, míg az áramlási paramétereket szabályozható, Copley gyártmányú pumpával és áramlásszabályzóval állítottam be.



27. ábra Az üveg tüdőmodell sematikus rajza. A méréseket a zöld vonalakkal jelölt keresztmetszetek mentén végeztük. Az egyes ágak geometriai paramétereit a II. táblázat tartalmazza.

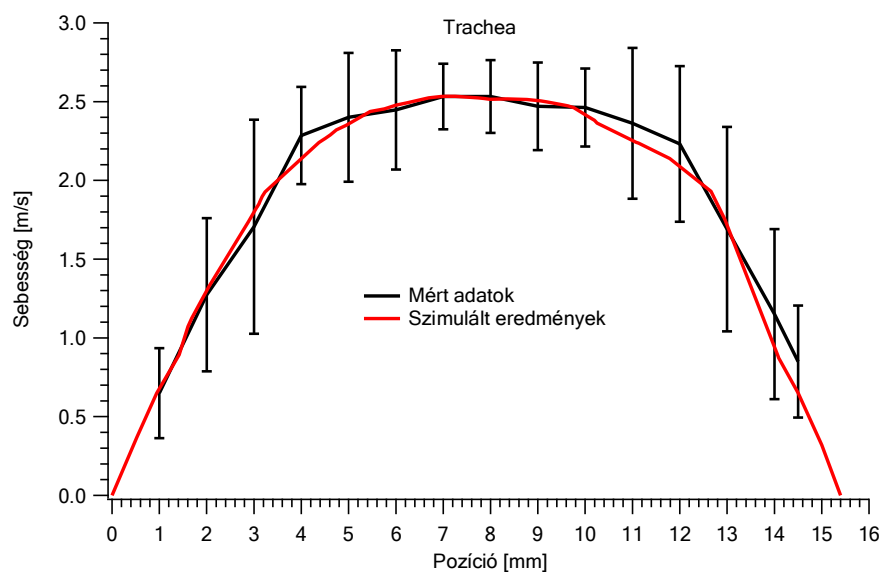
A sebességprofilokat a légúti modell öt különböző ágának keresztmetszetében határoztam meg (27. ábra). A mérési pontokat úgy választottam ki, hogy lehetőség szerint minden légúti generációból legyenek mérési eredmények, így a rendelkezésemre álló idealizált légúti modell különböző régióiból nyert mérési eredmények esetében vizsgálni tudtam a korrelációt a CFD szimulációknál kapottakkal. Az első mérési pont a *trachea* részben, a második és a harmadik a főhörgőkben (baloldali és jobboldali fő

bronchusok), a negyedik pont a *bronchus intermedius*-ban míg az ötödik a bal felső *lobar bronchus*-ban (lebenyes hörgő) volt. A keresztmetszet minden mérési pontjában az átlagsebesség mellett a szórást (standard deviációt) is meghatároztam és hibakorlátként ábrázoltam azokat a sebességértékeknél. A sebességmérést minden esetben a modell falától meghatározott távolságra indítottam és fejeztem be annak érdekében, hogy minimalizáljam a modell falán szóródó és reflektálódó fénytől származó zajt. Ezt a távolságot minden esetben kísérleti úton határoztam meg, a méréseim során 0,5-1 mm volt. Az LDA mérőfejjel csak a 3. légúti generációig tudtam méréseket végezni. Mivel az alsóbb régiókban a légutak átmérője már viszonylag kicsi, így ott a modell falának nagyobb görbülete már jelentősen torzítja a levilágító nyalábot, ráadásul a felületről szóródó és reflektálódó fényt sem lehet megfelelő mértékben kiküszöbölni.

A CFD modellszámítások eredményei azt mutatják, hogy az alkalmazott légúti geometria esetén az áramlás lamináris a trachea részben, de a következő generációkban már a modell geometriai paraméterei jelentősen befolyásolják az áramlási képet. A számításoknál használt egyik peremfeltétel az volt, hogy a légutak falánál nulla az áramlási sebesség. A különböző légúti generációkban felvett sebesség profilok lehetővé tették a numerikus szimulációk eredményeinek kísérleti ellenőrzését.

A 28. ábrán mutatom be a modell *trachea* szegmensbeli mérések eredményeit és a CFD szimulációk eredményeit is ugyanarról a térrészről. Ez a része a légúti modellnek 170 mm hosszúságú és 18,4 mm belső átmérőjű. A falvastagság 1 mm. A méréseket a modell falától 1mm-re kezdtem és az adatokat egy 15,4 mm hosszú vonal mentén rögzítettem. A méréseket nem a tengelyre merőleges átmérő mentén végeztem, hanem attól egy kísérleti úton meghatározott távolságra (23. ábra). Erre azért volt szükség, hogy minimalizáljam az üveg modell faláról visszaverődő fény negatív hatását, és ez

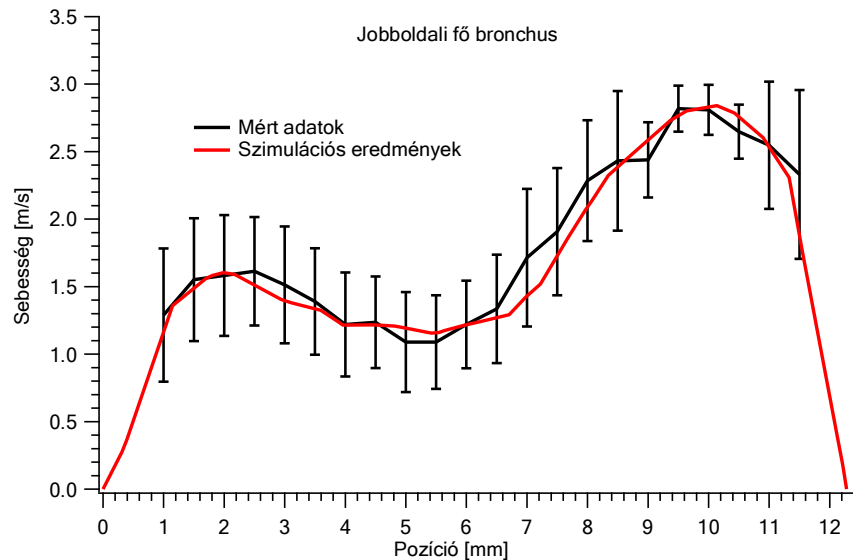
magyarázza azt is, hogy a mérési vonal hossza kisebb, mint a légút belső átmérője. A faltól 1 mm-re az adott keresztmetszet szemközti mérési pontjain egyaránt 0,8 m/s tengelyirányú áramlási sebességet mértem. Az áramlás maximuma a faltól 8 mm-re, az áramlási tér középvonalában 2,5 m/s volt. A mérési adatokból és a szimulációs eredményekből felrajzolt görbék a légút tengelyére nézve a várakozásainknak megfelelően egyaránt szimmetrikusak, egymással gyakorlatilag megegyezők.



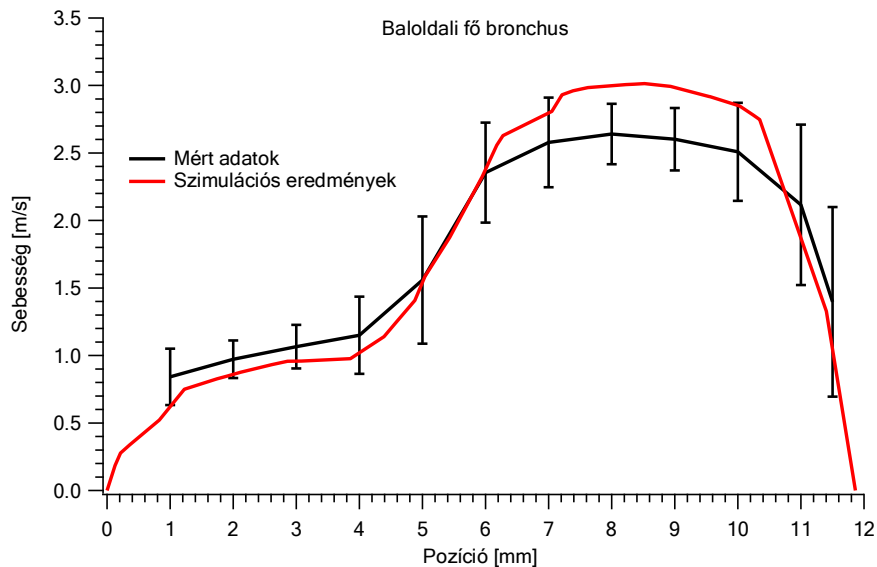
28. ábra Számított és mért sebességprofilok az üveg tüdőmodell trachea részében. Mivel a mérést, és ennek megfelelően a szimulációt sem az adott keresztmetszet átmérője mentén végeztem, ezért a méréssel átfogott távolság a fentebb megadott 18,4 mm helyett 15,4 mm.

A 29. és a 30. ábrán rendre a jobb illetve a bal főhörgők mérési és szimulációs eredményei láthatóak. Mindkét légút azonos, 13,2 mm átmérőjű, ellenben különböző szögben csatlakoznak a tracheához. A mérési és szimulációs adatokból készített görbék mindkét esetben nagymértékben aszimmetrikusak. A jobb főhörgő esetében az áramlási sebességnek lokális maximuma (1,6 m/s) van a faltól 2,2 mm-re, majd 5 mm-re a sebesség 1,1 m/s-ra csökken. A maximumát 2,8 m/s-ot 9,2 mm-nél éri el. A szimulációs

eredmények jól követik a kísérleti méréseket, a maximum és minimum helyek is egybeesnek. A bal oldali főhörgőben a legkisebb sebességet, 0,7 m/s-ot az első mérési pontban rögzítettem, majd az értékek a faltól számított 8 mm-ig folyamatosan emelkedtek 2,5 m/s-ig. A numerikus számítások eredményei itt is jól korrelálnak, de a faltól 6 mm-re rendre magasabb értékeket eredményezett. Az eltérés 15%-on belül van.

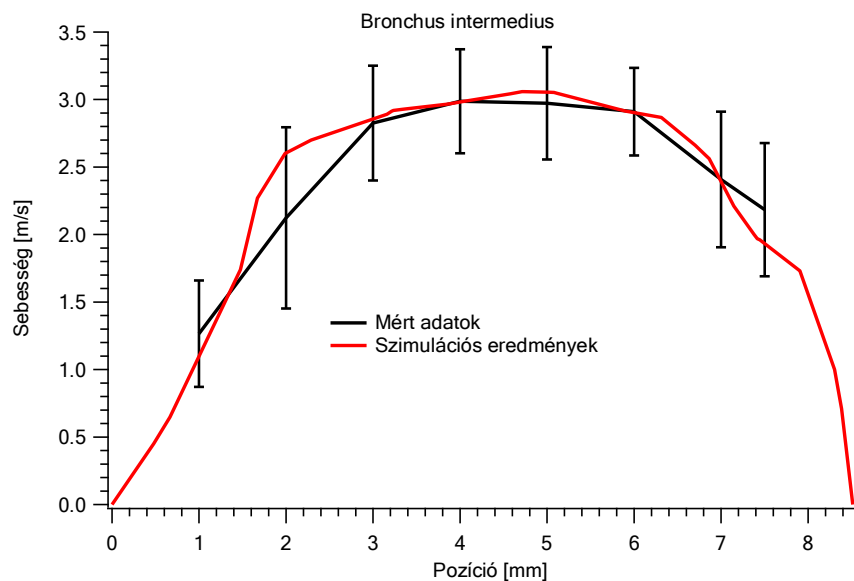


29. ábra Számított és mért sebességprofilok az üveg tüdőmodell jobboldali főhörgőjében.



30. ábra Számított és mért sebességprofilok az üveg tüdőmodell baloldali főhörgőjében.

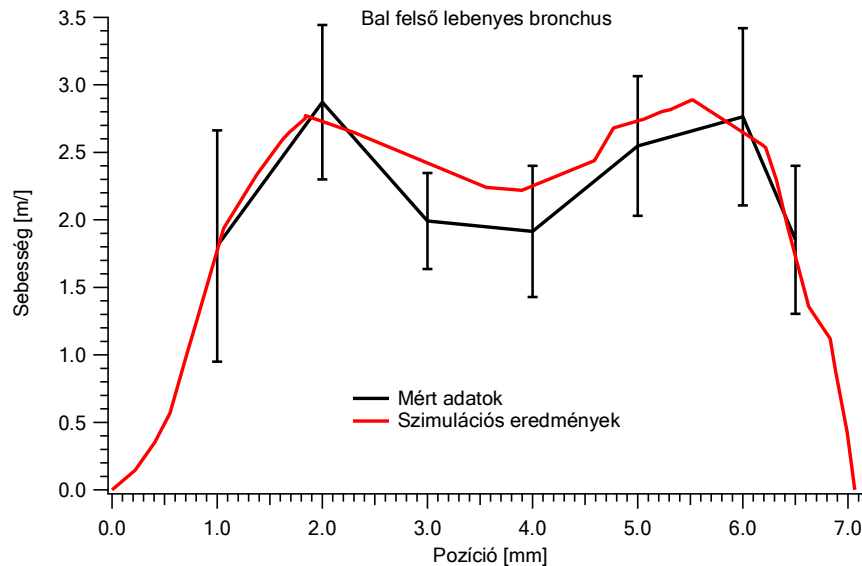
A 31. ábrán a bronchus intermediusban mért és számított sebességértékek láthatók. Ennek a légútnak az átmérője 8,7 mm. Az áramlási sebesség minimumát az első mérési pontban mértem, ez 1,3 m/s volt. A légút tengelye felé haladva 4 mm-ig a sebesség folyamatosan 2,9 m/s értékig növekszik, majd csökkenni kezd egészen 2,2 m/s-ig az utolsó mérési pontban. A kapott görbe majdnem szimmetrikus, a maximumhelye közel esik a légút tengelyéhez, a szemközti falak mellett viszont egymástól kissé eltérő értékeket mértem. Érdekes, hogy annak ellenére, hogy a szimulációs adatok hibahatáron belül megegyeznek a mért értékekkel, a hozzájuk illesztett görbe már közel sem olyan szimmetrikus, mint amit a kísérleti eredmények mutatnak. A numerikus számítások sajátosságai (a közelítések hibái) valószínűleg itt kezdenek látható mértékben megjelenni.



31. ábra Számolt és mért sebességprofilok az üveg tüdőmodell bronchus intermedius részében.

A 32. ábrán a bal felső lobar (lebenyes) bronchus eredményei láthatók. Ennek a légúti traktusnak az átmérője 7,1 mm. A felvett görbék mindkét esetben két maximumot

tartalmaznak 2,9 m/s és 2,7 m/s értékekkel a faltól 2, illetve 6 mm-re. A szimulált és a kísérletek során nyert adatok ebben az esetben is szépen követik egymást.



32. ábra Számított és mért sebességprofilok az üveg tüdőmodell bal felső lebenyes bronchus részében.

Összehasonlítva a numerikus számítások adatait a mért értékekkel megállapítható, hogy azok jól korrelálnak egymással az összes mérési pont esetében. Különösen igaz ez a trachea részben, ahol az áramlás még lamináris. Az alsóbb régiókban már egy kevert áramlás jelenik meg, melyet a légutak geometriája, azok felszínének jellemzője alakít. Az is jól látható, hogy a szimulációk során ezeket a tényezőket sikerült kellő súllyal számításba venni. Méréseimmel így kísérletileg is igazolni tudtam a számítógépes szimulációk eredményeinek érvényességét, alkalmazhatóságának relevanciáját a felső, illetve a középső légutakat tartalmazó idealizált modell esetében.

Összefoglalás

Kísérleti mérésekkel validáltam a légúti áramlás karakterisztikájának és a részecskék depozíciójának meghatározására kifejlesztett CFD (computational fluid dynamics) depozíciós modell eredményeit. Ennek során egy általam kifejlesztett, változtatható interferencia-csíktávolságú és mérési térfogatú, száloptikás, lézeres Doppler sebességmérővel megmértem a részecskék sebességprofilját egy idealizált, de realisztikus, üreges légúti modellben. A numerikus számítások és a kísérleti mérések eredményei az azonos kondíciók és bemeneti paraméterek mellett jól korreláltak egymással. A CFD modell megjósolta a trachea régióban felépülő lamináris áramlási profil mellett az alsóbb régiókban megjelenő, turbulens áramlással jellemezhető szakaszokat, és jól írta le az elágazások után felépülő áramlások térbeli karakterisztikáját is, amit kísérleti eredményekkel támasztottam alá. Az eredmények alapján elmondható, hogy napjaink fejlett CFD módszereivel ideális légúti geometriák esetén az áramlás paraméterei a 3. légúti generációig jól modellezhetők.

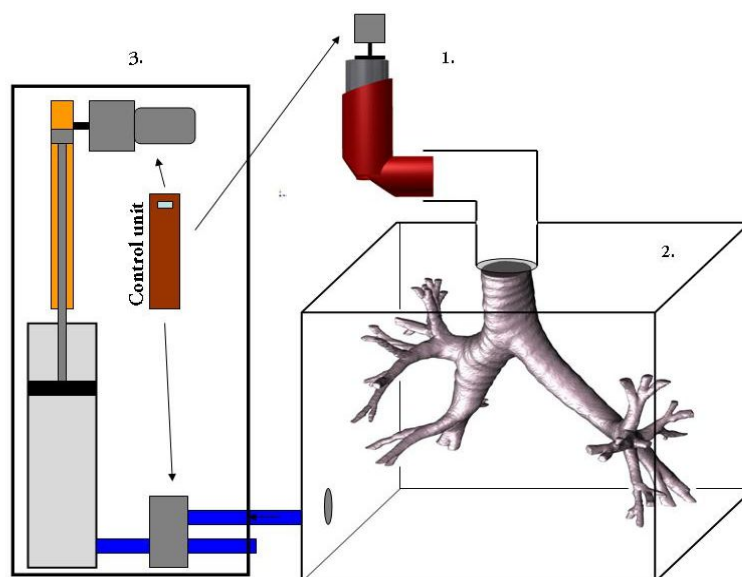
VII. Humán légúti rendszerbe inhalált aeroszolok felületi eloszlásának meghatározása

Napjaink modern képalkotási technológiáinak köszönhetően nagyfelbontású 3 dimenziós képet kaphatunk a felső és középső légutakról, melyből 3D nyomtatóval rekonstruálható egy realisztikus légúti modell. A 3D nyomtatási technológiák alkalmazásának nagy előnye az *in vitro* mérések során, hogy a modell geometriája először digitális formában készül el [68], így az abban lefuttatott CFD szimulációk és a modellben elvégzett mérések eredményei könnyen összehasonlíthatóak [47, 48, 69]. A módszer egyik gyenge pontja, hogy a gyártási folyamatból adódó felületi érdesség, valamint a felhasznált polimerek optikai tulajdonságai miatt a kész modell nem kellően átlátszó, így optikai mérés technikák alkalmazásához elengedhetetlen a modell előzetes preparálása [49]. Munkám során szilícium hordozókat ültettem a modellbe, majd azokon Raman-spektroszkópiai módszerekkel [70] vizsgáltam az aeroszol gyógyszerészecskék kiülepedését [S29, S30].

A valóságot legjobban megközelítő mérésekhez nem csak a légúti modelleknek kell valósághűnek lenniük, hanem az áramlásnak is tükröznie kell a légzés közben kialakuló feltételeket. Ennek érdekében megépítettem egy programozható légzés-szimulátort (Pulmonológiai Hullámforma Generátor), mellyel akár konkrét légzési hullámformák depozícióra gyakorolt hatását [51], vagy az áramlási térnek egy adott pontban, a változó áramlási sebesség miatt bekövetkező megváltozását is vizsgálhatjuk [52].

Kísérleti háttér felépítése

Megterveztem és felépítettem [S10, S20, S21] egy komplex kísérleti berendezést az inhalációs készítmények légúti viselkedésének tanulmányozására (33. ábra). A rendszer tartalmaz egy aktuátort a kimért dóziséjú inhalátorok működtetéséhez, egy hermetikusan szigetelt mérőkamrát, amelyben installálhatóak a mérőműszerek és a tüdőmodellek, elvégezhetőek az inhalációs mérések, valamint egy saját fejlesztésű pulmonológiai hullámforma generátort [S22]. Ez utóbbi segítségével tetszőleges – realiztikus vagy idealizált – humán légzésforma szimulálható, beleértve azokat is, melyeket különböző légúti obstrukcióban (asztma, COPD) szenvedő betegek légzésfunkciójának vizsgálatakor tapasztalunk [71]. A kifejlesztett eszköz unikális tulajdonsága, hogy képes vezérelni a hozzá kapcsolt aktuátort, amivel a pMDI készülék működtetése a létrehozott hullámforma tetszőleges pontjához szinkronizálható.



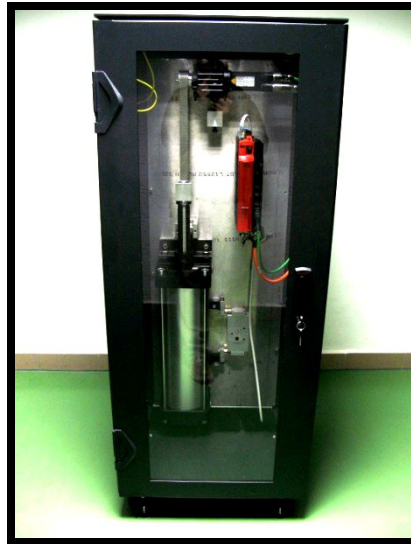
33. ábra Kísérleti elrendezés az inhalációs aeroszolok depozíciójának vizsgálatára 3D nyomtatott légúti modellben: (1) aktuátor a pMDI eszköz működtetéséhez; (2) szigetelt mérőkamra (3) pulmonológiai hullámforma generátor.

A kísérleti berendezésbe többféle, egyszerű üvegcsövekből összeállított vagy teljesen realiztikus modell installálása is lehetséges. A realiztikus légúti modellt 3D nyomtatással készítettük egy valós légzőrendszerről kapott CT-felvételsorozat rekonstruálásával. A munkám célja olyan eljárás kidolgozása volt, amellyel meghatározható, hogy az inhalátor használatát követően a bevitt hatóanyagból mennyi ülepedett ki a különböző légúti régiókban. Mivel az inhalációs készítmények esetében egy dózis mindösszesen néhány 10-100 μg hatóanyagot tartalmaz, és az ráadásul viszonylag nagy felületen oszlik el a modellben, ezért az analitikához választott módszernek kellően érzékenynek kell lennie. Az előbbieken túl további fontos szempont, hogy gyorsan, egyszerűen installálható és kivitelezhető mérési eljárást találjunk, amely lehetőleg nagy felbontással, anyagspecifikusan is képes eredményeket szolgáltatni. A minta preparálása, jelölőmolekulák vagy -részecskék hozzáadása a vizsgálandó készítményhez nem szerencsés, mivel megváltoztathatja annak aerodinamikai tulajdonságait. Egyéb technikákat is megvizsgálva [S28] arra a következtetésre jutottam, hogy a pásztázó mikro Raman-spektroszkópia és az ezzel való térképezés [S23-S27] megfelelő választás lehet.

Belégzés szimulálása pulmonológiai hullámforma-generátorral

A hullámforma-generátor [72] legfontosabb feladata a realiztikus, valós humán légzésparamétereknek megfelelő légáram előállítása az *in vitro* mérésekhez [S22]. Az általam tervezett pulmonológiai hullámforma-generátor bemenő paramétereit valós légzési hullámformák adatai szolgáltatták, melyeket pulmonológusoktól szereztünk be. Az *in vivo* - *in vitro* korreláció biztosítása mellett a berendezés másik nagyon fontos feladata a DPI (Dry Powder Inhaler – szárazpor-inhalátor) eszközök APSD- és MMAD-

méréseivel kapcsolatos. A szárazpor-inhalátorok esetében egyrészt inhalációs manőverrel történik a részecskesokaság generálása, amely művelethez konstans áramlás nem használható. Másrészt a részecskesokaság méreteloszlása függ a generáláshoz használt szívás erősségétől. Ezért ezen anyagoknál is indokolt a légzésszimulátor használata.



34. ábra a Pulmonológiai hullámforma generátor

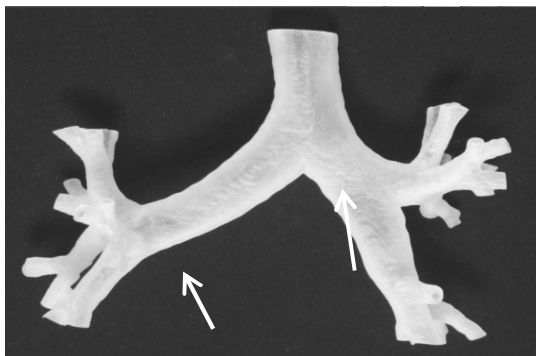
A mérésekhez használt pulmonológiai hullámforma-generátor esetében egy szervomotorral hajtott Piston-pumpa szívja be, illetve fújja ki a levegőt. A motort PLC-program vezérli. A szervohajtás lehetővé teszi az áramoltatni kívánt légtömeg mennyiségének rendkívül pontos szabályozását. A legkisebb mozgatható légmennyiség $0,1 \text{ cm}^3$, a maximálisan beszívható légmennyiség pedig 6,8 liter. A beépített memóriának köszönhetően 50 különböző légzési hullámforma tárolható, amelyek a kezelőpanelről egyszerűen betölthetőek. A szükséges hullámformák 20 - 50 - 100 ms felbontással vihetők be a programba, ami tökéletesen megfeleltethető a standard légzésfunkciós vizsgálatok során alkalmazott időbeli felbontásnak. A beépített Piston-pumpa alsó részén egy szabad bemeneti csatlakozó található, a felső részén viszont a bemeneti csatlakozóhoz egy elektronikus vezérlésű segédlevegős 5/2-es útszelepet

kapcsoltunk. A szeleppel lehetőség van arra, hogy szükség esetén egyirányú, megfelelő hullámformájú áramlást építsünk fel a méréshez a vizsgálandó térrészben.

Az általam kidolgozott specifikációk szerint, a vezérlőegység PLC-programjába beépítettünk egy speciális funkciót, mely 12 V-os jelet képes biztosítani adott időtartamra, bármely beprogramozott hullámforma indítási pillanatához képest időben tetszőleges mértékben eltolva. Ezzel szimulálhatók a pMDI eszközök használatakor gyakran előforduló szinkronizációs eltérések.

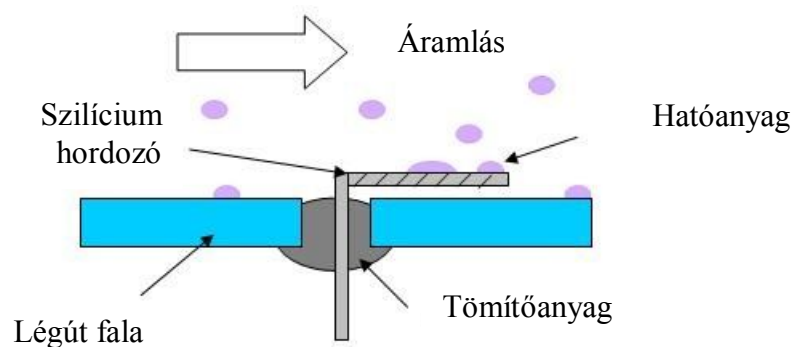
Kísérletek leírása

A légúti modellünket – amely a larynx-tól lefelé a tracheát és a nagylégutakat tartalmazta az 5. generációig – gyors prototípusgyártási (rapid prototyping, RPT) eljárással állítottuk elő (35. ábra). Ehhez a 3D DOCTOR szoftver segítségével a tüdőről készített CT-felvételsorozat minden elemén szegmentáltuk a légutakat, majd felépítettük a realisztikus légúti geometriát. A kapott geometriát megfelelő konverzió után egy Objet Eden500V típusú 3D nyomtatóval, 16 µm-es rétegvastagsággal, PolyJet RGD720 anyagból nyomtattuk ki.



35. ábra CT-felvétel alapján 3D nyomtatással készített realisztikus, üreges légúti modell. A két nyíl a szilícium hordozók helyét jelöli.

A depozíciós kísérleteink során különböző hatóanyag-tartalmú, kereskedelmi forgalomban is kapható, beklometazon-dipropionát, formoterol furmarát-dihidrát, ciklezonid és szalbutamol hatóanyagokat tartalmazó készítményeket használtam. Mindegyik készítményt kimért dózisu (pMDI) inhalációs eszköz formájában vizsgáltam. A modellbe juttatott gyógyszer begyűjtésére 0,5 mm x 2 mm méretű szilícium hordozókat helyeztem el (36. ábra) a választott légúti traktus belső falán. Az inhalációs manőver végeztével a hordozókat eltávolítottam, majd a felületüket mikro-Raman technikával elemeztem.



36. ábra A szilícium hordozók rögzítésének módja a légúti modell belső felületén.

A készítményeken és a kiülepedett hatóanyagokon a Raman méréseket egy Jobin Yvon RM532 és egy Leica DM/LM mikroszkóphoz csatlakoztatott Renishaw 1000 típusú Raman-spektrométerrel végeztem. A gerjesztéshez egy 532 nm-es Nd:YAG lézert, egy Ar-ion lézer 488 nm-es vonalát és egy 785 nm-es diódalézert használtam. A szilícium hordozók a rajtuk deponálódott hatóanyaggal együtt a spektrométer motorizált XYZ-tárgyasztalára kerültek. A pásztázó Raman-mérések során a gerjesztő nyalábot 2 mikron átmérőjűre fókuszáltam a hordozó felületén. Az X és Y irányban alkalmazott laterális felbontás szintén 2 μm volt. A mintatartó asztal magasságát a mérés során

folyamatosan állítottam annak érdekében, hogy a nyaláb a szilícium hordozó felületére legyen fókuszálva.

Az inhalált gyógyszerek karakterisztikus csúcsainak illesztését alapvonal-korrekciónak után Lorentz-függvénnyel végeztem. A deponálódott anyagmennyiséget a csúcsok területének segítségével határoztam meg, a hatóanyag eloszlását Raman-intenzitás térképpel ábrázoltam. Mivel egyúttal optikai mikroszkópos felvételt is készítettem a pásztázott területről, így a két módszerrel készített képet össze is hasonlítottam.

Eredmények

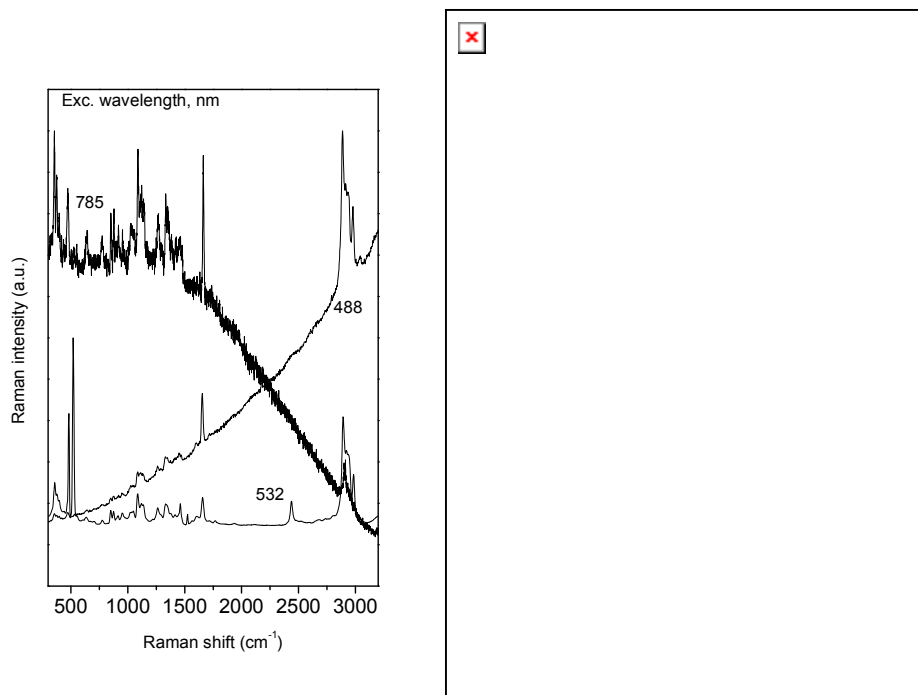
A pásztázó Raman-spektroszkópiás eljárás kidolgozása során az első kísérletek célja a Raman-mérések optimális körülményeinek meghatározása volt. Megvizsgáltam a gerjesztő hullámhossz és a gerjesztő nyaláb átmérőjének hatását, valamint a módszer szelektivitását különböző hatóanyagok esetében, továbbá a Raman-intenzitás és a kiülepedett anyagmennyiség közötti korrelációt is.

A gerjesztő hullámhossz hatása a vizsgált hatóanyagok Raman spektrumára

A gerjesztő hullámhossz több szempontból is jelentős mértékben befolyásolhatja a mintákon mért Raman-spektrumokat, különösen azok minőségét (jel/zaj viszonyát). Először is, a Raman-szórás hatékonysága arányos a gerjesztő energia negyedik hatványával. Másodszor, a gerjesztő nyaláb intenzív fotolumineszcenciát gerjeszthet a mintában, amely elfedheti és detektálhatatlanná teheti a Raman-csúcsokat. Harmadszor, amikor a gerjesztő fotonok energiája megegyezik vagy közel azonos a minta egy

meglévő elektronátmenetének energiájával, úgynevezett rezonáns Raman-szórás lép fel, ami 3-5 nagyságrenddel is növelheti a szórási intenzitást.

Annak érdekében, hogy ezeket a hatásokat feltérképezsem, azonos mérési körülmények között, különböző gerjesztési energiák használatával megmértem az inhalációs készítmények Raman-spektrumát. A 37. ábra két különböző – a szalbutamol és a beklometazon-dipropionát és formoterol-fumarát-dihidrát hatóanyagot tartalmazó – készítmény Raman-spektrumát mutatja három eltérő gerjesztési hullámhossz esetében.



37. ábra A szalbutamol (bal) és a beklometazon-dipropionát és formoterol-fumarát-dihidrát (jobb) hatóanyagot tartalmazó inhalációs készítmények különböző gerjesztési energiákkal mért Raman-spektrumai.

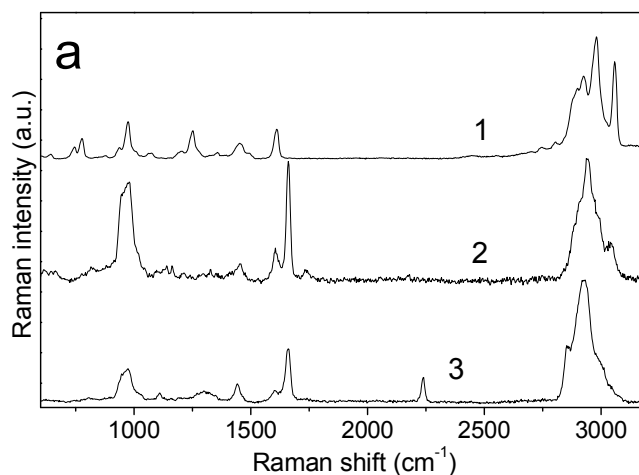
Látható, hogy a 785 nm-es gerjesztéssel kapott spektrumnak mindkét esetben nagyon rossz a jel/zaj viszonya, emellett a spektrumban egy viszonylag intenzív fotolumineszcencia-háttér is megfigyelhető. Az 532 nm-es hullámhosszal gerjesztett spektrumoknál nincs lumineszcencia, és a jel/zaj viszony is sokkal kedvezőbb. A

karakterisztikus sávok egyértelműen felismerhetők és beazonosíthatók. Hasonlóan jók a 488 nm-es lézerrel gerjesztett Raman-spektrumok is, ugyanakkor azoknál fotolumineszcencia is megfigyelhető. A fentiek fényében a pásztázó Raman-mérésekhez leginkább az 532 nm-es gerjesztés használható, ugyanakkor a 488 nm-es hullámhossz is elfogadható. A szabályozható teljesítmény miatt (amivel érzékeny hatóanyagok esetében megelőzhető a minta károsodása) a pásztázó Raman-mérésekhez végül a 488 nm-es hullámhosszt használtam.

Szelektivitás

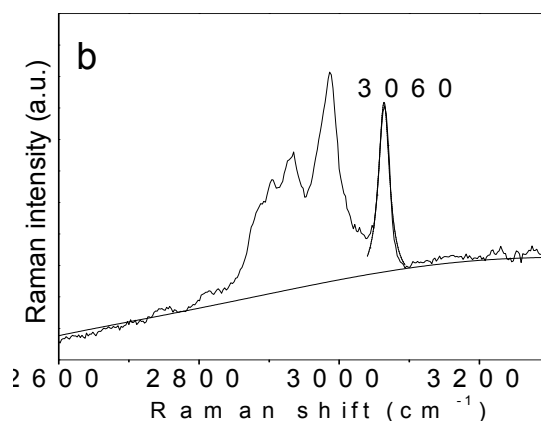
A 38. ábra három, különböző hatóanyag-tartalmú, túlnyomásos kimért dózisu inhalációs készítmény Raman-spektrumát hasonlítja össze. A spektrumok részletes összevetése igazolja, hogy a módszer alkalmas az egyes hatóanyagok szelektív azonosítására is. Mindegyik anyag spektrumában megfigyelhetők olyan jellegzetességek, elsősorban Raman-csúcsok, amelyek segítségével az adott hatóanyag beazonosítható és megkülönböztethető a többi készítménytől. Ilyen például a 3060 cm^{-1} körül található sáv az 1. minta, az 1660 cm^{-1} körüli a 2. minta, és a 2240 cm^{-1} -nél található a 3. minta esetében. A Raman-módszer biztosította szelektivitás egyrészt az adott hatóanyag azonosítása, másrészt a hordozókra esetlegesen kiülepedett műtermékek elemzésből való kizárása miatt fontos. Továbbá, a megfelelő csúcsok kiválasztásával és a pásztázó Raman-spektroszkópia alkalmazásával a kombinációs készítményeknél¹¹ akár hatóanyagoként is meghatározható a kiülepedés mértéke és az eloszlás.

¹¹ Több hatóanyagot tartalmazó gyógyszer.



38. ábra Kimért dózisu inhalációs készítmények 488 nm-es gerjesztő hullámhosszal mért Raman spektrumai; (1) szalbutamol, (2) beklometazon-dipropionát, formoterol-fumarát-dihidrát és (3) ciklezonid hatóanyagot tartalmazó készítményeknél. A spektrumokon alapvonal-korrekción végeztem.

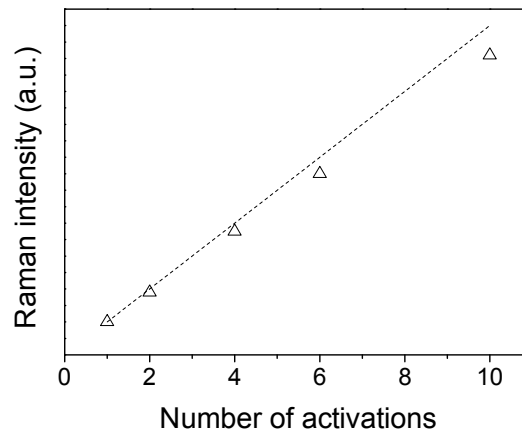
A kapott spektrumon előbb a fotolumineszcencia miatti alapvonalat kell eltávolítani, ami legegyszerűbben polinommal való illesztéssel végezhető el. Ezt követően az adott hatóanyagra jellemző csúcsot (jelen esetben a 3060 cm^{-1} -es sávot) Lorentz-függvénnyel illesztettem. A kapott csúcsparaméterekből készítettem el a Raman-térképeket. A spektrumok feldolgozásához és a térképek elkészítéséhez a Renishaw Raman-spektrométer Grams/32 szoftverét használtam.



39. ábra A szalbutamol spektrumának alapvonal-korrekcója és a 3060 cm^{-1} -es sáv Lorentz-illesztése.

Kalibráció

Feltételezhető, hogy a szilícium hordozóra kiülepedett hatóanyag mennyisége arányos a Raman-spektrumban megfigyelhető csúcsok intenzitásával. Ugyanakkor, amennyiben a nyaláb fókuszáltsága miatt a gerjesztő térfogat nem fogja át a kiülepedett anyag teljes vastagságát, a Raman-sáv intenzitását már nem az anyag mennyisége fogja meghatározni. Fentiek ellenőrzésére szilícium hordozóra különböző mennyiségű hatóanyagot fújtam, és megnéztem a Raman-intenzitás függését a befújások számától.



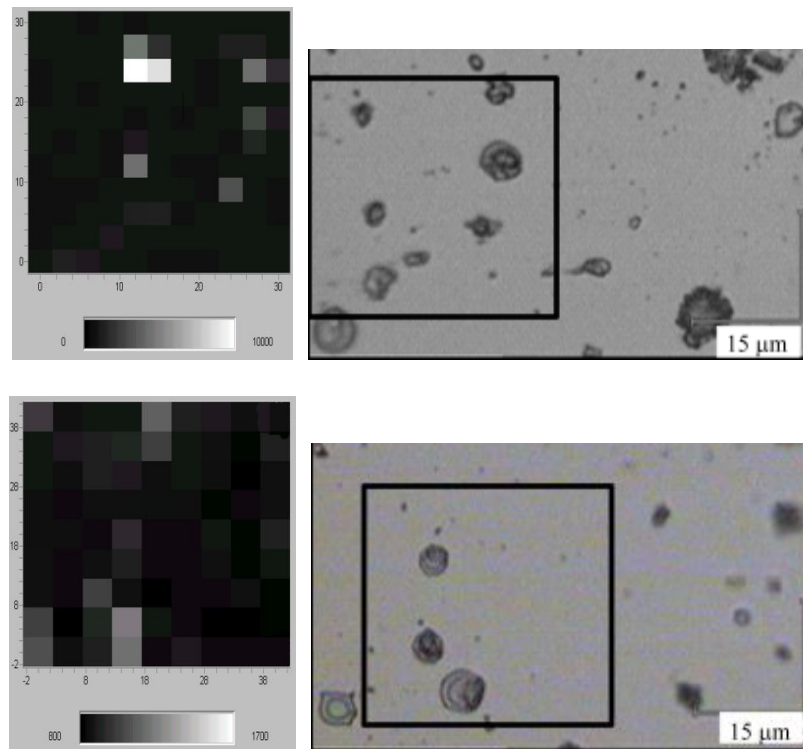
40. ábra Szalbutamol tartalmú készítmény Raman csúcsának intenzitásfüggése a hordozóra kiülepedett adagok számától.

A 40. ábra a szalbutamol tartalmú gyógyszer 3060 cm^{-1} -es Raman-sávjának intenzitása és az inhalációs készítmény adagolása közötti összefüggést mutatja. Látható, hogy 4 adag felületre juttatásáig nagyon jó, szinte lineáris az összefüggés a hatóanyag-mennyiség és a Raman-intenzitás között. Ezt követően az intenzitás növekmény kisebb a szaggatott vonallal megadott ideálisnál. A fent megadotton túl, a nagy vastagságon kívül ennek oka lehet az is, hogy az anyagvastagság növekedésével az abszorpció miatt egyre kisebb fénymennyiség jut mélyebb rétegekbe, emellett onnan is kevesebb visszaszórt fény kerül az objektívbe és a detektorba. Mivel ezeknél a kísérleteknél az

inhalációs készítményt közvetlenül, a légúti modellben való elhelyezése nélkül juttattam a hordozó felületére, a kiülepedett mennyiség többszöröse az adott befújással a légúti modellben elhelyezett hordozókra kerülőnek. A 3D nyomtatott realisztikus modellben elhelyezett mintavevő lapkán tapasztalataim szerint legalább egy nagyságrenddel kisebb felületi sűrűségben ülepedik ki a hatóanyag, így a számunkra érdekes anyagmennyiségek esetében a mért intenzitások és a deponálódott anyagmennyiség között lineáris kapcsolat fogadható el. A mérések eredménye alapján elmondható, hogy a légúti modelles kísérleteknél a Raman-csúcs intenzitása arányos lesz a kiülepedett mennyiséggel.

Pásztázó Raman-mérések légúti modellbe deponálódott hatóanyagon

A hatóanyag kiülepedésének Raman intenzitástérképpel való meghatározásához két szilícium hordozót helyeztem el a légúti modell belső felületének különböző pontjain (a pontos helyeket nyilak jelölik a 35. ábrán). Ezek rendre a trachea és a bal oldali főhörgő találkozási pontja, illetve a jobb oldali főhörgő első elágazása. A lapkák felületéről készített Raman-térképek a 40. ábrán láthatók. Az ábra a Raman-térképek mellett a vizsgált felületrész optikai mikroszkópos képét is mutatja, amelyen fekete négyzet jelöli a pásztázott területet. Az optikai mikroszkópos felvételen jól látható a kiülepedett gyógyszer a szilícium hordozó felületén. A 41. ábra szerint a kiülepedés nem egyenletes, a hatóanyag különböző méretű és alakú szigetek formájában deponálódott (ez a jellegzetesség az *in vivo* alkalmazások vonatkozásában nem tekinthető relevánsnak a felületek jelentős különbsége miatt). A várakozásoknak megfelelően a kiülepedés közvetlenül a *trachea* és a főhörgő találkozásához helyezett lapkán nagyobb, mint a mélyebb légúti régióban elhelyezett lapka esetében.



41. ábra Raman intenzitástérkép (bal) és optikai mikroszkópos felvétel (jobb) a légúti modellbe helyezett két szilícium hordozó felületéről. A fekete négyzet a pásztázó Raman-mérés helyét jelöli.

A deponálódott hatóanyagok felületi eloszlása a vizsgált terület Raman intenzitástérképén is megfigyelhető, és az optikai mikroszkópos felvételen láthatóhoz nagyon hasonló mintázatot mutat. Ugyanakkor az egyes szigetek Raman intenzitása és az optikai mikroszkópos képen látható mérete között nem teljesen egyértelmű a kapcsolat. Általában a kiüledett sziget méretével arányosan nő a Raman-intenzitás is, ugyanakkor egyes szigetekenél nem mérhető Raman-jel, míg másoknál a jel intenzitása jelentős mértékben meghaladja a sziget méretét. Ezen eltérések feltételezhetően szennyező anyagok, például porszemcsék kiüledésével magyarázhatók, amelyek megjelennek az optikai mikroszkópos képen, de nem adnak Raman-szórást a vizsgált hullámszám-tartományban, illetve jelentős fotolumineszcenciájuk miatt torzítják a

Raman-térképet. Ezen műtermékek megjelenése a Raman-térképen az automatizált adatfeldolgozás miatt nem küszöbölhető ki, ugyanakkor az optikai mikroszkópos képekkel való összevetéssel, valamint a Raman-térkép szomszédos pontjaihoz tartozó intenzitásértékek elemzésével kiszűrhetők.

Összefoglalás

A realiztikus légúti geometriák lehetővé teszik az inhalációs aeroszol készítmények és a környezeti aeroszolak kiülepedésének vizsgálatát. Megfelelő hordozók tüdőmodellek falára helyezése és az aeroszolak beszívását követő pásztázó Raman-spektroszkópiás vizsgálata alkalmas a kiülepedett anyag mennyiségének és típusának meghatározására. A pásztázó Raman-technika használatakor az egyes hatóanyagok karakterisztikus Raman-csúcsának intenzitása alapján összeállított térkép megfeleltethető a kiülepedett anyag mennyiségének. A Raman-mérési körülmények körültekintő megválasztásával jelentős mértékben megnövelhető a vizsgálat hatékonysága. A Raman-szórás biztosította szelektivitás lehetővé teszi a kombinált készítmények egyes hatóanyaga kiülepedésének külön-külön történő meghatározását, valamint a kiülepedett szennyezők jelentette hibák hatékony kiszűrését.

VIII. Összefoglalás

Az eredeti célkitűzéseinknek megfelelően megterveztem és létrehoztam egy komplex kísérleti háttérrel a humán légúti rendszerbe inhalált aeroszolok áramlástanai és depozíciós tulajdonságainak vizsgálatára. Ennek során számos eszközt, berendezést és vizsgálati módszert fejlesztettem ki.

A saját tervezésű lézeres Doppler sebességmérővel meghatároztam az Alvesco és a Foster pMDI inhalációs eszközök által generált részecske-felhő fő áramlási vonalán a szájrésznél mérhető átlagos részecskesebességet. A fenti két inhalációs készítmény esetében optikai mérés-technikai módszerekkel megmértem az általuk generált részecskesokaság átmérőjének a spektrumát, majd az abból számított MMOD adatokat összehasonlítottam az irodalmi adatokkal, melyek jó egyezést mutattak. Megállapítottam, hogy az optikai mérési módszerek egyszerű kivitelezhetőségüknek, flexibilitásuknak és a rövid elemzési idejüknek köszönhetően hatékonyan alkalmazhatók az inhalációs gyógyászati készítmények fizikai paramétereinek mérés-technikájában. A mérések kivitelezéséhez megterveztem egy speciálisan a feladathoz illeszkedő izokinetikus mintavevő egységet. Megvizsgáltam azt a gyakorlati szempontból fontos kérdést, hogy a légutak meleg, párás környezete hogyan befolyásolja az inhalált részecskék méretét. A méreteloszlás meghatározásához ebben az esetben egy, a gyógyszeriparban elterjedt kaszkád impaktort alkalmaztam. A mérések kiértékeléséhez saját, optikai képfeldolgozáson alapuló eljárást dolgoztam ki. Ehhez oly módon terveztem át az impaktor mintagyűjtő tálcáit, hogy azokban cserélhető mintagyűjtő lapkákat lehessen elhelyezni. A kifejlesztett eljárást validáltam úgy, hogy az eredményeimet összehasonlítottam az általánosan alkalmazott, HPLC berendezésre

épülő irodalmi adatokkal. A párasított környezet hatásainak a vizsgálatához légszigetelt mérőkamrát terveztem, melyben az általunk használt levegőáramlási értékek mellett nagy pontossággal lehetett szabályozni a hőmérsékletet és a páratartalmat. Párasított környezetben a tartózkodási időt egy, az impaktor bemenete elé installált, változtatható hosszúságú csővel szabályoztam. Az eredményeim alapján megállapítottam, hogy a vizsgált készítmény esetében a higroszkopicitásból adódó méretnövekedés nem jelentős (7% körüli 2 s tartózkodási idő esetén), így az számottevően nem befolyásolja a célterületi depozíció mértékét. A kifejlesztett berendezéshez a piacon elérhető valamennyi inhalációs eszköz illeszthető.

Kísérleti berendezést terveztem és építettem a humán légzőrendszerben zajló áramlási folyamatok vizsgálatára. Az *in vitro* - *in vivo* korreláció növelése érdekében megterveztem egy pulmonológiai hullámforma generátort, mellyel tetszőleges, valós légzési mintázat szimulálható. A mérőkamrába többféle eljárással és különféle anyagból készült légúti modell installálható.

Kísérleti mérésekkel validáltam a légúti áramlás karakterisztikájának és a részecskék depozíciójának meghatározására alkalmazott CFD (computational fluid dynamics) modell eredményeit. Ennek során az általam kifejlesztett, változtatható interferencia-csíktávolságú és mérési térfogatú, száloptikás, lézeres Doppler sebességmérővel megmértem a részecskék sebességprofilját az idealizált (realisztikus, üreges) légúti modellben. A modell belső falára a kellő mértékű adhézió biztosítása érdekében empirikusan meghatározott keverékből mesterséges nyálkahártyát vittem fel. A digitális geometriában végzett numerikus számítások és a kísérleti mérések eredményei az azonos kondíciók és bemeneti paraméterek mellett jól korreláltak egymással.

A valóság-hű légúti geometria létrehozásának érdekében részt vettem különböző patológiai állapotú emberi tüdők CT felvételeiből készített digitális légúti geometriák 3D nyomtatásra való előkészítésében, és a megfelelő modellek kiválasztásában. A legyártott modelleken a várható depozíciós mintázat függvényében mintavevő helyeket jelöltem ki, ahová szilícium lapkákat helyeztem el. A kísérletek elvégzése után a hordozók felületén pásztázó Raman-spektroszkópiás vizsgálatokat végeztem. Megállapítottam, hogy a módszer alkalmas a kiülepedett anyag mennyiségének és típusának meghatározására. A pásztázó Raman-technika használatakor az egyes hatóanyagok karakterisztikus Raman-csúcsának intenzitása alapján összeállított térkép megfeleltethető a kiülepedett anyag mennyiségének. Bebizonyítottam továbbá, hogy a Raman-szórás biztosította szelektivitás lehetővé teszi a kombinált készítmények kiülepedett hatóanyagainak külön-külön történő meghatározását, valamint a szennyezők hatékony kiszűrését.

Összegezve, kifejlesztettem egy komplex kísérleti háttérrel és ahhoz kapcsolódó új mérési módszereket, melyekkel széles spektrumban vizsgálhatók a humán légutakba bejutó aeroszolok áramlási és depozíciós paraméterei. A létrehozott elméleti és kísérleti háttér, valamint a kidolgozott módszerek széleskörűen alkalmazhatók nemcsak aeroszol gyógyszerek, de természetes vagy antropogén aeroszolok vizsgálatára is.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetet mondok témavezetőmnek, Nagy Attilának, aki a dolgozat elkészítésében mindvégig támogatott, tanácsaival, észrevételeivel pozitív hozzáállásával folyamatosan segítette a munkámat. Czitrovsky Aladárnak, hogy lehetőséget és erőforrásokat biztosított munkám sikeres elvégzéséhez és dolgozatom megírásához. Hálás vagyok Veres Miklósnak, aki nélkülözhetetlen tanácsaival alapvetően hozzájárult szakmai fejlődésemhez és sikeres munkámhoz. Köszönetet fejezem ki az osztály munkatársainak segítőkészségükért, hasznos tanácsaikért, a kísérleti munkában nyújtott közreműködésükért. Köszönöm Buka Ágnesnek, hogy az elmúlt időszakban biztosította a zavartalan intézeti háttérrel. Schlosser Péternek és munkatársainak köszönöm a kísérleti infrastruktúra megépítését, építő megállapításait. Balásházy Imrének és Farkas Árpádnak a szakmai tanácsait, segítő megjegyzéseit. A házi bírálóknak, Bencs Lászlónak és Imre Kornéliának köszönöm a dolgozatomhoz fűzött megjegyzéseket, építő kritikákat.

Végül - de nem utolsó sorban - köszönöm a családom fogyni nem akaró türelmét.

Hivatkozott irodalom

- [1] Warren H. Finlay *The Mechanics of Inhaled Pharmaceutical Aerosols: an Introduction*. Academic Press, (2001)
- [2] Balásházy I, Hofmann W, Heistracher T *Local particle deposition patterns may play a key role in the development of lung cancer*. J Appl Physiol 94, 1719-1725, (2003)
- [3] Magyar P., Hutás I., Vastag E. *Pulmonológia* Pp 25-32, Medicina Könyvkiadó Rt., (1998)
- [4] B. Alföldy, B. Giechaskiel, W. Hofmann, Y. Drossinos *Size-distribution dependent lung deposition of diesel exhaust particles*; Journal of Aerosol Science, Vol 40, Issue 8, Pp 652-663, (2009)
- [5] O.G. Raabe, H.C. Yeh, G.M. Schum et al, *Lovelace Foundation Report*, LF-53, (1980)
- [6] Lucas AM, Douglas LC. *Principles underlying ciliary activity in the respiratory tract. II. A comparison of nasal clearance in man, monkey and other animals*. Arch Otolaryngol, 20: 518–541, (1934)
- [7] Global surveillance, prevention and control of chronic respiratory diseases: a comprehensive approach; WHO, (2007)
- [8] Herke P, Szabó M *Légúti szerepváltások: hangsúly-eltolódás vagy elvi jelentőség?* Medicina Thoracalis, Magyar Tüdőgyógyász Társaság, (2012)
- [9] Snell N.J.C., Ganderton D. *Assessing lung deposition of inhaled medications*. Resp. Med. 93, 123-133, (1999)
- [10] Newman S. P. *Scintigraphic assessment of therapeutic aerosols*. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst. 10, 65-109, (1993)

- [11] S. Newmana, A. Salmona, R. Naveb, A. Drollmannb
High lung deposition of ^{99m}Tc-labeled ciclesonide administered via HFA-MDI to patients with asthma. Respiratory Medicine Volume 100, Issue 3, Pages 375–384, (2006)
- [12] S. A. Shah, C. George, R. Berger, P. Gupta, J. Wan, D. Monteith, A. Connor, J. McDermott, W. Lin *In vivo Nasal Deposition from Different Delivery Devices and Formulations* IPAC-RS, (2011)
- [13] Gardner S.F., Green J.A., Bednarczyk E.M., Farnett L., Miraldi F. *Principles and clinical applications of positron emission tomography.* Am. J. Hosp. Pharm. 49, 1499-1506, (1992)
- [14] Yi D., Wiedmann T.S., Naqwi A., Price A.P., Panoskaltis-Mortari A. *Distribution of aerosols in lungs of mice with obliterative bronchiolitis by fluorescent imaging.* Exp. Lung Res. 38, 325-332, (2012)
- [15] I. Balásházy, B. Alföldy, A. J. Molnár, W. Hofmann, I. Szőke, E. Kis *Aerosol drug delivery optimization by computational methods for the characterization of total and regional deposition of therapeutic aerosols in the respiratory system.* Current Computer-Aided Drug Design 3, 1, 13-32, (2007)
- [16] E. R. Weibel *Morphometry of the Human Lung* Springer Verlag, Berlin, (1963)
- [17] W. Hofmann, L. Koblinger, Journal of Aerosol Science 21, No. 5, 675- 688, (1990)
- [18] L. Koblinger, W. Hofmann, Journal of Aerosol Science 21, No. 5, 661- 674, (1990)
- [19] W. Hofmann, L. Koblinger, Journal of Aerosol Science 23, No. 1, 51- 63, (1991)
- [20] O. G. Raabe, H. C. Yeh, G. M. Schum, R. F. Phalen *Tracheobronchial Geometry: Human, Dog, Rat, Hamster, LF-53.* Lovelace Foundation Report, Albuquerque, New Mexico, USA, (2004)
- [21] B. Haefeli-Bleuer, E. R. Weibel, Anat. Rec. 220, 401-414, (1988)

- [22] Kim C. S. and Iglesias A. J. *Deposition of inhaled particles in bifurcating airway models*. J. Aerosol Med. 2 1-14, (1989)
- [23] Balásházy I, Hofmann W, Martonen T B *Inspiratory particle deposition in airway bifurcation models*. J Aerosol Sci 22: (1) 15-30, (1991)
- [24] Hofmann W, Balásházy I *Particle deposition patterns within airway bifurcations - solution of the 3D Navier-Stokes equation*. Radiat Prot Dosim 38: 57-63, (1991)
- [25] I. Balásházy, T. Heistracher and W. Hofmann *Air Flow and Particle Deposition Patterns in Bronchial Airway Bifurcations: The Effect of Different CFD Models and Bifurcation Geometries* Journal of Aerosol Medicine Volume 9, Number 3, (1996)
- [26] Hegedűs Cs, Balásházy I, Farkas Á *Detailed mathematical description of the geometry of airway bifurcations* Respir Physiol Neurobiol, 141, 99-114, (2004)
- [27] J.K. Comer, C. Kleinstreuer and Z. Zhang *Flow Structures and Particle Deposition Patterns in Double-Bifurcation Airway Models*. J. Fluid Mech., Vol. 435, pp 25-54, (2001)
- [28] Z. Zhang and C. Kleinstreuer *Effect of Particle Inlet Distributions on Deposition in a Triple Bifurcation Lung Airway Model*. Journal of Aerosol Medicine, Volume 14, Number 1 pp. 13-29, (2001)
- [29] Balásházy I, Hofmann W and Martonen T B *Inertial impaction and gravitational deposition of aerosols in curved tubes and airway bifurcations*. Aerosol Sci. Technol. 13 308-21, (1990)
- [30] Z. Zhang, C. Kleinstreuer, C.S. Kim *Micro-Particle Transport and Deposition in a Human Oral Airway Model*. Aerosol Science, 33, 1635-1652, (2001)
- [31] C. Kleinstreuer, Z. Zhang *Laminar-to-Turbulent Fluid-Particle Flows in Human Airway Model*. International Journal of Multiphasae Flow 29, 271-289, (2003)

- [32] N. Nowak, Prashant P. Kakade, and A. V. Annapragada *Computational Fluid Dynamics Simulations of Airflow and Aerosol Deposition in Human Lungs*. Annals of Biomedical Engineering, Vol 31, pp. 374-390, (2003)
- [33] Chong S. Kim and A. J. Iglesias *Deposition of Inhaled Particles in Bifurcating Airway Models: I. Inspiratory Deposition*. Journal of Aerosol Medicine, Volume 2, Number 1, (1989)
- [34] Y. Zhao, J.H. Citriniti, B.B. Leiber *Flow Characteristics a Symmetric Bifurcation*. Advances in Bioengineering, Vol 22, 489-492, (1992)
- [35] A. Tippe, M. Perzl, W. Li, H. Schulz *Experimental Analysis of Flow Calculations Based on HRCT Imaging of Individual Bifurcations*. Respiration Physiology, 117, 181-191, (1999)
- [36] Y. Zhang and W.H. Finlay *Experimental Measurements of Particle Deposition in Three Proximal Lung Bifurcation Models with an Idealized Mouth-Throat*. Journal of Aerosol Medicine, Volume 18, Number 4, Pp. 460-473, (2005)
- [37] Y-S. Cheng, Y. Zhou and B. T. Chen *Particle Deposition in a Cast of Human Oral Airways*. Aerosol Science and Technology, 31:286-300, (1999)
- [38] W.H. DeHaan, W.H. Finlay *Predicting Extrathoracic Deposition from Dry Powder Inhalers*. Journal of Aerosol Science, 35, 309-331, (2004)
- [39] C. S. Kim, D. M. Fisher, D. J. Lutz and T. R. Gerrity *Particle Deposition in Bifurcating Airway Models with Varying Airway Geometry*. Journal of Aerosol Science, Vol 25 No 3, Pp. 567-581, (1994)
- [40] C. S. Kim and Donald M. Fisher *Deposition Characteristics of Aerosol Particles in Sequentially Bifurcating Airway Models*. Aerosol Science and Technology, 31: 198-220, (1999)

- [41] A. Johnstone, M. Uddin, A. Pollard, A. Heenan, W.H. Finlay *The Flow Inside an Idealised Form of the Human Extra-Thoracic Airway*. *Experiments in Fluids*, 37, 673-689, (2004)
- [42] B. Grgic, W.H.Finlay, A.F. Heenan *Regional Aerosol Deposition and Flow Measurements in an Idealized Mouth and Throat*. *Journal of Aerosol Science*, 35, 21-32, (2004)
- [43] B. Grgic, W.H.Finlay, P.K.P. Burnell, A.F. Heenan *In vitro Intersubject Deposition Measurements in Realistic Mouth-Throat Geometries*. *Journal of Aerosol Science*, 35, 1025-1040, (2004)
- [44] M. J. Oldham, R. F. Phalen and T. Heistracher *Computational Fluid Dynamic Predictions and Experimental Results for Particle Deposition in an Airway Model*. *Aerosol Science and Technology*, 32: 61-71, (2000)
- [45] B. S. Cohen *Particle Deposition in Human and Canine Tracheobronchial Casts: A Determinant of Radon Dose to the Critical Cells of the Respiratory Tract*. *Health Phys*, 695-705, (1996)
- [46] C.G. Caro, R.C. Schroter, N. Watkins, S.J. Sherwin and V. Sauret *Steady Inspiratory Flow in Planar and Non-Planar models of Human Bronchial Airways*. *The Royal Society*, 458, 791-809, (2002)
- [47] Y. Zhang, W.H. Finlay, E.A. Matida *Particle Deposition Measurements and Numerical Simulation in a Highly Idealized Mouth-Throat*. *Journal of Aerosol Science*, 35, 789-803, (2004)
- [48] Y. Liu, E. A. Matida, M. R. Johnson *Experimental Measurements and Computational Modeling of Aerosol Deposition in the Carleton-Civic Standardized Human Nasal Cavity*. *Journal of Aerosol Science*, 41, 569-586, (2010)

- [49] A.F. Heenan, W.H. Finlay, B. Grgic, A. Pollard, P.K.P. Burnell *An Investigation of the Relationship Between the Flow Field and Regional Deposition in Realistic Extra-Thoracic Airways*. Journal of Aerosol Science, 35, 1013-1023, (2004)
- [50] L. de Rochefort, L. Vial, R. Fodil, X. Maitre, B. Louis, D. Isabey, G. Caillibotte, M. Thiriet, J. Bittoun, E. Durand and G. Sbirlea-Apiou *In vitro Validation of Computational Fluid Dynamic Simulation in Human Proximal Airways with Hyperpolarized ³He Magnetic Resonance Phase-Contrast Velocimetry*. J Appl Physiol, 102: 2012-2023, (2007)
- [51] A.P. Roth, C.F. Lange and W.H. Finlay *The Effect of Breathing Pattern on Nebulizer Drug Delivery*. Journal of Aerosol Medicine, Volume 16, Number 3, Pp. 325-329, (2003)
- [52] J. Jedelsky, F. Lizal, M. Jicha *Characteristics of turbulent particle transport in human airways under steady and cyclic flows*. International Journal of Heat and Fluid Flow, Volume 35, Pages 84–92, (2012)
- [53] M. Takia, C. Marriotta, X-M. Zengb, G. P. Martina *Aerodynamic deposition of combination dry powder inhaler formulations in vitro: A comparison of three impactors*. International Journal of Pharmaceutics, 388 40–51, (2010)
- [54] Mitchell JP, Nagel MW *Cascade impactors for the size characterization of aerosols from medical inhalers. Their uses and limitations*. J Aerosol Med, 16(4):341-77, (2003)
- [55] M. N. Sahib, Y. Darwis, P. K. Khiang and Y. Tze F. Tan *Aerodynamic characterization of marketed inhaler dosage forms: High performance liquid chromatography assay method for the determination of budesonide*. African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol. 4(12), pp. 878-884, (2010)
- [56] M. J. LeBelle, S. J. Graham, E. D. Ormsby, R. M. Duhaime, R. C. Lawrence, R. K.

Pike *Metered-dose inhalers. II. Particle size measurement variation*. International Journal of Pharmaceutics, Vol 151, Issue 2, p 209–221, (1997)

[57] J. Mitchell, R. Bauer, S. Lyapustina, T. Tougas and V. Glaab *Non-impactor-Based Methods for Sizing of Aerosols Emitted from Orally Inhaled and Nasal Drug Products (OINDPs)*. AAPS PharmSciTech. ; 12(3): 965–988, (2011)

[58] Tsi-Zong Tzou *Aerodynamic particle size of metered-dose inhalers determined by the quartz crystal microbalance and the Andersen cascade impactor*. International Journal of Pharmaceutics, Vol 186, Issue 1, p 71–79, (1999)

[59] Gulliver T, Morton R, Eid N. *Inhaled Corticosteroids in Children with Asthma Pharmacologic Determinants of Safety and Efficacy and Other Clinical Considerations*. Pediatr Drugs, 9: 185-194, (2007)

[60] De Backer W, Devolder A, Poli G, Acerbi D, Monno R, Herpich C, Sommerer K, Meyer T et al. *Lung Deposition of BDP/Formoterol HFA pMDI in Healthy Volunteers, Asthmatic, and COPD Patients*. J Aerosol Med Pulm Drug Deliv 23: 1-12, (2012)

[61] Carlos F. Lange and Warren H. Finlay *Overcoming the Adverse Effect of Humidity in Aerosol Delivery via Pressurized Metered-Dose Inhalers during Mechanical Ventilation*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, Vol. 161, No. 5 pp. 1614-1618, (2000)

[62] Sven Stolte *Aerodynamische und physiko-chemische Eigenschaften der Aerosolpartikel aus lösungsbasierten Dosieraerosolen*. Dissertation zur erlangung des doktorgrades der Mthematisch-Nturwissenschaftlichen fakultat der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, (2012)

[63] R. Delvadia, M. Hindle, P. W. Longest, P. R. Byron *In vitro Tests for Aerosol Deposition II: IVIVCs for Different Dry Powder Inhalers in Normal Adults*. Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery, Vol. 26, No. 3: 138-144, (2013)

- [64] Fluent Users Guide, Fluent Inc., Lebanon, (2001)
- [65] Farkas Á, Balásházy I. *Quantification of particle deposition in asymmetrical tracheobronchial model geometry*. Computers in Biology and Medicine 38: 508-518, (2008)
- [66] Zhang Z, Kleinstreuer C. *Low Reynolds Number turbulent flows in locally constricted conduits: A comparison study*. AIAA Journal 41: 831-840, (2003)
- [67] Nagels MA, Cater JE. *Large eddy simulation of high frequency oscillating flow in asymmetric branching airway model*. Mechanical Engineering & Physics 31: 1148-1153, (2009)
- [68] Balásházy I, Farkas Á., Hofmann W., Kurunczi S. *Local deposition distributions of inhaled radionuclides in the human tracheobronchial tree*. Radiat Prot Dosim 99, 469-470 (2002)
- [69] Thompson R.B. and Finlay W.H. *Using MRI to measure aerosol deposition*. J Aerosol Med. Pulm. D. 25, 55-62, (2012)
- [70] D. F. Steele, P. M. Young, R. Price, T. Smith, S. Edge and D. Lewis *The Potential Use of Raman Mapping To Investigate In vitro Deposition of Combination Pressurized Metered-Dose Inhalers*. AAPS Journal; 6 (4) Article 32, (2004)
- [71] S. Haubermann, A.G. Bailey, and C. Maul *A System to Reproduce Human Breathing Patterns: Its Development and Validation*. Journal of Aerosol Medicine, Volume 13, Number 3, Pp. 199-204, (2000)
- [72] K. Nikander, J. Denyer, M. Everard, G. C. Smaldone *Validation of a New Breathing Simulator Generating and Measuring Inhaled Aerosol with Adult Breathing Patterns*. Journal of Aerosol Medicine, Volume: 13 Issue 2 139-146, (2004)

- [73] A. Theophilus, A. Moore, D. Prime, S. Rossomanno, B. Witcher, H. Chrystyn *Co-deposition of salmeterol and fluticasone propionate by a combination inhaler*. International Journal of Pharmaceutics 313; 14–22, (2006)
- [74] Marple VA, Roberts DL, Romay FJ, Miller NC, Truman KG, Van Oort M, et al. *Next generation pharmaceutical impactor (a new impactor for pharmaceutical inhaler testing) part I: design*. Journal of Aerosol Medicine, volume 16, number 3, pp283-299, (2003)
- [75] Marple VA, Roberts DL, Romay FJ, Miller NC, Truman KG, Van Oort M, et al. *Next generation pharmaceutical impactor (a new impactor for pharmaceutical inhaler testing) part II: archival calibration*. Journal of Aerosol Medicine, volume 16, number 3, pp301-324, (2003)
- [76] Marple VA, Roberts DL, Romay FJ, Miller NC, Truman KG, Van Oort M, et al. *Next generation pharmaceutical impactor (a new impactor for pharmaceutical inhaler testing) part III: extension of archival calibration to 15L/min*. Journal of Aerosol Medicine, volume 17, number 4, pp335-343, (2004)
- [77] Rader, D. J., L.A. Moody, J. E. Brockmann, D. A Lucero *Stage response Calibration of the Mark III and the Marple Personal Cascade Impactors*. Aerosol Sci. Tech. 14, 365-79, (1991)
- [78] Twomey S. *Comparison of constrained linear inverse and an iterative nonlinear algorithm applied to the indirect estimation of particle size distributions*. J. Comp. Phys., 18, 188-200, (1975)
- [79] Crump, J. G. and Seinfeld J. H. *A New Algorithm for Inversion of Aerosol Size Distribution Data*. Aerosol Sci. Tech., 1(1), 15–34, (1982)
- [80] Markowski, G. R. *Improving Twomey algorithm for inversion of aerosol measurement data*. Aerosol Sci. Tech., 7, 127–141, (1987)

A disszertáció témájához kapcsolódó publikációim

[S1] Jani P., Vámos L., Nagy A., Kerekes A. *Nanoparticle measurements with photon correlation LDA*. In: Ian Ford, Hugh Coe European Aerosol Conference, The Aerosol Society, Manchester: p. 856. (2011)

[S2] Oszetzky D, Kerekes A, Nagy A, Czitrovsky A *Measurement of MMAD Change of Inhaled Drugs in Humidified Air by Next Generation Impactor*. In: International Aerosol Conference, Paper PP18-014. 1 p. (2014)

[S3] Veres M., Rigó I., Himics L., Verebélyi T., Tóth S., Koós M., Nagy A., Kerekes A., Oszetzky D., Kugler Sz., Czitrovsky A. *Measurements of aerosol drug deposition using optical methods*. In: The 23th International Conference on Advanced Laser Technologies, ALT'15: Book of Abstracts, Konferencia Paper D-I-8. (2015)

[S4] Rigó I., Czitrovsky A., Himics L., Kerekes A., Kugler Sz., Koós M., Nagy A., Oszetzky D., Tóth S., Verebélyi T., Veres M. *Impaktorban kiülepedett gyógyszer mennyiségek meghatározása optikai mikroszkópiás módszerekkel*. In: Filep Ágnes, Mucsiné Égerházi Lilla (szerk.) A XII. Magyar Aeroszol Konferencia előadás-kivonatai. 96 p. Magyar Aeroszol Társaság, p. 3839. (2015)

[S5] Rigo I., Czitrovsky A., Himics L., Kerekes A., Kugler Sz., Koós M., Nagy A., Oszetzky D., Tóth S., Verebélyi T., Veres M. *Determination amount of impactor settled pharmacies with optical microscope methods*. In: European Aerosol Conference, Milánó, Paper 1IEH_P005. (2015)

[S6] Kugler S., Kerekes A., Nagy A., Rigó I., Veres M., Czitrovsky A. *Kimért dózisú inhalátorok méreteloszlásának meghatározása az új generációs kaszkád impaktoral*. In: Filep Ágnes, Mucsiné Égerházi Lilla (szerk.) A XII. Magyar Aeroszol Konferencia előadás-kivonatai. 96 p. Szeged, Magyar Aeroszol Társaság, pp. 82-83. (2015)

- [S7] Kugler S., Kerekes A., Nagy A., Rigó I., Veres M., Czitrovsky A. *New optical method for MMAD determination of the metered dose inhalators*. In: European Aerosol Conference, Milánó, Paper 1IEH_P004. (2015)
- [S8] Kerekes A., Nagy A., Veres M., Kugler Sz., Czitrovsky A. *The change of the MMAD of inhaled drugs in humidified air measured by next generation impactor and optical analysis*. In: European Aerosol Conference, Milanó , Paper 2IEH_P030. (2015)
- [S9] Kerekes A., Kugler Sz., Nagy A., Oszetzky D., Veres M., Rigó I., Czitrovsky A. *Az APSD változásának mérése inhalációs készítmények esetében magas páratartalmú környezetben különböző tartózkodási időtartamok mellett*. In: Filep Ágnes, Mucsiné Égerházi Lilla (szerk.) A XII. Magyar Aeroszol Konferencia előadás-kivonatai. 96 p. Szeged, Magyar Aeroszol Társaság, 2015. pp. 34-35. (2015)
- [S10] Kerekes A., Nagy A., Czitrovsky A. *Experimental flow and deposition studies with hollow bronchial airway models*. In: 17th ISAM Congress, Monterey, pp. 175-176. (2009)
- [S11] Kerekes A., Nagy A., Czitrovsky A. *Levegő áramlási és részecske ülepedési kísérletek egy felső-légúti üvegtüdő modellel*. In: Gelencsér A. (szerk.) IX. Magyar Aeroszol Konferencia, Balatonfüred, Magyar Aeroszol Társaság, pp. 60-61. (2011)
- [S12] Czitrovsky A., Nagy A., Kerekes A. *Air flow and particle deposition experiments with hollow bronchial airway models*. In: European Aerosol Conference. Karlsruhe, p. T101A11. (2009)
- [S13] Kerekes A., Nagy A., Czitrovsky A., Oszetzky D. *Airflow experiments with hollow bronchial airway model*. In: International Aerosol Conference, Helsinki, Paper P1F4. (2010)

- [S14] Kerekes A., Nagy A., Czitrovsky A., Oszetzky D. *Air flow measurements with a realistic transparent hollow airway model*. In: International Conference on Advanced Laser Technologies, Egmond aan Zee, pp. 134-135. (2010)
- [S15] Vamos L., Jani P., Nagy A., Kerekes A. *Nanoparticle characterization with photon correlation LDA*. In: 11th IEEE Conference on Nanotechnology (IEEE-NANO), Portland, pp. 526-530. (2011)
- [S16] Vámos L., Jani P., Nagy A., Kerekes A. *Accuracy limits of nanoparticle characterization with photon correlation LDA*. In: 11th IEEE Conference on Nanotechnology (IEEE-NANO), Portland, pp. 526-530. (2011)
- [S17] Kerekes A., Farkas Á., Balásházy I., Horváth A. *Aeroszol gyógyszerek légzőrendszeri depozícióeloszlásának mérése és numerikus modellezése*. *Medicina Thoracalis* LXVI:(1) pp. 11-20. (2013)
- [S18] Czitrovsky A., Nagy A., Kerekes A., Kugler Sz. *Application of non-contact optical methods for study of aerosol deposition in human lungs*. In: Advanced Laser Technologies, Cassis, Paper S1-P23. 1 p. (2014)
- [S19] Czitrovsky A., Nagy A., Kerekes A., Oszetzky D. *Study of drug delivery and deposition in the realistic hollow human airways using optical methods*. In: Conference on Aerosol Technology, Karlsruhe, KIT Scientific Publishing, Paper T250A05. 1 p. (2014)
- [S20] Balásházy I., Farkas Á., Furi P., Jókay Á., Kerekes A., Nagy A., Czitrovsky A. *Measurement and numerical modelling of deposition distribution of pharmaceutical aerosols in the human respiratory system*. In: Conference on Aerosol Technology, Karlsruhe, KIT Scientific, (2014)
- [S21] A. Kerekes, A. Nagy, M. Veres, I. Rigó, Á. Farkas, A. Czitrovsky *In Vitro and In Silico (IVIS) flow characterization in an idealized human airway geometry using*

Laser Doppler Anemometry and computational fluid dynamics techniques. bírálat alatt a Measurement folyóiratnál

[S22] Kerekes A., Nagy A., Oszetzky D., Czitrovsky A. *Development of a pulmonary waveform generator for study the aerosol propagation and deposition in transparent hollow airway models*. In: Ian Ford, Hugh Coe, European Aerosol Conference, Manchester, The Aerosol Society, p. 1115. (2011)

[S23] Kerekes A., Veres M., Nagy A., Himics L., Oszetzky D., Kugler Sz., Czitrovsky A. *Inhalációs készítmények légúti depozíciójának lokális meghatározása in vitro módszerrel*. In: Kertész Zs, Szikszai Z, Angyal A, Furu E, Szoboszlai Z, Török Zs (szerk.) XI. Magyar Aeroszol Konferencia, Debrecen, pp. 40-41. (2013)

[S24] Veres M., Himics L., Tóth S., Kóos M., Nagy A., Oszetzky D., Kerekes A., Kugler Sz., Czitrovsky A. *Surface-enhanced Raman spectroscopy of carbon-based nanomaterials*. In: Advanced Laser Technologies, Cassis, Paper S1-P4. 1 p. (2014)

[S25] Veres M., Tóth S., Himics L., Kóos M., Nagy A., Kerekes A., Oszetzky D., Kugler Sz., Czitrovsky A. *Multi-wavelength Raman spectroscopy of inhaled drugs*. In: Conference on Aerosol Technology, Karlsruhe, KIT Scientific Publishing, Paper T250A08. 1 p. (2014)

[S26] Nagy A., Kerekes A., Veres M., Oszetzky D., Czitrovsky A., Kugler Sz., Tóth S., Himics L. *Spectroscopic methods for studying aerosol drug deposition in human airways*. In: International Aerosol Conference, Busan, Paper PP18-018. 1 p. (2014)

[S27] Nagy A., Kerekes A., Veres M., Oszetzky D., Czitrovsky A., Kugler Sz., Tóth S., Himics L. *Determination of aerosol drug deposition by Raman spectroscopy*. In: Conference on Aerosol Technology, Karlsruhe, KIT Scientific Publishing, Paper T320A22. 1 p. (2014)

[S28] Toth S., Himics L., Koós M., Schlosser P., Verebélyi T., Rigó I., Veres M., Kerekes A., Nagy A., Oszetzky D., Kugler Sz., Czitrovsky A. *Különböző aeroszol gyógyszerek fotolumineszcencia módszerrel történő vizsgálata*. In: Filep Ágnes, Mucsiné Égerházi Lilla (szerk.) A XII. Magyar Aeroszol Konferencia előadás-kivonatai, Szeged, Magyar Aeroszol Társaság pp. 93-94. (2015)

[S29] Kerekes A., Veres M., Himics L., Tóth S., Czitrovsky A., Nagy A., Oszetzky D., Kugler S., Koós M. *Determination of the distribution of inhaled drugs in human airways by Raman spectroscopy*. Nato Science For Peace and Security Series A: Chemistry and Biology 39: pp. 437-442. (2015)

[S30] Kerekes A., Veres M., Himics L., Tóth S., Czitrovsky A., Oszetzky D., Kugler Sz., Horváth A., Kooós M., Nagy A., *Determination of the deposited amount of inhalation drugs in realistic human airways by Raman spectroscopy*. bírálat alatt a Measurement folyóiratnál.

Egyéb publikációim

[S31] Oszetzky D., Nagy A., Kerekes A., Czitrovsky A. *Vertical concentration distribution measurement of atmospheric aerosols by laser light scattering*. In: Advanced Laser Technologies. 17th International Conference, Antalya, p. 129. (2009)

[S32] Nagy A., Czitrovsky A., Kerekes A. *Optikai mérési módszer a légkör szennyezettségének mérésére*. In: Gelencsér A (szerk.) IX. Magyar Aeroszol Konferencia, Balatonfüred, Magyar Aeroszol Társaság, pp. 40-41. (2009)

[S33] Czitrovsky A., Nagy A., Kerekes A. *Measurement of the wavelength dependence of the extinction coefficient for studying the aerosol contamination of the atmosphere*. In: European Aerosol Conference, Karlsruhe, p. T092A11. (2009)

- [S34] Czitrovsky A., Nagy A., Kerekes A. *Development calibration and application of the portable dual wavelength 4-channel aerosol analyser*. In: Gelencsér A (szerk.) IX. Magyar Aeroszol Konferencia, Balatonfüred, Magyar Aeroszol Társaság, pp. 42-43. (2009)
- [S35] Oszetzky D., Nagy A., Kerekes A., Czitrovsky A. *Aerosol concentration measurement by laser light scattering*. In: International Conference on Advanced Laser Technologies, Egmond aan Zee, pp. 180-181. (2010)
- [S36] Czitrovsky A., Kiss A., Nagy A., Kerekes A., Oszetzky D. *Development of a High Resolution Interferometric System for Testing the Optical Elements in ELI*. AIP Conference Proceedings 1228: pp. 144-149. (2010)
- [S37] Oszetzky D., Nagy A., Kerekes A., Czitrovsky A. *Photon statistics measurements of surface plasmon excitation*. In: Advanced Laser Technologies, Golden Sands. p. 125. (2011)
- [S38] Nagy A., Czitrovsky A., Kerekes A., Szymanski WW. *Terepi optikai mérések aeroszokok mforrásazonosításának céljából*. In: Kertész Zs, Szikszai Z, Angyal A, Furu E, Szoboszlai Z, Török Zs (szerk.) XI. Magyar Aeroszol Konferencia, Debrecen, pp. 86-87. (2013)
- [S39] Czitrovsky A., Nagy A., Kerekes A., Oszetzky D., Veres M., Kugler Sz. *A bioaeroszokok optikai mérés technikája*. In: Kertész Zs, Szikszai Z, Angyal A, Furu E, Szoboszlai Z, Török Zs (szerk.) XI. Magyar Aeroszol Konferencia, Debrecen, pp. 20-21. (2013)
- [S40] Oszetzky D., Kerekes A. *Interferometrikus felületvizsgálat optikai elemek minősítése*. In: Nagyné Szokol Á, Borossáné Tóth S, Veres M (szerk.) Optikai Mérés technikai módszerek az optikai alkatrészek és felületek minősítésére, Budapest, pp. 23-40. (2014)

- [S41] Aladi M., Bakos JS., Barna IF., Czitrovsky A., Djotyán GP., Dombi P., Dzsotján D., Földes IB., Hamar G., Ignác PN., Kedves MÁ., Kerekes A., Lévai P., Márton I., Nagy A., Oszetzky D., Pocsai MA., Rác P., Ráczevi B., Szigeti J., Sörlei Zs., Szipöcs R., Varga D., Varga-Umbrich K., Varró S., Vámos L., Vesztergombi Gy. *Pre-excitation studies for rubidium-plasma generation*. Nuclear Instruments & Methods in Physics Research Section A-Accelerators Spectrometers Detectors and Associated Equipment 740:(11) pp. 203-207. (2014)
- [S42] Oszetzky D., Nagy A., Kerekes A., Czitrovsky A. *Photon Statistic Measurements of Surface Plasmon Excitation*. In: Nonlinear Optics, Washington, Optical Society of America, Paper NW4A.28. (2015)
- [S43] Nagy A., Czitrovsky A., Kerekes A., Szymanski WW. *Városi Aeroszlok Abszorpciómérésének Tapasztalatai [Urban aerosol absorption measurements]* In: Filep Ágnes, Mucsiné Égerházi Lilla (szerk.) A XII. Magyar Aeroszol Konferencia előadás-kivonatai, Szeged, Magyar Aeroszol Társaság, pp. 57-58. (2015)
- [S44] Nagy A., Czitrovsky A., Kerekes A., Szymanski WW. *Optical absorption measurement experiences in urban environment*. In: European Aerosol Conference, Milan, Paper 2AAP_P078. (2015)
- [S45] Himics L., Tóth S., Veres M., Czitrovsky A., Nagy A., Oszetzky D., Kerekes A., Kugler S., Rigó I., Tóth A., Koós M. *Creation of blue light emitting color centers in nanosized diamond for different applications*. Nato Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology 39: pp. 93-101. (2015)
- [S46] Czitrovsky A., Nagy A., Veres M., Kerekes A., Oszetzky D., Czitrovsky B., Kugler Sz. *Optikai módszerek alkalmazása az aeroszlok vizsgálatában*. In: Filep Ágnes, Mucsiné Égerházi Lilla (szerk.) A XII. Magyar Aeroszol Konferencia előadás-kivonatai, Szeged, Magyar Aeroszol Társaság, pp. 28-29. (2015)

[S47] Nagy A., Czitrovsky A., Kerekes A., Veres M., Szymanski WW. *Real-time determination of absorptivity of ambient particles in urban aerosol in Budapest, Hungary*. Aerosol and Air Quality Research 16:(1) pp. 1-10. (2016)

Szabadalom

[48] Veres M., Nagy A., Czitrovsky A., Oszetzky D., Rigó I., Kerekes A., Himics L., Borossáné Tóth S., *"Kiülepedett szemcsés anyagok vagy cseppek méreteloszlásának és tömegének meghatározása fehérfényű interferometriás módszerrel"*, benyújtva a Wigner FK Szellemi Tulajdonkezelési Bizottságához

Mellékletek

1. Aerodinamikai méreteloszlás meghatározása kaszkád impaktorral

Az impaktorok az egyes fokozatokon egy adott mérettartományba tartozó részecskéket gyűjtik egy gyűjtési hatásfok görbe szerint. Az NGI tervezése során a gyártó arra törekedett, hogy az egyes tálcákban kiüledett részecskék mérettartományai a lehető legkisebb mértékben fedjék át egymást. A tálcák gyűjtési hatásfokát CFD modellezéssel, valamint kísérleti úton határozták meg [73,74, 75]. Rader és munkatársai kimutatták [76], hogy egy tangens hiperbolikus függvénnyel nagyon jól lehet közelíteni a valós impaktoron mért értékeket. A Rader módszert [77] alkalmazva meghatározhatók az A_i és B_i együtthatók értékei különböző áramlási sebességek mellett, melyek kielégítik a következő egyenletet:

$$E_i(d_{pc}) = \tanh\left[\left(\frac{d_{pc}}{A_i}\right)^{B_i}\right]$$

Ahol d_{pc} az úgynevezett slip-corrected átmérő, mely az általunk vizsgált mérettartományban az aerodinamikai átmérővel egyezik meg:

$$d_{pc} = d_{pa} \sqrt{C(d_{pa})}$$

$$C(d_{pa}) \approx 1$$

Az impaktor egyes mintagyűjtő tálcáin mért anyagmennyiséget a Fredholm-egyenlet adja meg:

$$m_i = \sum_{j=1}^{j=M} E_i(x_j) f(x_j) \Delta x_j + \mathcal{E}_i$$

Az $f(x_j)$ adja meg a részecskeméret eloszlást az i -edik mintagyűjtő tálcán. Ahhoz, hogy meghatározzuk az impaktorba beszívott részecskesokaság aerodinamikai méreteloszlását a fenti egyenletet kell megoldani a Twomey által kidolgozott [78], és Crump és Seinfeld [79] és Markowski [80] által továbbfejlesztett adatkiértékelő módszerrel.

2. MMAD meghatározása az aerodinamikai méreteloszlásból

Számítási eredmények

