

# Kuru Toz İnhalerler: Formülasyonlar ve Aerodinamik Davranışlar

## Dry Powder Inhalers: Formulations and Aerodynamic Behaviours

Yağmur AKDAĞ ÇAYLI  
Selma ŞAHİN  
Levent ÖNER\*

Hacettepe University, Faculty of Pharmacy,  
Department of Pharmaceutical Technology

### \*Corresponding Author

Levent ÖNER,  
Hacettepe University, Faculty of Pharmacy,  
Department of Pharmaceutical Technology,  
06100, Ankara, Turkey  
E-mail: loner@hacettepe.edu.tr  
Tel: +90 312 310 15 24  
Fax: +90 312 311 47 77

Received date: 07.08.2017  
Accepted date: 19.10.2017

### ÖZET

İnhalerler genel olarak; nebulizer, ölçülü doz inhaler ve kuru toz inhaler (KTİ) başlıkları altında incelenebilir. KTİ'ler, hem lokal hem de sistemik etki elde etmek amacıyla kullanılabilen inhaler formülasyonlarıdır. İnhalerlerin etki mekanizmalarının değerlendirilmesi aşamasında, solunum sisteminin anatomi ve fizyolojisinin anlaşılması önemli bir husustur. KTİ'lerde ilaç etkinliğini etkileyen en önemli unsur partiküllerin aerodinamik davranışlarıdır. Aerodinamik davranışları değerlendirmek için; Cam İkili Ayırıştırıcı, *Marple Miller* Kademeli Ayırıştırıcı, Andersen Kademeli Ayırıştırıcı, Çok Aşamalı Sıvı Ayırıştırıcı, Yeni Nesil Ayırıştırıcı gibi Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri Farmakopeleri'nde kayıtlı cihazlar kullanılmaktadır. KTİ formülasyonlarında etkin maddenin akciğerlerde dağılmasını sağlayabilmek için, partiküllerin 5 µm'den küçük olması istenir. Bu nedenle partikül büyüklüğü dağılımı, formülasyondaki en önemli yanıt değişkenlerden birisidir. Püskürterek kurutma yöntemi hem endüstriye uygulanabilirlik yönünden, hem de 5 µm'nin altında partikül üretimi için uygun yöntemlerden biridir. Üretim parametreleri değiştirilerek; partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı, dansite, şekil, yük, salım hızı gibi ölçütler optimize edilebilmektedir. Sonuç olarak, KTİ'ler, birçok üstünlüğü bulunan ve sıklıkla tercih edilen bir sistemdir.

**Anahtar Kelimeler:** Kuru toz inhaler, aerodinamik özellikler, inhalasyon sistemleri, formülasyon geliştirme

### ABSTRACT

Inhalers can generally be examined under the titles: nebulizer, metered dose inhaler and dry powder inhaler (DPI). DPIs are inhaler formulations that can be used to achieve both local and systemic effects. During the assessment of the mechanisms of action of inhalers, understanding of the anatomy and physiology of the respiratory system is an important issue. The most important factor affecting drug efficacy in DPIs is the aerodynamic behavior of the particles. To evaluate aerodynamic behaviors; *Glass Twin Impinger*, *Marple Miller Cascade Impactor*, *Andersen Cascade Impactor*, *Multi Stage Liquid Impinger*, *Next Generation Impactor*, which are registered in European and United States Pharmacopoeia, are used. In DPI formulations, it is desirable that the particles be less than 5 µm in order to be able to distribute the active substance in the lungs. For this reason, particle size distribution is one of the most important response variables in the formulation. Spray drying is one of the suitable methods for particle production below 5 µm and for applicability to the industry. By changing production parameters; particle size, particle size distribution, density, shape, charge, release rate can be optimized. As a result, DPIs are a system of many advantages and often preferred.

**Key Words:** Dry powder inhaler, aerodynamic characteristics, inhalation systems, formulation development

## 1. Giriş

Solunum sistemi aracılığıyla ilaç uygulaması, geçmişten bugüne çokça tercih edilen ve önemli mesafe kat edilmekle birlikte hala gelişmeye ihtiyaç duyan bir yaklaşımdır. Solunum sistemi ile uygulanan ilaç çok hızlı etki göstermekle birlikte, bu etkinin öngörülüp standardize edilmesi oldukça zordur [1,2]. Bu aşamada, solunum sisteminin anatomik, fizyolojik ve kimyasal özelliklerinin çok iyi bilinmesi; inhale edilen partiküllerin/damlacıkların tutulması, absorbe olması ve solunum sisteminden uzaklaştırılması mekanizmalarının incelenmesi gerekmektedir [3].

İnhaler sistemleri, akciğerlerin geniş yüzey alanı ve düşük enzimatik aktivitesi gibi özellikleri nedeniyle, akut veya kronik hastalıklarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Akut hastalıklar için inhallerin hızlı etki göstermesi, kronik hastalıklar için inhallerin daha az sistemik yan etkiye neden olması yaygın kullanımlarındaki en önemli özelliklerindedir. İnhaler uygulaması ile ilaç doğrudan etki bölgesine uygulandığı için, tedavi etkinliği artırılırken sistemik yan etkiler de azalmaktadır. Farklı inhaller sistemleri [nebulizer, ölçülü doz inhaller gibi] bulunmakla birlikte, stabilitesi en yüksek ve en yüksek miktarda ilaç uygulamayı sağlayan sistemler kuru toz inhallerlerdir (KTI) [4-6].

KTI formülasyonlarında, tedavi etkinliği üzerinde en önemli etkiye sahip olan parametre partikül büyüklüğüdür. Bilindiği üzere, partiküllerin akciğerlerin derinlerine kadar ilerleyebilmesi için 5 µm'den küçük olması gerekmektedir [7]. Uygun partikül büyüklüğüne sahip tozların üretiminde çeşitli yöntemler kullanılmakla birlikte en çok tercih edilen yöntem püskürterek kurutma yöntemidir. Bu yöntem ile, üretim parametreleri değiştirilerek uygun büyüklük ve morfolojik özelliklerde partikül elde etmek mümkün olmaktadır [8,9]. Partikül büyüklüğü ve diğer aerodinamik özelliklerin değerlendirilebilmesi için farmakopelerde kayıtlı yöntemler kullanılmaktadır. İnhaler uygulaması ile etkin maddenin, solunum sisteminin hangi bölgesinde tutulacağını öngörmeyi sağlayan bu yöntemler, klinik yanıtı standardize etmek için en çok kullanılan sistemlerdir [10,11].

Bu derlemede; solunum sisteminin yapısı ve işleyişini takiben, inhaller sistemlerinden bahsedilmiş, ve KTI formülasyonlarının üretimi ile aerodinamik özelliklerinin ölçümü yöntemleri incelenmiştir.

## 2. Solunum Sistemi

### 2.1. Akciğerlerin Yapısı

Akciğerlere ilaç hedeflendirilmesinde, akciğerlerin anatomik ve fizyolojik özelliklerinin bilinmesi, etkin tedavi için kritik öneme sahiptir.

Solunum sisteminin ana organı olan akciğerler, göğüs boşluğunda kalbin sağ ve solunda yer alan ve piramit şeklinde olan solunum organıdır. Solunan hava, bu havanın

filtrasyonundan, nemlendirilmesinden ve ısıtılmasından sorumlu olan trakeye ulaşır. Trake, bronş olarak adlandırılan iki kola ayrılmakta, bu iki bronş da solda iki ve sağda üç adet olmak üzere bronşiyollerini oluşturmaktadır. Bronş ve bronşiyoller dışta kıkırdak, kas ve zardan; içte ise mukozadan oluşmaktadır. Akciğerlerin toplam hacmi 4,8 L, respiratuar hacmi 3,15 L, özgül ağırlığı 0,5 g/cm<sup>3</sup> ve hava-doku alveoler arayüzey alanı 81 m<sup>2</sup>'dir [12]. Akciğerlere ait belirtilen bu değerler yaşa, kişiye ve cinsiyete göre değişiklik göstermektedir [13, 14].

Solunan hava, bronşiyoller aracılığıyla, lobüllerin içerisinde bulunan ve gaz difüzyonunun gerçekleştiği yapılar olan alveollere gelir. Alveollerin toplam yüzey alanı 48 m<sup>2</sup>, alveollerde gaz alışverişini sağlayan kılcak damarların toplam yüzey alanı ise 150 m<sup>2</sup> kadardır. Yetişkin insan akciğerinde yaklaşık 300 milyon alveol bulunmaktadır. Alveollerin çapı 250-290 µm, hacmi ise 1,05x10<sup>-5</sup> mL'dir. Akciğerlerden gaz difüzyonu gerçekleştikten sonra, karbondioksit yoğunluğu fazla olan hava dışarıya verilir. Söz konusu gaz difüzyonunun gerçekleşmesinde, alveoller de dahil olmak üzere bütün akciğer yüzeyinin nemli bir yapıya sahip olması önemli bir rol oynamaktadır. Bu nemli yapı sayesinde gazların sıvı içerisinde çözünmesi sağlanmakta ve difüzyon işlemi gerçekleşmektedir [15,16].

### 2.2. Respiratuar Bölgede Partiküllerin Tutulmasına Etki Eden Faktörler

İnhalasyon yolu ile ilaç uygulanmasında, inhale edilen aerosol partiküllerinin etkili ve tekrarlanabilir akciğer tutulumu çok önemlidir. Başarılı bir inhalasyon tedavisi, ilaç etkinliğinin yanı sıra kullanılan teknolojinin etkinliği ve tekrarlanabilirliğine de bağlıdır. İlacın akciğerlere taşınmasının optimizasyonunda aerodinamik partikül davranışı (partikül büyüklüğü, yoğunluğu, higroskopisitesi, şekli, elektrostatik özellikleri), hastanın nefes alma modeli (akış hızı, ventilasyon hacmi, nefes tutma), nefes alma siklusu içinde aerosol uygulama süresi, hastanın solunum yolu anatomisi ve morfolojisi gibi biyofiziksel parametreler etkili olmaktadır [3].

Akciğerlerde üç ana partikül tutulma mekanizması bulunmaktadır [3,17]:

1. Durağan çarpma (> 5 µm)
2. Sedimentasyon (1-5 µm)
3. *Brown* hareketi ile difüzyon (<0,5 µm)

Durağan çarpma, özellikle aerodinamik çapı 5 µm'den büyük olan partiküllerin tutulmasında en etkili mekanizmadır. Sedimentasyon, periferik solunum yollarında yerçekimine bağlı olarak meydana gelmekte ve kütle ortalama aerodinamik çapı (KOAC) 1-5 µm aralığında olan partiküllerini etkilemektedir. *Brown* hareketi ile difüzyon ise 0,5 µm ya da daha küçük partiküller için önemli bir tutulma mekanizmasıdır [18].

Aerosol partikül büyüklüğü, etkin maddenin akciğerde tu-

tulan ve dağılan dozunun belirlenmesinde etkili en önemli parametrelerden birisidir [3].

Yaklaşık olarak 0,5 µm çapa sahip partiküllerin respiratuar bölgede tutulması minimum düzeydedir. Bu çapta tüm tutulma mekanizmaları etkisizdir. Aerodinamik partikül çapı 3 µm olduğunda maksimum alveoler tutulmaya ulaşmaktadır. Partikül çapının artması ile bronşiyal tutulumun artması, daha az partikülün alveoler bölgeye ulaşmasına ve bunun sonucunda alveoler bölgedeki tutulumun azalmasına neden olmaktadır [19].

Partikül büyüklüğü 8 µm'nin üzerine çıktığında alveoler tutulma ihmal edilmekte, bronşiyal tutulum ise maksimuma ulaşmaktadır. Aerosol partiküllerinin ağız ve boğazdaki çarpması ile, çok az partikül bronşiyal ve alveoler bölgeye ulaşabilmektedir. Özetlenecek olursa; 1-5 µm çapa sahip partiküller esas olarak intratorasik solunum yollarında tutulurken, çapı >5 µm olan partiküller için çarpma önemli bir rol oynamakta ve ekstratorasik tutulma artarken intratorasik tutulma azalmaktadır [19].

### 2.3. Pulmoner Epitelden Geçiş Yolları

Pulmoner epitel; farklı morfoloji ve fonksiyonlara sahip bronşiyal epitel ve alveoler epitel olarak ikiye ayrılır. Üst respiratuar bölgede epitel, aralarında goblet hücrelerinin bulunduğu silialı, sütun şeklindeki hücrelerden oluşmaktadır. Terminal bronşiyollerin epiteli esas olarak silialı, kübik hücrelerden ve az sayıda Clara hücresinden oluşmaktadır. Alveoler yüzey pulmoner sürfaktan ile kaplanmıştır. Pulmoner sürfaktanın en ince olduğu bölgede maksimum absorpsiyon görülmektedir. Hava-kan bariyerinin kalınlığı 0,2-10 µm arasında değişmektedir. En etkili gaz değişimi, hava-kan bariyerinin kalınlığı 0,4 µm'den az olduğunda gerçekleşmektedir [12].

Pulmoner epitelden 5 ana geçiş yolu tanımlanmıştır:

- Paraselüler difüzyon: İki hücre arasından geçişi ifade etmektedir.
- Transselüler difüzyon: Pasif, derişime bağlı bir işlemdir. Molekül hücre membranı boyunca penetre ve difüze olmalıdır.
- Bazolateral membrandan pasif difüzyon ile sonuçlanan apikal bölgede taşıyıcı aracılı geçiş: Apikal bölgede taşıyıcı aracılı geçişi takiben bazolateral membrandan pasif difüzyon mekanizması, birçok fizyolojik bileşen ve bazı etkin maddeler için önemli bir geçiş mekanizmasıdır.
- Transitoz: Büyük moleküller için tercih edilen bir yoldur ve molekülün hücre membranı tarafından oluşturulan bir kese içine alınması ve daha sonra bu kesenin hücre içine alınması ile geçiş sağlanmaktadır.
- Aktif sekresyon: Adenozin trifosfat (ATP) bağımlı bir işlemdir ve bazı ilaçların pasif, derişime bağlı absorptif geçişinin inhibisyonu ile sonuçlanmaktadır [20].

### 2.4. İn hale Edilen Partiküllerin Respiratuar Bölgeden Uzaklaştırılması

Respiratuar bölgede biriken ve epitelden geçmeyen partiküller, mukosilier veya alveoler klerens mekanizmaları ile vücuttan atılmaktadır.

Çözünmeyen partiküller, mukus tabakası içinde tutulmakta ve silianın hareketi ile farinkse doğru hareket etmektedir. Mukosilier hareket, fizyolojik ve çevresel faktörler ile hastalık koşullarından etkilenmektedir [21]. Alveoler bölgede tutulan etkin maddeler fagositoza uğrayarak, alveoler makrofajlar tarafından uzaklaştırılabilir veya pulmoner dolaşıma absorbe olabilirler. Sağlıklı bir bireyde alveol başına yaklaşık olarak 5 makrofaj düşmektedir. Partiküllerin makrofajlar tarafından tutulması partikül büyüklüklerine bağlıdır. 6 µm çapındaki partiküller 3 µm çapındaki partiküllere kıyasla daha az fagosite olmaktadır. 0,26 µm'den küçük çapa sahip partiküller, makrofajlar tarafından minimum düzeyde tutulmaktadır. Kaplama materyallerinin yapısı da alveoler makrofajların fagositoz hızını etkilemektedir [22, 23].

### 3. İnhalasyon Sistemleri

Akciğerlere hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler, sistemik veya lokal etki elde etmek amacıyla geliştirilebilir. Akciğerlerin yüzey alanının geniş ve kanlanma kapasitesinin yüksek olması dolayısıyla, inhaler formülasyonlarının sistemik amaçla kullanımı, özellikle hızlı etki istenen durumlar için uygundur. Lokal kullanımda ise, ilacın hedef bölgeye doğrudan veriliyor olması, sistemik yan etkileri azaltır ve hızlı etki elde edilmesini sağlar. İlaçların solunum yoluyla uygulanması, mevcut diğer uygulama yollarına göre birçok üstünlük sağlamaktadır. Bu üstünlükler aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- Alt ve üst solunum yolu hastalıklarında yeterli dozda etkin madde doğrudan etki bölgesine taşınabildiği için sistemik yan etkilerin en aza indirilmesi,
- Düzenli klinik yanıt alınması,
- Oral kullanımda gözlenen ilk geçiş etkisi gibi biyolojik engellerin ortadan kalkması,
- Oral yoldan alınan etkin madde dozu ile kıyaslandığında aynı terapötik etki için çok daha düşük dozlarda kullanılabilmesi,
- Kötü tat, ağrı gibi hasta uyuncunu azaltan koşulların bu uygulama yolunda söz konusu olmaması,
- Küçük moleküllerden büyük peptid moleküllerine kadar birçok maddenin verilebilmesi için uygun olması,
- Geniş yüzey alanı ve yüksek geçirgenliğe sahip membran yapısı,
- Düşük enzimatik aktivite [24-33].

Akciğere ilaç hedeflendirilmesi ile yapılan tedavilerde, tedavi etkinliğini belirleyen ölçüt etki bölgesine ulaşan ilaç miktarı olduğu için hedef bölgenin belirlenmesi gerekmektedir [12, 34-39]. Partikül büyüklüğü 10 µm'nin

üstündeki partiküller genellikle orofaringeal bölgede tutulurlar veya bronşiyal bölgede kalırlar ve daha zayıf sistemik etki gösterirler [7, 40-42]. Diğer yandan, partikül büyüklükleri 1 µm'nin altında olan partiküller alveollere daha rahat ulaşırlar fakat alveollere yerleşemezler ve nefes verilmesi ile birlikte dışarı atılırlar. Literatüre göre, farklı partikül büyüklüğüne sahip inhalerler ile yapılan tedaviler, farklı terapötik yanıtla yol açmaktadır [43]. Alveollere ulaşması ve yerleşmesi istenilen partiküllerin, optimum büyüklüklerinin 2-5 µm aralığında olması gerektiği belirtilmiştir [7].

İnhaler sistemlerinden beklenen özelliklerden bazıları aşağıda listelenmiştir:

- Tekrarlanabilir dozlama,
- Kimyasal ve fiziksel stabilite,
- İnhal edilen dozun kontrolü,
- Taşınabilir aygıt büyüklüğü,
- Partikül boyutunun istenen bölgeye ulaşması için uygun büyüklükte olması [44].

İnhaler sistemler ile yaşanan sorunlardan bazıları aşağıda listelenmiştir;

- Tek düze dozlamada yaşanan sorunlar,
- Akciğerlerin derinlerine yeterli miktarda ilacın ulaşmaması,
- Kullanılan püskürtücü gazların çevre ile uyumlu olmaması,
- İnhaler aygıtının kullanımının zor veya maliyetli olması,
- Stabilite sorunları [45].

İnhalasyon yolu ile ilaç uygulama yöntemleri 3 ana başlık altında toplanabilir: nebülizerler, ölçülü doz inhalerler ve kuru toz inhalerler.

### 3.1. Nebülizer

Nebülizasyon yöntemi, sıvı haldeki ilaçların aerosol formuna getirilip maske ile ağıza püskürtülmesi yöntemidir [31, 46-49].

Nebülizerler, sulu çözelti veya süspansiyonları atomize etmek için tasarlanmıştır. Bu amaçla, basınçlı hava kullanılan jet nebülizerler ve yüksek frekansta ses dalgaları uygulayan ultrasonik nebülizerler bulunmaktadır [50-52].

Nebülizer performansının en zayıf noktası, uygulanan ilacın yalnızca % 1'inin hasta tarafından inhale edilmesidir [52]. İnhal edilebilir damlacıkların oluşumu sırasında sıvı üzerine yüksek basınç uygulanması, özellikle proteinler gibi stabilite sorunu olan ilaçların stabilitesini etkileyebileceğinden sakıncalı bir durumdur. Ayrıca, nebülizer uygulanması sırasında enzim aktivitesinin azaldığı bilinmektedir [53].

### 3.2. Ölçülü Doz İnhaler

Ölçülü doz inhalerler (ÖDİ), nebülizerler ile yaşanan sorunları aşmak için geliştirilmiş taşınabilir sistemlerdir.

ÖDİ'ler, sıvılaştırılmış itici gazlar ile basınç altında tutulan çözelti, süspansiyon veya emülsiyonları püskürtürken damlacık haline getiren araçlardır [54].

ÖDİ'ler, her püskürtmede belirli dozda ilaç uygulanmasını sağlayan sistemlerdir. Aygıt içerisinde itici gazlar [kloroflorokarbon (freon), hidrofloroalkan] bulunmakta ve buna bağlı olarak ağızda soğuk freon etki ortaya çıkmaktadır. İlacın püskürtülmesiyle inhalasyon işleminin aynı anda yapılamaması sonucu, uygulanan ilacın ancak %3-5'i bronşiyollere ulaşmaktadır [31, 46-49].

Ara cihazlar, çocuklarda ÖDİ'lerin kullanılmasını kolaylaştırdığından tedavi edici etkinin artmasını ve yan etkilerin azalmasını sağlamaktadır [31, 46-49].

### 3.3. Kuru Toz İnhaler (KTİ)

Kuru toz inhaler (KTİ) formülasyonları son yıllarda sıkça çalışılan, birçok hastalığın tedavisinde üstünlük gösteren bir dozaj şeklidir. Hem lokal hem de sistemik amaçlarla kullanılması uygulama alanlarını genişletmektedir.

KTİ'ler etkin maddenin katı halde bulunduğu sistemlerdir. Bu durum etkin madde stabilitesi, kullanım kolaylığı ve uygulanan doz miktarı aralığı bakımından üstünlük sağlamaktadır. Etkin madde bir toz formülasyonu içinde yer aldığı için parçalanma, ayrışma ve mikrobiyolojik kontaminasyon riskleri, sıvı formülasyonlar ile karşılaştırıldığında daha azdır [4-6].

KTİ'lerin, nebülizer ve ÖDİ sistemlerine göre önemli bazı üstünlükleri vardır. Ara cihaz gerektirmediği için taşınmaları kolay, tek bir nefes ile yüksek doz inhale etmeye olanak sağladığı için tedavi süresi kısadır [55-57]. En yüksek intrapulmoner depolanma, diğer inhaler şekilleri ile kıyaslandığında KTİ ile sağlanmaktadır [31, 46-49]. KTİ sistemlerinde el-ağız koordinasyonuna gerek yoktur ve itici gaz içermemektedir [58, 59]. ÖDİ'ler ile karşılaştırıldığında, KTİ ile uygulanan ilaç, akciğere yaklaşık iki kat fazla ulaşırken, orofarinkste biriken toz miktarı çok daha az olmaktadır. Fakat, dozlamamanın inhalasyon hızından etkilendiği ve etkili bir inhalasyon için inspirasyon hızının en az 30 L/dk. olması gerektiği için [60], inhalasyonu sorunlu (örneğin KOAH) hastalarda tekdüze dozlama sağlamak zordur [61]. Bu nedenlerden dolayı KTİ tozlarının akışının iyileştirilmesi oldukça önemlidir [44]. Ayrıca KTİ'lerde yüksek nemde fiziksel olarak stabilite sorunu gözlenebilmektedir.

İleri partikül mühendisliği teknikleri ve akıllı aygıt tasarımları, KTİ antibiyotiklerin performansını artırmıştır. Fakat yüksek dozda verilen antibiyotiklerin öksürük ve boğaz irritasyonu gibi yan etkileri gözlenmektedir.

KTİ formülasyonunda klinik yanıtta uygunluk açısından ve farmasötik teknoloji yönünden üzerinde önemle durulması gereken konuların başında partikül büyüklüğü gelmektedir. Bunun yanında partikül şekilleri, dansiteleri ve yükleri de önemlidir. Ayrıca etkin maddenin çözünürlüğü, partiyon

katsayısı, permeabilitesi, molekül ağırlığı, enzimatik stabilitesi gibi fizikokimyasal özellikleri ve formülasyon şekli de inhale edilen ilacın biyoyararlanımını etkilemektedir.

### **Kuru Toz İnhaler Aygıtları**

KTİ'ler tek dozluk veya çok dozluk sistemler olarak sınıflandırılabilirler. KTİ sistemlerinde toz formülasyonu, bir kapsül veya çok dozlu blisterlere doldurularak çeşitli tasarımlara sahip aygıtlara yerleştirilir [62]. Bu amaçla Turbuhaler®, Spinhaler®, Rotahaler®, Aerolizer®, Diskhaler® ve Diskus® gibi KTİ aygıtları yaygın olarak kullanılmaktadır [50].

Zayıf bir inhalasyonla bile yüksek miktarda maddenin inhale edilebilmesini sağlamak amacıyla, inhaler aygıtlarının direncini düşürmek hedeflenmiş ve bu amaçla çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ayrıca kapsülde kalan toz miktarını azaltmak yani akciğere ulaşan dozu artırmak için birçok farklı kapsül ve blister delme ve açma mekanizması geliştirilmiştir. Farklı akış hızı koşullarında, gözlenen basınç düşmesi ölçütü, kullanılan inhaler aygıtına göre değişkenlik göstermektedir [63].

### **Kuru Toz İnhallerde Kullanılan Yardımcı Maddeler**

İnhalasyon tedavisinde kullanılan ilaçların homojen karışmasını sağlamak, kapsül ve blisterlere çok küçük dozların dolumunu sağlamak, toz akışını iyileştirmek ve ilacın inhalasyon boyunca dağılılabilişini sağlamak amacıyla, inhaler formülasyonlarında çeşitli yardımcı maddeler kullanılmaktadır.

İnhalasyon sistemlerinde kullanılacak olan etkin madde partiküllerinin uygun büyüklüğe getirilmesi için genellikle mikronizasyon işlemi uygulanmaktadır. Mikronizasyon işlemi ise statik, kohezif ve adhezif yapıları nedeniyle zayıf akış özelliğine sahip partiküllerin oluşumuna neden olmaktadır. Zayıf akış özelliğine sahip etkin madde partiküllerinin akış özelliklerini düzeltmek için genel olarak büyük taşıyıcı partiküller kullanılmaktadır [17].

Düşük toksisitesi, düşük nem düzeyi ve düşük maliyeti ile inhalerlerde en çok tercih edilen taşıyıcı laktozdur. Laktoz inert bir yardımcı maddedir ve pulmoner yolla kullanım için FDA'dan onay almıştır [44, 64-67]. Etkin madde veya maddelerin, daha büyük partikül büyüklüğüne sahip olan laktozun olası bağlanma bölgelerine bağlanması ile akış iyileştirilir [44]. Bununla birlikte glikoz, mannitol gibi polioller, veya trehaloz, sükroz, rafinoz gibi kristal şekerler de alternatif taşıyıcılar olarak kullanılabilir [68].

Bilindiği üzere partiküllerin alveollere ulaşabilmesi için aerodinamik çaplarının 1-5 µm olması gerekmektedir. İnhalasyon sırasında, etkin maddenin havada etkin bir şekilde dağılılabilişini için, etkin madde ve taşıyıcı partiküller arasında var olan adhezif kuvvetin veya etkin madde partikülleri arasındaki kohezif kuvvetin yenilmesi gerekmektedir. Taşıyıcı maddenin ve üretim yönteminin seçilmesi aşamasında bu hususların göz önünde bulundu-

rulması gerekmektedir.

Taşıyıcıların yanı sıra kuvvet kontrol ajanları (*force control agents*) da KTİ formülasyonlarında kullanılabilir. Yapılan çalışmalar, kuvvet kontrol ajanları (Mg stearat veya Na stearat gibi) ile kohezif partikül yüzeylerinin kaplanmasının, toz akışını ve aerosolizasyonunu artırabildiğini göstermiştir [69, 70]. Mg stearat için, FDA tarafından (Foradil® Certihaler®, BREO® ELLIPTA™ ve ANORO™ ELLIPTA™) inhalasyon preparatlarında kullanılmak üzere onay verilmiştir. Mg stearatın, öğütülmüş ilaç partikülleri üzerine ince bir tabaka şeklinde kaplanması, kohezif özellikte önemli bir azalma sağlamaktadır [69-72]. Püskürterek kurutma ile üretilen, % 1 (a/a) Na stearat ile kaplanmış tobramisin tozlarının ince partikül fraksiyonu % 84,3±2,0 iken, tek başına püskürtülerek kurutulmuş tobramisin için bu değer % 27,1±1,9 olarak bulunmuştur (Analiz, Aerolizer® aygıtı ile 60 L/dk. akış hızında yapılmıştır) [73]. Bu da Na stearatın, aerosolizasyonu anlamlı derecede artırdığını göstermektedir. Kaplama için kullanılacak yardımcı madde seçimi kritiktir. Örneğin, Belotti ve ark. yaptıkları çalışmada, püskürtülerek kurutulmuş amikasinin yüzeyinin PEG-32 stearat ile kaplanması sonucu, ince partikül dozunu düşürmüştür [74].

Aerosolizasyon performansını iyileştirmek için dispersiyon artırıcılar kullanılabilir. Bu amaçla en çok kullanılan yardımcı madde lösindir ve genellikle püskürterek kurutma yönteminde besleme çözeltilisine veya süspansiyonuna eklenir [75, 76]. Lösünün oluşturduğu, püskürtülerek kurutulmuş partiküllerin dış yüzeyindeki pürüzlü çeper veya kaplama ile, düşük yüzey enerjisine sahip partiküller elde edilmektedir. Lösün ile birlikte püskürterek kurutma ile elde edilen partiküller, poröz veya içi boş olduğundan, dansiteleri düşüktür. Bu durumda, hacmi büyük olduğu için akışı iyi, aerodinamik çapı yeterince küçük olduğu için de etki bölgesine ulaşma yeteneği yüksek partiküller elde edilir [77-79].

Akciğerlerde spesifik bölgelere hedeflendirilmiş etkin maddelerin biyoyararlanımını iyileştirmek ve salımlarını optimize etmek için lipozom, nanopartikül, mikropartikül, siklodekstrin kompleksleri, misel ve mikroemülsiyon formlarındaki ilaç taşıyıcı sistemlerden yararlanılmaktadır.

### **Lipozomal Kuru Toz İnhaller**

Prolipozomlar vücutta uygulama öncesi veya sonrası su ile temas ettiğinde lipozom oluşturabilen kuru tozlardır [80, 81]. Lipozomlar pulmoner sürfaktanın yapısında bulunan fosfolipitler ile hazırlandıkları için biyolojik olarak uyumlu, biyolojik olarak parçalanabilir ve toksik olmayan yapıdadır. Lipozomlar ile hem hidrofilik hem de lipofilik etkin maddeler taşınabilmektedir. Sitotoksik ajanlar, antiastmatik, antimikrobiyal ve antiviral etkin maddeler ve sistemik etkili antioksidanlar lipozomlara yüklenebilir. Prolipozom materyallerinin seçiminin sadece ilaç salım profilini değil aynı zamanda aerosolizasyon

performansını da etkilediği bilinmektedir [82, 83].

### **Polimerik Formülasyonlar**

Suda çözünen inhale edilebilir ilaçların hızlı salım özelliklerini modifiye etmek için geliştirilen bir formdur. Biyolojik olarak uyumlu olan, in vitro ve in vivo çalışmalarda düşük toksisite gösteren polivinil alkol (PVA) ve poli (laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) polimerleri sürekli salım ajanları olarak sıklıkla kullanılmaktadır [84-86]. Ancak uzun vadede pulmoner inflamasyonu ve/veya fibrozu tetikleyebileceğinden, bu polimerlerin akciğerlere sürekli teması bir endişe kaynağıdır [87]. Ayrıca, akciğerdeki yabancı partiküller ya mukosilyer temizleme ya da makrofaj alımı ile uzaklaştırılacağından, polimerik partiküller ile elde edilen örneğin uzatılmış ilaç salımı, in vivo koşullarda mümkün görülmemektedir. Bu nedenlerle, inhale edilebilir polimerik formülasyonların güvenilirliği ve etkinliği ile ilgili in vivo ve klinik araştırmalara gereksinim duyulmaktadır.

### **Nanopartikül Kuru Toz İnhaleler**

Nanopartiküller, KTİ olarak pulmoner yolla uygulanabilir [88], ancak nanopartiküllerin küçük partikül büyüklükleri (10-1000 nm) akciğerde birikmeye uygun değildir ve nanopartiküllerin verilen nefes ile solunum sisteminden uzaklaştırılmaları söz konusudur. Bu sorun, nanopartiküllerin, püskürtülerek kurutulması [89-91] veya manitol [90, 92], PVA veya lösin ile püskürterek dondurularak kurutulması [92, 93] yoluyla solunabilir mikroagregatlar elde edilmesi veya laktöz gibi taşıyıcı partiküller ile birlikte uygulanması ile giderilebilmektedir [94].

Nanopartikül sistemlerde etkin maddenin polimerin içinde hapsedilebilmesi, enzimatik parçalanmaya karşı koruma sağlar, bu durum da ilacın biyoyararlanımının artmasına neden olur. Ayrıca suda çözünmeyen ilaçların çözünürlüğünü iyileştirdiği ve mukosilyer klerensi azalttığı için, inhale edilebilir nanopartikül formülasyonları tercih edilmektedir [95].

Nanopartiküller; tüm bu özelliklerinin yanı sıra hedef bölgelere seçici olarak gönderilebilmeleri nedeniyle, özellikle tümörlere karşı kullanılmak üzere umut veren sistemlerdir [88, 96]. Yapılan çalışmalar polimerik nanopartiküllerin lipozomlardan daha stabil olduğunu göstermiştir [88] fakat inhale edilebilir nanopartiküllerde toksisite sorunu dikkat edilmesi gereken bir konudur.

### **Katı Lipit Nanopartikül Kuru Toz İnhaleler**

Katı lipit nanopartiküller (SLN); emülsiyonlar, lipozomlar gibi klasik kolloidal sistemlere alternatif olarak geliştirilmiştir. SLN'ler ile büyük çaplı üretim mümkündür. Yapılan çalışmalarda prednizolon, diazepam, kamptotesin gibi etkin maddeler SLN'lere yüklenebilmektedir. SLN'ler, ortalama partikül büyüklüklerinde önemli bir değişiklik meydana gelmeksizin nebülize edilerek veya toz haldeki

SLN'nin kuru toz inhalasyonu ile pulmoner yolla uygulanabilmektedir [97].

### **Siklodekstrin İçeren Kuru Toz İnhaleler**

Siklodekstrinler (CD); siklik oligosakkaritlerdir. Hidroksil grupları taşıyan CD'nin dış kısmı hidrofilik, içteki boşluk ise lipofiliktir. Etkin maddeler CD'lere inklüzyon kompleksi oluşturarak bağlanmaktadır.  $\beta$ -CD kavite büyüklüğü, etkin madde:kompleks oluşturma etkinliği ve ucuz olması nedeniyle ilaç endüstrisinde en çok kullanılan CD'dir [98]. CD'ler etkin maddeyi enzimatik degradasyondan koruyarak ve sürekli salımını sağlayarak, ilacın biyoyararlanımını artırmakta ve istenen salım profillerinin elde edilmesine olanak tanımaktadır [99].

### **Mikropartikül Kuru Toz İnhaleler**

Mikropartiküller 1-999  $\mu$ m partikül büyüklüğüne sahip, hidrofilik ve lipofilik ilaçlar ile hazırlanabilen, mikrokapsül veya mikroküre sistemleridir. Etkin madde partikül içinde enkapsüle edilebilir ve partikül içindeki etkin madde katı, çözelti, süspansiyon veya emülsiyon şeklinde bulunabilir. Mikropartiküller işlem ölçütleri değiştirilerek istenen büyüklük, şekil ve porozitede hazırlanabilmektedir. Alveoler makrofajlara hedeflendirilmek üzere pulmoner yol ile uygulanan mikropartiküller, tüberküloz gibi hastalıkların tedavisinde etkin maddenin hücrelere yüksek miktarının taşınmasında üstünlük sağlamaktadır. Diğer hastalıkların tedavisinde ise pulmoner uzaklaştırmayı önlemek ve böylece etkin maddenin alveoler yarı ömrü ve biyoyararlanımını artırmak için alveoler makrofajlardan kaçınılması gerekmektedir.

### **Taşıyıcısız Kuru Toz İnhaleler**

Mikronize ilaçların akışını ve aerosolizasyon özelliklerini iyileştirmek için, inhaler formülasyonlarına yardımcı maddeler dahil edilebilmektedir. Bununla birlikte, inhalasyon için uygun yardımcı maddeler oldukça sınırlıdır. Dahası, formülasyona yüksek miktarda yardımcı madde eklenmesi, uygulanan tozdaki etkin madde miktarını azaltır. Günümüzde KTİ'lerle ancak mikrogram düzeyinde ilaç uygulanabilmektedir. Taşıyıcı ilavesi toz hacmini çok artıracığı için, dozu yüksek olan (antibiyotik gibi) ilaçlar ile taşıyıcıları kombine etmek hemen hemen mümkün değildir. Dolayısıyla, mikronize ilacın akışını iyileştirmek için taşıyıcıya ihtiyaç duymayan formülasyonlar ile ilgili çalışmalar artmıştır. Pulmicort® (budesonid) ve Bricanyl® (terbutalin) KTİ'leri gibi bazı piyasa preparatları, düşük miktarda ilaç içermelerine rağmen taşıyıcısız olarak formüle edilmiştir [100].

### **3.3.1. Kuru Toz İnhale Formülasyonların Üretimi**

Akciğerde depolanma için 1-5  $\mu$ m aerodinamik çap optimumdur. Bu boyuta ulaşmak amacıyla öğütme yöntemleri farmasötik endüstri için uygun hale getirilmiştir. Fakat öğütülmüş tozlar yüksek yüzey enerjisine sahip oldukları

için kohezif özellik gösterebilir [65].

İnhalasyon için kuru toz formülasyonu geliştirme sürecinde 4 ana strateji izlenebilir:

1. Küçük taşıyıcı ile serbest ilaç partiküllerinin kombinasyonu,
2. Küçük ilaç ile büyük taşıyıcı partiküllerinin kombinasyonu,
3. Büyük poröz ilaç partiküllerinin üretimi,
4. Taşıyıcı partiküller içinde enkapsüle edilmiş nanopartikül ilaçların üretimi.

İnhaleler, çözücü ekstraksiyon/buharlaştırma, faz ayrışması (koaservasyon), jet öğütme, süperkritik sıvı, bilyalı değirmen, yüksek basınçlı homojenizasyon, püskürterek kurutma ve püskürterek dondurarak kurutma yöntemleri ve bu yöntemlerin modifiye ve/veya kombine edilmesi ile üretilmektedir [100-104]. En çok kullanılan yöntem püskürterek kurutma yöntemidir.

### **Püskürterek Kurutma Yöntemi**

Püskürterek kurutma yöntemi, oldukça hızlı, kullanışlı ve büyük çaplı üretim için uygun bir partikül mühendisliği tekniğidir [8, 9]. Bu yöntem ile hazırlanan formülasyonların akciğerlere doğrudan uygulanması mümkündür. Yöntem, inhale insülin (Exubera®, Pfizer), tobramisin (Tobi®, Novartis) ve mannitol (Aridol®, Pharmaxis) üretiminde kullanılmıştır. Püskürterek kurutma işlemi için kullanılan çeşitli püskürterek kurutma cihazları (Buchi Nano Spray Dryer B-90, Mini Spray Dryer B-190, Mini Spray Dryer B-191, Mini Spray Dryer B-290 [105-113]) bulunmaktadır. Literatürde bu yöntemle ilişkin; budesonid, beklometazon dipropiyonat, itrakonazol, flutikazon propiyonat, sislesonid, levofloksasin, salbutamol sülfat, sükröz,  $\alpha$ -laktöz gibi maddeler ile yapılmış çalışmalar bulunmaktadır [89, 95].

Püskürtülerek kurutulmuş küresel, poröz ve iyi akış gösteren partiküller, üretim ve dispersiyon aşamasına yardımcı ederek taşıyıcıya ihtiyacı azaltmaktadır.

Bu yöntem ile büyük poröz ilaç partikülleri hazırlamak mümkündür. Büyük partikül boyutları sayesinde poröz partiküller daha iyi akışa sahiptir ayrıca akciğerlerde fagositik klerens mekanizmasından da kaçabilirler [114]. Büyük partiküllerin agregasyon eğilimleri düşük, dağılım kapasiteleri yüksektir.

Püskürterek kurutma yönteminde, elde edilen kuru tozun partikül büyüklüğü yöntem parametreleri ile kontrol edilebilmektedir [115]. Kullanılan çözücünün kaynama noktası, buhar basıncı ve ilaç-çözücü ilgisi gibi etkenler sonuçta elde edilen partiküllerin performansı üzerinde doğrudan etkili olmaktadır. Ayrıca besleme çözeltisinin, süspansiyonunun veya emülsiyonunun derişimi, giriş sıcaklığı, pompa hızı, hava akış hızı gibi yöntem ölçütleri de partikül özelliklerini etkilemektedir. Püskürterek kurutma işlemi esnasında, mikropartiküllerin siklon ayırıcının duvarlarına yapışması ve/veya toplama kabına girmeden

filtreden geçerek tutulması nedeniyle önemli miktarda madde kaybı meydana gelebilmekte, bu durum da verimi düşürmektedir. Bu sorunu aşmak için, yapışmayı engellemek amacıyla mannitol kullanılmaktadır [116]. Püskürterek kurutma yönteminin diğer bir sakıncası ise ısıya duyarlı etkin maddeler ve özellikle proteinler için stabilite sorunlarına neden olma riski taşımasıdır [117].

Püskürterek kurutma işlemi ile üretilen amorf veya kısmen amorf ilaçlar için stabilite sorunu söz konusu olabilmektedir [118-120], bu nedenle püskürtülerek kurutulan ilaçların fiziksel ve kimyasal stabiliteleri kritiktir.

### **4. İnhaler Partiküllerinin Aerodinamik Parametreleri**

Aerosolizasyon etkinliği arttıkça hastaların değişken inhalasyon yeteneklerinin, ilaç depolanmasına etkisi azalmakta, bu nedenle de inhalelerin aerodinamik özelliklerinin değerlendirilmesi önem taşımaktadır [121]. Farklı dansite ve şekle sahip aerosol partikülleri aerodinamik özelliklerine bağlı olarak karakterize edilebilirler. İnhalerlerin aerodinamik davranışları aşağıdaki parametreler ile tanımlanabilir:

- a) **Kütle Ortalama Aerodinamik Çap (KOAC) (Mass Median Aerodynamic Diameter):** Aerodinamik partikül çapı, partikül ile aynı aerodinamik davranışa sahip 1 g/cm<sup>3</sup> yoğunluğundaki kürenin çapıdır. Poröz veya içi boş yani dansitesi düşük partiküller aynı hacme sahip diğer partiküllerden daha küçük aerodinamik çapa sahiptirler. Aerodinamik çap Eşitlik 1 ile hesaplanır.

$$D_a = d \cdot \sqrt{p} \quad (1)$$

$D_a$  = Aerodinamik çap

$d$  = Partikülün fiziksel çapı

$p$  = Dansite

- b) **İnhaler Aygıtını Terk Eden Doz (Emitted Dose):** İnhalasyon işlemi ile inhale aygıtını terk ederek solunum sisteminin farklı aşamalarına geçen ilaç miktarı.
- c) **İnce Partikül Fraksiyonu (İPF) (Fine Particle Fraction):** Teorik olarak akciğerlerde respiratuar bölgeye ulaşacak fraksiyondur. Genellikle aerodinamik çapı 5  $\mu$ m'den küçük olan partiküller olarak ifade edilir.
- d) **İnce Partikül Dozu (İPD) (Fine Particle Dose):** Teorik olarak akciğerlerde respiratuar bölgeye ulaşacak ilaç miktarıdır. Genellikle aerodinamik çapı 5  $\mu$ m'den küçük olan partiküller olarak ifade edilir.

Partiküllerin aerodinamik özelliklerinin incelenmesi için farmakopelerde çeşitli ayırıcı cihazlar tanımlanmıştır (Tablo 1). Bu cihazlar aerosol partiküllerini veya damlacıklarını aerodinamik çaplarına göre sınıflandırmaktadır. Partiküller cihaz içinde hava akımının etkisi ile hareket ederek partikül büyüklüklerine göre farklı düzeylerde tutulurlar.

**Tablo 1.** Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa Farmakopelerine kayıtlı ayırıştırıcı örnekleri [122].

Ayırıştırıcı	Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi	Avrupa Farmakopesi
<i>Glass Twin Impinger</i> (Cam İkili Ayırıştırıcı)	-	Aygıt A (ÖDİ, KTİ, nebülizer)
<i>Andersen Cascade Impactor</i> (Andersen Kademeli Ayırıştırıcı) (Ön ayırıştırıcı içermeyen)	Aygıt 1 (ÖDİ)	Aygıt D (ÖDİ)
<i>Marple Miller Cascade Impactor</i>	Aygıt 2 (KTİ)	-
<i>Andersen Cascade Impactor</i> (Andersen Kademeli Ayırıştırıcı) (Ön ayırıştırıcı içeren)	Aygıt 3 (KTİ)	Aygıt D (KTİ)
<i>Multi Stage Liquid Impinger</i> (Çok Aşamalı Sıvı Ayırıştırıcı)	Aygıt 4 (KTİ)	Aygıt C (ÖDİ, KTİ)
<i>Next Generation Impactor</i> (Yeni Nesil Ayırıştırıcı)	Aygıt 5 (KTİ) Aygıt 6 (ÖDİ)	Aygıt E (ÖDİ, KTİ)

#### 4.1. Cam İkili Ayırıştırıcı (*Glass Twin Impinger*)

Cam ikili ayırıştırıcı, rutin kalite kontrol amacıyla kullanılan, aygıt A olarak Avrupa Farmakopesinde (2.9.18) kayıtlı bir düzenektir. 60±5 L/dk. akış hızının uygun olduğu KTİ, ÖDİ ve nebülizerler ile kullanılmaktadır. Cam ikili ayırıştırıcı, kullanımı ve montajı nispeten kolay bir yöntemdir. En önemli üstünlüğü, camdan üretilmesi sayesinde metal ayırıştırıcılarda görülen korozyona uğrama sorununun görülmemesidir. Cam ikili ayırıştırıcı, üst ve alt cam çarpma odalarının yanı sıra paslanmaz çelik plaka, ayaklık, kelepçe ve başlık gibi parçalardan oluşur. Ayrıca analiz için özel ağızlık adaptörü, vakum pompası ve akış ölçer gibi destek aygıtları kullanılmaktadır [10, 63].

Sıvı sıkıştırma prensibi ile, inhalerden çıkan dozu, solunabilir ve solunamayan olmak üzere 2 fraksiyona ayırır. Solunamayan doz, orofarinkste tutulur ve daha sonra yutulur. Bu kısım cam ikili ayırıştırıcıda, cam boğazın arka kısmı ve üst çarpma odacığı ile temsil edilir (Aşama 1). Akciğerlere nüfuz eden doz alt çarpma odasında (Aşama 2) toplanır. 60 L/dk.'lık bir akış hızında çalışıldığında üst çarpma odasında 6,4 µm'den büyük, alt çarpma odasında 6,4 µm'den küçük partiküller tutulmaktadır [10, 63].

Cam ikili ayırıştırıcı ile analize başlamadan önce, genel olarak üst çarpma odasına 7 mL, alt çarpma odasına 30 mL çözücü koyulur. Deney tamamlandıktan sonra, alt çarpma

odasında toplanan etkin madde miktarı saptanır ve verilen dozun yüzdesi olarak solunabilir fraksiyon ifade edilir [10, 63].

Genel olarak, ayrıntılı partikül büyüklüğü dağılımı bulgusu elde etmek için, en az beş ve tercihen daha fazla aşamaya sahip ayırıştırıcılar tercih edilir.

#### 4.2. *Marple Miller Cascade Impactor*

Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi'nde Aygıt 2 olarak tanımlanmış, KTİ'lerin partikül büyüklüğünü (aerodinamik) saptamak üzere tasarlanmış, beş aşamalı bir ayırıştırıcıdır. 60 - 90 L/dk. akış hızı için kalibre edilmiştir. KTİ'lerin hızlı ve basit bir şekilde geri kazanılmasını sağlamak için, cihazın her aşamasında çıkarılabilir toplama kapları bulunmaktadır. Ayrıca, toplam kütle dengesini korumak için Aşama 5'ten sonra bir filtre bulunmaktadır. 60 L/dk.'lık akış ile elde edilen *cutoff* büyüklüğü (Aşama 1: 10 µm, Aşama 2: 5,0 µm, Aşama 3: 2,5 µm, Aşama 4: 1,25 µm, Aşama 5: 0,63 µm) ile 90 L/dk.'lık akış ile elde edilen *cutoff* büyüklüğünden (Aşama 1: 8,1 µm, Aşama 2: 4,0 µm, Aşama 3: 2,0 µm, Aşama 4: 1,0 µm, Aşama 5: 0,5 µm) farklıdır [10, 63].

Analiz edilen KTİ'ler, doğrudan çıkarılabilir toplama kaplarında toplandığı için, *Marple Miller Cascade Impactor* yöntemi ile her analiz sonrası tüm cihazı sökmeye gerek yoktur. Cihaz, aşamalar arası kaybı en düşük düzeyde tutmak üzere tasarlandığından, her test sonrasında aşamaları temizlemek gerekmemektedir. 30 - 60 L/dk. arası için kalibre edilmiş modelleri ve pediatrik uygulamalar için düşük akış hızlı (4,9 - 12 L/dk.) modelleri bulunmaktadır [10, 63].

#### 4.3. Andersen Kademeli Ayırıştırıcı (*Andersen Cascade Impactor*)

Andersen Kademeli Ayırıştırıcı, inhale edilen ürünlerin analiz edilmesi amacıyla farmasötik endüstrisinde en yaygın kullanılan ayırıştırıcıdır. Sekiz aşamalı cihaz, ilk olarak bir bakteriyolojik hava örnekleyci olarak geliştirilmiş; sonrasında ise farmasötik endüstri tarafından ÖDİ ve KTİ'lerin analizinde kullanılmak üzere adapte edilmiştir. Hem Amerika Birleşik Devletleri hem de Avrupa Farmakopesine kayıtlı bir yöntemdir. Endüstride uzun süre kullanılması nedeniyle birçok inhaler ilaç uygulaması, Andersen Kademeli Ayırıştırıcı'dan elde edilen verilere dayanmaktadır [10, 63].

Andersen Kademeli Ayırıştırıcı'nın üstünlükleri aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

- Farmakopeye kayıtlıdır, yasal otoriteler ve ilaç endüstrisi tarafından kabul edilmektedir.
- 0,4 - 9,0 µm arasında 8 aşama içermektedir.
- Alüminyum, paslanmaz çelik veya titanyum gibi materyal seçenekleri mevcuttur.
- Aşama 6 ve 7 kaldırıldığında yüksek akış hızlarında



düşük akış direnci elde edilmektedir.

- Laboratuvar gibi sınırlı alanlarda kullanımı uygundur.
- Nazal aerosoller ve spreyler ile de çalışmak mümkündür.
- Zarar görmüş veya uygun olmayan aşamalar kolayca çıkarılabilir ve değiştirilebilir.
- Maliyeti düşüktür.

KTİ'lerin Andersen Kademeli Ayırıştırıcı ile analiz edilmeleri sırasında aşağıdaki hususlar dikkate alınmalıdır:

- Nefes alma sırasında basınç düşmektedir.
- 4 kPa basınç düşüşü sağlamak için uygun akış hızı seçilmelidir.
- İnhalasyonun simüle edilmesi aşamasında, inhalasyon süresi ve hızı 4 L hacim sağlayacak şekilde seçilmelidir.
- Akış hızının stabil olması gerekmektedir.

Genellikle düşük dirençli KTİ'lerde, 4 kPa'lık bir basınç düşüşü sağlamak için, 28,3 L/dk.'dan daha yüksek akış hızlarında çalışmak gerekmektedir. Andersen Kademeli Ayırıştırıcı, 28,3 L/dk.'dan daha yüksek akış hızlarında da çalıştırılabilir, fakat *cutoff* değerlerinde oluşacak değişim göz önünde bulundurulmalıdır. Akış hızı arttıkça aşamalar arasındaki ayırım kapasitesinin azaldığı bilinmektedir [10, 63].

Bu sorunu gidermek amacıyla, 60 ve 90 L/dk. akış hızı için Andersen Kademeli Ayırıştırıcı'nın iki ayrı konfigürasyonu kullanılmaktadır [11]. 60 L/dk. akış hızı koşulunda, sistemden 0 ve 7 aşamaları çıkarılır, -0 ve -1 aşamaları eklenir. Benzer şekilde, 90 L/dk. koşulunda, 0, 6 ve 7 aşamaları kaldırılır, -0, -1 ve -2 aşamaları eklenir. Toplama plakalarında da (merkezi delikli veya deliksiz) değişiklikler yapılır. Yapılan çalışmalar sonucunda bu akış koşulları için yeni *cutoff* değerleri elde edilmiştir (Tablo 2) [10, 63].

**Tablo 2.** Farklı akış koşulları için Andersen Kademeli Ayırıştırıcı ile saptanan *cutoff* çapları [63].

Aşamalar	<i>Cutoff</i> Çapı (µm)		
	28,3 L/dk.	60 L/dk.	90 L/dk.
Aşama -2	-	-	8,0
Aşama -1	-	8,6	6,5
Aşama -0	-	6,5	5,2
Aşama 0	9,0	-	-
Aşama 1	5,8	4,4	3,5
Aşama 2	4,7	3,2	2,6
Aşama 3	3,3	1,9	1,7
Aşama 4	2,1	1,2	1,0
Aşama 5	1,1	0,55	0,22
Aşama 6	0,7	0,26	-
Aşama 7	0,4	-	-

Andersen Kademeli Ayırıştırıcı cihazı, 8 aşama ve boğaz,

ağızlık gibi parçalar içerir. Cihazın aşamalarına ulaşacak olan partiküllerin uçuşmasını engellemek için, her bir aşamaya, bir çözücü içinde (etanol, sikloheksan gibi) yüzey etkin madde (Span, Tween gibi) içeren çözelti uygulanır ve kurutulur. Andersen Kademeli Ayırıştırıcı düzeneği kurulduktan sonra, KTİ aygıtı ağızlık kısmına takılır, pompa ile toplamda 4 L hava akımı sağlanacak şekilde, uygun süre ve akış hızında çalışılır. Her bir aşama, boğaz, ağızlık, aygıt (kapsül ile birlikte) uygun bir çözücü ile yıkanarak belirli hacimde balon jojelere alınır. Elde edilen çözeltiler uygun kantitatif yöntemler ile (HPLC gibi) analiz edilir ve her parçada tutulan ilaç miktarı hesaplanır. Aşama 3 ve daha ileriye giden partiküllerin aerodinamik çaplarının 5 µm'den küçük olduğu ve teorik olarak respiratuvar bölgeye ulaşacakları bilinmektedir. Bu nedenle 5 µm'den küçük ilaç miktarı ve yüzdesi hesaplanır. Böylece ince partikül dozu ve ince partikül fraksiyonu bulunmuş olur. Aygıtı terk eden miktar bulunur, böylece Emitted Dose elde edilmiş olur. Aerodinamik çapın fonksiyonu olarak yüzde kümülatif ilaç miktarının log-olasılık grafiği çizilerek KOAÇ değeri hesaplanır [10, 63].

#### 4.4. Çok Aşamalı Sıvı Ayırıştırıcı (*Multi Stage Liquid Impinger*)

*Multi Stage Liquid Impinger*, KTİ ve ÖDİ'lerin aerodinamik partikül büyüklüğü dağılımlarını ölçmek amacıyla kullanılan, 4 aşamalı, Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa Farmakopesine kayıtlı bir ayırıştırıcıdır. İnhalerleri analiz etmek amacıyla tasarlanan ilk cihazdır. Cihaz, alüminyum, paslanmaz çelik veya titanyum gibi materyallerden oluşabilir. Korozyon direnci, ağırlık ve maliyet gibi ölçütlere göre materyal seçimi yapılabilir [10, 63].

60 L/dk.'lık akış ile elde edilen *cutoff* büyüklüğü Aşama 1 için 13 µm, Aşama 2 için 6,8 µm, Aşama 3 için 3,1 µm, Aşama 4 için 1,7 µm'dir. Aşama 5'te bulunan filtre, 1,7 µm'den küçük partikülleri tutmaktadır. Cihaz, aşamalar arasında madde kaybı olmayacak şekilde tasarlanmıştır ve 30 - 100 L/dk. akış hızı koşullarında kullanım için uygundur. Andersen Kademeli Ayırıştırıcı, Yeni Nesil Ayırıştırıcı ve *Marple Miller Cascade Impactor*'den farklı olarak, toplama aşamaları nemli tutulur ve bu da partiküllerin aşamalar arasında hareket etme riskini azaltmaya yardımcı olur. *Multi Stage Liquid Impinger*, Andersen Kademeli Ayırıştırıcı ile aynı sistem bileşenlerine sahiptir; sadece Aşama 1, ön ayırıcı işlevi gördüğü için *Multi Stage Liquid Impinger*'de ön ayırıcı bulunmamaktadır [10, 63].

#### 4.5. Yeni Nesil Ayırıştırıcı (*Next Generation Impactor*)

Yeni Nesil Ayırıştırıcı, 2000 yılında piyasaya sürülmüştür. Cihaz, yedi aşama ve bir mikro-delik toplayıcı (MOC) içeren, yüksek performanslı, hassas, partikülleri fraksiyonlarına ayıran bir ayırıştırıcıdır. Sağladığı kullanım esnekliği ve yüksek verim sayesinde inhaler araştırma laboratuvarında yaygın olarak tercih edilmektedir. Partikül sınıflandırma işlemini iyileştirmek üzere tasarlanan yeni

aksesuarların eklenmesi ile tekrarlanabilirlik ve verimlilik artmaktadır [10, 63].

Andersen Kademeli Ayırıştırıcı ve Yeni Nesil Ayırıştırıcı arasında partikül büyüklüğü dağılımları açısından iyi bir korelasyon olduğu görülmüştür, fakat bu durum, tüm KTİ'ler için değiştirilebilir oldukları anlamına gelmemektedir [10, 63].

Yeni Nesil Ayırıştırıcı özellikleri aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

- İlaç endüstrisine özgül olarak tasarlanmıştır.
- Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri Farmakopelerine kayıtlı bir yöntemdir.
- Partikül büyüklüğü aralığı akış hızına bağlı olarak 0,24 - 11,7 µm arasında değişmektedir.
- 30 - 100 L/dk. akış hızlarında 0,54 - 6,12 µm *cutoff* değerine sahiptir.
- 15 - 100 L/dk. arasındaki akış hızlarında çalışmak mümkündür.
- Verim, doğruluk ve tekrarlanabilirlik kapasitesi yüksektir.
- 7 aşamalıdır.
- Aşamalar arası kayıplar az olduğu için ilaç geri kazanımı yüksektir.
- Yarı ve tam otomasyona uygundur.

15, 30, 60 ve 100 L/dk. akış hızı koşullarında elde edilen *cutoff* değerleri Tablo 3'te verilmiştir.

**Tablo 3.** Farklı akış koşulları için Yeni Nesil Ayırıştırıcı ile saptanan *cutoff* çapları [63].

Aşamalar	<i>Cutoff</i> Çapı (µm)			
	15 L/dk.	30 L/dk.	60 L/dk.	100 L/dk.
Aşama 1	14,10	11,76	8,06	6,12
Aşama 2	8,61	6,40	4,46	3,42
Aşama 3	5,39	3,99	2,82	2,18
Aşama 4	3,30	2,30	1,66	1,31
Aşama 5	2,08	1,36	0,94	0,72
Aşama 6	1,36	0,83	0,55	0,40
Aşama 7	0,98	0,54	0,34	0,24
MOC	0,70	0,36	0,14	0,07

Yeni Nesil Ayırıştırıcı üç ana bölümden oluşur:

1. Sekiz toplama kabı içeren tepsisi
2. Tepsiyi desteklemek için kullanılan alt çerçeve
3. Aşamalar arası geçitlerin bulunduğu kapak ve püskürt-

tücüleri yerinde tutan conta gövdesi

## 5. Sonuç

KTİ'ler de dahil olmak üzere tüm inhalasyon sistemlerinde, tedavi etkinliğini etkileyen birçok değişken bulunmaktadır. Solunum sisteminin anatomisi ve fizyolojisi gibi değiştirilemeyecek etkenlerin incelenmesi ile, söz konusu koşullardan kaynaklanan sorunların nasıl aşılabileceği üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Elde edilen veriler, solunum sisteminin hastadan hastaya değişmesi ile inhalasyon kapasitesinin değiştiğini göstermiştir. Bu durum da tekdüze bir dozlama elde etmeyi oldukça zorlaştırmaktadır. Bu noktada araştırmacılar, farklı inhalasyon kapasitelerinde bile aynı sonucu verecek yani hastaların inhalasyon hacim ve şiddetlerinden etkilenmeyecek sistemler üretmek yoluna gitmiştir. Nebülizer ve ölçülü doz inhaler sistemleri ile de tekdüze dozlama elde etmek için birçok çalışma yapılmış olmakla birlikte; yüksek stabilite, yüksek miktarda dozlama sağlama, kısa uygulama süresi, taşınabilirliğin kolay olması ve dolayısıyla hasta uyuncunun yüksek olması ile KTİ'ler diğer inhalerlere göre üstünlük göstermektedir. KTİ formülasyonlarında tekdüze dozlama elde etmek için genel yaklaşım, partikül büyüklüğü başta olmak üzere diğer aerodinamik özelliklerin, partikül mühendisliği ile optimizasyonudur. Bu amaçla, formülasyon üretimi aşamasında yöntem ve yardımcı maddelerin formülasyona etkisi incelenerek en uygun özelliklere sahip partikül tasarımı yapılmaktadır. Taşıyıcı olarak laktoz, dispersibilite artırıcı olarak lösin, kuvvet kontrol ajanı olarak Mg stearat veya Na stearat, KTİ formülasyonlarında en çok kullanılan yardımcı maddelerdir. Üretim yöntemleri değerlendirildiğinde ise, tek bir işlemler partikül büyüklüğü ve partikül morfolojisini optimize etmekle kalmayıp aynı zamanda sonuç ürün olan kuru toz elde etmeyi sağlayan püskürterek kurutma yöntemi öne çıkmaktadır. Üretilen KTİ'lerin akciğerde dağılımlarını kapasitelerini ölçmek için farmakopelerde cam ikili ayırıştırıcı, *Marple Miller Cascade Impactor*; Andersen Kademeli Ayırıştırıcı ve Yeni Nesil Ayırıştırıcı cihazları tarif edilmektedir. Cam ikili ayırıştırıcı düzeneği, tozları iki fraksiyona ayırdığı için, tozlar hakkında ön bilgi vermekle birlikte detaylı partikül büyüklüğü dağılımı bilgisi vermemektedir. *Marple Miller Cascade Impactor* cihazı, tozları 5 fraksiyona ayırmakta ve cihaz tamamen sökülmeden fraksiyonlarına ayrılmış tozların toplanmasını sağlamaktadır. Fakat sökülmeyen kısımlarda biriken tozları elde etmek mümkün olmayacağı için verim düşük ve kontaminasyon riski yüksektir. Günümüzde en çok Andersen Kademeli Ayırıştırıcı ve Yeni Nesil Ayırıştırıcı cihazları kullanılmaktadır. Andersen Kademeli Ayırıştırıcı cihazı 8, Yeni Nesil Ayırıştırıcı cihazı 7 aşamadan oluşmaktadır ve partikülleri aerodinamik çaplarına göre etkin bir şekilde fraksiyonlarına ayırabilmektedir. Yeni Nesil Ayırıştırıcı, Andersen Kademeli Ayırıştırıcıya göre kullanımı daha kolay bir cihazdır ve inhalerlerde kullanım için adapte edilmemiş, araştırmacılar tarafından doğrudan

inhalerlerin analizi için tasarlanmıştır. Üretim yöntemleri, yardımcı maddeler ve analiz cihazlarındaki gelişmeler ile pulmoner ilaç uygulaması önemli bir yol katetmiştir.

## Kaynaklar

- Rodrigo GJ: Rapid effects of inhaled corticosteroids in acute asthma. *Chest* 2006, 130(5):1301-11.
- Erin EM, Zacharasiewicz AS, Nicholson GC, Tan AJ, Neighbour H, Engelstätter R, et al: Rapid effect of inhaled ciclesonide in asthma. *Chest* 2008, 134(4):740-5.
- Scheuch G, Zimlich WC, Siekmeier R. Biophysical Parameters Determining Pulmonary Drug Delivery. In: BechtoldPeters K, Luessen H (eds), *Pulmonary Drug Delivery*, Druckerei Marquart GmbH, Stuttgart, Germany. 2007:17-46.
- Blau H, Mussaffi H, Mei Zahav M, Prais D, Livne M, Czitrion BM, et al: Microbial contamination of nebulizers in the home treatment of cystic fibrosis. *Child: Care, Health and Development* 2007, 33(4):491-5.
- Cohen HA, Cohen Z, Pomeranz AS, Czitrion B, Kahan E: Bacterial contamination of spacer devices used by asthmatic children. *Journal of Asthma* 2005, 42(3):169-72.
- de Vries TW, Rienstra SR, van der Vorm ER: Bacterial contamination of inhalation chambers: results of a pilot study. *Journal of Aerosol Medicine* 2004, 17(4):354-6.
- Sung JC, Pulliam BL, Edwards DA: Nanoparticles for drug delivery to the lungs. *Trends in Biotechnology* 2007, 25(12):563-70.
- Castelli F, Conti B, Conte U, Puglisi G: Effect of molecular weight and storage times on tolmetin release from poly-d,l-lactide microspheres to lipid model membrane. A calorimetric study. *Journal of Controlled Release* 1996, 40(3):277-84.
- Dickinson PA, Kellaway IW, Taylor G, Mohr D, Nagels K, Wolff H-M: In vitro and in vivo release of estradiol from an intra-muscular microsphere formulation. *International Journal of Pharmaceutics* 1997, 148(1):55-61.
- 2.9.18. Preparations For Inhalation: Aerodynamic Assessment of Fine Particles. *European Pharmacopoeia* 51. 5.1. p. 2799-811.
- USP Pharmacopoeial Forum Volume 28, Number 2, 2002, p. 601-603.
- Courrier HM, Butz N, Vandamme TF: Pulmonary drug delivery systems: recent developments and prospects. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 2002, 19(4-5):425-98.
- Zhao X, Ju Y, Liu C, Li J, Huang M, Sun J, et al: Bronchial anatomy of left lung: a study of multi-detector row CT. *Surgical and Radiologic Anatomy* 2009, 31(2):85-91.
- Fahlman A: The pressure to understand the mechanism of lung compression and its effect on lung function. *Journal of Applied Physiology* 2008, 104(4):907-8.
- Kohlhauff M. Understanding Clinical Aerosol Therapy: Physiological Aspects of the Respiratory System and Current Inhalation Therapy in Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Asthma. In: BechtoldPeters K, Luessen H (eds), *Pulmonary Drug Delivery*, Druckerei Marquart GmbH, Stuttgart, Germany. 2007:12-16.
- Gaughan C, Panos AL. Anatomy of the Lungs. In: Gabriel EA, Salerno T (eds), *Principles of Pulmonary Protection in Heart Surgery*. Springer, London, England. 2010:3-8.
- Taylor, K. Pulmonary Drug Delivery. In: Aulton ME (eds), *Pharmaceutics, The Science of Dosage Form Design*. Elsevier Limited, Spain. 2002: 473-488.
- O'Donnell KP, Smyth HDC. Macro- and Microstructure of the Airways for Drug Delivery. In: Smyth H, Hickey A (eds), *Controlled Pulmonary Drug Delivery*. Springer-Verlag, London, England. 2014:1-20.
- Aerosal&aerosal Drug Delivery System; 2017 February 19. Available from: <http://www.slideshare.net/AllergyChula/aerosal-aerosal-drug-delivery-system> [Website]
- Bur M, Bock U, Haltner-Ukomadu E, Lehr CM. In Vitro Models for Pulmonary Drug Absorption. In: BechtoldPeters K, Luessen H (eds), *Pulmonary Drug Delivery*, Druckerei Marquart GmbH, Stuttgart, Germany. 2007:47-58.
- Houtmeyers E, Gosselink R, Gayan-Ramirez G, Decramer M: Regulation of mucociliary clearance in health and disease. *The European Respiratory Journal* 1999, 13(5):1177-88.
- Evora C, Soriano I, Rogers RA, Shakesheff KN, Hanes J, Langer R: Relating the phagocytosis of microparticles by alveolar macrophages to surface chemistry: the effect of 1,2-dipalmitoylphosphatidylcholine. *Journal of Controlled Release* 1998, 51(2-3):143-52.
- Ng K-y, Stringer KA, Cohen Z, Serravo R, Tian B, Meyer JD, et al: Alveolar macrophage cell line is not activated by exposure to polymeric microspheres. *International Journal of Pharmaceutics* 1998, 170(1):41-9.
- Labiris NR, Dolovich MB: Pulmonary drug delivery. Part I: physiological factors affecting therapeutic effectiveness of aerosolized medications. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2003, 56(6):588-99.
- Groneberg DA, Witt C, Wagner U, Chung KF, Fischer A: Fundamentals of pulmonary drug delivery. *Respiratory Medicine* 2003, 97(4):382-7.
- Brzoska M, Langer K, Coester C, Loitsch S, Wagner TO, Mallinckrodt C: Incorporation of biodegradable nanoparticles into human airway epithelium cells-in vitro study of the suitability as a vehicle for drug or gene delivery in pulmonary diseases. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2004, 318(2):562-70.
- Jansen M, Darby I, Abribat T, Dubreuil P, Ferdinandi ES, Hardy JG: Pulmonary delivery of TH9507, a growth hormone releasing factor analogue, in the dog. *International Journal of Pharmaceutics* 2004, 276(1-2):75-81.
- Bosquillon C, Pr at V, Vanbever R: Pulmonary delivery of growth hormone using dry powders and visualization of its local fate in rats. *Journal of Controlled Release* 2004, 96(2):233-44.
- Bivas-Benita M, van Meijgaarden KE, Franken KLMC, Junginger HE, Borchard G, Ottenhoff THM, et al: Pulmonary delivery of chitosan-DNA nanoparticles enhances the immunogenicity of a DNA vaccine encoding HLA-A\*0201-restricted T-cell epitopes of *Mycobacterium tuberculosis*. *Vaccine* 2004, 22(13-14):1609-15.
- Reynolds PN: Delivery of DNA to pulmonary endothelium using adenoviral vectors. *Methods in Molecular Biology* 2004, 246:69-89.
- Brain JD: Inhalation, deposition, and fate of insulin and other therapeutic proteins. *Diabetes Technology & Therapeutics* 2007, 9 Suppl 1:S4-S15.
- Okamoto H, Todo H, Iida K, Danjo K: Dry powders for pulmonary delivery of peptides and proteins. *Kona* 2002, 20:71-83.
- Johnson KA: Preparation of peptide and protein powders for inhalation. *Advanced Drug Delivery Reviews* 1997, 26(1):3-15.
- Ruffin RE, Dolovich MB, Wolff RK, Newhouse MT: The effects of preferential deposition of histamine in the human airway. *The American Review of Respiratory Disease* 1978, 117(3):485-92.
- Hussain A, Arnold JJ, Khan MA, Ahsan F: Absorption enhancers in pulmonary protein delivery. *Journal of Controlled Release* 2004, 94(1):15-24.
- Koshkina NV, Agoulnik IY, Melton SL, Densmore CL, Knight V: Biodistribution and pharmacokinetics of aerosol and intravenously administered DNA-polyethyleneimine complexes: optimization of pulmonary delivery and retention. *Molecular Therapy* 2003, 8(2):249-54.
- Karłowicz MG. Long-term pulmonary consequences of elective cesarean delivery. *Jama* 2002, 288(11):1352.
- Mozafari MR, Reed CJ, Rostron C, Kocum C, Piskin E: Formation and characterisation of non-toxic anionic liposomes for delivery of therapeutic agents to the pulmonary airways. *Cellular and Molecular Biology Letters* 2002, 7(2):243-4.
- Bruck A, Abu-Dahab R, Borchard G, Schafer UF, Lehr CM: Lectin-functionalized liposomes for pulmonary drug delivery: interac-

- tion with human alveolar epithelial cells. *Journal of Drug Targeting* 2001, 9(4):241-51.
40. Emami J, Hamishehkar H, Najafabadi AR, Gilani K, Minaiyan M, Mahdavi H, et al: Particle size design of PLGA microspheres for potential pulmonary drug delivery using response surface methodology. *Journal of Microencapsulation* 2009, 26(1):1-8.
  41. Chono S, Tanino T, Seki T, Morimoto K: Influence of particle size on drug delivery to rat alveolar macrophages following pulmonary administration of ciprofloxacin incorporated into liposomes. *Journal of Drug Targeting* 2006, 14(8):557-66.
  42. Adjei A, Garren J: Pulmonary delivery of peptide drugs: effect of particle size on bioavailability of leuprolide acetate in healthy male volunteers. *Pharmaceutical Research* 1990, 7(6):565-9.
  43. Rees PJ, Clark TJ, Moren F: The importance of particle size in response to inhaled bronchodilators. *European Journal of Respiratory Diseases* 1982, 119:73-8.
  44. Ashurst II, Malton A, Prime D, Sumbly B: Latest advances in the development of dry powder inhalers. *Pharmaceutical Science & Technology Today* 2000, 3(7):246-56.
  45. Çelebi, N. Nazal ve Pulmoner Sistemler. In: Gürsoy AZ (eds), *Kontrollü Salım Sistemleri. Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayınları, İstanbul, Turkey. 2002:217-237.*
  46. Sezgi C, Özbay B, Kara M, Doğan E, İşlek A, Uzun K: Astım ve KOAH'lı hastalar için inhaler seçiminde inspiratuar akım hızının önemi. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2004, 2(2):1-6.
  47. Boyacı H, Yücesoy L, Yıldız F, Ilgazlı A, Başıyigit İ: Astımlı hastalarda formoterol, salmeterol, salbutamol ve ipratropium bromürün etki başlama sürelerinin karşılaştırılması. *Solumun Hastalıkları* 2004, 15:1-7.
  48. Türkteş İ: Çocuklarda inhalasyon tedavisi. *Türk Toraks Dergisi* 2002, 3(0):32-4.
  49. Köse S, Karaman Ö, Uzuner N, Ellidokuz H, Turgut CŞ, Tezcan D: Bronşiyal astımlı çocuklarda formoterol kullanımının klinik etkileri. *Toraks Dergisi* 2003, 4(2):168-72.
  50. Frijlink HW, de Boer AH. Nebulization and Administration Devices. In: BechtoldPeters K, Luessen H (eds), *Pulmonary Drug Delivery, Druckerei Marquart GmbH, Stuttgart, Germany. 2007:103-124.*
  51. O'Callaghan C, Barry PW: The science of nebulised drug delivery. *Thorax* 1997, 52 Suppl 2:S31-44.
  52. Le Brun PP, de Boer AH, Gjaltema D, Hagedoorn P, Heijerman HG, Frijlink HW: Inhalation of tobramycin in cystic fibrosis. Part 2: optimization of the tobramycin solution for a jet and an ultrasonic nebulizer. *International Journal of Pharmaceutics* 1999, 189(2):215-25.
  53. Flament MP, Leterme P, Gayot A: Influence of the technological parameters of ultrasonic nebulisation on the nebulisation quality of alpha1 protease inhibitor (alpha1PI). *International Journal of Pharmaceutics* 1999, 189(2):197-204.
  54. Hess DR: Metered-dose inhalers and dry powder inhalers in aerosol therapy. *Respiratory Care* 2005, 50(10):1376-83.
  55. Cipolla D, Chan HK, Schuster J, Farina D: Personalizing aerosol medicine: development of delivery systems tailored to the individual. *Therapeutic Delivery* 2010, 1(5):667-82.
  56. Geller DE, Konstan MW, Smith J, Noonberg SB, Conrad C: Novel tobramycin inhalation powder in cystic fibrosis subjects: pharmacokinetics and safety. *Pediatric Pulmonology* 2007, 42(4):307-13.
  57. Konstan MW, Flume PA, Kappler M, Chiron R, Higgins M, Brockhaus F, et al: Safety, efficacy and convenience of tobramycin inhalation powder in cystic fibrosis patients: The EAGER trial. *Journal of Cystic Fibrosis* 2011, 10(1):54-61.
  58. Smith IJ, Parry-Billings M: The inhalers of the future? A review of dry powder devices on the market today. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 2003, 16(2):79-95.
  59. Telko MJ, Hickey AJ: Dry powder inhaler formulation. *Respiratory Care* 2005, 50(9):1209-27.
  60. Coates MS, Chan HK, Fletcher DF, Raper JA: Influence of air flow on the performance of a dry powder inhaler using computational and experimental analyses. *Pharmaceutical Research* 2005, 22(9):1445-53.
  61. Son YJ, McConville JT: A new respirable form of rifampicin. *European Journal Of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2011, 78(3):366-76.
  62. Srichana T, Martin GP, Marriott C: Dry powder inhalers: the influence of device resistance and powder formulation on drug and lactose deposition in vitro. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 1998, 7(1):73-80.
  63. Quality Solutions for Inhaler Testing; 2017 March 14. Available from: [http://www.copleyscientific.com/files/ww/brochures/Inhaler%20Testing%20Brochure%202015\\_Rev4\\_Low%20Res.pdf](http://www.copleyscientific.com/files/ww/brochures/Inhaler%20Testing%20Brochure%202015_Rev4_Low%20Res.pdf). [Website]
  64. Marek SR, Donovan MJ, Smyth HD: Effects of mild processing pressures on the performance of dry powder inhaler formulations for inhalation therapy. 1: Budesonide and lactose. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2011, 78(1):97-106.
  65. Zhou QT, Morton DA: Drug-lactose binding aspects in adhesive mixtures: controlling performance in dry powder inhaler formulations by altering lactose carrier surfaces. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2012, 64(3):275-84.
  66. Kaialy W, Martin GP, Larhrib H, Ticehurst MD, Kolosionek E, Nokhodchi A: The influence of physical properties and morphology of crystallised lactose on delivery of salbutamol sulphate from dry powder inhalers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2012, 89:29-39.
  67. Donovan MJ, Smyth HD: Influence of size and surface roughness of large lactose carrier particles in dry powder inhaler formulations. *International Journal of Pharmaceutics* 2010, 402(1-2):1-9.
  68. Steckel H, Bolzen N: Alternative sugars as potential carriers for dry powder inhalations. *International Journal of Pharmaceutics* 2004, 270(1-2):297-306.
  69. Zhou QT, Qu L, Larson I, Stewart PJ, Morton DA: Improving aerosolization of drug powders by reducing powder intrinsic cohesion via a mechanical dry coating approach. *International Journal of Pharmaceutics* 2010, 394(1-2):50-9.
  70. Zhou QT, Qu L, Gengenbach T, Larson I, Stewart PJ, Morton DA: Effect of surface coating with magnesium stearate via mechanical dry powder coating approach on the aerosol performance of micronized drug powders from dry powder inhalers. *AAPS PharmSciTech* 2013, 14(1):38-44.
  71. Zhou QT, Denman JA, Gengenbach T, Das S, Qu L, Zhang H, et al: Characterization of the surface properties of a model pharmaceutical fine powder modified with a pharmaceutical lubricant to improve flow via a mechanical dry coating approach. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2011, 100(8):3421-30.
  72. Zhou QT, Armstrong B, Larson I, Stewart PJ, Morton DA: Understanding the influence of powder flowability, fluidization and de-agglomeration characteristics on the aerosolization of pharmaceutical model powders. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2010, 40(5):412-21.
  73. Parlati C, Colombo P, Buttini F, Young PM, Adi H, Ammit AJ, et al: Pulmonary spray dried powders of tobramycin containing sodium stearate to improve aerosolization efficiency. *Pharmaceutical Research* 2009, 26(5):1084-92.
  74. Belotti S, Rossi A, Colombo P, Bettini R, Rekkas D, Politis S, et al: Spray dried amikacin powder for inhalation in cystic fibrosis patients: a quality by design approach for product construction. *International Journal of Pharmaceutics* 2014, 471(1-2):507-15.
  75. Sou T, Kaminskas LM, Nguyen TH, Carlberg R, McIntosh MP, Morton DA: The effect of amino acid excipients on morphology and solid-state properties of multi-component spray-dried formulations for pulmonary delivery of biomacromolecules. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2013, 83(2):234-43.
  76. Sou T, Orlando L, McIntosh MP, Kaminskas LM, Morton DA: Investigating the interactions of amino acid components on a mannitol-based spray-dried powder formulation for pulmonary delivery: A design of experiment approach. *International Journal of Pharmaceutics* 2011, 421(2):220-9.

77. Hoe S, Ivey JW, Boraey MA, Shamsaddini-Shahrbabak A, Javaheri E, Matinkhoo S, et al: Use of a fundamental approach to spray-drying formulation design to facilitate the development of multi-component dry powder aerosols for respiratory drug delivery. *Pharmaceutical Research* 2014, 31(2):449-65.
78. Pajananen M, Katainen J, Raula J, Kauppinen EI, Lahtinen J: Direct evidence on reduced adhesion of salbutamol sulphate particles due to L-leucine coating. *Powder Technology* 2009, 192(1):6-11.
79. Raula J, Thielmann F, Naderi M, Lehto V-P, Kauppinen EI: Investigations on particle surface characteristics vs. dispersion behaviour of L-leucine coated carrier-free inhalable powders. *International Journal of Pharmaceutics* 2010, 385(1-2):79-85.
80. Elhissi AMA, Taylor KMG: Delivery of liposomes generated from proliposomes using air-jet, ultrasonic, and vibrating-mesh nebulisers. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 2005, 15(4):261-5.
81. Song K-H, Chung S-J, Shim C-K: Preparation and evaluation of proliposomes containing salmon calcitonin. *Journal of Controlled Release* 2002, 84(1-2):27-37.
82. Rojanarat W, Changsan N, Tawithong E, Pinsuwan S, Chan H-K, Srichana T: Isoniazid proliposome powders for inhalation—preparation, characterization and cell culture studies. *International Journal of Molecular Sciences* 2011, 12(7):4414.
83. Patil-Gadhe A, Pokharkar V: Single step spray drying method to develop proliposomes for inhalation: a systematic study based on quality by design approach. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 2014, 27(2):197-207.
84. Salama RO, Traini D, Chan H-K, Sung A, Ammit AJ, Young PM: Preparation and evaluation of controlled release microparticles for respiratory protein therapy. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2009, 98(8):2709-17.
85. Roberts RA, Shen T, Allen IC, Hasan W, DeSimone JM, Ting JP: Analysis of the murine immune response to pulmonary delivery of precisely fabricated nano- and microscale particles. *Plos One* 2013, 8(4):e62115.
86. Dailey LA, Jekel N, Fink L, Gessler T, Schmehl T, Wittmar M, et al: Investigation of the proinflammatory potential of biodegradable nanoparticle drug delivery systems in the lung. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2006, 215(1):100-8.
87. Tomaszewski JF, Cohen AM, Doershuk CF: Longterm histopathologic follow-up of bronchial arteries after therapeutic embolization with polyvinyl alcohol (Ivalon) in patients with cystic fibrosis. *Human Pathology* 1988, 19(5):555-61.
88. Sham JO, Zhang Y, Finlay WH, Roa WH, Lobenberg R: Formulation and characterization of spray-dried powders containing nanoparticles for aerosol delivery to the lung. *International Journal of Pharmaceutics* 2004, 269(2):457-67.
89. Wang Y, Kho K, Chew WS, Hadinoto K: A comparison between spray drying and spray freeze drying for dry powder inhaler formulation of drug-loaded lipid-polymer hybrid nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics* 2012, 424(1-2):98-106.
90. Yamasaki K, Kwok PCL, Fukushige K, Prud'homme RK, Chan H-K: Enhanced dissolution of inhalable cyclosporine nano-matrix particles with mannitol as matrix former. *International Journal of Pharmaceutics* 2011, 420(1):34-42.
91. Tsapis N, Bennett D, Jackson B, Weitz DA, Edwards DA: Trojan particles: large porous carriers of nanoparticles for drug delivery. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America* 2002, 99(19):12001-5.
92. D'Addio SM, Chan JGY, Kwok PCL, Benson BR, Prud'homme RK, Chan H-K: Aerosol delivery of nanoparticles in uniform mannitol carriers formulated by ultrasonic spray freeze drying. *Pharmaceutical Research* 2013, 30(11):2891-901.
93. Chew WS, Ng MLL, Kho K, Hadinoto K: Spray-freeze-drying production of thermally sensitive polymeric nanoparticle aggregates for inhaled drug delivery: Effect of freeze-drying adjuvants. *International Journal of Pharmaceutics* 2011, 404(1-2):289-300.
94. Valero J, Egea MA, Espina M, Gamisans F, Garcia ML: Effect of polymerization coadjuvants on nanocapsule elaboration and triamcinolone entrapment. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 1996, 22(2):167-73.
95. Zhang J, Wu L, Chan H-K, Watanabe W: Formation, characterization, and fate of inhaled drug nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2011, 63(6):441-55.
96. Feng S-S, Mu L, Chen B-H, Pack D: Polymeric nanospheres fabricated with natural emulsifiers for clinical administration of an anticancer drug paclitaxel (Taxol®). *Materials Science and Engineering: C* 2002, 20(1-2):85-92.
97. Muller RH, Mader K, Gohla S: Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2000, 50(1):161-77.
98. Brewster ME, Loftsson T: Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2007, 59(7):645-66.
99. Duchene D, Wouessidjewe D, Ponchel G: Cyclodextrins and carrier systems. *Journal of Controlled Release* 1999, 62(1-2):263-8.
100. Pilcer G, Amighi K: Formulation strategy and use of excipients in pulmonary drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics* 2010, 392(1-2):1-19.
101. Burke PA. *Controlled Release Protein Therapeutics: Effects of Process and Formulation on Stability*. In: Wise DL (eds), *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*. Marcel Dekker Inc, New York, USA. 2000:661-692.
102. Jain RA: The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices. *Biomaterials* 2000, 21(23):2475-90.
103. Freitas S, Merkle HP, Gander B: Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology. *Journal of Controlled Release* 2005, 102(2):313-32.
104. Mundargi RC, Babu VR, Rangaswamy V, Patel P, Aminabhavi TM: Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly(D,L-lactide-co-glycolide) and its derivatives. *Journal of Controlled Release* 2008, 125(3):193-209.
105. Russo P, Sacchetti C, Pasquali I, Bettini R, Massimo G, Colombo P, et al: Primary microparticles and agglomerates of morphine for nasal insufflation. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2006, 95(12):2553-61.
106. Li HY, Seville PC, Williamson IJ, Birchall JC: The use of amino acids to enhance the aerosolisation of spray-dried powders for pulmonary gene therapy. *The Journal of Gene Medicine* 2005, 7(3):343-53.
107. Li HY, Neill H, Innocent R, Seville P, Williamson I, Birchall JC: Enhanced dispersibility and deposition of spray-dried powders for pulmonary gene therapy. *Journal of Drug Targeting* 2003, 11(7):425-32.
108. Ely L, Roa W, Finlay WH, Lobenberg R: Effervescent dry powder for respiratory drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2007, 65(3):346-53.
109. Chan HK, Clark A, Gonda I, Mumenthaler M, Hsu C: Spray dried powders and powder blends of recombinant human deoxyribonuclease (rhDNase) for aerosol delivery. *Pharmaceutical Research* 1997, 14(4):431-7.
110. Corrigan DO, Healy AM, Corrigan OI: The effect of spray drying solutions of polyethylene glycol (PEG) and lactose/PEG on their physicochemical properties. *International Journal of Pharmaceutics* 2002, 235(1-2):193-205.
111. Mosen K, Backstrom K, Thalberg K, Schaefer T, Axelsson A, Kristensen HG: The apparent plasticizing effect of polyethylene glycol (PEG) on the crystallinity of spray dried lactose/PEG composites. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2006, 64(2):206-11.
112. Louey MD, Van Oort M, Hickey AJ: Aerosol dispersion of respirable particles in narrow size distributions using drug-alone and lacto-

- se-blend formulations. *Pharmaceutical Research* 2004, 21(7):1207-13.
113. Hadinoto K, Phanapavudhikul P, Kewu Z, Tan RB: Dry powder aerosol delivery of large hollow nanoparticulate aggregates as prospective carriers of nanoparticulate drugs: effects of phospholipids. *International Journal of Pharmaceutics* 2007, 333(1-2):187-98.
114. Edwards DA, Hanes J, Caponetti G, Hrkach J, Ben-Jebria A, Eskew ML, et al: Large porous particles for pulmonary drug delivery. *Science* 1997, 276(5320):1868-71.
115. Brannon-Peppas L, Vert M. Polylactic and Polyglycolic Acids as Drug Delivery Carriers. In: Wise DL (eds), *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*. Marcel Dekker Inc, New York, USA. 2000:99-110.
116. Takada S, Uda Y, Toguchi H, Ogawa Y: Application of a spray drying technique in the production of TRH-containing injectable sustained-release microparticles of biodegradable polymers. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 1995, 49(4):180-4.
117. Johnson OL, Jaworowicz W, Cleland JL, Bailey L, Charnis M, Duenas E, et al: The stabilization and encapsulation of human growth hormone into biodegradable microspheres. *Pharmaceutical Research* 1997, 14(6):730-5.
118. Columbano A, Buckton G, Wikeley P: A study of the crystallisation of amorphous salbutamol sulphate using water vapour sorption and near infrared spectroscopy. *International Journal of Pharmaceutics* 2002, 237(1-2):171-8.
119. Grisedale LC, Jamieson MJ, Belton PS, Barker SA, Craig DQ: Characterization and quantification of amorphous material in milled and spray-dried salbutamol sulfate: a comparison of thermal, spectroscopic, and water vapor sorption approaches. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2011, 100(8):3114-29.
120. Gaisford S: Isothermal microcalorimetry for quantifying amorphous content in processed pharmaceuticals. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2012, 64(5):431-9.
121. Tiddens HA, Geller DE, Challoner P, Speirs RJ, Kesser KC, Overbeek SE, et al: Effect of dry powder inhaler resistance on the inspiratory flow rates and volumes of cystic fibrosis patients of six years and older. *Journal of Aerosol Medicine* 2006, 19(4):456-65.
122. Son Y, Mitchell JP, McConville JT. In Vitro Performance Testing for Pulmonary Drug Delivery. In: Smyth H, Hickey A (eds), *Controlled Pulmonary Drug Delivery*. Springer-Verlag, London, England. 2014: 384-415.