

# ACTA

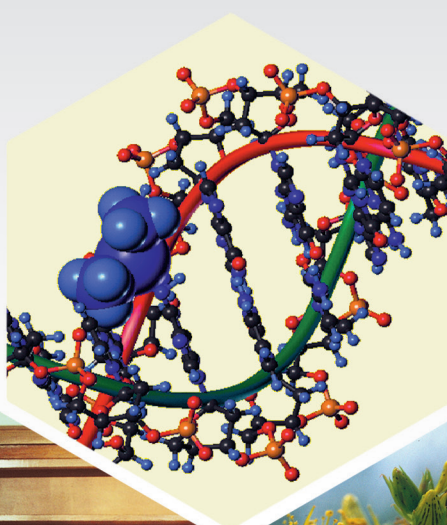
## PHARMACEUTICA HUNGARICA

# 1.

## 2018

APHGAO 88, (043) 1–44. (2018)

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság tudományos folyóirata





# A C T A PHARMACEUTICA H U N G A R I C A

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság folyóirata

*Főszerkesztő:*

Noszál Béla, Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet  
1092 Budapest, Hőgyes E. u. 9.  
Tel.: 217-0891;  
E-mail: nosbel@hogyes.sote.hu

*Felelős szerkesztő:*

Zelkó Romána, Semmelweis Egyetem, Egyetemi Gyógyszertár,  
Gyógyszerügyi Szervezési Intézet,  
1092 Budapest, Hőgyes E. u. 7-9.  
Tel.: 217-0927;  
E-mail: zelrom@hogyes.sote.hu

*A szerkesztőbizottság tagjai:*

Ambrus Rita, Báthori Mária, Borbás Anikó, Horváth Györgyi,  
Perjési Pál, Tóthfalusi László

*A szerkesztőség címe – Correspondence:*

Acta Pharmaceutica Hungarica  
1092 Budapest, Hőgyes Endre u. 9.

*A főszerkesztő munkatársa:*

Hankó Zoltán MGYT,  
1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16.  
Tel.: 235-0999; fax: 235-0998

---

## TARTALOM

<i>Chvatal Anita, Farkas Árpád, Balásházy Imre, Hopp Béla, Szabóné Révész Piroska, Ambrus Rita: Új generációs meloxicám-kálium tartalmú inhalációs készítmények fejlesztése és in vitro-in silico aerodinamikai tulajdonságainak vizsgálata ... ..</i>	3
<i>Jójátrné Laczkovich Orsolya, Bónis Erzsébet, Németh Zsófia, Szabóné Révész Piroska: Liposzómák átlagos vezikulaméretének befolyásolása búzacsíra olajjal ... ..</i>	9
<i>Gyulai Orsolya, Aigner Zoltán: A szférikus kristályosítás típusai, jelentősége a gyógyszeriparban ... ..</i>	17
<i>Kovács Andrea, Palcsó Barnabás, Zelkó Romána: Elektrosztatikus szálképzéssel előállított szálás hatóanyag-hordozó rendszerek vizsgálatának lehetőségei ... ..</i>	27

## CONTENTS

<i>Chvatal, A., Farkas, Á., Balásházy, I., Hopp, B., Szabó-Révész, P., Ambrus, R.: Formulaion and in vitro-in silico aerodynamical assesment of carrier-free dry powder inhalation systems . . . . .</i>	3
<i>Jójárt-Laczkovich, O., Bónis, E., Németh, Zs., Szabó-Révész, P.: Influence of wheat germ oil content on mean vesicle size of liposomes . . . . .</i>	9
<i>Gyulai, O., Aigner, Z.: Types of the spherical crystallization methods and their application in pharmaceutical industry. . . . .</i>	17
<i>Kovács, A., Palcsó, B., Zelkó, R.: Preformulation and formulation studies of electrospun micro- and nanofiber based drug delivery systems . . . . .</i>	27

Acta Pharmaceutica Hungarica: [www.mgyt.hu](http://www.mgyt.hu)

„Acta Pharmaceutica Hungarica” a Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság tudományos folyóirata  
Kiadja a Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság, 1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16. Telefon: 235-09-99; E-mail: szerkesztoseg@mgyt.hu

**Felelős kiadó: Prof. Dr. Szökő Éva**

Előfizethető: Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság, 1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16., belföldi postautalványon vagy átutalással  
az MGYT átutalási számlájára: OTP VIII. kerületi fiók, Budapest, József krt. 33.

MGYT elszámolási számla sz. 11708001–20530530

Adószám: 19000754–2–42

Előfizetési díj egész évre: 6000 Ft + 300 Ft áfa  
Megjelenik negyedévenként. Példányszám: 700 db

Tördelőszerkesztő: *Oláh Csaba*

Sokszorosítás: ColorToys Bt.

# Új generációs meloxicám-kálium tartalmú inhalációs készítmények fejlesztése és *in vitro-in silico* aerodinamikai tulajdonságainak vizsgálata

CHVATAL ANITA<sup>1</sup>, FARKAS ÁRPÁD<sup>2</sup>, BALÁSHÁZY IMRE<sup>2</sup>, HOPP BÉLA<sup>3</sup>,  
SZABÓNÉ RÉVÉSZ PIROSKA,<sup>1</sup> AMBRUS RITA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet, 6720 Szeged, Eötvös utca 6.

<sup>2</sup>Magyar Tudományos Akadémia Energiatudományi Kutatóközpont, Környezetfizikai Laboratórium, 1121 Budapest, Thege Miklós utca 29-33.

<sup>3</sup>Szegedi Tudományegyetem, Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék, 6720 Szeged, Dóm tér 9.

## Summary

CHVATAL, A., FARKAS, Á., BALÁSHÁZY, I., HOPP, B., SZABÓ-RÉVÉSZ, P., AMBRUS, R.: *Formulaion and in vitro-in silico aerodynamical assesment of carrier-free dry powder inhalation systems*

**Introduction:** The newest researches report about several high potency carrier-free DPI (dry powder inhaler) formulations. In all of these cases, special additives are applied in the particle designing phase to make the particles easy to handle during manufacturing and implement an enhanced aerosolization property for the inhalation. The aerosolization properties are usually carried out using *in vitro* characterization by Ph. Eur. 6. The new researches complete the development with validated *in silico* modelling, to obtain realistic aerodynamics and to optimize the formulation.

**Aims:** The present work is focusing on the inhalable meloxicam-potassium (MXK) DPI formulation and on the determination of the aerodynamic properties with two methods: first to establish the aerosolization efficacy *in vitro*, secondly to apply a validated *in silico* method to specify the aerodynamical behavior based on realistic parameters.

**Methods:** Different types of excipients (PVA, leucine, and ethanol) were used to increase aerosolization efficacy of the spray dried particles. The aerodynamical effectiveness of the prepared particles were tested *in vitro* with Andersen Cascade Impactor simulating 30 L/min inhalation flow rate. A new *in silico* Stochastic Lung Model was also applied to quantify the amount of particles deposited in the different regions of the respiratory system. The combination of the two methods offers a more exact characterization of the aerodynamic properties of the dry powder samples

**Results:** The spray-dried samples had a deep lung deposited fraction than 50% (FPF value) and the particle sizes were in the required 1–5  $\mu\text{m}$  (MMAD value) range in the *in vitro* characterization. The emitted dose in most of the samples were also high (~ 90%), indicating a favorably weak adhesive character between the powder and the capsule. While the realistic *in silico* modelling gives an exact aerodynamic behavior of the samples completing the testing with extra data (ex. bronchial and acinar deposited doses and exhaled doses).

**Conclusion:** In accordance with our aims, the co-spray dried powder containing MXK were found to have good aerosolization behavior, suitable for effective inhalation and deposition. Our study makes good ground for further investigations of the *in vitro-in silico* effectiveness and of a potential new method of aerodynamical behavior simulation.

**Keywords:** pulmonary drug delivery system, Stochastic Lung model, DPI, Andersen Cascade Impactor, spray drying

## Összefoglalás

**Bevezetés:** Az innovatív formulálási stratégiáknak köszönhetően a hordozó mentes száraz porinhalációs készítményeknek (carrier-free systems, új generációs rendszerek) egyre nagyobb jelentőségük van a légzőrendszeri megbetegedések kezelésében. Az aerodinamikai tulajdonságok igazolására Gyógyszerkönyvi *in vitro* vizsgálómódszerek állnak rendelkezésre. Emellett, az újabb fejlesztéseknél *in silico* vizsgálmódszereket is alkalmaznak, a realisabb aerodinamikai sajátságok meghatározása és a további összetételek optimalizálása érdekében.

**Célkitűzés:** Jelen munka célja olyan új generációs DPI készítmények (dry powder inhaler, száraz porinhalációs rendszer) fejlesztése és komplex aerodinamikai vizsgálatának elvégzése, amelyek alkalmasak lehetnek vízdékony hatóanyag (meloxicám-kálium, MXK) tüdőn keresztüli bevitelére. Kooperációs munkánk során elsőként alkalmaztuk az *in vitro* és *in silico* aerodinamikai tulajdonságok meghatározását, amellyel realisztikusabb képet lehet kapni a részecskék inhalációs alkalmasságáról.

**Módszerek:** Korábbi kutatási eredményeinket alapul véve továbbfejlesztett DPI készítményeket állítottunk elő különböző segédanyag kombináció (poli-vinil-alkohol, leucin, etanol) és koporlasztós módszer alkalmazásával. Az *in silico* vizsgálómódszerrel tüdőszegmensenként (pl. bronchiális és acináris részek) a hatóanyag szimulált kiülepedését és a kilélegzett mennyiségét is meghatároztuk, figyelembe véve klinikai vizsgálatokból származó spirometriai adatokat.

**Eredmények:** Az *in vitro* vizsgálat során megállapítható, hogy a ko-porlasztott mintáknál 50% feletti tüdődózis érhető el (FPF érték), a részecskék mérete az inhalációra alkalmas 1-5  $\mu\text{m}$ -es tartományba esik (MMAD érték), míg a kapszulából felszabadult emittált dózis 90% fölötti. Az *in silico* vizsgálat pontosította a méréseket: kiszámoltuk a kilélegzett dózisokat, amely az eddigi módszerekkel nem volt megállapítható. Ezen felül, pontosítani tudtuk az acináris és bronchiális területek közötti depozíciós eloszlásokat.

**Következtetések:** Az *in vitro* és *in silico* vizsgálatok kombinálása igéretes lehetőségeket kínál az inhalációs részecskék hatékony ellenőrzésére és a formulálás optimalizálására. Jobban tervezhető gyógyszeradagolás valósítható meg, amely betegségre, egyénre és készítményre jellemző adatokat is figyelembe vesz.

**Kulcsszavak:** száraz porinhalációs rendszerek, Sztochasztikus Tüdőmodell, porlasztó-szárítás, Andersen-féle kaszkádimpaktor

## Bevezetés

A pulmonális gyógyszerbevitel különösen fontosá vált a tüdőt érintő betegségek kezelésében. A porinhalációs (DPI, *dry powder inhaler*) készítmények kiemelkedő stabilitása, biztonságos alkalmazása és hatékonysága miatt elterjedté váltak az utóbbi évtizedekben a lokális és a szisztémás terápiában is [1]. Az innovatív technológiai megoldások lehetőséget adnak hatékonyabb készítmények előállítására. A formulálás szempontjából két nagyobb csoportosítás szerint klasszikus hordozó alapú és úgynevezett hordozó mentes (új generációs) rendszereket különböztetünk meg [2]. Egyik újabb lehetőség, hogy nem csak a hatóanyagot, de a hordozó szemcséket is formulálják (pl. felületkezelés). Korábbi közleményünkben már bemutattuk az egyes segédanyagok befolyását a hordozók szerkezeti és *in vitro* aerodinamikai sajátságaira [2]. A vizsgálatokból megállapítható volt, hogy kis mennyiségű alkohol alkalmazása kedvezően befolyásolja a mikrometriai jellemzőket (méret, felület, alak), míg a leucint is tartalmazó minták bizonyultak a legalkalmasabbnak pulmonális bevitel céljára, köszönhetően a magas tüdődepozíciónak. Az előállított, módosított felületű hordozórendszerek alkalmasak lehetnek mind vízdékony, mind kevésbé vízdékony hatóanyagok hordozására és DPI készítmények hordozó rendszereiként kerülhetnek felhasználásra. A legújabb fejlesztések az új generációs DPI készítményeket is előnyben részesítik. Az új generációs készítményeknél már nem egy különálló, nagyméretű hordozóra viszik fel a mikroméretű hatóanyagot, hanem a megfelelő aditívakkal alakítják ki a hatóanyagot is magába foglaló komplex hordozó-szerkezetet. Az előállításához olyan segédanyagokat alkalmaznak, amelyek az aeroszolizációt is növelik (pl. aminosavak, porozitás növelő segédanyagok, vázalkotók) és könnyen irányítható, pontosabban adagolható készítményt eredményeznek. A hatóanyag magába foglalására alkalmas vázalkotók rendszerint valamilyen polimer (PVA, PVP), nagyobb mennyiségű cukoralkohol (pl. mannit) vagy például PLGA (poli-laktát-ko-glikolsav).

Az optimális formulálás és előállítási technológia mellett nagyon fontos a megfelelő ellenőrző vizsgálatok elvégzése az inhalációs alkalmasság igazolásához. A VIII. Magyar Gyógyszerkönyvben hivatalos vizsgálómódszerek állnak rendelkezésre a termékek aerodinamikai tulajdonságainak ellenőrzésére: A – készülék, C – többszintes folyadékfelfogó készülék, D – Andersen-féle kaszkádimpaktor és E készülékek – vízszintes elhelyezke-

désű kaszkádimpaktor) [3]. Az ellenőrzések során meghatározható a finom részecske frakció (*Fine Particle Fraction, FPF*, amely a kapszulába mért hatóanyag mennyiségnek azon százalékos aránya, amelyik az 1,1-5,7  $\mu\text{m}$ -es hatékonyan belélegezhető és deponálódó tartományba esik), az átlagos aerodinamikai átmérő (*Mass Median Aerodynamic Diameter, MMAD*, a részecskék egységnyi tömegére vonatkoztatott átmérője) és az emittált dózis is (*ED, emitted dose*, a kapszulába töltött és a belélegeztetett minta mennyiség %-os aránya). A készülékek fix levegőáramlás mellett modellezik a berendezések adott szegmenseiben kitapadó hatóanyag mennyiségét. Akár az inhalációs készülékek különböző ellenállásai, akár a készítmények eltérései miatt nagy különbségek lehetnek a vizsgálatok eredményeiben. Az *in vitro* módszerek, amelyeket a leggyakrabban alkalmaznak, nem modellezik megfelelő pontossággal a készítmények légzőrendszerben kialakult dinamikáját. Újabb tanulmányok során számítógépes szimulációt is igénybe vesznek, amely sokkal pontosabb képet ad a termékek valós viselkedéséről. Ilyen *in silico* modellek között kell említeni a részecskék áramlásának és depozíciójának vizsgálatára alkalmas 3D légzőrendszeri nyomtató technikát és a valós spirometriai jellemzőket is figyelembe vevő Sztochasztikus Tüdőmodellt is. Ez utóbbi esetben a számítógépes modellezés bemenő adataiként a betegek korát és nemét, a betegség típusát és súlyosságát, az inhalációs készülék típusát és ellenállását, valamint a DPI készítmény tulajdonságait (részecskeméret, alak, sűrűség) is figyelembe vevő paraméterek adhatóak meg. A hivatalos vizsgálómódszerektől eltérően, időben változó belégzési levegőáram is alkalmazható, amely modellezi a felerősödő majd lecsökkenő erősségű belégzést. A precízebb modellezés során számítható a felső és alsólégúti depozíció (külön teljes tüdőre és részletesebben bronchiális és acináris depozíció), valamint a kilélegzett frakció is.

Jelen munka célja új generációs készítmények előállítása és vizsgálata, amelyhez *in vitro* és *in silico* vizsgálati módszerek kombinálását alkalmaztuk [4]. A bemutatott kísérletsorozatban vízdékony hatóanyag (meloxicám-kálium, MXK) formulálását végeztük. A mintákat ko-porlasztva szárítással, a megfelelő segédanyag kombinációk felhasználásával állítottuk elő. A munka újdonságtartalma az aerodinamika ellenőrzésére használt *in vitro-in silico* kombinált vizsgálatssorozat, amellyel realisabb képet lehet kapni a minták aerodinamikai viselkedéséről és pulmonális alkalmasságáról.

## Alkalmazott anyagok

Hatóanyagként a korábban már vizsgált nem szteroid gyulladáscsökkentő meloxicám vízdoldékony sóját, a meloxicám-káliumot (MXK) használtuk [5]. A minták előállításakor felhasználtuk az eddigi tapasztalatainkat és jól kontrollálható, iparban is gyakori porlasztva szárítást alkalmaztunk, a hatóanyagot és segédanyagokat tartalmazó oldatból kiindulva. A munka újdonsága az, hogy az oldatkészítésnél 10 v/v% 96%-os etanol (EtOH) (és a korábbiakhoz képest felére csökkentett hatóanyag koncentrációt alkalmaztunk, hogy így növeljük a készítmények hatékonyságát [6]. A segédanyagok közül a L-leucint (LEU) diszperzitás csökkentésére (AppliChem, Germany) és aeroszolizáció növelésére [7], míg poli-vinil-alkoholt (PVA) a jobb tüdőtapadás érdekében használtuk az összetételekben (ISP Customer Service GmbH, Germany) [8]. Az oldatkészítés 50°C-os vízben történt, amely a MXK jobb oldódását biztosította. A formulálás eredményességét több szempontból vizsgáltuk.

### Minták előállítása ko-porlasztással

A termékek előállítására (I. táblázat) ko-porlasztásos eljárást alkalmaztunk, amelynek lényege, hogy a segédanyagok oldatából egyetlen lépésben állítsunk elő az új generációs DPI mintákat. A porlasztva szárításra fúvókás porlasztva szárítót használtunk (Büchi Mini Spray Dryer B-191, Büchi Laboratories., Svájc). Eddigi kutatási eredményeink és irodalmi adatok alapján az optimális szárítási paraméterek a következők voltak: 140°C hőmérsékletű és 75% erősségű szárító levegő, a 005% fordulatszámú mintaadagolás és a 600 l/óra áramlási sebességű sűrített levegő alkalmazása [4].

#### I. táblázat

Minták összetételei: MXK: meloxicám-kálium, PVA: poli-vinil-alkohol, LEU: L-leucin, EtOH: 96%-os etanol.\*

Minta-elnevezés	MXK	LEU	PVA	EtOH
A	0,5	1	0,05	5
B	0,5	1	0,05	-
C	0,5	-	0,05	5
D	0,5	-	0,05	-
E	0,5	-	-	5
F	0,5	-	-	-

\* a feltüntetett mennyiségek grammban értendők.

## Vizsgálati módszerek

### 1.1. Részecske méret és morfológia

Az előállított új generációs DPI minták szemcseméret eloszlását Malvern Mastersizer 2000 Scirocco (Malvern Instruments Ltd., UK) készülékkel vizsgáltuk. A mérésekhez száraz feltétet alkalmaztunk: a közel 0,5-1,0 g tömegű mintákat levegőben, 2,0 bar nyomáson vizsgáltuk. A program segítségével meghatároztuk a méret szerinti eloszlást kifejező D[0.1], D[0.5], D[0.9] értékeket, amelyek megadják, hogy a por milyen százaléka (10%, 50%, 90%) kisebb az adott  $\mu\text{m}$  értéknél. A szemcsék formáját és egyedi méretét pásztázó elektronmikroszkóp segítségével vizsgáltuk (Hitachi S-4700, Hitachi Scientific Ltd., Japán). A szemcséket arany-palládiummal vontuk be (Bio-Rad SC 502, VG Microtech, Egyesült Királyság), majd az elektromos vezetés kialakítására 1,3-13,0 mPa nyomású levegőt használtunk.

### 1.2. *In vitro* aerodinamikai vizsgálat

Az *in vitro* vizsgálatok során a jelenleg hatályos Gyógyszerkönyvben hivatalos Andersen-féle kaszkádimpaktort (Copley Scientific Ltd., Egyesült Királyság) alkalmaztunk [8]. A mintákat inhalációs készítményeknél alkalmazott kemény zselatin kapszulába, azonos hatóanyag-tartalom szerint, adagoltuk (transzparens, 3-as méretű inhaláció kapszula, Capsugel, Németország) és Breezhaler® típusú egy adagos-porbelégző készülék segítségével került belelegeztetésre. Az eszközre kapcsolt vákuum pumpa (High-capacity Pump model HCP5, Critical Flow Controller Model TPK, Copley Scientific Ltd., Egyesült Királyság) és áramlásmérő készülék (Flow Meter Model DFM 2000, Copley Scientific Ltd., Egyesült Királyság) segítségével beállítottuk a gyakorlatban csökkent légzésfunkció modellezésére alkalmazott 30 l/perc-es áramlási sebességet és 4 másodperces belégzési időtartamot. A tüdő nedvességtartalmának és felületi tapadásának szimulálásához minden tálcát Spanciklohexán 40:60 arányú elegyével vontuk be. Az impaktor szintjeire kitapadt por mennyiségét ismerve Kaleida Graph program segítségével számítottuk a DPI minták aerodinamikai jellemzőit: finom részecske frakcióját.

### 1.3. *In silico* aerodinamikai vizsgálat

A minták *in silico* vizsgálatához az MTA Környe-

zetfizikai Laboratóriuma által továbbfejlesztett Sztochasztikus Tüdőmodellt alkalmaztuk, amely egy légzőrendszeri számítógépes modell, a légutakba belélegzett részecskék transzportjának vizsgálatára [10]. Ezen szimuláció alkalmazásával jellemezhető a részecskék depozíciója a felső és alsó légutakban, valamint a teljes tüdőben [11]. A teljes körű elemzéshez bemenő adatokként felhasználtuk a termékeink méreteloszlását, morfológiáját és *in vitro* dinamikáját (MMAD és FPF értékek). A modellezés különböző inhalátorok alkalmazásával végezhető, hiszen a készülék ellenállása nagymértékben befolyásolja a tüdőbe jutott hatóanyag mennyiségét. Az összehasonlítható eredmények érdekében itt is a kis ellenállású Breezhaler® inhalátort alkalmaztuk, amelyen keresztül sokkal erőteljesebb belégzés valósítható meg, mint más porinhalátorok esetében. A mérések klinikai vizsgálatok egyénre vonatkozó spirometriai adatainak felhasználásával történtek (kor, nem és betegség típusa, súlyossága). A Chapman és társai által 2011-ben végzett klinikai vizsgálat spirometriai eredményeit használtuk fel egy átlagos, időben változó légzési profil leírására. A légzési profil felhasználásával modelleztük a minták viselkedését, 7 súlyos és mérsékelt COPD-s (Chronic obstructive pulmonary diseases) betegek spirometriai adatait figyelembe véve [12]. A modellszámítások során a következő paramétereket vettük figyelembe: levegőáramlás: 0,55-69,45 l/perc közötti értékek, betegség jellemző: súlyos és mérsékelt COPD, beteg jellemzők: 52-70 év, férfi/nő vegyesen, 7 fő, belégzési idő: 1,3-3,2 sec (átlagosan 2,04 sec), belélegzési térfogat: 1,70 l, légzésszünet: 5 sec. A 1. ábra szemlélteti a Sztochasztikus Tüdőmodellel szimulált légzési profilt. Az

átlagosan 2 másodpercig tartó belégzési profilon látható hogyan változik a levegőáramlás erőssége. Ezt az időben változó légzési profilt használtuk fel a minták modellszámításaihoz.

## 1. Eredmények értékelése

### 1.4. Részecske morfológia

Az előállításnál etanol használatának nem volt jelentősége a porlasztott részecskék átmérőire (II. táblázat). Az azonos segédanyag kombinációkkal készült termékek közel azonos méretűek, az átlagos szemcseméret (D[0,5]) minden esetben az inhalációra és megfelelő tüdődepozícióra alkalmas 1-5 µm-es tartományba esnek. Ugyancsak minden minta esetében homodiszperz méreteloszlást kaptunk. A segédanyag nélküli (E és F minták) és a PVA-val készült minták (D és C minták) esetében közel azonos volt a szemcsék átmérője. A PVA mellett LEU-t is tartalmazó minták (A és B minta) jelenlétében a részecskék átmérője közel kétszeresére megnövekedett.

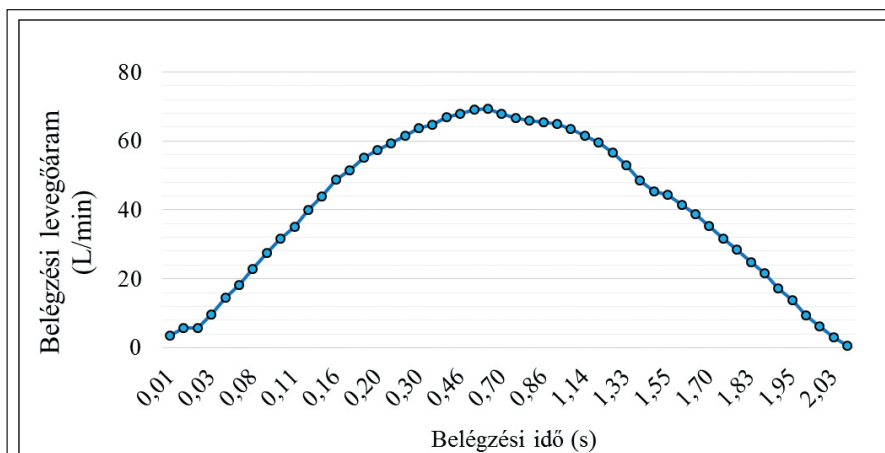
II. táblázat

A porlasztott DPI minták méreteloszlásai (µm).

Minták		D[0,1]	D[0,5]	D[0,9]
LEU + PVA	A	2,05	4,98	10,49
	B	2,16	5,19	11,06
PVA	C	1,26	2,27	3,99
	D	1,15	2,04	3,58
MXK	E	1,29	2,57	4,94
	F	1,32	2,43	4,35

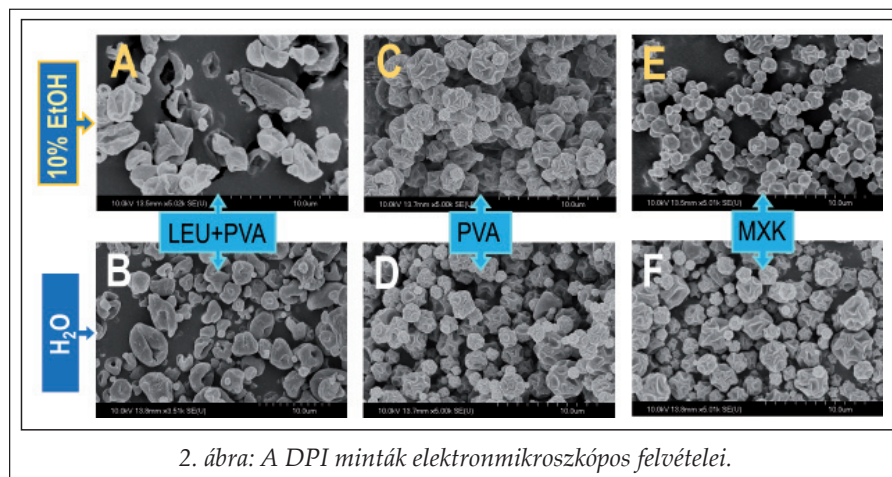
\*Kék kiemeléssel az etanolos minták

Az elektronmikroszkópos felvételeken is jól látható, hogy a segédanyagok közül a LEU befolyásolta leginkább a részecskék méretét és morfológiáját (2. ábra). Az eltérő alakú részecskék (behorpadt, fánk alak) oka a LEU magas Pe száma (*Peclét szám*), amely a száradó csepp felszíni kéregképződését és behorpadását eredményezi [13]. Ezen szemcséknek kisebb a sűrűsége, a belső üreg miatt, így az aerodinamikája is jobb. A PVA-val és segédanyag nélkül előállított minták felszínei nagyon hasonlóak, a polimernek ebben a kis



1. ábra: COPD-s betegek átlagos, idő függő belégzési profilja: A Sztochasztikus Tüdőmodellel spirometriai adatok alapján számított (Chapman et al, 2011 alapján).





2. ábra: A DPI minták elektronmikroszkópos felvételei.

kalmazott segédanyagok között nem volt egyértelmű összefüggés tapasztalható. A készítmény megfelelő diszperzitása mellett, a megfelelő szilárdságú és anyagú kapszula megválasztása is nagyban hozzájárul a magas ED értékhez. Minden minta esetében a kapszulába betöltött hatóanyag mennyiség több mint 90%-a belégzésre került.

mennyiségben nincs jelentős morfológiamódosító hatása. Jellemzően szférikus, egyenetlen felszínű, egymástól jól elkülönülő részecskék láthatóak.

### 1.5. *In vitro* aerodinamikai vizsgálat

A gyógyszer hatékonysága szempontjából az Andersen-féle kaszkádimpaktor 2-től 5. tálcáig kitapadt részecskéknek van jelentősége, amelyek átmérői az 1-5  $\mu\text{m}$ -es, belélegezhető tartományba esnek. Az FPF rövidítéssel jelölt értékek a **III. táblázatban** jól mutatják, hogy minták többsége 60%-os tüdődepozícióval rendelkezik. Az MXK és a PVA tartalmú minták esetében (F, E és D, C), nem tapasztalható különbség a tüdő dózisok között. Hasonlóan ugyanezen minták valós, belégzés közbeni átmérője (MMAD) is azonosnak mutatkozott. A LEU+PVA kombinációval készült minták esetében az FPF kisebb, ezzel arányosan az MMAD értékek nagyobbak voltak. Az elektronmikroszkópos felvételeken látható volt, hogy a LEU tartalom morfológia befolyásoló hatásának köszönhetően nagyobb szemcsék keletkeztek, amelyek a belégzés során sem estek szét, így kevésbé jutottak az alsóbb légutakba. Az emittált dózisok (ED) és az al-

### III. táblázat

Minták aerodinamikai tulajdonságai: finom részecske frakció (FPF), átlagos aerodinamikai átmérő (MMAD) és emittált dózisai (ED)

(Kék színnel a 10%-os etanollal készült minták)

Minták	FPF (%)	MMAD ( $\mu\text{m}$ )	ED (%)	
LEU + PVA	<b>A</b>	<b>46,51</b>	<b>4,42</b>	<b>98,22</b>
	B	60,87	3,22	94,76
PVA	<b>C</b>	<b>79,69</b>	<b>2,12</b>	<b>95,39</b>
	D	83,45	1,85	94,72
MXK	<b>E</b>	<b>78,36</b>	<b>1,76</b>	<b>90,08</b>
	F	79,38	1,84	97,35

### 1.6. *In silico* aerodinamika

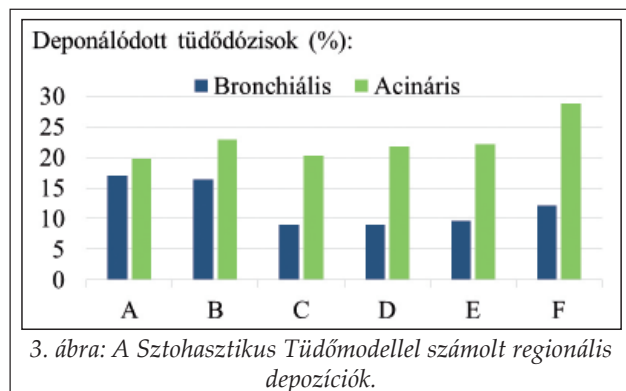
Jelen munka során a kilélegzett, a felsőlégutakban és tüdőben kitapadt mennyiségeket (felbontva bronchiális és acináris részecskékre a **3. ábrán**) számoltuk, amelyek a hatóanyag megfelelő légzőrendszeri szegmensbe kitapadt %-os dózisát adja meg (**IV. táblázat**). Ezek az értékek jól összevethetőek az Andersen-féle kaszkádimpaktorról számolt FPF értékekkel. Megfigyelhető, hogy az etanolos minták magasabb depozíciót eredményeztek a vizes mintákhoz képest (B, D és F minták). Ez a különbség nem volt ennyire számottevő az *in vitro* vizsgálat során. Hasonló eltérés, hogy a LEU+PVA mintáknak láthatóan magasabb a tüdő depozíciója (A és B minták). A Sztochasztikus Tüdőmodell a kilélegzett hatóanyag dózis meghatározására is alkalmas, amely az *in vitro* módszerekkel eddig nem volt lehetséges. A LEU+PVA összetételek esetében a kilélegzett dózis a legalacsonyabb (kevesebb mint 15%), mivel ez a segédanyag kombináció növelte a leginkább a tüdődepozíciót.

A tüdődepozíció vizsgálható külön a bronchiális

### IV. táblázat

A minták *in silico* aerodinamikai vizsgálatának eredményei

Minták	Kilélegzett dózis (%)	Légzőrendszerbe deponálódott dózisok (%)		
		Felső légúti	Tüdő	
LEU + PVA	A	10,7	38,5	36,8
	B	13,1	35,4	39,2
PVA	C	18,2	14,3	29,
	D	22,0	16,7	30,7
MXK	E	18,4	14,2	31,7
	F	26,6	25,5	40,9



és az acináris területeken. Ennek nagyon nagy jelentősége van a gyógyszer pontos, célzott adagolása szempontjából. Megállapítható, hogy az acináris régióban több hatóanyag tapad ki, mint a felsőbb, bronchiális területeken. Ennek figyelembe vétele a készítmény dozírozásakor jelentős, hiszen az acináris területek jobb érhálózáttal rendelkeznek és nagyobb felület áll rendelkezésre a hatáskifejtéshez (3. ábra).

## 2. Összegzés, jövőkép

A munka során új generációs DPI rendszereket állítottunk elő ko-porlasztásos technológiával, MXK-ot és különböző segédanyag kombinációkat alkalmazva (LEU és PVA). A minták inhalációs alkalmasságát a VIII. Magyar Gyógyszerkönyvben hivatalos *in vitro* és validált *in silico* módszerrel vizsgáltuk. A kapott *in vitro* FPF értékek valamennyi minta esetében 50 % fölöttiek voltak, amelyek meghaladják a jelenleg forgalomban lévő készítmények értékét. A kísérletsorozat második felében az aerodinamikát a Sztochasztikus Tüdőmodellel (*in silico* vizsgálómódszer) határoztuk meg, hogy minél realisabb képet kapjunk a részecskék aerodinamikai tulajdonságairól. A szimuláció során nehézlégzést alkalmaztunk, amelyet valós spirometriai adatokból számoltunk. Ezenfelül elsők között szimuláltuk gyógyszerkészítmény depozíciós mintázatát időben változó légzésprofil alkalmazásával. A modellszámítás előnyei továbbá a kilélegzett dózis, illetve külön a bronchiális és acináris depozíciók vizsgálata,

amely kiemelkedően fontos a gyógyszer pontos adagolásának és a hatásának megtervezése szempontjából. A mérésekből megállapítható, hogy a minták közül a LEU+PVA segédanyag kombinációk rendelkeztek a legmagasabb tüdődepozícióval (több mint 36%), emellett a legalacsonyabb kilélegzett frakcióval is (kevesebb mint 15%). A jövőben, az *in vitro* és *in silico* vizsgálatok kombinálása ígéretes lehetőséget kínál az inhalációs készítmények hatékony ellenőrzésére és a formulálás optimalizálására.

## 3. Köszönetnyilvánítás

A munkát a GINOP 2.3.2-15-2016-00036 project (*Development and application of multimodal optical nanoscopy methods in life and material sciences*) támogatta. A munka egy része a Bolyai János kutatói ösztöndíj (2014-2017) támogatásával valósult meg.

## IRODALOM

1. Telko, M. J., Hickey, A. J.: *Resp. Care*, 50(9), 1209–1227 (2005).
2. Chvatal, A., Benke, E., Szabóné Révész, P., Ambrus, R.: *Gyógyszerészet*, 60, 197–206 (2016).
3. VIII. Magyar Gyógyszerkönyv: 2628–2647 (2006).
4. Chvatal, A., Farkas, Á., Balásházy, I., Szabó-Révész, P., Ambrus, R.: *Int. J. Pharm.*, 520, 70–78 (2017).
5. Mezei, T., Mesterházy, N., Bakó, T., Porcs-Makkay, M., Simig, G., Volk, B.: *Organic Process Research and Development*, 13, 567–572 (2009).
6. Belotti, S., Rossi, A., Colombo, P., Bettini, R., Rekkas, D., Politis, S., Colombo, G., Balducci, A.G., Buttini, F.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 93, 165–172 (2015).
7. Seville, P.C., Learoyd, T.P., Li, H.Y., Williamson, I.J., Birchall, J.C.: *Powder Technol.*, 178(1), 40–50 (2007).
8. Pomázi, A., Buttini, F., Ambrus, R., Colombo, P., Szabó-Révész, P.: *Eur. Polym. J.*, 49, 2518–2527 (2013).
9. Pomázi, A., Chvatal, A., Ambrus, R., Szabóné Révész, P.: *Gyógyszerészet*, 58, 131–139 (2014).
10. Koblínger, L., Hofmann, W.: *J. Aerosol Sci.*, 21(5), 661–674 (1990).
11. Farkas, Á., Jókay, Á., Furi, P., Balásházy, I., Müller, V., Odler, B., Horváth, A.: *Aerosol Air Qual. Res.*, 15(6), 2466–2474 (2015).
12. Chapman, K.R., Fogarty, C.M., Peckitt, C., Lassen, C., Jadayel, D., Dederichs, J., Dalvi, M., Kramer, B.: *Int. J. COPD*, 6, 353–363 (2011).
13. Vehring, R.: *Pharmaceutical Research*, 25(5), 999–1022 (2008).

## Liposzómák átlagos vezikulaméretének befolyásolása búzacsíra olajjal

JÓJÁRTNÉ LACZKOVICH ORSOLYA\*, BÓNIS ERZSÉBET, NÉMETH ZSÓFIA,  
SZABÓNÉ RÉVÉSZ PIROSKA

Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszer technológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet, Szeged, Eötvös u. 6. – 6720

\*e-mail címe: laczkovo@pharm.u-szeged.hu

### Summary

JÓJÁRT-LACZKOVICH, O., BÓNIS, E., NÉMETH, Zs., SZABÓ-RÉVÉSZ, P.:  
**Influence of wheat germ oil content on mean vesicle size of liposomes**

**Introduction:** Liposomal formulations are important nano-carriers of the modern pharmaceutical technology. The reason of the central position of this form is their role in active and passive target therapy. Designing the vesicle sizes is crucial for the application.

**Aim:** This publication gives a short literature background about the topic of liposomal preparations, and focuses on the mean vesicle size. The aim of the experimental part is the investigation of the vesicle sizes. The work deals with application of wheat germ oil as wall component and its impact on mean vesicle size and size distribution.

**Method:** One of the investigation methods was dynamic light scattering process. Additionally, thermomicroscopy, differential scanning calorimetry and X-ray powder diffraction (XRPD) were applied.

**Results:** The lipid film hydration method resulted in smooth thin film layer and the mean vesicle size of liposomes was smaller than 200 nm. The amount of wheat germ oil using as a wall additive influenced on the vesicle size. 5 w/w% wheat germ oil resulted in the most effective vesicle size reduction. This concentration is the optimal for the fluidity of the phospholipid layer. Using higher amount of oil increased the polydispersity of the product. 20 w/w% oil content affected adversely the product's properties. XRPD measurement showed that product stabilization could be reached with lyophilization for two days in the presence of trehalose as cryoprotectant agent.

**Conclusion:** Based on the results, it can be concluded that the phase transition temperature of the wall components can be measured with thermoanalytical techniques and the results can be used for setting the preparation parameters. Furthermore, using 5 w/w% wheat germ oil could be suggested to decrease the vesicle size.

**Keywords:** liposome, wheat germ oil, vesicle size, lipid film hydration techniques.

### Összefoglalás

**Bevezetés:** A liposzómális formulációk a modern gyógyszer-technológia központi nanohordozó rendszerei. Fontosságuk a targetálásban betöltött szerepükben keresendő, legyen az akár aktív, akár passzív targetálás. Méretük az alkalmazás szempontjából kulcsfontosságú.

**Célkitűzés:** A publikáció rövid irodalmi bevezetést ad a liposzómális készítményekről, fókuszálva a készítmények átlagos vezikulaméretére. Az experimentális rész célkitűzése a liposzómák vezikulaméretének vizsgálata. A formulálás során alkalmazott búzacsíra olaj vezikulaméretre, illetve méreteloszlásra gyakorolt hatását tanulmányozza.

**Módszerek:** A felhasznált analitikai módszer a dinamikus fény-szóráson alapuló méretmeghatározás. Ezt a vizsgálatot egészítik ki műszeres analitikai eljárások: termomikroszkópia, differenciális pásztázó kalorimetria és porröntgen diffrakció.

**Eredmények:** Az alkalmazott előállítási eljárással egyenletes filmréteg alakítható ki és 200 nm részecskeméret alatti liposzómák nyerhetők. A búzacsíra olaj falanyag additívoként való alkalmazásának befolyásoló hatása van a részecskeméretre. Az elvégzett mérések alapján az 5%-os búzacsíra olajtartalom jelentős szemcseméret csökkenést okoz. Ez a koncentráció tekinthető optimálisnak a vezikulák kettős foszfolipid rétegének fluiditásában. Az olajtartalom további növelése a polidiszperzitás növekedéséhez vezetett. A 20%-os olajtartalom alkalmazása előnytelen tulajdonságokkal ruházta fel a terméket. Az anyagszerkezeti porröntgen diffrakciós vizsgálat eredményei alapján a termék megfelelő stabilizálása trehalóz alkalmazásával és 2 napos liofilizési idővel volt elérhető.

**Következtetések:** Az eredményeket tekintve következtetésként levonható, hogy termoanalitikai vizsgálatokkal a lipidek átmeneti hőmérséklete mérhető, a meghatározott érték felhasználható az előállítási paraméterek beállításánál. Az összetétel tervezésénél az 5% búzacsíra olaj alkalmazása javasolható a legkisebb vezikulaméret elérése céljából.

**Kulcsszavak:** liposzóma, búzacsíra olaj, vezikulaméret, lipidfilm hidratációs technika.

### Bevezetés

A gyógyszer technológia egyik rohamosan fejlődő területe napjainkban a nanotechnológia. A hagyományos gyógyszerformák mellett a gyógyszerhordozó rendszereket (DDSs, Drug Delivery Systems) tartalmazó készítmények egyre nagyobb teret hódítanak, amilyeneken belül a nanohordozó rendszere-

rek kiemelt szerepet kapnak. Ezen formulációk egyik legfontosabb csoportja a liposzómális készítmények csoportja [1]. Publikációnk ezt a formát kívánja fókuszba helyezni.

A liposzómák definícióját először Alec Douglas Bangham fogalmazta meg 1965-ben [2]. Az akkori-ban még csak sejtmembrán-modellre alkalmazott liposzómák mára már komplex hatóanyag-

hordozó rendszert képviselnek. A liposzómák tehát olyan hatóanyag- vagy aktív anyag szállító koloidális rendszert képeznek, amelyek spontán szerveződés révén jönnek létre, amfifil lipidekből. Tartozhatnak a gyógyszerformák negyedik generációjába is, azaz négydimenziós targetált terápiás rendszerek is lehetnek [3, 4]. Intravénás, dermális, inhalációs és egyéb beviteli kapun történő alkalmazásuk során nem csak térben és időben szabályozott, de a célszervben történő gyógyszer-felszabadulás is elérhető segítségükkel [5-7]. Míg a kutatásban a sejtmodellek előállítására, addig a terápiában diagnosztizálásra, citosztatikus terápiában [8], antibakteriális és gomba ellenes készítményként, HIV fertőzés kezelésében és a génterápiában is használják. A gyógyászati területeken kívül a textiliparban, a mezőgazdaságban, az élelmiszeriparban és a nanokozmetológiában is használják őket [9-12].

Ezen cikk fókuszba helyezi annak a ténynek a fontosságát, hogy az alkalmazni kívánt liposzómális készítmény vezikulamérete központi fontossággal bír. Legyen az akár terápiás céllal alkalmazott hatóanyag-hordozó liposzómális formuláció, vagy akár kozmetikai célra szánt liposzómákat tartalmazó készítmény. A munka során annak befolyásoló szerepét mutatjuk be, hogy a falalkotók egymáshoz viszonyított arányát változtatva, hogyan módosul a liposzómák átlagos vezikulamérete és méreteloszlása [13].

A liposzómák mérete átlagosan 25 nm és 2,5  $\mu\text{m}$  között változik. Méretük alapján történő csoportosításuk az **I. táblázatban** kerül bemutatásra.

## Kísérletes munka

Kísérletes munkánk célja egyrészt 200 nm vezikulaméret alatti liposzómák előállítása, másrészt a falalkotó összetevők részecskeméret-befolyásoló hatásának megfigyelése volt. Munkánk során búzacsíra olajjal modellezett natúr olajkomponens vezikulaméretet befolyásoló hatását tanulmányoztuk.

A búzacsíra olaj magas antioxidáns (tokoferol, tokotrienol) tartalma miatt gyakori összetevője a kozmetikai készítményeknek [14]. Antioxidáns tartalma mellett 26-35%-ban fehérjéket, 10-15%-ban lipideket, 17%-ban cukrot, és 4%-ban ásványi anyagokat is tartalmaz. Emiatt fogyasztása illetve bőrön való alkalmazása pozitív hatással van a szervezetre. Az E-vitamin mellett más bioaktív anyagok is kimutathatók összetételében. Fitoszterolokat, polikozanolt, karotinoidokat, tiamint és riboflavint azonosítottak komponensei között [15]. Az olajok liposzómába inkorporálása által a tartalomanyagok védetté válnak a degradációval, oxidációval szemben [15, 16]. A búzacsíra olajnak a gyógyszeres liposzómális készítmények terén is igen nagy jelentősége van. Annak WGA („wheat germ agglutinin”) tartalmát felhasználják aptamerként is (olyan rövid DNS vagy RNS szálak, amelyek térbeli szerkezetüknek köszönhetően, nem kovalens jellegű kölcsönhatásokon keresztül egy adott célvegyület szelektív felismerésére, megkötésére alkalmasak). A WGA a lektinek csoportjába tartozó glikoprotein, amely a lektin-receptorba bekötve felismerésre kerül a szervezet által. Karbopoli-

I. táblázat

Liposzómák csoportosítása méretük alapján

Elnevezés	Méret	Alkalmazás, megjegyzés
<b>MLV</b> „multilamellar vesicles”	500 nm feletti	Nagy bezárási hatékonyságuk van az apoláris hatóanyagokra nézve. A keringésből gyorsan eliminálódnak a reticuloendotheliális rendszer működése miatt. Jelentős mértékben a hatóanyagok lépbe, májba juttatására alkalmazhatjuk őket.
<b>OLV</b> „oligolamellaris vesicles”	100-1000 nm	Hozzávetőleg 5 rétegű fal határolja őket.
<b>SUV</b> „small unilamellar vesicles”	20-100 nm	Citosztatikus hatóanyagot tartalmazó nanoDDS-ek ebbe a csoportba esnek elsősorban.
<b>MUV</b> „medium sized unilamellar vesicles”	köztes méretű (nincs pontos definíció)	Egyes irodalmak ilyen kategóriát is említene, amely a SUV felső intervallumának mérettartományát célozza (40-100 nm).
<b>LUV</b> „large unilamellar vesicles”	100 nm feletti	Leginkább hidrofíli hatóanyagok bezáráására alkalmasak. Méreteik miatt pedig jó hatékonysággal zárják be a makromolekulákat is.
<b>GUV</b> „gigant unilamellar vesicles”	1000 nm feletti	Leginkább a kozmetikai ipar alkalmazza.

merhez kötött WGA-t (CP-WGA) felhasználhatják olyan liposzómák targetálására, ahol a célsejten nagy a lektin-receptor expressziója. Ezáltal lehetőség nyílik az intestinális, colon tumorok per os kezelésére. A CP-WGA által módosított felszínű liposzómák gyakori gyógyszerhordozó rendszerei a calcitoninnak. Liposzómális készítményekben a calcitonin per os, illetve pulmonáris beviteli módja is ismert [17, 18].

### Anyagok

Az előállítás során falalkotó komponensekként foszfolipon 90G<sup>®</sup> lipidkeveréket (Phospholipid GmbH, Köhn, Németország), koleszterint (Molar Chemicals Kft, Budapest, Magyarország), búzacsíra olajat (Primavera Life GmbH, Oy-Mittelberg, Németország) használtunk.

A lipidfilm oldására fizioológias sóoldatot, illetve trehalóz oldatot alkalmaztunk. Az ehhez felhasznált komponensek: NaCl (Molar Chemicals Kft, Halásztelek, Magyarország) és D(+)-trehalóz-dihidrátt (Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Németország) voltak.

#### II. táblázat

Előállított minták összetétele

Minta neve	Foszfolipon 90G (mg)	Búzacsíra olaj		Koleszterin*
		mg	%	
I. 1	500,00	0,00	0,00	25 mg
I. 2	475,30	25,51	5,09	25 mg
I. 3	500,00	53,05	9,60	25 mg
I. 4	425,80	74,80	14,94	25 mg
I. 5	400,00	101,22	20,19	25 mg
II. 1	250,85	0,00	0,00	12,5 mg
II. 2	237,73	12,49	4,99	12,5 mg
II. 3	226,60	26,60	10,37	12,5 mg
II. 4	212,27	37,10	14,88	12,5 mg
II. 5	200,05	49,64	19,88	12,5 mg
III. 1	500,68	0,00	0,00	25 mg
III. 2	474,94	25,12	5,02	25 mg
III. 3	450,73	50,71	10,11	25 mg
III. 4	425,27	75,47	15,07	25 mg
III. 5	400,08	98,28	19,72	25 mg

\*Minden esetben etanolos törzsoldatból bemeve.

### Előállítás

Az előállítás lipidfilm-hidratációs technikával történt. A lipidszuspenzió elkészítésekor meghatározott mennyiségű foszfolipon 90G lipidkeveréket, búzacsíra olajat és koleszterint mértünk be gömbömbikba. Oldószerként minden esetben összesen 50 ml 96%-os etanolt alkalmaztunk. Az összetételeket a II. táblázat szemlélteti. A bepárlás Rotavapor<sup>®</sup> R-210/215 vákuumbepárló készülékkel (BÜCHI Labortechnik AG, Flawil, Svájc) történt. Az alkalmazott vízfürdő hőmérséklete 65°C, a forgás sebessége 25 rpm volt, a vákuumot fokozatosan alakítottuk ki.

Az elkészített 15 sarzs három kísérletsorozatba osztható. Az első és a második sorozat lipidfilm hidratálása 150 ml fizioológias sóoldat részleteivel történt. A második sorozat az elsőtől abban különbözött, hogy a lipidszuspenzió összeállításakor az alkalmazott anyagok tömegét a felére csökkentettük. A harmadik sorozat az elsővel megegyező tömegek felhasználásával történt, azonban a visszaoldást 150 ml fizioológias trehalóz oldattal (300 mOsm/l) végeztük. Az ozmolalitás mérése KNAUER SEMI-MICRO ozmométerrel (UNICAM Magyarország Kft, Budapest, Magyarország) valósult meg. A hidratálást Elma Transsonic Digital S D-78224 kád ultrahangozó készülékkel (Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Németország) segítettük elő. Az ultrahangozás minden esetben 65°C-on 120%-os teljesítményen, azaz 48 kHz alkalmazásával történt 15 percig.

Az elkészített liposzómák méretformázása két lépésben történt. Először 0,45µm-es pórusátmérőjű (Millipore<sup>®</sup> SLHV033NS Millex<sup>®</sup> HV Syringe Filter with Durapore<sup>®</sup> PVDF Membrane), majd 0,22 µm-es membránszűrőn (Millipore<sup>®</sup> SLGV033RS Millex<sup>®</sup> GV Sterile Syringe Filter with Durapore<sup>®</sup> PVDF Membrane) végeztük az extrúziót. Megvizsgáltuk mind a szűretlen (minta neve-TL), mind csak a 0,45 µm-es (minta neve-0,45), mind a 0,22 µm-es membránszűrőn szűrt mintákat (minta neve-0,22). Az elkészített mintákat lezárt tárolóedényekben, 2-8°C között hűtőben tároltunk.

### Liposzómák stabilizálása

5 mintát választottunk ki a fagyasztva szárításhoz (I. 2, II. 3, III. 1, III. 2, III. 3). A kiválasztott mintákból 3-3 ml-t töltöttünk le porampullákba. A szárítandó mintákkal fenékfagyasztást végeztünk Coolsafe 100-9 Pro ScanVac (LaboGene ApS, Lyngø, Dánia) fagyasztva szárító készülékkel, majd manuális üzemmódban liofileztük azokat.

## Vizsgálatok

### Termomikroszkópos vizsgálat

A koleszterin olvadási pontjának, a foszfolipon 90G lipidkeverék átmeneti hőmérsékletének közelítő meghatározását a Leica MZ6 (Leica Microsystems Wetzlar GmbH, Wetzlar, Németország) fűthető tárgyasztalú termomikroszkóppal végeztük.

### Differenciális pásztázó kalorimetria (DSC)

A koleszterin olvadáspontjának és a foszfolipon 90G lipidkeverék átmeneti hőmérsékletének pontos meghatározása a METTLER Toledo 821<sup>e</sup> DSC (Mettler-Toledo GmbH, Giessen, Németország) készülékkel történt. A mért értékeket az előállítási paraméterek meghatározásához használtuk fel. A vizsgálatot 40 µl-es alumínium mintatartókban végeztük, a bemérési tömeg 2-5 mg volt. A mintákat Ar gázöblítés mellett vizsgáltuk 25-től 250 °C-ig fűtve 10 és 20 °C/perc fűtési sebességgel. A kiértékeléshez STAR<sup>e</sup> szoftvert használtunk.

### Dinamikus fényszóráson alapuló vezikulaméret-meghatározás

A vezikulaméret meghatározást a Malvern Zetasizer Nano S Dynamic Light Scattering particle size analyzer (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, Anglia) készülékkel végeztük.

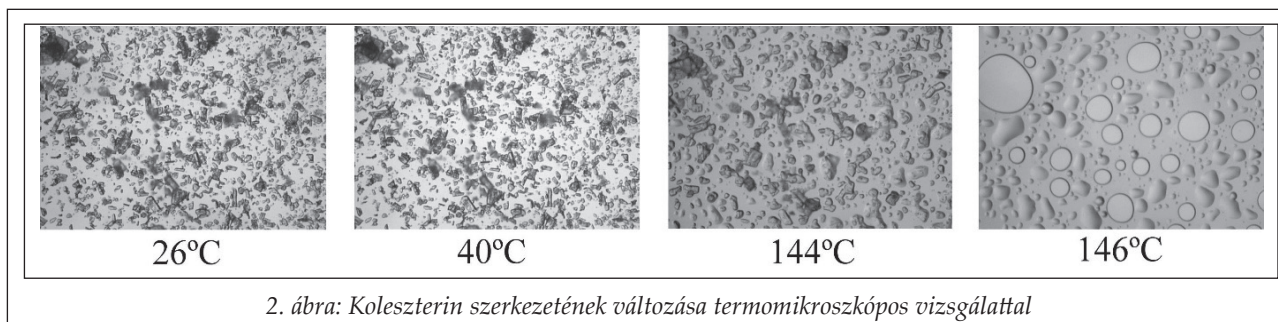
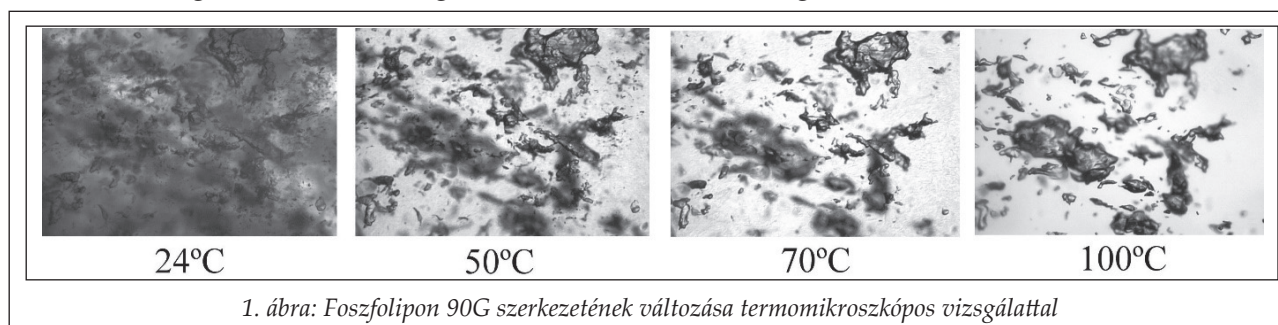
### Porröntgen diffrakciós vizsgálat (XRPD)

A porröntgen diffrakciós vizsgálatokat a Bruker D8 Advance diffraktométerrel (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Németország) végeztük. A készülőkkel a fagyasztva szárítással stabilizált mintákat vizsgáltuk. Sugárforrásként Cu K $\alpha$ 1 sugárzást ( $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ ) alkalmaztunk. A minták vizsgálata 40 kV feszültség és 40 mA áramerősség alkalmazása mellett 3°-tól 40°-ig ( $2\theta$ ) történt. A szkennelési sebesség 0,1°/min, a lépésköz pedig 0,010° volt. A műszer kalibrálása korund segítségével történt. Az eredmények kiértékelésére pedig DIFFRACTplus EVA szoftvert alkalmaztunk. A diffraktogramokat K $\alpha$ 2-vel korrigáltuk, simítottuk és az alapvonal korrekcióját is elvégeztük.

## Eredmények

### Preformulációs vizsgálatok

A termomikroszkópos vizsgálatokkal megállapítottuk, hogy a foszfolipon 90G esetén átmeneti hőmérséklet, míg a koleszterin esetén olvadáspont meghatározásra van szükség. A foszfolipon 90G átmeneti hőmérséklete vizuálisan detektálva 50°C, a mikroszkópos képen részleges feltisztulást észleltünk, amely változás nem élesen egy hőmérsékleti pontban történik (**1. ábra**). A koleszterin esetén egyértelmű olvadás történt, adott hőmérsékleten pillanatszerűen jelentek meg a tárgylemezen a cseppek. Olvadása 144 és 146°C között történt meg (**2. ábra**).





A fűthető mágneses keverő segítségével előállított foszfolipon 90G és koleszterin 9:1 tömegarányú olvadék termomikroszkópos vizsgálatát is elvégeztük. Nem karakteres, de vizuálisan érzékelhető változást 50°C-nál tapasztaltunk (3. ábra).

A hőhatásra bekövetkező változások pontosítása végett DSC vizsgálatokat végeztünk. Ezek során megállapítottuk, hogy a koleszterin olvadáspontja 147°C-nál található, a foszfolipon 90G átmeneti hőmérséklete pedig 56°C. Ezen termoelemetikus adatok figyelembevételével végeztük a továbbiakban a formulálást.

*Formulálás és a vizsgálatokból származó eredmények*

A fent leírt előállítási módszerrel termékeket állítottunk elő. A megadott összetételt alkalmazva a 0-5-10%-os búzacsíra olajtartalom mellett egyenletes lipidfilm réteget alakítottunk ki. 15%-os olajtar-

talom esetén a kialakított lipidfilm a gömblombik oldalán elvékonyodott, alján vastagodott. Míg 20%-os olajtartalom alkalmazása egyenetlen, változatos vastagságú filmréteget eredményezett.

#### *A termékek szemcseméret vizsgálata*

A dinamikus fényszórásmérés eredményeit a szűretlen mintákra vonatkozóan összesítve a **III. táblázat** tartalmazza. Megállapítható, hogy az I. és a III. sarzs 5%-os olajtartalmú mintáinak (I. 2-TL, III. 2-TL) átlagos részecskemérete jelentősen csökkent a búzacsíra olajat nem tartalmazó mintákhoz képest. A mért intenzitás megnövekedett, a polidiszperzitási index ekkor a legkisebb az adott sarzsban belül. Az olajtartalom további növelése az I. sarzs mintáiban az átlagos vezikulaméretet növelte. A III. sarzs mintáiban a 15%-os olajtartalom alkalmazásakor az olajat nem tartalmazó mintákhoz képest alacsonyabb átlagos részecskeméretet eredményezett, a legalacsonyabb átlagos szemcseméretet azonban itt is az 5%-os olajtartalom biztosította. A II. sarzs szűretlen mintáiban az olajtartalom változtatása nem okozott számottevő változást sem az átlagos részecskeméretben, sem az intenzitásban, sem a polidiszperzitási indexben.

A 0,45 µm-es porusátmérőjű membránszűrőn szűrt minták közül az I. sarzs átlagos szemcsemé-

III. táblázat  
Szűretlen minták vezikulaméret vizsgálatának

Minta neve	Z-átlag (d.nm)	Szórás	PdI-átlag	Szórás
I. 1-TL	227,100	9,965	0,567	0,110
I. 2-TL	<b>168,733</b>	0,929	<b>0,400</b>	0,027
I. 3-TL	226,667	1,589	0,776	0,011
I. 4-TL	243,700	12,425	0,556	0,124
I. 5-TL	263,067	7,637	0,804	0,023
II. 1-TL	266,700	6,085	0,915	0,015
II. 2-TL	267,100	8,962	0,905	0,024
II. 3-TL	254,200	3,223	0,839	0,018
II. 4-TL	252,333	3,485	0,833	0,014
II. 5-TL	266,800	1,127	0,513	0,036
III. 1-TL	163,800	1,908	0,412	0,001
III. 2-TL	<b>132,433</b>	1,021	<b>0,271</b>	0,007
III. 3-TL	175,867	1,343	0,408	0,010
III. 4-TL	151,333	0,961	0,304	0,024
III. 5-TL	246,067	3,329	0,490	0,008

IV. táblázat  
0,22 µm-en szűrt minták vezikulaméret vizsgálatának eredményei

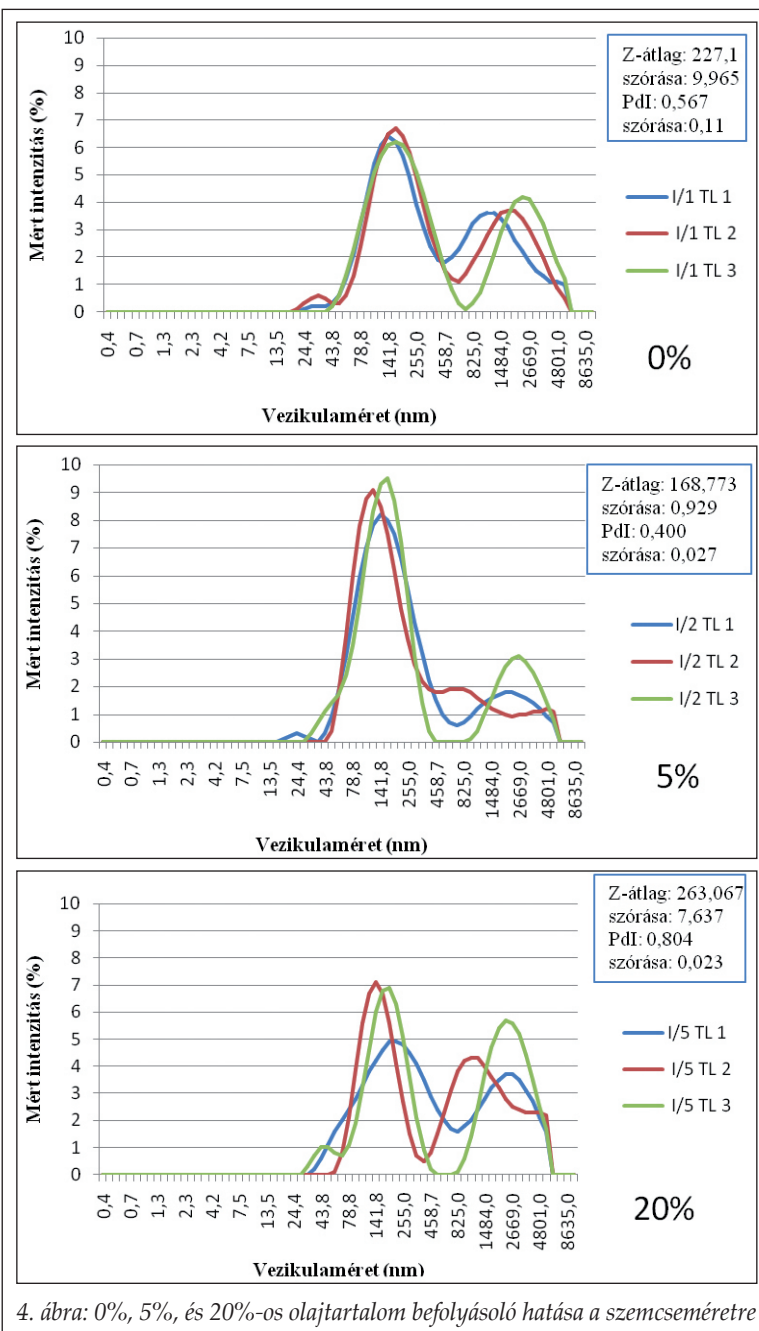
Minta neve	Z-átlag (d.nm)	szórás	PdI-átlag	szórás
I. 1-0,22	160,767	0,833	0,349	0,005
I. 2-0,22	<b>131,700</b>	1,418	0,233	0,005
I. 3-0,22	195,567	3,530	0,423	0,007
I. 4-0,22	<b>141,700</b>	0,300	0,231	0,030
I. 5-0,22	166,600	2,287	0,307	0,033
II. 1-0,22	159,333	1,617	0,385	0,027
II. 2-0,22	<b>142,567</b>	1,242	0,331	0,010
II. 3-0,22	156,267	0,757	0,279	0,004
II. 4-0,22	162,600	0,557	0,272	0,008
II. 5-0,22	190,000	2,307	0,389	0,020
III. 1-0,22	133,633	0,404	0,245	0,024
III. 2-0,22	<b>120,133</b>	0,723	0,239	0,003
III. 3-0,22	143,800	0,889	0,252	0,013
III. 4-0,22	134,733	2,040	0,305	0,038
III. 5-0,22	162,167	0,666	0,384	0,006

ret változásának tendenciája a szűretlen III. sarzs tendenciájához hasonló. Az olajtartalom nélküli mintához képest az 5%-os (I. 2-0,45), és a 15%-os (I. 4-0,45 minta) olajtartalom alkalmazásával értünk el átlagos részecskeméret csökkenést. Ez esetben is az 5%-os olajtartalmú mintánál tapasztaltunk nagyobb mértékű átlagos vezikulaméret csökkenést. A II. sarzs 0,45  $\mu\text{m}$ -es membránszűrőn szűrt mintái kiértékelésekor már látható, hogy az 5%-os olajtartalom ebben a sarzsban is jelentősen csökkenti a szemcseméretet, annak ellenére, hogy ez a szűretlen minták esetén nem volt megfigyelhető. Az I. és II. sarzs szűretlen és 0,45  $\mu\text{m}$ -es membránszűrőn szűrt azonos olajtartalmú mintáit összehasonlítva nem tapasztaltunk lényeges részecskeméretbeli eltérést, valamint ezt köztitermének tekintettük, ezért a III. sarzs esetén a 0,45  $\mu\text{m}$ -en szűrt mintákat nem vizsgáltuk.

A 0,22  $\mu\text{m}$ -es membránszűrőn szűrt minták értékelésekor azt tapasztaltuk, hogy az átlagos vezikulaméret minden esetben csökkent a szűretlen mintákhoz képest. Mindhárom sarzs esetén az 5%-os olajtartalommal érhető el a legkisebb átlagos részecskeméret, a további olajtartalom növelése (egy kivételtől eltekintve: I. 4-0,22 minta esetén) az átlagos szemcseméret növekedését okozza. A 0,22  $\mu\text{m}$ -es membránszűrést követően a minta olajtartalma nem gyakorol lényeges hatást a polidiszperzitási indexre, minden esetben monodiszperz mintákat nyertünk a végső termékek előállításánál.

A vezikulaméret meghatározó vizsgálatok alapján megállapítható, hogy az 5%-os olajtartalom jelentős részecskeméret-csökkenést okoz minden sarzs esetén. Emellett megfigyeltük, hogy a trehalóz oldattal készült liposzómák átlagos vezikulamérete minden esetben kisebb, mint a fiziológiás sóoldattal készült sarzsok szemcsemérete. 0,22  $\mu\text{m}$ -es szűréssel monodiszperz eloszlás érhető el. Az 5%-os búzacsíra olajtartalom monodiszperz részecskeméret eloszlást eredményez a szűretlen mintákban is, míg a 20%-os olajtartalom növeli a polidiszperzitást (4. ábra).

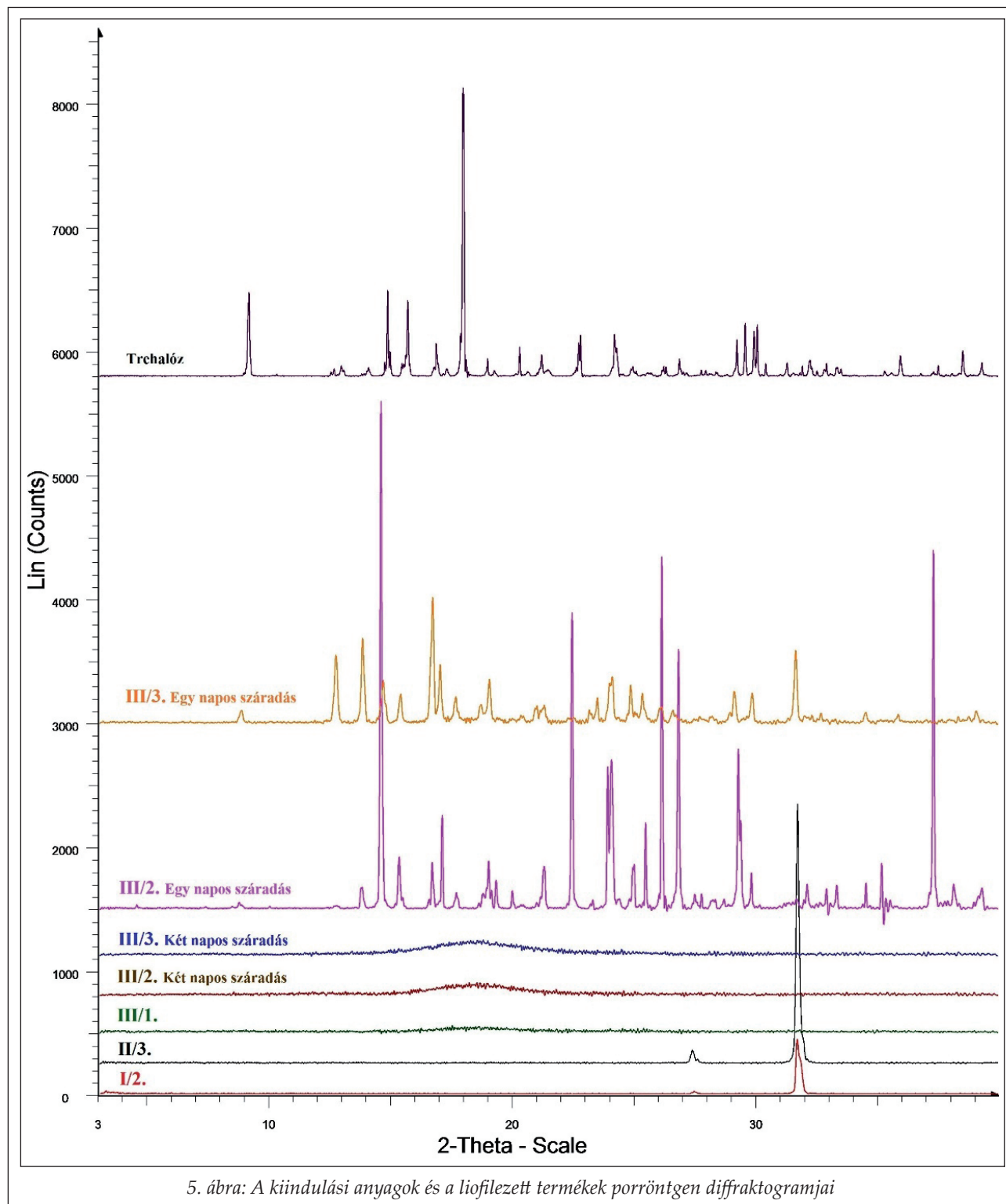
Porröntgen diffrakciós vizsgálatok eredményeit az 5. ábra mutatja. Az I. és II. sarzs liofilezett



4. ábra: 0%, 5%, és 20%-os olajtartalom befolyásoló hatása a szemcseméretre

mintákban a két éles jel a beoldáshoz használt fiziológiás sóoldatból származó nátrium-klorid jelenlétére utal, mely a későbbiekben hatóanyagot is tartalmazó termékek esetén, akár a belső standard szerepét is betöltheti az analitikai meghatározás során. A trehalóz röntgen diffrakciós spektruma összevethető az egy napos szárítási idővel történő kriodehidrállással készült III. 2 és III. 3 minták spektrumával. Egy napos szárítással mindkét mintánál a trehalóz kristályos jelei detektálhatók. Ez a visszakristályosodási folyamat előnytelen a liposzómális formuláció szempontjából, a foszfolipid kettősréteget károsíthatja. Jól





látható a két napos szárítási idővel készült minták spektrumán, hogy a szárítási idő növelésével a trehalóz visszakristályosodása kiküszöbölhető, az amorf szerkezet elérhető, aminek fontos szerepe lehet abban az esetben is, ha a későbbiekben fehérje természetű anyag liposzómba történő inkorporálása a célunk.

### Összefoglalás

A bemutatott munka eredményei felhívják a figyelmet a liposzómális formulációk vezikuluméretének fontosságára, mind irodalmi oldalról, mind pedig a technológiai folyamat helyes kialakítása szempontjából. A preformulációs vizsgálata-

tokkal az átmeneti hőmérséklet mérhető, a meghatározott értékek jól alkalmazhatók az előállítási paraméterek beállításánál. A lipid film hidratációs eljárással egyenletes filmréteg alakítható ki és 200 nm részecskeméret alatti liposzómák nyerhetők. Megállapítható, hogy a búzacsíra olaj falanyag additívként való alkalmazásának befolyásoló hatása van a részecskeméretre. Az elvégzett mérések alapján az 5%-os búzacsíra olajtartalom jelentős szemcseméret csökkenést okoz. Ez a koncentráció tekinthető optimálisnak a vezikulák kettős foszfolipid rétegének fluiditásában. Az olajtartalom további növelése a polidiszperzitás növekedését eredményezi. A 20%-os olajtartalom alkalmazása előnytelen tulajdonságokat eredményezett, mind a gyártástechnológia, mind a termékek részecskeméret eloszlásának szempontjából. Az anyagszerkezeti analitikai vizsgálat eredményei alapján a termék megfelelő stabilizálása trehalóz alkalmazásával és 2 napos szárítási idővel volt elérhető.

A munka a GINOP-2.2.1-15-2016-00007 projekt „Nanotechnológia: nanoterápiás rendszerek kutatása és fejlesztése” altéma keretein belül valósult meg.

#### IRODALOM

1. Bozó, T., Pál, S., Dévay, A.: *Acta Pharm. Hung.*, 78, 103-109. (2008).
2. Bangham, A. D., Standish, M. M., Watkins, J. C.: *J. Mol. Biol.* 13, 238-252. (1965).
3. Budai, M.: Gyógyszermolekulák és UV-fény hatásának vizsgálata biológiai- és modellmembránokon. 2005.
4. Gelencsér, A., Csóka, G.: *Gyógyszerészet* 49, 217-223. (2005).
5. Budai, M., Szógyi, M.: *Acta Pharm. Hung.* 71, 114-118. (2001).
6. Révész, P., Aigner Z., Csányi E., Erős I., Hódi K., Ifj. Kása P., Ifj. Regdon G., Sipos P.: *Gyógyszer technológia*. JETE Press, Szeged, 2009
7. Dékány, G., Csóka, I., Erős, I.: *Colloid Polym. Sci.* 279, 966-975. (2001).
8. Dér, K., Révész, P., Sipos, P.: *Gyógyszerészet*, 59, 85-92. (2015).
9. Dua, J. S., Rana, P. A. C., Bhandari, D. A. K.: *Int. J. Pharm. Stud. Res.* 3, 14-20. (2012).
10. Patravale, V. B., Mandawgade, S. D.: *Int. J. Cosmet. Sci.* 30, 19-33. (2008).
11. Aparajita, V., Ravikumar, P.: *Int. J. Current Pharm. Res.* 6, 1-7. (2014).
12. Jójártné Laczkovich, O., Bónis, E., Szabóné Révész, P.: *Gyógyszerészet* 59, 1-9. (2015).
13. Kutas, J., Bodor, Á.: *Acta Pharm. Hung.* 71, 422-427. (2001).
14. Sherry, M., Charcosset, C., Fessi, H., Greige-Gerges, H.: *J. Liposome Res.* 23, 268-275. (2013).
15. Gumus, Z. P., Guler, E., Demir, B., Barlas, F. B., Yavuz, M., Colpankan, D., Sensik, A. M., Teksoz, S., Unak, P., Coskunol, H., Timur, S.: *Colloid Surfaces B Biointerfaces* 133, 73-80. (2015).
16. Rodríguez, J., Martín, M. J., Ruiz, M. A., Clares, B.: *Food Res. Int.* 83, 41-59. (2016).
17. Makhlof, A., Fujimoto, S., Tozuka, Y., Takeuchi, H.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 77, 216-224. (2011).
18. Murata, M., Yonamine, T., Tanaka, S., Tahara, K., Tozuka, Y., Takeuchi, H.: *J. Pharm. Sci.* 102, 1281-1289. (2013).

Érkezett: 2017. augusztus 4.

## A szférikus kristályosítás típusai, jelentősége a gyógyszeriparban

GYULAI ORSOLYA\*, AIGNER ZOLTÁN

Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet  
Eötvös utca 6., 6720 Szeged

\*Levelező szerző: e-mail: gyulai.orsolya@pharm.u-szeged.hu

### Summary

GYULAI, O., AIGNER, Z.: **Types of the spherical crystallization methods and their application in pharmaceutical industry**

**Background:** In pharmaceutical industry, crystallization of active pharmaceutical ingredients and additives has an outstanding importance. During the process, not only the purification of the product can be achieved, but also, from a technological point of view it is important to produce the proper habit of the active agent. The original processes, that apply granulation, are long, contain a lot of technological steps and barely can they be called „economical”. Furthermore, there are several active agents, for which granulation can not be applied, because they are moisture sensitive and granulation liquid would impair them. In case of these and also other types of compounds, direct compression tablet making method can be applied well, because this way, the powder mixture, right at the initial step has got the appropriate powder rheological properties. The production and application of appropriate-sized spherical crystals of the active ingredient is very important in this field and with the help of them, tablet making can be facilitated, amount of additives can be reduced and in the end, smaller-sized tablets can be produced.

**Methods:** For the review, we have looked through the databases of scientific research to collect the available publications in the topic of spherical crystallization. Physico-chemical fundamentals of the spherical crystallization methods, their applicability on the direct compressible active pharmaceutical ingredients have been investigated, then advantages and disadvantages have been collected.

**Results:** Generally it can be said that, with the application of all the presented methods spherical crystals can be produced in case of the discussed active agents. Methods were presented dividing them into two groups: typical and non-typical methods. Both of them were described through a few particular examples, representing the types of solvents, agitation, temperature and morphology changes.

**Conclusion:** Typical and non-typical spherical crystallization methods were presented on the basis of case studies. Beneficial effects of spherical crystallization on morphology were observed. Spherical crystallization methods resulted directly compressible, large-sized crystals with advantageous powder rheological attributes, which may ease the production of smaller-sized tablets, due to the fact, that less amount of additives can be used if the active agent has better flowability.

**Keywords:** spherical crystallization, typical and non-typical methods, tableting by direct compression, morphology, powder rheology attributes

### Összefoglaló

**Bevezetés:** A gyógyszeripari hatóanyagok és segédanyagok nagy részének előállítása során kiemelkedő fontosságú a kristályosítás művelete. A folyamat során nem csak a termék szennyező komponensektől való megtisztítása lehetséges, hanem a technológiai szempontból nagyon fontos habitus kialakítása is. A szokványos, granulálással járó tablettázási folyamatok hosszadalmasak, sok lépésből állnak, ezért nem nevezhetők gazdaságosnak. Továbbá, számos olyan hatóanyagot ismerünk, amelyek szilárd gyógyszerformává való feldolgozása során valamilyen okból kifolyólag nem alkalmazhatjuk azokat a granulálási eljárásokat, amelyekben granuláló folyadékot használunk. Az ilyen és egyéb komponensek esetében is jól alkalmazható a közvetlen préseléssel történő tablettagyártás, ahol megfelelő porreológiai sajátsággal rendelkező porkeveréket alkalmazunk. A megfelelő szemcseméretű szférikus hatóanyag kristályok előállítása és alkalmazása kiemelkedő fontossággal bír ezen a területen, az ilyen komponensek használatával megkönnyíthető a tablettagyártás és adott esetben csökkenthető az alkalmazott segédanyagok mennyisége és kisebb méretű tabletták gyártása valósítható meg.

**Módszerek:** Az összefoglaló közlemény összeállításához áttekinítettük a rendelkezésre álló tudományos adatbázisok ebben a témában megjelent publikációit. Tanulmányoztuk az egyes szférikus kristályosítási módszerek fizikai-kémiai alapelveit és alkalmazhatóságukat a közvetlen préseléssel feldolgozandó hatóanyagok esetében. Kitérünk a különböző kristályosítási eljárások előnyös és hátrányos tulajdonságainak bemutatására is.

**Eredmények:** Általánosságban elmondható, hogy az összes leírt eljárás segítségével szférikus kristályok állíthatók elő a tárgyalt hatóanyagok esetében. A módszereket két csoportra osztva tárgyaltuk: tipikus és a nemtipikus szférikus kristályosítási eljárások. A módszereket néhány példán keresztül kívántuk bemutatni, feltüntetve az előállítási paraméterek (oldószer típusa, keverési mód, hőmérséklet, stb.) okozta hatásokat a morfológia változására.

**Összegzés:** A szférikus kristályosítás kedvező hatása a morfológiára egyértelműen megfigyelhető. A szférikus kristályosítási eljárások kiválóan préselhető, megfelelő méretű és porreológiai szempontból is kedvező tulajdonságokkal rendelkező kristályokat eredményeztek. Ez előnyös a közvetlen préseléses tablettázás esetében, mivel a jobb folyási sajátsággal rendelkező hatóanyag mellett alkalmazott csökkentett mennyiségű segédanyag kisebb tabletták gyártását teszi lehetővé.

**Kulcsszavak:** szférikus kristályosítás, tipikus és nemtipikus eljárások, tablettázás közvetlen préseléssel, morfológia, porreológiai sajátság

## 1. Bevezetés

A közvetlen préssel történő tablettá előállítás számos előnnyel rendelkezik a hagyományos, granulátum köztterméken alapuló tablettázással összehasonlítva. A granulátum előállítása maga is egy több lépéses technológiai folyamat, amelynek kivitelezése során számos nehézségbe, problémába ütközhetünk. A granulátumkészítés fő célja ebben az esetben az, hogy a kis szemcseméretű, általában rossz porreológiai tulajdonsággal rendelkező poranyagból szemcsésített terméket állítsunk elő, amely megfelelő átlagos szemcsemérete, szemcsealakja miatt közvetlenül alkalmas a tablettázó gép működtetésére. Az eredetinel nagyobb szemcsék előállítása során csökken a szemcsék összfelülete, a szemcsék közötti kohézió, amely kedvezőbb folyási tulajdonságot kölcsönöz az anyagnak [1].

A közvetlen préssel ezzel szemben megfelelő összetételű és szemcseméretű porkeverék alkalmazása történik. Előnyei között említhető meg az alacsonyabb gyártási költség és energiaigény, továbbá a nedvességre érzékeny hatóanyagok tablettázásának lehetősége [2]. A technológiai műveleti lépések száma csökkenthető, gyakorlatilag az egyes komponensek adott szemcseméretű frakciójának előállítására és a poranyagok homogenizálására korlátozódik. Ha a műveletek során nagyobb méretű részecskék szemcseméret-csökkentése történik, akkor az alkalmazott őrlési energia változásokat indukálhat a rendszerben (kristályosság csökkenése, veszteség keletkezése, polimorfia változása, stb.). A nagyobb szemcsék kisebbekből való előállítása pedig nem kivitelezhető.

A kis szemcsemérettel rendelkező hatóanyagok porreológiai tulajdonságai javíthatók segédanyagok alkalmazásával abban az esetben, ha ezeket megfelelő mennyiségben, arányban adhatjuk az összetételbe. Gondot okoz azonban az az eset, amikor a hatóanyag aránya túlságosan nagy a tablettázandó porkeverékben, mert a csökkentett mennyiségű segédanyag nem tudja hatását megfelelően kifejteni.

Ezért azoknál a hatóanyagoknál, ahol – valamilyen okból kifolyólag – a közvetlen préssel a preferált technológia a szilárd forma előállításához, a megfelelő szemcseméret és alak kristályosítási művelet során való előállítása számos előnnyel bír. Egyik előnye, hogy a nagyobb méretű szemcsék jobb folyási tulajdonsággal rendelkeznek, különösen akkor, ha felszínük is minél simább [3]. Csökkenthetővé válik a gyógyszerforma előállításához szükséges technológiai lépések száma, és

ugyancsak csökkenthető a tablettázáshoz optimális összetételben azon komponensek mennyisége, amelyeket a porreológiai tulajdonságok javítása céljából alkalmazunk.

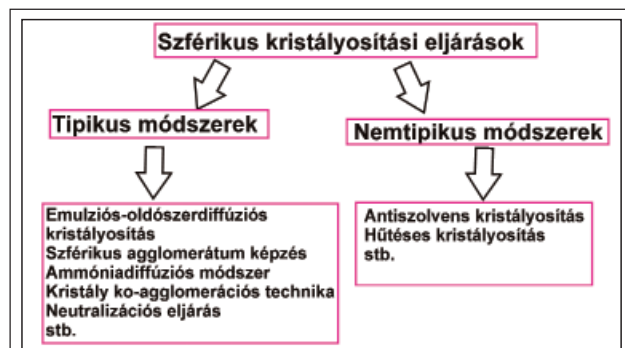
Így, az ilyen tulajdonságokkal rendelkező hatóanyagok és segédanyagok előállítása régóta nagy jelentőséggel bír [4, 5]. Míg a tablettázási segédanyagok között található a piacon olyan termékek, amelyek kifejezetten a közvetlen préssel való előállítás segítésére szolgálnak megfelelő átlagos szemcsemérettel, szemcseméret eloszlással és szemcseformával, addig a hatóanyagok között ritkán találunk ilyen termékeket [6, 7].

A gyógyszerhatóanyagok kémiai szintézise során folyamatosan növekszik azon anyagok mennyisége, amelyek egyre rosszabb vízdoldékonysággal, ezáltal biológiai hasznosíthatósággal rendelkeznek. Ezek az anyagok a BCS (*Biopharmaceutical Classification System*) II. vagy IV. csoportjába tartoznak és előállításuk, feldolgozásuk során inkább a szemcseméret csökkentés, mikronizálás, esetleg nanonizálás a feladat. Más esetekben pedig gyakran előnyösebb lenne technológiai szempontból a szemcseméret növelés.

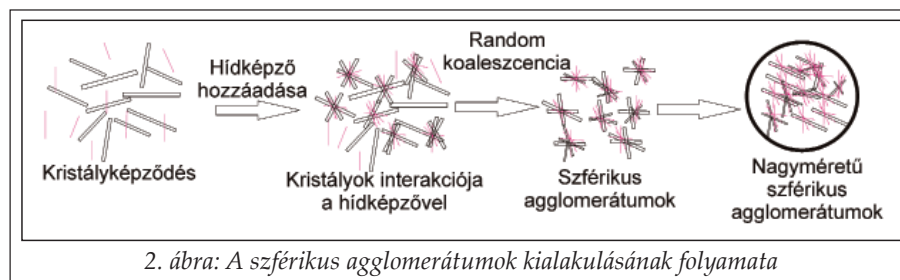
A technológiai szempontok szerinti tulajdonságokkal rendelkező szférikus szemcsék előállítása régóta kutatott terület. Jelen közleményünkben összefoglalást szeretnénk adni a szférikus kristályosítás során alkalmazható kristályosítási eljárásokról, azok kivitelezési körülményeiről, előnyeiről és – egyes esetekben – hátrányairól. Közleményünk második részében pedig egy általunk vizsgált hatóanyag, az ambroxol-hidroklorid (AMB-HCl) szférikus kristályosítási eredményeit foglaljuk össze.

## 2. Szférikus kristályosítás

A szférikus kristályosítás egy olyan kristályosítási eljárás, amellyel egyszerre kivitelezhető a szilárd anyagoknál megszokott kristályosítási lépés a gyártás során, továbbá a megfelelő habitus kialakítása [8]. Alapvetően két csoportba sorolhatjuk a szférikus kristályosítási eljárásokat: *tipikus* [9] és *nemtipikus* [10] *módszerek*. A tipikus módszerek között kell megemlíteni a szférikus agglomerátumképzést, az emulziós kristályosítást, az ammónia diffúziós módszert, a neutralizációs eljárást vagy éppen a kristály ko-agglomerációt. Nemtipikus módszereknek minősülnek a hagyományos antiszolvens kristályosítás, a hűtési kristályosítás és az olvadékból történő kristályosítás (**1. ábra**). A technológiai feldolgozás szempontjából számos



1. ábra: A szférikus kristályosítási eljárások csoportosítása



2. ábra: A szférikus agglomerátumok kialakulásának folyamata

előnyvel rendelkeznek ezek a módszerek, hiszen a nagyméretű, szférikus kristályokból álló poranyag nemcsak, hogy könnyebben tablettázható, de például a szűrést is megkönnyítheti és számos esetben a hatóanyag kellemetlen, keserű íze is csökkenthető általa. Hátrányai között viszont meg kell említeni, hogy az adott hatóanyag szférikus kristályainak előállítását egy hosszú tervezési folyamat előzi meg, amelynek része a megfelelő módszerek kiválasztása és az ezekhez alkalmazott oldószer/oldószer elegyek meghatározása is. Amikor ezeket kiválasztottuk, a folyamatot is pontosan meg kell tervezni, ki kell választani a morfológiát befolyásoló kritikus paramétereket és ezeket optimalizálni kell attól függően, hogy pontosan milyen tulajdonságokkal rendelkező kristályos terméket akarunk gyártani.

## 2.1. Tipikus szférikus kristályosítási eljárások

### 2.1.1. Szférikus agglomerátum-képzés

Technikailag egyszerű, fizikai-kémiai szempontból bonyolultabb eljárásról van szó [11, 12], ahol adott hatóanyag közel telített oldatát a hídkepzővel együtt az antiszolvensbe adagoljuk (2. ábra).

Fontos, hogy az oldószer molekulák közötti kölcsönhatás erősebb legyen, mint a jó oldószer és a kristályosítandó

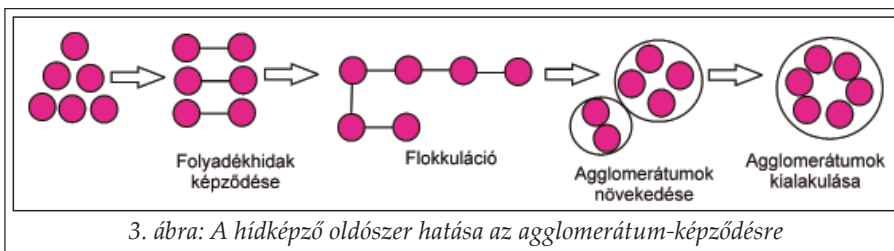
anyag közötti kölcsönhatás, továbbá a hídkepző oldószernek pedig nem szabad elegyednie az antiszolvenssel. A hídkepző oldószerből általában kis mennyiség szükséges. A hídkepző a határfelületi feszültség és a kapillaris erők miatt segíti a kristályok egymáshoz tapadását, így elősegítve az agglomerátum-képződést (3. ábra).

A hídkepző hatóanyagoként változhat, továbbá a hídkepző mennyiségének változtatására igen érzékeny a módszer, annak mennyisége az átlagos szemcseméretet és annak eloszlását nagyban meghatározza [13, 14]. Attól függően, hogy milyen paraméterekkel rendelkező célterméket akarunk előállítani, megállapítható a hídkepző optimális mennyisége. Ennél kevesebb hídkepző alkalmazása kisebb szemcseméretet eredményez, az optimumnál nagyobb mennyiség alkalmazása pedig növeli a részecs-

kék átlagos méretét [15]. Egyéb további kritikus paraméterek is hozzájárulnak a céltermék kialakításához, pl. keverés időtartama, intenzitása, az oldószer-elegy összetétele és a hatóanyag koncentrációja. Példának okáért, ha kicsi az oldószer/antiszolvens arány, az összeöntés hatására gyors kristályképződést várunk, amely során apró méretű szemcsék keletkeznek. A keverés intenzitásának növelése szintén apróbb szemcsék képződését eredményezi [16].

Magának a szférikus agglomerációnak is több válfaja létezik attól függően, hogy mi a célunk a módszer alkalmazásával. Amennyiben például hídkepzőszernek egy viszkozusabb, olajszerű anyagot használunk, akkor olajjal elősegített szférikus agglomerációról beszélhetünk [17], ha pedig az anyag kezelhetőségét, szűrését akarjuk javítani, akkor szuszpenziós agglomerációról van szó [18]. Szelektív agglomerációnak nevezzük azt a szférikus agglomerációs módszert, amely során részecskéket akarunk eltávolítani az adott rendszerből, tehát szférikus adszorbenseket alkalmazunk [19].

Mindegyik agglomerációs módszernél fennáll annak a veszélye, hogy az összenőtt kristályok közé oldószerzárványok épülnek be és ezzel növe-



3. ábra: A hídkepző oldószer hatása az agglomerátum-képződésre

lik a maradékoldószer-tartalmat, így ezeknél a technikáknál különösen nagy figyelmet kell szentelni ennek a vizsgálatára.

*Kawashima és munkatársai* korszakalkotó felfedezéseket tettek a szférikus kristályosítás területén és az elsők között kezdték el alkalmazni többek között a szférikus agglomerátum-képzés módszerét. 1981-ben megjelent közleményükben a laktóz szférikus kristályosításáról számoltak be [13]. A laktózt öt különféle mérettartományba sorolták 30-260  $\mu\text{m}$  között és kloroformban diszpergálták. Hídképző oldószernek a laktóz telített vizes oldatát használták különféle mennyiségben. Megállapították, hogy minél kisebb mérettartománnyal rendelkező kristályokból indulnak ki, az agglomerátumok mérete annál nagyobb lett, ezt a hatást pedig a hídképző oldószer mennyiségének növelésével segítették elő. A gyenge kohéziós erők miatt nagyobb kristályokból kiindulva porózusabb agglomerátumokat kaptak. Mind a laktóz kiindulási mérettartománya, mind pedig a hídképző oldószer mennyisége hatást gyakorolt a termék méreteloszlására.

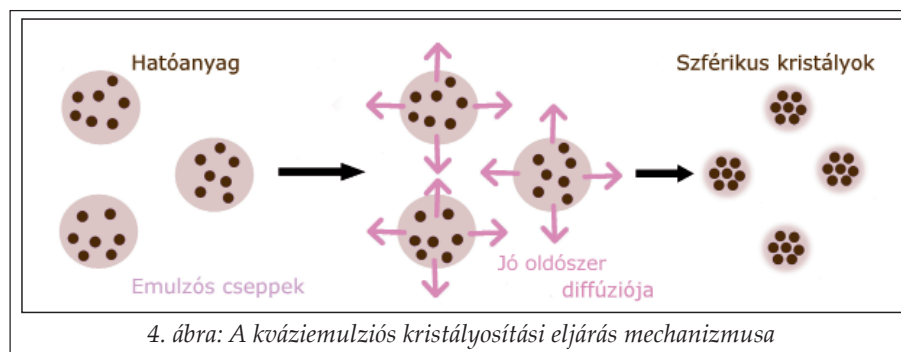
#### 2.1.2. Emulziós-oldószerdiffúziós kristályosítás

Az emulziós kristályosítás abban különbözik a szférikus agglomeráció módszerétől, hogy ebben az esetben emulziót vagy kváziemulziót alakítunk ki, tehát általában nem, vagy csupán részlegesen elegyedő, ritkább esetben egymással elegyedő oldószereket kell alkalmaznunk szolvensként és antiszolvensként. Az oldószer és a kristályosítandó anyag közötti affinitásnak nagyobbak kell lennie, mint az oldószerek közöttinek. Így, amikor a hatóanyag oldatát az antiszolvensben diszpergáljuk, az emulziós cseppekből megindul a jó oldószer távozása a külső fázisba és ezzel párhuzamosan az antiszolvens bejutása a csepp belsejébe, lecsökkentve ezzel a hatóanyag oldékonyságát az adott közegben. Az oldékonyság csökkenése a cseppen belül megindítja a kristálykiválást (4. ábra).

Ha az emulzió cseppmérete egységes méreteloszlású, a képződő szférikus kristályok méreteloszlása is az lesz, ennek érdekében pedig emulgenseket alkalmazhatunk. A módszer hátránya, hogy a megfelelő diszpergálószer kiválasztása nem egyszerű.

*Morishima és munkatársai* kutatásokat végeztek annak megállapítása érdekében, hogy milyen eltérő mechanizmussal játszódik le a szférikus agglomerációs kristályképződés és a kváziemulziós kristályosítás [20]. A szférikus agglomeráció során a hídképző oldószer koaleszcenciát indukál a részecskék között és így alakulhatnak ki az agglomerátumok, míg a kváziemulziós módszer esetén a cseppek belső felszínén indul meg a kristályképződés. A kutatók megvizsgálták az így képződő részecskék mikrometrikus paramétereit és szisztematikus eltéréseket tapasztaltak. A szférikus agglomerációval képződő termékek átlagos szemcsemérete nagyobb és kerekdedségük is kedvezőbb, míg a kváziemulziós termékek a pásztázó elektronmikroszkópos felvételek alapján inkább apróbb szemcséjűek és eltérő, rúdszerű morfológiát vesznek fel. Nagyon fontos a hídképző oldószer (jellemzően valamilyen típusú polimer oldata) helyes megválasztása, hiszen akár ugyanazon kristályosítandó anyag esetén is kaphatunk eltérő mikrometrikus paramétereket [21, 22].

*Kawashima* úttörőnek számított a tipikus szférikus kristályosítási módszerek terén, így a kváziemulziós kristályosítást is eredményesen alkalmazta. Egyik közleményében ibuprofén nyújtott felszívódással rendelkező, 50-500  $\mu\text{m}$ -es mérettartományú mikrogömjeinek kialakítását írta le [23]. A kristályosítandó anyagot akril-polimer segédanyagokkal együtt etanolban oldotta, majd ezt az oldatot vizes közegbe öntötte, amelyhez előzetesen cukorésztert adott emulgensként. A kristályok méretét befolyásoló kritikus paraméterek, a következők voltak: hatóanyag és a polimer koncentrációja, keverési sebesség. A polimer mennyiségének növelésével a kitermelés csökkent. A polimer súlyarányának növelése arányosan növelte a kristályagglomerátumok méretét, habár a méretváltozásért leginkább felelős paraméter a keverés sebessége volt. Jelentős szemcseméret-növekedést értek el, továbbá vizsgálták a termék csúszási lejtőszög értékét is, amely szintén javulást mutatott az ere-



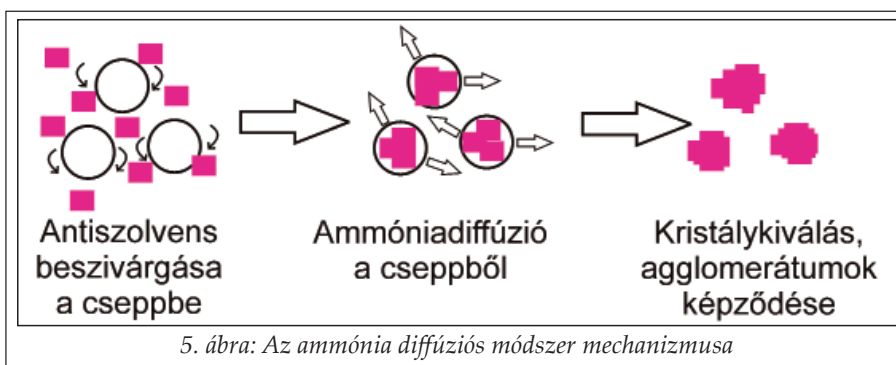
4. ábra: A kváziemulziós kristályosítási eljárás mechanizmusa

deti anyaghoz képest. A kioldódási görbét tekintve megfigyelték, hogy nyújtott hatású formuláció állítható elő a módszerrel, közvetlenül az anyag kristályosítása során, mindenféle további technológiai módszer alkalmazása nélkül.

A módszert magyar kutatók is tanulmányozták, pl.

*Szabó-Révész Piroska és munkatársai* tipikus és nemtipikus módszereket egyaránt alkalmaztak acetil-szalicilsav kristályosítása során [24]. Tipikus módszernek a kváziemulziós kristályosítást választották. A hatóanyagot 40 % v/v-os etanol-oldatban oldották fel 50 °C-on, majd szén-tetra-klorid-víz elegyet (4 % w/v) adagoltak a rendszerhez, melyet 0,6 °C/perc hűtési sebességgel 20 °C-ra hűtötték folyamatos keverés mellett. Kiváló kerekdedséggel (1,4) és jó porreológiai tulajdonsággal rendelkező, átlagosan kb. 150 µm-es kristályokat állítottak elő. Megállapították, hogy az acetil-szalicilsav hatóanyag esetében a hűtési kristályosítással szemben ez a tipikus módszer volt az, amellyel a legjobb tablettázhatósági paraméterekkel rendelkező részecskék képződtek.

*Tahara és munkatársai* 2015-ben publikálták az albuterol-szulfát folyamatos szférikus kristályosításáról szóló eredményeiket [25]. A folyamatos technikák előnye az, hogy a folyamat teljesen automatizált és több technológiai művelet összekapcsolható. Ugyanez azonban a hátrányukká is válhat, hiszen, ha az egyik művelet során probléma adódik, az az összes többi lépésnél is fennakadásokat fog okozni. A közlemény szerint a hatóanyagot vízben oldották és emulgenst tartalmazó kicsapószerbe (etil-acetát) adagolták, ezután a rendszert 5 °C-on 30 percig kevertették. Mindezt egy „mixed-suspension, mixed-product removal” (MSMPR) kristályosító rendszerrel tudták kivitelezni, amelynél perisztaltikus pumpák segítségével lehet a különféle oldószereket a kristályosító reaktorba juttatni. A kristályosított termék szűrése után hátramaradt telített anyalúgot tartályba gyűjtötték, ahonnan pumpa segítségével ismét a reaktorba juttatták. Itt újból a kívánt arányú kicsapószerrel adagolták hozzá. A módszer *in situ* követéséhez egy FBRM (focused beam reflectance measurement) szondát építettek be a rendszerbe, ami folyamatosan detektálta a húr hosszúság-eloszlást. Ezzel a technikával egységesíteni tudták a szemcseméret eloszlást.



5. ábra: Az ammónia diffúziós módszer mechanizmusa

### 2.1.3. Ammónia diffúziós módszer

Az ammónia diffúziós módszer szintén egy háromoldószeres, tipikus szférikus kristályosítási eljárás, azonban itt az egyik oldószer mindig az ammónium-hidroxid oldat (5. ábra).

A módszer úttörője, *Yoshiaki Kawashima* 1990-es munkájából kiderül, hogy pl. az enoxacin szférikus kristályosítását egy aceton, ammónium-hidroxid oldat és diklórmétán összetételű oldószerelegyből végezte, úgy, hogy az ammónium-hidroxid oldat egyben a hídkepző szerepét is betöltötte [26]. *Sulekha Badra és kutatócsoportja* Kawashima módszerét alkalmazták mefenaminsav kristályosítására [27]. A hatóanyagot 25%-os ammónia-oldatban oldották fel, amelyet acetonnal keverték össze. Kisózószerként kloroformot adagoltak a rendszerhez folyamatos keverés mellett. A keletkező agglomerátumok kb. 550 µm-es átlagos szemcseméretet értek el a kezdeti 75 µm-hez képest. Vizsgálták a porreológiai sajátságokban történt változásokat is: a simább felszínű agglomerátumok kedvezőbb csuszamlási lejtőszög értéket mutattak, sikerült tehát javítani a poranyag folyási sajátságait.

### 2.1.4. Neutralizációs eljárás

A neutralizációs eljárás lényege, hogy a hatóanyag oldatát folyamatos keverés mellett semlegesítjük (neutralizáljuk), miközben vizes fázisú polimer-oldatot és kicsapószerrel adagolunk hozzá, amelyek csökkentik az oldékonyságot, elősegítve a kristályképződést. A hídkepző oldószer hozzáadása is ekkor történik meg, ami az agglomerátum-képződést indukálja. *Kawashima* kutatásai alapján az ismert diabétesz elleni hatóanyag, a tolbutamid szférikus kristályosítása ezzel a módszerrel valósítható meg [28]. A hatóanyag feloldása nátrium-hidroxid oldatban történik, folyamatos keverés mellett. Ehhez hidroxipropil-metilcellulóz vizes oldatát és sósavat adtak, hogy a hatóanyag oldatának lúgos kémhatású oldatát semlegesítsék. Dietil-éter hozzáadá-

sát követően a hatóanyag kikristályosodott. Sima felszínű, szférikus kristályok képződtek, melyek tablettázhatósága jobb volt, mint a kiindulási tolbutamid kristályoké.

### 2.1.5. Kristály ko-agglomerációs technika

Ez az eljárás két hatóanyag vagy hatóanyag és segédanyag együtt történő szférikus kristályosítást teszi lehetővé. A hatóanyag(ok) oldatához keverés közben adagoljuk a hídképző oldószert, amely elegyedik a jó oldószerral. A keverést folytatva adjuk hozzá az elegyhez a kicsapószert és/vagy a polimer oldatot, amely indukálja a kristályképződést és végül az agglomerátumok kialakulását. Az agglomerátumok tehát két hatóanyag kristályaiból épülnek fel, vagy egy rosszul prezelhető hatóanyagból és egy segédanyagból. A módszer csak nagy dózisú és vízoldhatatlan hatóanyagok esetében alkalmazható. A hatóanyag és segédanyag fizikai-kémiai tulajdonságainak különbözősége gyakran jelentős kihívást jelent a kristály ko-agglomerációs technika oldószerszisztemének kiválasztásában.

*Raval és munkatársai* közvetlen préselésre alkalmas szférikus ko-agglomerátumokat hoztak létre ezzel a technikával secnidazole hatóanyag és különféle polimer segédanyagok esetében [29]. A módszer segítségével 200-700 µm-es, sima felszínű agglomerátumokat állítottak elő, amelyeknek tablettázhatósági és porreológiai paramétereit is vizsgálták. Megállapították, hogy mind a prezelhetőség, mind a folyási sajátságok javultak a kiindulási anyaghoz képest.

*Kurumkar és munkatársai* szintén ezt a technikát alkalmazták annak érdekében, hogy jól prezelhető agglomerátumokat hozzanak létre aceklofenákból és paracetamolból [30]. Az aceklofenákot hidroxipropil-metilcellulózzal keverve acetonban oldották, majd ehhez adták a paracetamolt. Polietilén-glikol és polivinil-alkohol vizes oldatot adtak hozzá és mágneses keverővel tovább folytatták a keverést 800 rpm sebességgel. A műveletet 5 °C-on hajtották végre. A kritikus paraméterek a keverés sebessége, a hőmérséklet, az aceton koncentrációja, a polimerek koncentrációja és a tartózkodási idő voltak. A folyási sajátságok és a prezelhetőség nagymértékű javulását tapasztalták, ami megkönnyíti a közvetlen préseléses tablettakészítést.

### 2.2. Nemtipikus szférikus kristályosítási eljárások

A nemtipikus módszerek jellemzően egy- vagy

kétoldószeres rendszerekben játszódnak le, és a kialakuló kristályok morfológiáját a fizikai vagy fizikai-kémiai paraméterek befolyásolásával tudjuk módosítani, pl. hőmérséklet változtatása, szolvens és antiszolvens aránya, oldat telítettsége. Hídképző oldószere itt nincs szükség, mert ennél a módszernél egyéb paraméterek változtatása fogja indukálni a gócképződést és a kristályosodást. A nemtipikus módszerek megoldási lehetőségeit az alábbiakban mutatjuk be.

#### 2.2.1. Antiszolvens kristályosítás

Az antiszolvens kristályosítási módszernél a hatóanyag oldékonyságát csökkentjük le azzal, hogy oldatához antiszolvant adagolunk. Ezeknek az oldószereknek az arányától, az oldószerek közötti hőmérsékletkülönbségtől, az adagolás sebességétől, az esetleges polimer adalékok típusától és mennyiségétől, továbbá egyéb más paraméterektől függően, a szemcsék morfológiája, a keletkezett termék szemcsemérete és annak eloszlása befolyásolható [10].

*Kawashima* egy kétoldószeres rendszerben vizsgálta az acebutolol-hidroklorid kristályosodását [31]. A hatóanyagot vízben oldotta, majd izopropil-acetátba adagolta, V/O emulziót képezve. A víz egy része a külső fázisba diffundált, másik része pedig nedvesítette a kiváló kristályokat, elősegítve az agglomerációt. Ezzel a módszerrel nagyobb törésű szilárdságú kristályokat hoztak létre, mint az eredeti poranyag esetében. Noha itt is jelen volt az emulzió, itt csupán két oldószert alkalmaztak, mert a víz ellátta a hídképző szerepét is.

*Szabó-Révész Piroska és kutatócsoportja* kisózást alkalmaztak, hűtési kristályosítással kombinálva és magnézium-aszpartát szférikus kristályokat állítottak elő víz-metanol oldószerszisztemből. Meghatározták a termék porreológiai sajátságait, melyek nagymértékű javulást mutattak [4].

#### 2.2.2. Hűtési kristályosítás

A legtöbb anyag oldékonysága hőmérsékletfüggő egy adott oldószerszisztemben. Ezt kihasználva, lassú hűtési kristályosítással kinyerhető a szilárd fázisú tiszta hatóanyag. A módszer azonban lassú és kevés olyan kritikus paraméter van, amellyel hatékonyan befolyásolni tudjuk a kristálymorfológiát, és ez gyakran széles szemcsméret-tartományt eredményez. A tradicionális eljárás a következőképpen zajlik [32]: a kristályosítandó anyagot forró



oldószerben oldjuk, az oldat maximális hőmérséklete általában az oldószer forráspontja vagy ahhoz közeli érték. A telítéshez közeli koncentrációjú oldatot ezután egyenletes vagy programozott hűtéssel szobahőmérsékletig vagy az alá hűtjük. Szükség esetén hídkepző oldószer kis mennyiségben való adagolásával az agglomerátum-képződés elősegíthető. Nagyon fontos hogy olyan oldószert válasszunk, amelyből megfelelő habitussal rendelkező kristályok válnak ki.

A hűtéses kristályosítás előzőekben leírt limitált alkalmazhatóságát speciális megoldásokkal lehet javítani és homodiszperz szemcseméret-eloszlást megvalósítani [33, 34]. Alternáló hőmérséklet-profillal végzett hűtéses kristályosítás során a módszer alkalmazhatóságának fontos feltétele az online vezérlési lehetőség megvalósítása (*Process Analytical Technology, PAT*), amelyet leggyakrabban FBRM szondával végeznek [35]. Gyakran kombinálják antiszolvens kristályosítással, ilyenkor a hűtés során antiszolvenst adagolnak a rendszerhez, elősegítve a kristálykiválást, de ismerünk olyan módszereket is, amelyeknél az antiszolvens és a szolvens váltakozó adagolásával érik el a megfelelő habitust [36].

Az alternáló hőmérsékletprofil alkalmazó módszer lényege az, hogy a szemcseszámot igyekszünk állandó értéken tartani, amelyet adott mennyiségű és minőségű (homodiszperz szemcseméret-eloszlású) oltókristály alkalmazásával, e kristályok méretnövelésével, morfológiájának javításával valósítunk meg. A metastabil zóna meghatározása elengedhetetlen ennél a módszernél, ugyanis a beoltásnak minden esetben a metastabil tartományban kell történnie. A kristályképződés a következőképpen történik:

1. A folyamatosan hűtött rendszer metastabil zónában történt beoltása után megindul a kristályosodás, elsősorban az oltókristályok felszínén. Ezzel a szemcseméret egyenletes növekedésnek indul.
2. A metastabil és instabil zóna határához érve spontán nukleációval új, kis szemcseméretű részecskék is keletkeznek.
3. A hűtés leállításával és megfelelő melegítési szakasz hatására a szemcsék felületéről oldódás indul meg. A folyamat során a nagyméretű kristályok átlagos mérete csökkenni kezd, az apró kristályok feloldódnak.
4. Az eredetileg nagyméretű kristályok esetében az oldódás a kristály sarkain, élein kezdődik meg, így a melegítési szakaszban szférikusabb forma keletkezik.

5. A szonda jele alapján az apró kristályok feloldódása után újabb hűtési szakasz következik, a megmaradt szemcsék újból növekedésnek indulnak.
6. A hűtési-fűtési szakaszok megfelelő számú alkalmazásával a kívánt átlagos szemcseméretet és homodiszperz szemcseméret-eloszlást tudjuk elérni.

A kristályosító rendszer a szonda által adott jel feldolgozásával szoftveresen is vezérelhető, amelyről elsőként Nagy K. Zoltán közleményeiben olvashattunk [33, 37].

### 3. Esettanulmány egy adott hatóanyag esetén

#### 3.1. Irodalmi háttér, előkísérletek

Példánkban az ambroxol-hidroklorid (AMB-HCl) szférikus kristályainak előállítását [40] mutatjuk be, amely egy benzil-amin szerkezetű mukolitikum, hazánkban is forgalomban van, számos gyógyszerkészítményben megtalálható [41].

A munka kezdetén fel kellett térképezni a hatóanyag fizikai-kémiai tulajdonságait irodalmi adatok és saját mérések alapján. Ennek az anyagnak a kristályosításáról kutatásaink kezdetén semmiféle irodalmi adat nem állt rendelkezésre, így egészen az alapoktól kellett kezdeni a vizsgálatokat. Ezek alapján számba kellett venni a lehetséges szférikus kristályosítási módszereket, természetesen annak megvalósíthatóságát is mérlegelve (oldószerek, reaktorok, keverési megoldások). Irodalmi adatok alapján a hatóanyag tablettázása közvetlen préseléssel történik és vagy nagyobb hatóanyag-tartalmú, nyújtott hatóanyagleadású [42, 43] vagy kisebb hatóanyag-tartalmú gyorsan dezintegrálódó tablettákat [44], továbbá orális filmeket [45] és oldatokat készítenek belőle. A közvetlen préselés alkalmazása könnyebben kivitelezhető, ha az anyag szférikus kristálymorfológiával rendelkezik, így a jelen kutatási terv megvalósítása ipari szempontból is hasznos.

Az alkalmazható kristályosítási módszer(ek) kiválasztásának szempontjából az olyan oldószer, amely nagymértékben oldja a hatóanyagot, és nagy koncentrációjú telített oldatot tud biztosítani, kedvez a gyors kristályosítási módszereknek. Például antiszolvens kristályosításkor a rossz oldószer gyors adagolásával nagy túltelítést érünk el, így kedvezünk a kristálygócok kiválásának, amely nagy mennyiségű de apró kristályt eredményez. Azok az oldószerek, melyek csupán kisebb mértékben oldják a hatóanyagot, lassabb kristá-

lyosítási műveletekhez alkalmazhatóak, ahol a szaturáció alacsonyabb és nem történik hirtelen nagy mennyiségű kristálykiválás, ami esetleg a nem megfelelő kristálymorfológiát okozná vagy pedig nem kívánt zárványképződéssel járna. Ilyen módszerek például a hűtéses kristályosítás vagy az olyan antiszolvens módszer, ahol az antiszolvens aránya és adagolási sebessége kedvez ezeknek a folyamatoknak. Fontos megvizsgálni továbbá, hogy többoldószeres rendszerek esetén hogyan viselkedik az anyag az oldószerrendszerekben, és hogy az oldószer egy vagy több fázist képeznek-e.

A kristályosítás során fontos meghatározni a metastabil zóna szélességét is. Ez oldószerenként változó és pontos meghatározása manapság FBRM vagy turbiditás szonda segítségével történik.

Az irodalmi háttér feltérképezése után meghatároztuk a hatóanyag oldékonyságát és a metastabil zónát különféle oldószerekben és oldószer-keverékekben, majd kiválasztottuk, hogy az egyes szférikus kristályosítási módszerek esetében melyeket használjuk. Ezután kis térfogatokat alkalmazva előkísérleteket végeztünk a különböző kiválasztott kristályosítási módszerekkel és megállapítottuk, hogy esetünkben a nemtipikus eljárások közül a szférikus agglomeráció és a hűtéses kristályosítási technikák bizonyultak megfelelőnek.

A hűtéses kristályosítás során alternáló hőmérsékletprofil alkalmaztunk, hogy a sorozatos hűtési-fűtési ciklusok hatására a kisebb részecskék beoldódjanak és a hatóanyag kristályosodása a nagyobb szemcsék felszínén történjen, így növelve az átlagos szemcseméretet. A hűtési-fűtési ciklusok optimális időtartamát és számát előkísérletek során tudtuk meghatározni.

A szférikus agglomeráció számos közleményben mint tipikus módszer szerepel, hiszen hídképző oldószer alkalmazásakor háromoldószeres rendszerben dolgozunk, ami a tipikus szférikus kristályosítási módszerekre jellemző. Mi azonban antiszolvens technikaként alkalmaztuk, egy oldószer és egy kicsapószer felhasználva. Kristályosítási kísérleteinket a Quality by Design alapján felállított faktoriális terv szerint végeztük. Előzetesen – irodalmi és saját elővizsgálatok során – megha-

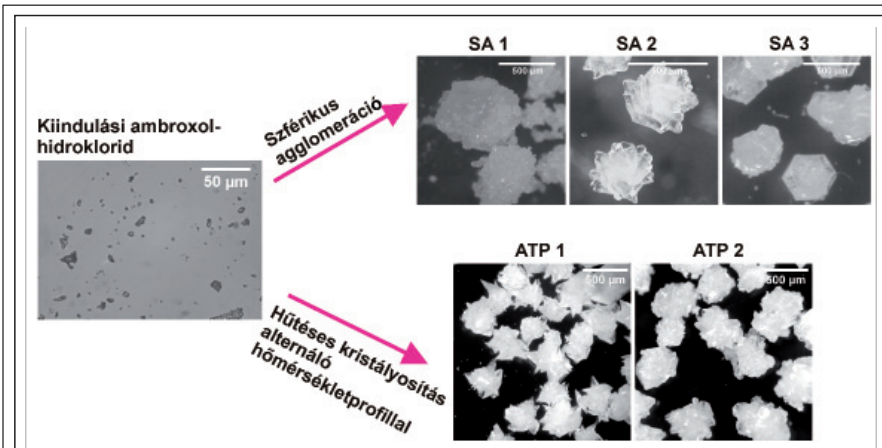
tároztuk a legfontosabb termék célprofil és a termék minőségének vizsgálatára szolgáló paramétereket. A Lean QbD program segítségével meghatároztuk, hogy ezekre mely kritikus anyag tulajdonságok és folyamat paraméterek hatnak. Ezen információk alapján végeztük el a kristályosítási kísérleteket. A kísérleti terv megvalósítását követően az eredményeket statisztikai programmal (Statistica 13 for Windows) értékeltük és megállapítottuk, hogy a kritikusnak vélt paraméterek változtatása valóban szignifikáns hatást gyakorolt-e a termékjellemzőkre. Felírtuk a polinom összefüggéseket a ténylegesen kritikusnak bizonyuló paraméterekre és kiválasztottuk az optimális kristályosítási tervezési teret. Ezután a faktoriális kísérleti terv során meghatározott függő változóknak jelentkező változásokat tanulmányoztuk.

### 3.2. Eredmények

A fent említett módszerek közül mind a kettő hatékonynak bizonyult AMB-HCl szférikus agglomerátum előállítás szempontjából. Mind a hűtéses kristályosítás, mind pedig a szférikus agglomeráció módszere, noha igen lassú folyamatok (mintegy 24 óra), megfelelően alkalmazhatóak megfelelő morfológiával rendelkező kristályok képzésére az említett hatóanyag esetén. A **6. ábrán** szemléltetjük a kiindulási anyag és a szférikus agglomerációs, illetve hűtéses kristályosítási termékeket.

Az **I. táblázatban** foglaltuk össze az átlagos méret, oldalarány és kerekdedség értékek változását a kristályosítás hatására.

Az ábra alapján elmondható, hogy a nemtipikus



6. ábra: A kiindulási anyagból előállított termékek a nemtipikus kristályosítási módszerek segítségével

(SA 1: 1:2 szolvens:antiszolvens arány, SA 2: 1:5 szolvens:antiszolvens arány, SA 3: 1:10 szolvens:antiszolvens arány; ATP 1: propeller keverő, ATP 2: síkrázós keverő)

I. táblázat

A kiindulási AMB-HCl paramétereinek összehasonlítása a nemtipikus szférikus kristályosítás termékeivel

Módszer neve	Kiindulási anyag	Nemtipikus kristályosítási módszerek		
		ATP		SA2
Keverés típusa	-	propeller	síkrázós	-
Kerekdedség	2,37	1,92	1,92	1,85
Oldalarány	1,67	1,64	1,38	1,46
Átlagos méret (µm)	13,12	295,22	260,05	864,70

II. táblázat

Porreológiai sajátságok összehasonlítása a kiindulási AMB-HCl és az antiszolvens kristályosítással képzett termékek esetében

Folyási sajátságok					
Tölcsér típusa	Kifolyási idő (s)		Lejtőszög (°)		Porreológiai besorolás Carr [46] szerint
	üveg	teflon	üveg	teflon	
Kiindulási anyag	∞	∞	nem mérhető	nem mérhető	nagyon rossz
SA2 termék	10,72	10,38	34,08	31,4	jó
Tömöríthetőség					
Vizsgáló-műszer	Térfogat-tömeg (g/ml)	Tömörített sűrűség (g/ml)	Carr index	Hausner faktor	Porreológiai besorolás Carr [46] szerint
	Stampfvolumeter				
Kiindulási anyag	0,54	0,81	32,7	1,49	nagyon rossz
SA2 termék	0,50	0,63	20,7	1,26	tűrhető/jó

szférikus kristályosítási módszerek alkalmazásának hatására a kiindulási hatóanyag átlagos szemcsmérete több mint egy nagyságrenddel nőtt, továbbá a kerekdedség és oldalarány értékek is közelebb kerültek az ideális értékhez, 1,00-hoz. Ennek a kedvező morfológia-változásnak köszönhetően a porreológiai sajátságok is javultak, melyeket most csupán az SA2 termékkel kapcsolatban mutatunk be a II. táblázatban.

Az eredmények alapján megállapíthatjuk, hogy a szemcseméret növelésével, a folyási sajátságok és a tömöríthetőség javításával javítottuk a kristályosított termék minőségét és közvetlen préselésre alkalmas formát hoztunk létre.

#### 4. Következtetések

A közleményben bemutattuk a tipikus és a nemtipikus szférikus kristályosítási módszereket és irodalmi példákön keresztül elemeztük alkalmazásuk lehetőségeit. Ezt követően bemutatásra került egy esettanulmány, melyet saját tapasztalataink alapján írtunk le. Az ambroxol-hidroklorid hatóanyagból nemtipikus kristályosítási módsze-

rekkel – antiszolvens és a hűtési kristályosítás – kedvező folyási sajátságú, nagyméretű szférikus kristályokat állítottunk elő, amelyek alkalmasak a közvetlen préseléses tablettázásra.

#### IRODALOM

1. Worku, Z.A., et al.: International Journal of Pharmaceutics, 531(1), 191-204 (2017).
2. Jivraj, M.M., Luigi G.; Thomson, Carol M.: Pharmaceutical science & technology today, 3(2), 58-63 (2000).
3. Chatterjee, A., M.M. Gupta, and B. Srivastava: International Journal of Pharmaceutical Investigation, 7(1), 4-9 (2017).
4. Szabó-Révész, P., et al.: Journal of Crystal Growth, 237, 2240-2245 (2002).
5. Cebulska, A., Jedlinski, Z.: Polimery, 51(6), 436-441 (2006).
6. Rasenack, N., Muller, B.W.: International Journal of Pharmaceutics, 245(1-2), 9-24 (2002).
7. Szabó-Révész, P., et al.: Powder Technology, 114(1-3), 118-124 (2001).
8. Shekunov, B.Y., York, P.: Journal of Crystal Growth, 211(1-4), 122-136 (2000).
9. Jain, A., et al.: Journal of Applied Biomedicine, 14(2), 147-155 (2016).
10. Kaialy, W., et al.: International Journal of Pharmaceutics, 477(1-2), 282-293 (2014).
11. Levine, S., Meadus, F.W., Sparks, B.D.: Abstracts of Papers of the American Chemical Society, 195, p. 88-Fuel (1988).

12. Kovacic, B., Vrečer, F., Planinsek, O.: *Acta Pharmaceutica*, 62(1), 1-14 (2012).
13. Kawashima, Y., Furukawa, K., Takenaka, H.: *Powder Technology*, 30(2), 211-216 (1981).
14. Thati, J., Rasmuson, A.C.: *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 42(4), 365-379 (2011).
15. Thati, J., Rasmuson, A.C.: *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(5), 657-667 (2012).
16. Blandin, A.F., et al.: *Powder Technology*, 130(1-3), 316-323 (2003).
17. Capes, C.E., Darcovich, K.: *Powder Technology*, 40(1-3), 43-52 (1984).
18. Blandin, A.F., et al.: *Powder Technology*, 156(1), 19-33 (2005).
19. Andrew Rainis, C.R.C.: *Process for the manufacture of spheroidal bodies by selective agglomeration* US 4902666 A, 1990. Ser. No. 881,156, filed 7/2/86, now U.S. Pat. No. 4,737,478.
20. Kenji Morishima, Y.K., Yoshiaki Kawashima, Hirofumi Takeuchi, Toshiyuki Niwa, Tomoaki Hino: *Powder Technology*, 76, 57-64 (1993).
21. Espitalier, F., Biscans, B., Laguerie, C.: *Chemical Engineering Journal*, 68(2-3), 103-114 (1997).
22. Re, M.I. Biscans, B.: *Powder Technology*, 101(2), 120-133 (1999).
23. Kawashima, Y., et al.: *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 78(1), 68-72 (1989).
24. Göcző, H., et al.: *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 48(12), 1877-1881 (2000).
25. Tahara, K., O'Mahony, M., Myerson, A.S.: *Crystal Growth & Design*, 15(10), 5149-5156 (2015).
26. Ueda, M., et al.: *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 39(5), 1277-1281 (1991).
27. Sulekha Bhadra, M.K., Sunil Jain, Shikha Agrawal, G.P. Agrawal: *Pharmaceutical Technology*, 66-76 (2004).
28. Sano, A., et al.: *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 40(11), 3030-3035 (1992).
29. Raval, M.K., et al.: *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 39(3), 437-446 (2013).
30. Kurumkar, P., et al.: *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 7(3), 1223-1236 (2012).
31. Kawashima, Y., et al.: *Pharmaceutical Research*, 12(7), 1040-1044 (1995).
32. Rajesh, P.S., Kumar: *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(3), 1-6 (2010).
33. Abu Bakar, M.R., Nagy, Z.K., Rielly, C.D.: *Organic Process Research & Development*, 13(6), 1343-1356 (2009).
34. Pena, R., et al.: *Chemical Engineering Science*, 167, 66-77 (2017).
35. Pataki, H., et al.: *Organic Process Research & Development*, 17(3), 493-499 (2013).
36. Nagy, Z.K., Fujiwara, M., Braatz, R.D.: *Journal of Process Control*, 18(9), 856-864 (2008).
37. Borsos, Á., et al.: *Organic Process Research & Development*, 21(4), 511-519 (2017).
38. Jung, J., Perrut, M.: *Journal of Supercritical Fluids*, 20(3), 179-219 (2001).
39. Erber, M., Lee, G.: *International Journal of Pharmaceutics*, 495(2), 692-700 (2015).
40. Gyulai, O., Szabó-Révész, P., Aigner, Z.: *Comparison study of different spherical crystallization methods of ambroxol hydrochloride*. *Crystal Growth and Design*, 2017. DOI: 10.1021/acs.cgd.7b00764
41. Peralta, J., et al.: *Arzneimittel-Forschung/Drug Research*, 37-2(8), 969-971 (1987).
42. Cheng, X.K., et al.: *Pharmaceutical Development and Technology*, 16(4), 392-399 (2011).
43. Moghal, M.M.R., et al.: *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 44(1), 28-35 (2010).
44. Jacob, S., Shirwaikar, A.: *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71(3), 276-284 (2009).
45. As, A., Dt, B., Dk, J.: *Respirology*, 16, 113-113 (2011).
46. Carr, R.L.: *Chem Eng*, 72, 163-8 (1965).

## Elektrosztatikus szálképzéssel előállított szálas hatóanyag-hordozó rendszerek vizsgálatának lehetőségei

KOVÁCS ANDREA, PALCSÓ BARNABÁS, ZELKÓ ROMÁNA\*

Semmelweis Egyetem, Egyetemi Gyógyszertár Gyógyszerügyi Szervezési Intézet, Budapest, Hőgyes E. u. 7-9. – 1092

\*Levelező szerző: zelko.romana@pharma.semmelweis-univ.hu

### Summary

Kovács, A., Palcsó, B., Zelkó, R.: **Preformulation and formulation studies of electrospun micro- and nanofiber based drug delivery systems**

**Introduction:** Over the last few years, the formulation of nanofibrous drug delivery systems has become an extensively investigated area of the pharmaceutical development because of their unique properties. As a result of their exceptional structural properties, like the high surface-volume ratio, the high porosity and the possibility to the control of the crystalline amorphous phase transition, they became in the focus of the drug research. They possess several biopharmaceutical advantages, such as improving the dissolution rate and extent of the poorly soluble drugs and providing controlled drug release. The applied materials, the type of the preparation methods and its circumstances contribute to the advantageous properties.

**Purpose and Methods:** The purpose of the present paper is to provide a literature overview of the most common micro- and macrostructural characterization methods of electrospun fibers. In addition, the manuscript aimed at the presentation of not only the widely applied characterization methods but those not yet widespread but offering special analysis options which could expand the preformulation studies of fibrous delivery systems.

**Conclusions:** The high sensitivity of micro- and nanofibrous drug delivery systems to various solution, process and environmental parameters enables the fine tuning of the functionality-related properties of the prepared systems.

Although general formulation parameters covering each system cannot be determined, but the monitoring of the functionality-related macro- and microstructural properties of the initial gels or prepared fibers allows the exploration of relationships which could lead to novel formulation strategies.

**Keywords:** microfiber, nanofiber, preformulation, formulation, physicochemical characterization, macro- and microstructure

### Összefoglalás

**Bevezetés:** Napjainkban a nanoszálás gyógyszerhordozó rendszerek formulálása széles körűen kutatott terület, ugyanis ezen egyedi szerkezetű és tulajdonságú rendszerek nagy fajlagos felülettel, nagy porozitással és a kristályos-amorf átalakulás lehetőségével jellemezhetőek, melyek számos napjainkban releváns gyógyszerészeti probléma megoldásában nyújthatnak segítséget. Így a gyógyszerkutatásban nagyszámban megjelenő kedvezőtlen biofarmáciai tulajdonságokkal rendelkező gyógyszervegyület oldódási sebességét, oldódás mértékét növelhetik, valamint a szabályozott hatóanyag-leadású rendszerekkel speciális terápiás igények is megcélozhatóvá válnak. Ezen kedvező tulajdonságokra nagy hatást gyakorolnak az elektrosztatikus szálképzés során a felhasznált alapanyagok tulajdonságai, folyamatparaméterek és környezeti tényezők, így ezek vizsgálata elengedhetetlen a kívánt célnak megfelelő gyógyszerforma előállításának érdekében.

**Célkitűzés és módszerek:** Jelen közlemény célja, hogy a közelmúltban megjelent közlemények alapján áttekintést nyújtson az elektrosztatikus szálképzéssel előállított polimer alapú nano- és mikroszálas rendszerek leggyakrabban alkalmazott mikro- és makroszerkezeti vizsgálati módszereiről. Emellett a kézirat összeállításánál igyekeztünk kitérni, olyan még nem elterjedt, különleges módszerekre/mérési elrendezésekre is, melyek új megvilágításba helyezhetik a szálas rendszerek preformulációs vizsgálatait.

**Következtetések:** A hatóanyag tartalmú mikro- és nanoszálás gyógyszerformák oldat-, folyamat- és környezeti paraméterekkel szembeni rendkívüli érzékenysége lehetővé teszi az előállított rendszerek funkcióval összefüggő tulajdonságainak finomhangolását. Habár általános, minden rendszerre kiterjedő és sikeresen alkalmazható formulációs paraméterek nem határozhatók meg, mégis a funkcióval összefüggő tulajdonságokat befolyásoló mikro- és makroszerkezeti jellemzők monitorozása, akár a kiindulási gélek, akár a képződött szálak esetében olyan összefüggések feltárására ad lehetőséget, melyek segítségével optimális formulációs stratégia határozható meg.

**Kulcsszavak:** mikroszál, nanoszál, preformuláció, formuláció, fizikai-kémiai vizsgálatok, makro- és mikroszerkezet

### Bevezetés

Napjainkban a polimer alapú, nanométeres, azaz  $10^{-9}$  m mérettartományba eső rendszerek fejlesztését nagy tudományos érdeklődés övezi. Az orvosi gyakorlatban alkalmazásuk széles körű, előnyös tulajdonságaik miatt felhasználhatók többek kö-

zött sebvarró cérnák, háromdimenziós szövetpótló vázszerkezetek és implantátumok, filmek, kapszulák és egyéb gyógyszerhordozó rendszerek előállítására [1].

A nanoszálás rendszerek, mint potenciális gyógyszerhordozók egyre nagyobb figyelmet kapnak a gyógyszerészetben, mind ipari, mind akadé-

## Rövidítésjegyzék

ACES	( <i>Alternating Current Electrospinning</i> ) Váltakozó áramú elektrosztatikus szálképzés
AFM	( <i>Atomic Force Microscopy</i> ) Atomerő mikroszkópia
ATR-FTIR	( <i>Attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy</i> ) Gyengített teljes reflexiós Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia
BCS	( <i>Bipharmaceutical Classification System</i> ) Biofarmáciai osztályozási rendszer
BET	Brunauer, Emmett és Teller-modell
CS	kitozán
DCES	( <i>Direct Current Electrospinning</i> ) Egyenáramú elektrosztatikus szálképzés
DMF	dimetil-formamid
DSC	( <i>Differential Scanning Calorimetry</i> ) Differenciál pásztázó kalorimetria
FESEM	( <i>Field Emission Scanning Electron Microscopy</i> ) Téremissziós pásztázómikroszkóp
GIT	gasztrointesztinális traktus
HA	hialuronsav
HSES	( <i>High Speed Electrospinning</i> ) Nagysebességű elektrosztatikus szálképzés
HTS	( <i>High Throughput Screening</i> ) Nagy áteresztőképességű szűrővizsgálat
LEP	( <i>Liquid extrusion porosimetry</i> ) Folyadék extrúziós porozimetria
LIM	( <i>Liquid intrusion method</i> ) Kapilláris telítési porozimetria
o-Ps	orto-pozitronium atom
PALS	( <i>Positron Annihilation Lifetime Spectroscopy</i> ) Pozitron annihilációs élettartam spektroszkópia
PBS	poli(butilén-szukcinát)
PCL	poli(-ε-kaprolakton)
PEG	poli(etilén-glikol)
PEO	poli(etilén-oxid)
PLA	poli(tejsav)
PLGA	poli(tejsav-glikolsav) kopolimerek
PU	poli(uretán)
PVA	poli(vinil-alkohol)
PVAc	poli(vinil-acetát)
PVDF	poli(vinilidén-fluorid)
PVP	poli(vinil-pirrolidon)
PVPVA	poli(vinil-pirrolidon-vinil-acetát)
SAXS	( <i>Small Angle X-ray Scattering</i> ) Kisszögű röntgenszórás
SEM	( <i>Scanning Electron Microscopy</i> ) Pásztázó elektronmikroszkópia
SNES	( <i>Single Needle Electrospinning</i> ) Egy tűs elektrosztatikus szálképzés
SSNMR	( <i>Solid state nuclear magnetic resonance</i> ) Szilárdfázisú mágneses magrezonancia
T <sub>g</sub>	üvegátalakulási hőmérséklet
ToF-SIMS	( <i>Time of flight secondary ion mass spectrometry</i> ) Repülési idő szekunder-ion tömegspektrometria
TPU	termoplasztikus poli(uretán)
XRD	( <i>X-ray diffraction</i> ) Röntgen-diffrakció
XRPD	( <i>X-ray Powder Diffraction</i> ) Porröntgen diffrakciós spektroszkópia
WAXS	( <i>Wide Angle X-ray Scattering</i> ) Nagyszögű röntgenszórás

miai oldalról. Ennek oka a szálak rendszerek szerkezetéből adódó tulajdonságaikban keresendő. A nanoszálak olyan nanoszerkezetű anyagok, amelyek két külső mérete nanotartományba esik [2]. Nagy fajlagos felületük, jelentős mértékű porozitásuk, továbbá a hatóanyag kristályos-amorf átalakulásának lehetősége és az extracelluláris mátrixhoz hasonló térbeli szerkezetük révén alkalmasak lehetnek mind szövetregenerációt segítő vázszervezetek, mind gyógyszerhordozó rendszerek előállítására, ezen tulajdonságoknak köszönhetően hívták fel magukra a figyelmet [3-5]. A racionális gyógyszertervezésnek és a nagy áteresztő-képességű szűrővizsgálatok alkalmazásának (HTS) következtében a gyógyszerfejlesztés kezdeti fázisában nagyszámú molekula vizsgálata történik, és a célmolekulához való kötődés szempontjából optimális szerkezettel rendelkező vegyületek kerülnek kiválasztásra, ám az új gyógyszer-molekulák zöme az orális adagolást tekintve előnytelen tulajdonságokkal bír. Jelentős hányaduk a Biofarmáciai Osztályozási Rendszer (BCS) II-es osztályába tartozik, ezekben az esetekben a jó membránpermeabilitás rossz vízoldhatósággal párosul, mely komoly akadálya a gasztrointesztinális traktusból történő felszívódásnak [6, 7].

A szálképzés eredményeként létrejövő szálak szerkezetű hatóanyag-hordozó rendszerek esetében a hatóanyag szálképzés során bekövetkező amorfizálódására, a fajlagos felület extenzív növekedésére és a szupramolekuláris szerkezet megváltozására vezethető vissza az oldódás mértékének és sebességének növekedése, melyek megoldást jelenthetnek a BCS II-es vegyületek rossz biohasznosíthatóságának problémájára [4]. Sok esetben az alkalmazott hatóanyag-molekulák több polimorf módosulattal rendelkeznek, amelyeknek oldhatósága és hatása is eltérő lehet. Mindezen kedvezőtlen fizikai-kémiai tulajdonságok kiküszöbölésére is reális alternatívát nyújthatnak a szálalapú formulációk [8]. Az említett sajátos szerkezeti tulajdonságok miatt gyakran pillanatszerű kioldódási profilt tapasztalhatunk, azonban megfelelő polimer típus és összetétel kiválasztásával, vagy a szálak megfelelő utókezelésével szabályozott hatóanyag-leadás is biztosítható. A hatóanyag-fel szabadulás kinetikáját számos paraméter befolyásolja, ezek között említhető a szálátmérő, és a polimer típusa és oldhatósága. A nanoszálak rendszerek mind lokális (sebfedés, sebkezelés), mind szisztémás (orális, szublingvális, transzdermális) terápia esetén alkalmazhatók, mint gyógyszerhordozók [3-5, 9-12]. Ezen túlmenően emésztőenzi-

mekre érzékeny fehérje és peptid hatóanyagok pH-függő kioldódással rendelkező szálás rendszerek segítségével megvédhetők a nem kívánt degradációtól. Mivel a szálás rendszerbe ágyazott hatóanyag képes megőrizni a bioaktivitását, és nyújtott hatóanyag-leadás is biztosítható, így a különböző makromolekulák (enzimek, nukleinsav, növekedési faktorok) bezárására is ígéretes alternatíva lehet [4].

### Nanoszálás rendszerek szerkezete, felépítése

A szálképzéshez használt polimerek lehetnek természetes vegyületek, félszintetikus és szintetikus származékok, amelyeket az *I. táblázat* foglalja össze. Szervezetbeni viselkedésük alapján pedig megkülönböztetünk biodegradábilis és nem biodegradábilis molekulákat. [3, 5, 9, 10, 13-15]. Gyógyászati felhasználás szempontjából a figyelem középpontjában leginkább azok a biodegradábilis polimerek állnak, melyek nem váltanak ki nemkívánatos lokális vagy szisztémás reakciót, bomlástermékeik nem toxikusak, tehát biokompatibilisek. Az ideális polimer a biokompatibilitás és biodegradabilitás mellett megfelelő mechanikai tulajdonságokkal és mérsékelt hidrofilitással rendelkezik, tehát belőle gyógyszerkészítmény formulálható, és a szervezet vizes közegében nedvesíthetősége, illetve stabilitása optimális. A hidrofobicitás előnyös lehet abban az esetben, ha a formulálandó hatóanyag lipofil tulajdonságú, mert ekkor a polimerrel való fizikai kölcsönhatás kedvezőbb.

A természetes eredetű molekulák legtöbbje vizes közegben oldódik, általában jobb biokompatibilitással, kisebb immunogenitással és toxicitással rendelkeznek, mint a szintetikus anyagok, így gyógyászati területen történő felhasználásuk előnyösebb lehet. A szintetikus származékok közül

több alacsony vízdoldhatósággal rendelkezik, mely szerves oldószer alkalmazását teheti szükségessé, ugyanakkor ezek a polimerek lehetőséget adnak jobb mechanikai tulajdonságokkal, jobb szálképezhetőséggel és lassabb degradációs sebességgel rendelkező nanoszálak előállítására. Természetes és szintetikus polimerek együttes alkalmazásával megvalósítható olyan kompozitok előállítása, melyek ötvözik a két eltérő eredetű anyag előnyös tulajdonságait, így megfelelő biokompatibilitással és mechanikai tulajdonságokkal rendelkező szálás struktúrák állíthatók elő [6].

### A szálás struktúrák mikro- és makroszerkezete

A nanoszálás gyógyszer-formuláció egyik legnagyobb előnye, hogy túltelített oldat létrehozásával a hatóanyag oldódásának mértéke megnő, melynek következtében növekszik a hatóanyagok biohasznosulása, így lehetővé válik kisebb dózisos alkalmazása a hatékony terápia elérésére, ezáltal elkerülhető a szervezet felesleges gyógyszerterhelése. A szálás formulációból történő hatóanyag-felszabadulás kinetikája az elektrosztatikus szálképzés paramétereinek megfelelő változtatásával, illetve a képződött szálak utókezelésével széles spektrumon belül (néhány másodperctől több óráig) változtatható. A hatóanyag-leadás függ többek között a mátrixdegradációtól, a polimer mátrixban való hatóanyag-eloszlástól és a polimer láncok szupramolekuláris szerkezetétől is. Az említett tulajdonságok mind összefüggést mutatnak a szálak átmérőjével, amely jellemzően a 20-500 nm-ig terjedő mérettartományba esik, és a képződött szálás rendszer struktúráját alapvetően meghatározza. Ez utóbbi a szálképzés paramétereinek változtatásával közvetlenül befolyásolható [2-5, 16-18]. A struktúrát tekintve beszélhetünk mikro- és makroszerkezetéről, melyek közül az előbbi a szá-

*I. táblázat*

*Leggyakrabban használt természetes, félszintetikus és szintetikus vegyületek*

Természetes	Félszintetikus	Szintetikus
alginát	kitozán	poliglikolsav
cellulóz	hidroxipropilcellulóz	politejsav
elasztin	hidroxipropil-metilcellulóz	poli(tejsav-glikolsav) kopolimerek
hialuronsav		polivinil-alkohol
zselatin		poliuretán
		polivinil-acetát
		poli-ε-kaprolakton
		polietilén-oxid
		polivinil-pirrolidon
		poliakriksav

Elektrosztatikus szálképzés paramétereinek hatása a szálátmérőre [19]

Befolyásoló paraméter	Szálátmérőre gyakorolt hatása
<b>Polimer oldat tulajdonságai</b>	
Polimer koncentráció ↑	↑
Polimer molekulatömeg ↑	↑
Viszkozitás ↑	↑
Vezetőképesség ↑	↓
Dielektromos állandó ↑	↓
<b>Előállítási paraméterektől függő tulajdonságok</b>	
Feszültség ↑	↓
Tű-kollektor távolság ↑	-
Áramlási sebesség ↑	↑
Tű átmérő ↑	↑
<b>Környezeti paraméterektől függő tulajdonságok</b>	
Hőmérséklet ↑	↓ vagy ↑
Relatív páratartalom ↑	↓

lakon belüli inter- és intramolekuláris kölcsönhatásokból adódik, míg az utóbbi a szálak közötti kapcsolatot jellemzi [8].

A kialakult szálalapú gyógyszerformák szerkezetét nagymértékben meghatározza az előállítás módja (elektrosztatikus, rotációs, pneumatikus, nedves és száraz szálképzés) és annak körülményei. Gyógyszerészeti felhasználás szempontjából leggyakrabban alkalmazott eljárás, az elektrosztatikus szálképzés során a szálak tulajdonságait befolyásoló tényezőket a *II. táblázat* [19] foglalja össze.

### Szálalapú készítmények vizsgálati módszerei

#### Preformulálási vizsgálatok

Az előállítás során kiemelkedő szereppel bírnak a különböző fizikai-kémiai vizsgálati módszerek. Az optimális szálképzés eltérő lehet különböző polimerek esetén, függ az előállítás módjától, az előállítás egyes paramétereitől (kollektor típus, áramlási sebesség, tűátmérő, elektromos térerő, kollektor-tű távolság stb.), valamint a kiindulási oldat vagy gél sajátságaitól [20]. A szálás rendszerek preformulálási és formulálási vizsgálatánál alkalmazott leggyakoribb, és jelen közleményben kifejtett, vizsgálati módszereit foglalja össze az *1. ábra*.

#### Kiindulási gélek, oldatok vizsgálata

Mivel a szálképzést és az előállított szálás struktúra tulajdonságait jelentősen befolyásolja például a kiindulási gélek/oldatok viszkozitása, illetve elektrosztatikus szálképzés során azok felületi feszültsége és vezetőképessége, így ezek vizsgálata fontos a formuláció során [21].

rosztatikus szálképzés során azok felületi feszültsége és vezetőképessége, így ezek vizsgálata fontos a formuláció során [21].

- *Felületaktivitás és felületi feszültség:* A polimerek felületaktivitása a nedvesedés mértékének javításával hozzájárulhat a kioldódás növeléséhez. Továbbá a felületaktív anyag jelenléte stabilizálja a kialakult diszperziós rendszert, így meggátolja a hatóanyag kikristályosodását [4, 22]. A felületi feszültséget tenziométerrel mérhetjük [20], szerepe a szálképzés során még vitatott, függ az alkalmazott oldószertől és polimertől is. Kai és mtsai., illetve Pelipenko és mtsai. azonban megfigyelték a cseppképződés mértékének csökkenését a felületi feszültség csökkentésével [5, 23].
- *Vezetőképesség:* A vezetőképességnek az elektrosztatikus szálképzés esetén kiemelt szerepe van. Elmondható, hogy sem a túl alacsony, sem a túl magas vezetőképesség nem teszi lehetővé a Taylor-kúp kialakulását, ezáltal megakadályozva a megfelelő szálképzést. Gunn és mtsai. illetve Pelipenko és mtsai. is megfigyelték, hogy a vezetőképesség magasabb értéke vékonyabb és kevésbé cseppes szálakat eredményez [13, 23].
- *Reológiai vizsgálatok:* A viszkozitásnak szintén szerepe van a kialakult szálak morfológiáját tekintve, növelésével ugyanis egyre vastagabb és kevésbé cseppes szálakat kapunk. A kellően nagy viszkozitás értékeknél folytonos szálképzést érhetünk el és elkerülhetjük az elektrosztatikus porlasztást [13, 23, 24].

*Verreck és mtsai.* 10% és 40%-os hatóanyag/polimer arányú itakonazol tartalmú poli(uretán) szálakat állítottak elő, leírták, hogy a magasabb

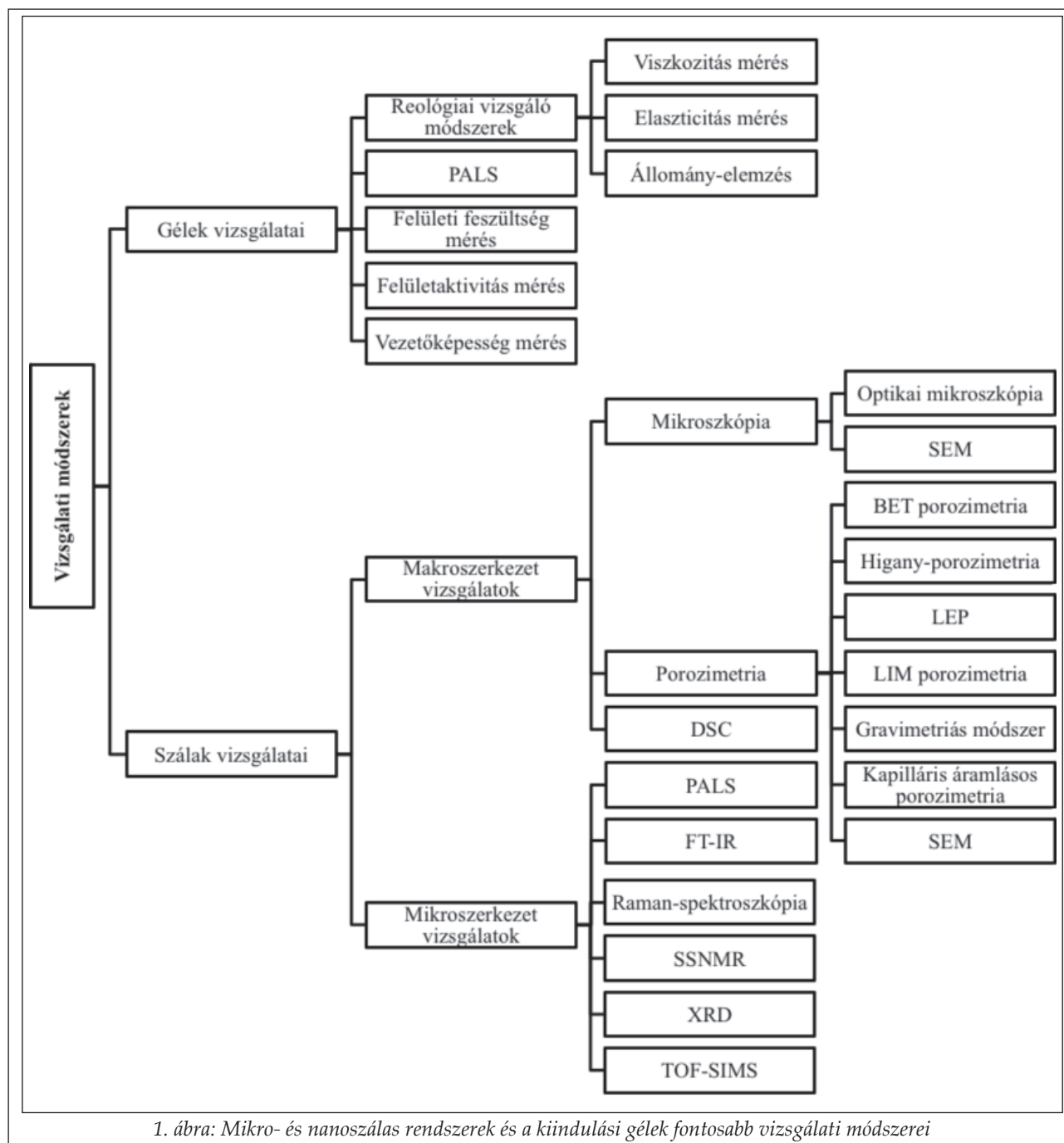


hatóanyag és polimer koncentráció alkalmazása az oldhatóság által limitált, míg az alacsonyabb koncentrációk esetében az alacsony viszkozitás és a Rayleigh instabilitás következtében gátolt a szálképzés [15].

*Tonglairoum és mtsai.* PVP/Hidroxipropil- $\beta$ -ciklodextrinbe ágyazott klotrimazol tartalmú szálak elektrosztatikus szálképzése során megállapították az oldószer elegyként alkalmazott optimális etanol: víz: benzil-alkohol arányt. Eközben megfigyelték, hogy a benzil-alkohol

térfogat-százalékos növekedésével a cseppek szálképződés mértéke csökken, nagyobb és egysegebb szálak képződtek, köszönhetően a megnövekedett viszkozitásnak [25].

Azonban azt is fontos megemlíteni, hogy a szálképzési tulajdonságok előrejelzésére sokkal inkább alkalmazható a határfelületi reológiai tulajdonságok vizsgálata, mint az egész géltre jellemző reológiai tulajdonságok, mivel az előbbiek szoros összefüggést mutatnak a szálképzési tulajdonsággal [20].



1. ábra: Mikro- és nanoszál rendszerek és a kiindulási gélek fontosabb vizsgálati módszerei

A reológiai tulajdonságok vizsgálata lehetséges állomány-elemzéssel, amely során egy kiindulási polimert tartalmazó tárolóedénybe merül egy megfelelően megválasztott mérőfej, majd a gélbe való bemerülés után a műszer kihúzza azt [26]. A mérés alkalmas szilárd, félszilárd és folyékony rendszerek vizsgálatára is. A szálképzés szempontjából, a kiindulási gélek állomány-elemzése segítségével lehetséges az optimális polimer koncentráció megállapítása [27]. A mérés során az erőt ábrázolva az idő függvényében kiszámítható a keménység (maximális nyomóerő), a kohezivitás (a munka, ami a gél deformálásához szükséges a bemerülési folyamatban) és az adhezivitás (amely a gélből történő kihúzással köthető össze). A keménységet a maximális erő adja, a kohezivitás egyenlő a pozitív görbe alatti területtel, míg az adhezivitás a negatív görbe alatti területtel [26]. Száلكépzési eljárás tekintetében a legfontosabb ezek közül az adhezivitás, amelyet a terheléstávolság görbe alapján is számíthatunk. *Szabó és mtsai.* megállapították, hogy elektrosztatikus száلكépzésnél az optimális száلكépzési koncentrációnál az adhezivitás egy lokális minimummal rendelkezik [27].

#### *Szálas rendszerek vizsgálatai*

A **III. táblázat** foglalja össze a szakirodalomban fellelhető elektrosztatikus száلكépzéssel előállított polimer szálas rendszerek formulálása során leggyakrabban alkalmazott vizsgálmódszereket.

#### *A szálas makroszerkezetének vizsgálata*

##### *– Pásztázó elektronmikroszkópia (SEM)*

Morfológiai vizsgálatokra egyaránt alkalmazható optikai mikroszkóp [3, 27-31] és pásztázó elektronmikroszkóp (SEM), azonban részletesebb morfológiai analízisre és a felszíni topográfia meghatározására pásztázó elektronmikroszkóp, illetve atomerő mikroszkóp (AFM) alkalmazása a célravezető.

Nanoszálas rendszerek esetében a SEM az egyik leginkább elterjedt mikroszkópos vizsgálat. Ennek során egy vékony elektronsugár-nyaláb pásztázza végig a felszínt, majd a minta és a nyaláb kölcsönhatásából származó jelek detektálása révén kétdimenziós képet kapunk a vizsgált minta morfológiájáról és felszínéről. Különbözőféle SEM módszerek léteznek, a kölcsönhatás eredménye szerint lehetséges a szekunder

elektronok, visszaszórt elektronok, abszorbeált elektronok stb. detektálása. A kapott kép mélységélessége 3-4 nm, felbontása rendkívül nagy, akár 0,05 nm is lehet, azonban a felbontó képesség határát általában maga a vizsgálati minta korlátozza. A módszer hátrányaként említendő, hogy a minta előkészítést igényel, ami károsíthatja a nanoszálakat [32-34].

A hatóanyag/polimer arány, illetve a polimer koncentrációja a kiindulási oldatban alapvetően befolyásolja a kialakult szálak morfológiáját és az átlagos szálatmért, amely SEM felvételekkel nyomon követhető. Egy adott oldószer szilárd anyag arány mellett általánosan elmondható, hogy a nagyobb hatóanyag/polimer arány következményeként vékonyabb szálak keletkeznek, míg a polimer koncentráció növelésével a szálak átmérője is nő, azaz vastagabb szálak képződnek [5, 15, 23 35]. Általában viszont a polimer oldószer arány szokott rögzített lenni, és a hatóanyag mennyiség növelése inkább enyhén vastagítja a szálakat a nagyobb szilárdanyag mennyiség miatt [36]. Az előállítási körülmények, a polimer oldat összetétele és a folyamattól függő változók egyaránt meghatározzák a kialakuló struktúrát. Elektrosztatikus száلكépzés esetén, a kiindulási oldat vezetőképessége és a dielektromos állandója is befolyásoló tényező, így például dimetil-formamid (DMF) alkalmazása javítja a száلكépzést és csökkenti a szálak átmérőjét [15].

*Akduman és mtsai* megfigyelték termoplasztikus poliuretán (TPU) alapú szálak vizsgálatakor, hogy a polimer koncentráció növelésével nő a szálak átlagos átmérője.

Naproxén hatóanyag beágyazása esetén megállapították, hogy sem a hatóanyag jelenléte, sem annak koncentrációja nem befolyásolta szignifikánsan a polimer szálak átmérőjét [21].

A száلكépzési eljárás paramétereinek helytelen megválasztása jellegzetes hibás szerkezethez, ún. gyöngysorszerű (*bead-on-a-string*) struktúra kialakulásához vezethet, mely SEM segítségével vizsgálható. Ilyen hibás struktúra esetén a SEM képeken kis csomók és cseppek figyelhetők meg, amelyek kialakulásának hajtóereje a felületi feszültség, ami cseppeket szeretne kialakítani a folyadéksugárból, azonban az oldószer elpárolgásával nem tud teljesen végbemenni a folyamat, és csak részleges szétválást látunk. A polimer koncentráció csökkentésével a szétválás könnyebbé válik, így elektroporlasztás folyamata játszódik le, míg a polimer koncentrá-

ció növelésével a szétválás nehezedik a polimer láncok egymásba gabalyodása miatt, és így egy-egy szálatmérő tud kialakulni. Morfológiai vizsgálatoknál fontos kitérni a keletkezett szálak átmérőjének homogén eloszlására. Összeségében elmondható, hogy a polimer koncentráció emelésével, ezáltal a viszkozitás növelésével a rendszer homogenitása nő és a korábban említett defektusok száma csökken. Azonban fontos megjegyezni, hogy a viszkozitás növekedésével egy bizonyos szintet elérve a szálképződés már gátolt [5, 15].

Kurkumin tartalmú nanoszálak formulációját több kutató csoport is vizsgálta, mely során a hatóanyag PVP polimer szálakba történő beágyazásakor SEM felvételek segítségével megállapították, hogy a hatóanyag-tartalmú szálak átmérője kisebb, mint a hatóanyag nélkülieké. Ennek oka az lehet, hogy a kurkumin a kiindulási oldat vezetőképességének növelése révén fokozza az elektromos mező hatását a képződő szálra nézve, ezáltal csökkentve a szálatmérőt. Ugyanez a tendencia megfigyelhető  $\beta$ -ciklodextrinbe zárt kurkumin, PVA alapú szálak formulációja esetén is [16, 37]. A kurkumin hatóanyag koncentrációjának növelésével cseppképződés történik a szálképzés során, amely a hatóanyag rossz oldékonysága következtében létrejövő aggregációval magyarázható [37].

A SEM mérést kiegészítve, fluoreszcens festést alkalmazva tanulmányozható a hatóanyag szálon belüli eloszlása. Ezeknek a vizsgálatoknak köszönhetően megállapítható azon hatóanyag koncentráció, amelynél még biztosított a hatóanyag egyenletes eloszlása és elkerülhető a kristályok megjelenése [16].

A SEM vizsgálatok és további mérések segítségével, mint például DSC (differenciál pásztázó kalorimetria), XRPD (por röntgen-diffrakció), lehetséges különböző eljárások összehasonlítása is az előállított termék minőségének szempontjából. Ilyen összehasonlítást végeztek itakonazol tartalmú, PVP/vinil-acetát kopolimerből álló szálak előállítására használt, egytűs elektrosztatikus szálképzés (SNES) és nagysebességű elektrosztatikus szálképzés (HSES) esetében. Nagy és mtsai igazolták a képződött szálak nagyfokú hasonlóságát, azzal a különbséggel, hogy a HSES-sel képzett szálaknál nagyobb mértékben volt megfigyelhető a cseppes struktúra [38]. Démuth és mtsai szintén itakonazol tartalmú SNES és HSES módszerrel előállított HPMC szálak összehasonlítását vé-

gezték el. Megállapították, hogy HSES esetében kis mértékben vastagabb szálak képződtek [39].

– *Atomerő Mikroszkópia (Atomic Force Microscopy; AFM)*

Az AFM egy nagy felbontású (akár 1 nm), a vizsgált minta felszínéről háromdimenziós képet adó műszer. A mérés során a minta felszínét egy lézer segítségével mozgatott, rugalmas lemezre felfüggesztett tű segítségével tapogatják le. A tű mozgása a vizsgált anyag topográfiáját tükrözi. A módszer előnye, hogy a tű nem hatol a mintába a fellépő taszító erőknek köszönhetően, de kellő mértékben megközelíti azt. Az AFM további előnye, hogy nem szükséges semmilyen bevonási módszer, mivel képes a nem vezető mintákról is képet alkotni. Ezen kívül lehetőség van folyékony közegű minták vizsgálatára is, mindezt atmoszférikus nyomáson, így a kapott kép a részecskék tényleges struktúráját mutatja [40].

Az atomerő mikroszkópos felvételeket szövetregenerációs céllal előállított szálalapú rendszerek vizsgálatára is alkalmazták [30, 41, 42]. Segítségével képet kaphatunk a szálak átmérője mellett azok felszínéről, lehetséges a fázisszétválás követése, valamint lehetőség van a mechanikai tulajdonságok vizsgálatára is [42].

Jankovic és mtsai AFM vizsgálatai megmutatták, hogy az általuk vizsgált nanoszálak rendszerek (PVA, PVA/HA, PEO, PEO/CS) felszíne nem porózus szerkezetű és random elrendeződést mutat. A szálak magasságának keresztmetszeti AFM-es vizsgálatával megállapították szálatmérő eloszlását. Megfigyelték, hogy a szálak keresztmetszete nem szabályos kör alakú, hanem a szálak kollektoron való összegyűjtése, a gyors száradás és az üveg fedőlemezrel való érintkezése következtében elliptikus. Mindezek mellett a szálak magasságának átlagértékeit tekintve a következő sorrendet állították fel: PEO < PVA/HA < PEO/CS < PVA [42].

Kontaktelvé AFM mérések segítségével Pelipenko és mtsai hőstabilizált PVA nanoszálakat vizsgáltak, amelyek a hőstabilizálás után is megtartották integritásukat, és vizes közegben is megfelelő tapadást mutattak az üveg fedőlemezhez. Ezalatt követték a duzzadási folyamatot és a szálak vastagságának (magasság) vizsgálata mellett megfigyelték a duzzadási kinetikát. A vízzel való érintkezés következtében eleinte egy gyors duzzadás történt, és az első 5 percben a duzzadó szálak vastagsága a száraz állapothoz képest duplájára nőtt. Ezt követően

nem volt megfigyelhető számottevő változás. A vizsgálat során megállapították, hogy a gyors oldódással szemben ellenálló PVA nanoszálakat sikerült előállítaniuk [41].

*AFM-IR:* Ez a kapcsolt technika lehetőséget ad a polimer keverékek esetében az IR spektrum felvételére az 50-100 nm-es mérettartományban, továbbá fontos információk nyerhetők a molekulák orientáltsága tekintetében is szálas rendszerekben [43].

#### – Porozitás-mérés

A porozitás alapvetően meghatározza a kioldódás mértékét és a hatóanyag-felszabadulás kinetikáját, továbbá a biológiai alkalmazhatóság szempontjából is kiemelt fontossággal bír. Mérésére többféle módszert alkalmazhatunk. Ezek között a legismertebbek és leginkább elterjedtek a higany-porozimetria és a BET- módszer (Brunauer, Emmett és Teller-féle módszer) [32, 44, 45], azonban SEM, gravimetria, folyadék intrúziós módszer (LIM), kapilláris áramlásos porozimetria és a folyadék extrúziós porozimetriás módszer (LEP) is alkalmazható a pórusátmérő és ennek eloszlása, valamint a porozitás meghatározására [45, 46]. A pórusátmérők alapján megkülönböztethetünk mikro- (<1,8 nm), mezo- (1,8-30 nm), és makropórusokat (30-100 nm), amelyeket eltérő módszerekkel vizsgálhatunk [47].

*Higany-porozimetria:* A mérés a higanynak azt a tulajdonságát használja ki, hogy nem nedvesíti a szilárd felületeket. A vizsgálati anyagot tartalmazó tárolóedénybe higanyt helyeznek vákuum alkalmazása mellett, ezt követően nyomás hatására a higany behatol a minta pórusaiba. Az alkalmazott nyomás és a higany térfogatváltozásának ismeretében a pórusátmérő, a pórus térfogat és a porozitás meghatározható [3, 32, 48]. A higany-behatolásos porozimetria mérési határa körülbelül 3,5 nm és 100  $\mu\text{m}$  között található, ennél kisebb pórusok meghatározására alkalmasak lehetnek a gázadszorpciós mérések [47, 49].

*Sarhan és mtsai* méz/PVA/kitozán szálakat állítottak elő, majd vizsgálták a méz koncentrációjának növekedésével bekövetkező szerkezeti változásokat. Ennek során végeztek higany-porozimetriás méréseket is, amelyek révén megbizonyosodtak arról, hogy a mézet tartalmazó minták a korábbi kutatásokban szereplő kitozán és PVA/kitozán szálakhoz képest megnövekedett összporozitással rendelkeznek, azonban a méz koncentrációjának növekedése (10%, 20%, 30%) ezt kevésbé befolyásolja, csu-

pán enyhe porozitás csökkenés figyelhető meg. Ezenkívül a pórusátmérőket is tekintetbe véve elmondható, hogy a 10% és 30% mézet tartalmazó minták megnövekedett pórusátmérővel és szélesebb eloszlással rendelkeznek, mint a 20%-os minták. Így az előbbi két összetétel előnyösebb lehet szövetregenerációt és sebgyógyulást elősegítő vázszerkezetek előállítására [48].

*BET-módszer:* Inert gázoknak (leggyakrabban nitrogén) a minta felületén történő fizikai adszorpciójának mérésén alapuló módszer, amely a Langmuir-izoterma segítségével porózus anyagok fajlagos felületének meghatározására alkalmas [3, 32].

Gasztroretentív nyújtott hatóanyag-leadású ofloxacint tartalmazó gellán/PVA nanoszálakat képezték *Vashisth és mtsai*. Az ofloxacint tartalmazó szálak BET-módszerrel vizsgálva megnövekedett felületet és megnövekedett átlagos pórusátmérőt mutattak, ami FESEM (téremissziós pásztázó elektronmikroszkópia) mérésekkel is igazolható volt [44].

*LEP-módszer:* A folyadék extrúziós porozimetria alkalmazásakor nedvesítő tulajdonságú folyadékot használunk, amely spontán módon a pórusok belsejébe hatol. Ezt követően inert gázzal a pórusokból a folyadék kipréselhető. Az eljárás segítségével meghatározható pórusátmérő 0,05-1000  $\mu\text{m}$  közötti.

Elektrosztatikus szálképzéssel előállított, PCL alapú nanoszálás vázrendszerek pórusátmérőjét és porozitását vizsgálták különféle módszerekkel, úgymint SEM, gravimetria, kapilláris áramlásos porozimetria, LIM és LEP. Az összehasonlító vizsgálatok során nem kaptak szignifikáns különbséget sem a különböző módszerekkel mért átlagos pórusátmérő értékek, sem pedig a porozitás értékek között [46].

#### – Nedvesíthetőség

A nedvesedési peremszög vizsgálatával információt kaphatunk a minta felületi érdességéről, hidrofil vagy hidrofób tulajdonságáról [50]. Hidrofil jellegről beszélhetünk  $\theta < 90^\circ$  esetén, és hidrofóbról, ha  $90^\circ < \theta$ , ahol  $\theta$  a nedvesedési peremszög. *Sampath és mtsai* különböző moláris összetételű PLGA szálakat vizsgáltak, amelyek hidrofób hatóanyagként kurkumint tartalmaztak. A glikolsav-komponens arányának növekedésével párhuzamosan a PLGA polimer szálak hidrofilitása, és így nedvesíthetősége növekedett. A növekvő hidrofilitással a szálak kurkumin-befogadó hatékonysága ugyan csökkent, de ezzel szemben hatóanyag felszabadulás mér-

téke a jobb nedvesíthetőségnek és így gyorsabb dezintegrációnak köszönhetően nőtt [51].

*Ajalloueián és mtsai* a nedvesedési peremszög mérésével tiszta PLGA szálak, PLGA/kitozán és PLGA/kitozán/PVA kompozit szálak hidrofilitását vizsgálták. Míg a PLGA hidrofób jelleget mutatott, a másik két összetétel esetében jelentős hidrofilitás növekedés volt megfigyelhető. Megállapították, hogy a PVA-t eltávolítva a rendszerből, a hidrofilitás mértéke tovább növekszik, mely egyben a PLGA/kitozán szálak nagyobb sejt-affinitását is eredményezheti. Ennek köszönhetően a PLGA/kitozán alapú szálak formulációk alkalmasak lehetnek például bőrszövet regenerációt segítő mátrixok előállítására [35].

*Pelipenko és mtsai* szintén a sejtadhézió tanulmányozásának céljából vizsgálták a nedvesedési peremszöget PVA film és PVA nanoszálak esetében. Leírták, hogy a sejtekhez történő kapcsolódás 50°-60°-os nedvesedési peremszög esetén megfelelő, amelynek a PVA szálak eleget tesznek. Ezzel szemben, a PVA filmeknél tapasztalt nagyobb nedvesedési peremszög értékek, valamint a felületi energia poláris komponensének csökkenése nem megfelelő sejtadhéziót eredményez [41].

#### – *Differenciál pásztazó kalorimetria (DSC)*

A DSC az egyik legelterjedtebben használt termoanalitikai makroszerkezet meghatározó módszer. Segítségével vizsgálhatók a különböző átalakulási folyamatok, mint például az olvadás, a rekrisztallizáció, az üvegesedés és a bomlás [32]. A mintában történő szerkezeti változás ugyanis az ábrázolt hőmennyiség-hőmérséklet görbe lefutásának változásából megállapítható. Exoterm változás esetében a görbén csökkenés figyelhető meg, míg endoterm változás esetében növekedést láthatunk [52]. A DSC alkalmazása kiterjed a nem kristályos és szemi-kristályos polimerek üvegátalakulási hőmérsékletének ( $T_g$ ) meghatározására, míg kristályos anyagok esetében az olvadáspont és az olvadáshoz tartozó entalpia mérhető. A mért értékek segítségével becsülhető az anyag tisztasága, a kristályosodás mértéke és a részecskék mérete, melynek alapja, hogy szennyezés vagy nanométeres mérettartományba eső részecskék jelenléte az olvadáspont csökkenéséhez vezet [32].

A DSC mérések segítségével megállapítható a polimer alapú szálak formulációkba beágyazott hatóanyag kristályos vagy amorf állapota, hiszen az anyag két eltérő állapotának megolva-

dásakor az entalpiaváltozások különböznek [15].

Naproxént tartalmazó, nanoszálás, termoplasztikus poliuretán (TPU) rendszerek DSC termogramját összehasonlítva a tiszta polimerrel és a tiszta hatóanyaggal, megfigyelhető volt a naproxénre jellemző éles olvadáspont eltűnése a szárendszer vizsgálatakor, amely a hatóanyag amorf állapotára enged következtetni [21].

Egy DCES (egyenáramú elektrosztatikus szálképzés) és ACES (váltakozó áramú elektrosztatikus szálképzés) módszert összehasonlító vizsgálat során különböző polimer vivőanyagba (PVP, Eudragit E, Eudragit L100-55) ágyazott karvedilol tartalmú szálakat állítottak elő, amelyeket DSC segítségével is megvizsgáltak. A mérés minden esetben a hatóanyag amorf állapotát mutatta [53].

#### *A szálak mikroszerkezetének vizsgálata*

##### – *Pozitron annihilációs élettartam spektroszkópia (PALS)*

Polimer alapú nanoszálak mikroszerkezetének felderítésére használható módszer, melynek elvi alapja az elektron és annak antirészecskéje közötti kölcsönhatás. Előnye, hogy gyakorlatilag bármilyen anyag mérése alkalmas, hiszen az elektron minden anyagban megtalálható. A PALS mérések során a fent említett két részecske találkozásakor annihiláció történik, melynek eredményeként felszabaduló  $\gamma$ -fotonok detektálása történik. Az annihilációt közvetlenül megelőzi a pozitronium-atom kialakulása, melynek a mérés szempontjából hasznos formája az orto-pozitronium (o-Ps) részecske. Végző soron az o-Ps élettartamát mérjük, azonban ezeket az idő dimenziójú adatokat szükséges távolsággá alakítanunk ahhoz, hogy összehasonlíthassuk őket más módszerek eredményeivel. A részecskék találkozási nagymértékben függ az elektronsűrűségtől, így a mérés nagyon érzékeny a polimer szárendszerben található üregek méretére. Az üreg mérete és az o-Ps élettartam egyenes arányban áll egymással, mivel nagyobb üres tér esetén a részecskének nagyobb utat kell megtennie egy elektronnal való találkozásig, tehát az annihiláció időben később következik be. A mérés eredményeit kiértékelve képet kaphatunk a vizsgált rendszer üregméret eloszlásáról, mely alapján következtetéseket tehetünk a szálképzés során bekövet-

kező szupramolekuláris rendezettség mértékére [52, 54].

Szabó és mtsai a PALS mérések segítségével karvedilol, illetve egy BCS II osztályba tartozó modell hatóanyagot tartalmazó rotációs szálképzéssel előállított HPC szálak vizsgálatokor, a fizikai keverékhez viszonyítva, a rendszer mikrostruktúrájában bekövetkező változásról számoltak be, amely az o-Ps életidejének csökkenésében nyilvánult meg, ezt egy rendezettebb szerkezet kialakulásával magyarázták. A szálképzés során az alkalmazott citromsavnak köszönhetően hidrogén-kötés alakulhat ki a HPC hidroxil-csoportjával, ami a szálképzés mellett szintén megváltoztatja a polimerláncok eredeti elrendeződését. A kutató csoport a szálak előállítására ugyan nem elektrosztatikus szálképzést használt, hanem rotációs szálképzést, azonban a kialakult szálak struktúra PALS -módszerrel történő vizsgálatára jó példaként szolgál [28, 29].

Sipos és mtsai elektrosztatikus szálképzéssel nebulol-hidroklorid tartalmú, PVA alapú szálakat állítottak elő, majd vizsgálták az előállítási folyamat során bekövetkező fizikai-kémiai változásokat. Ennek érdekében többek között PALS mérést is alkalmaztak, amely segítségével megerősítették a hatóanyag amorf állapotát és a PVA láncok szupramolekuláris rendezettségét [17].

#### – Röntgen diffraktometria (XRD)

A röntgen diffraktometria a röntgensugárzáson alapuló eljárások gyűjtőneve, melyeket ma már rutin eljárásként alkalmaznak, főleg kristályszerkezet meghatározására. A módszernek különböző típusai léteznek, közülük a legelterjedtebb a por röntgen-diffrakció (XRPD), amely alkalmas kristályos és amorf anyagok karakterizálására és mennyiségi meghatározására. A mért szóródási szög alapján következtethetünk a részecskék méretére, a nanoméretű rendszerek kis szóródási szög ( $\theta=0,1-10$ ) esetén tanulmányozhatók (SAXS, kis szögű röntgen-szórás), a nagy szóródási szög ( $\theta>10$ ) pedig szubnanométeres skála tanulmányozására alkalmazható (WAXS, nagy szögű röntgen-szórás) [32, 55, 56].

Egy kísérlet során három eltérő polimer vivőanyagba (PVP, Eudragit E, Eudragit L100-55) ágyazott, és két különböző módszerrel előállított (ACES, DCES) karvedilol tartalmú szálak struktúráját vizsgálták. A hatóanyag kristályosságát röntgen-diffrakcióval meghatározva azt tapasztalták, hogy a hatóanyag önmagában, a kristályos szerkezetnek köszönhetően számos

nagy intenzitású csúcsot mutatott, szemben a polimerekkel, melyek kiszélesedő csúcsokat adtak. A hatóanyag-tartalmú minták diffraktogramja azonban a tiszta polimerekéhez volt hasonló, így a méréssel a hatóanyag amorf állapotára lehetett következtetni [53].

Karvedilol tartalmú HPC szálak gyorsított stabilitás vizsgálata során ( $40 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $75 \pm 5\%$  relatív páratartalom), a mintákat fizikai keverékhez hasonlítva az első 3 hét alatt nem figyeltek meg a kristályosodásra jellemző csúcsokat, azonban a negyedik vizsgálati héten a hatóanyag és/vagy a segédanyagként alkalmazott citromsav kristályosodását állapították meg. Ezt a vizsgálatot DSC méréssel kiegészítve részleges kristályosodásra következtettek, mivel a DSC mérés során nem volt megfigyelhető változás, azaz a változás mértéke a mérés érzékenységet nem haladta meg [29].

Kurkumin PVP-be való beágyazásakor az XRD mérések a hatóanyag amorf állapotára engedtek következtetni a nanoszálak rendszerben [16]. Egy másik kutatócsoport PVA-t, illetve PVA-t és  $\beta$ -ciklodextrint alkalmazva hordozóként, szintén vizsgálták a kurkumin hatóanyag amorf/kristályos állapotát. Azonban ők mind a két összeállítás esetén valószínűsítették a kristályos kurkumin jelenlétét is a rendszerben, mivel megfigyelhető volt néhány kisebb diffrakciós csúcs a mintákban. A PVA/ciklodextrin alapú szálak nem mutattak egyértelműen a kurkuminra jellemző csúcsot, azonban új csúcs jelent meg, amely kristályos szerkezetű kurkumin-ciklodextrin komplex jelenlétére utalhat [37].

#### – Infravörös-spektroszkópia (IR)

Az IR-spektroszkópiában az infravörös elektromágneses hullámok elnyelődését vizsgáljuk a minta molekuláiban. Az IR-sugárzás fotonenergiája a molekularezgések energiatartományába esik, tehát a sugárzás a molekulák kötéseinek gerjesztése során nyelődik el. A különböző funkciók csoportok rezgéseire különböző hullámszám jellemző, így a rezgés frekvenciája alapján ezek azonosíthatók. Az ún. ujjlenyomat-tartomány alapján, spektrumkönyvtárak segítségével az egyes molekulák meghatározhatók [57].

A Fourier-transzformáció spektroszkópia során a kapott spektrumot Fourier-transzformáció segítségével számítják ki a nyers adatokból. Gyengített totálreflexió (ATR) alkalmazása esetén a fénysugár egyszeres vagy többszörös visszaverődést szenved az áteresztő közegben [58].

Az ATR-FT-IR a vibrációs spektroszkópiai módszerek közé tartozik, mely gyógyszerkészítményekben a hatóanyag molekulák közötti, vagy hatóanyag és segédanyag közötti kölcsönhatások vizsgálatára alkalmas. Használhatjuk különböző polimorf módosulatok összehasonlítására is. Polimerek esetében a spektrumban bekövetkező változások, legyenek azok intenzitásbeli változások, új jelek kialakulása vagy meglévők megszűnése, kiszélesedése, utalhatnak egy amorf anyag rekristallizációjára [32,55]. A karakterisztikus csúcsok vizsgálatával lehetőség nyílik a hatóanyag és a mátrix közötti kölcsönhatások vizsgálatára, továbbá a módszer alkalmas a szálképzés során bekövetkező kémiai átalakulások felderítésére [16].

Kurkumin tartalmú PVP polimer szálak vizsgálata során megfigyeltek bizonyos intermolekuláris hidrogén-hidak kialakulását, melyekre az újonnan megjelenő C=C kettős kötés jelek és egy csúcs kiszélesedése utalt [16].

Az FT-IR kiválóan alkalmas annak igazolására, hogy az előállított nanoszálal formuláció tartalmazza-e a kérdéses hatóanyagot, hiszen a hatóanyag jelenléte esetén annak karakterisztikus csúcsai láthatók spektrumon. Egy egyedi összetett rendszerben, mukoadhezív kitozán-cisztein/PVA által borított PVP/hidroxipropil- $\beta$ -ciklodextrin szendvics struktúrájú tapaszban klotrimazol jelenlétét igazoltak a mérés segítségével [59].

Az FT-IR a hatóanyag kimutatásán túl lehetőséget nyújt a kristályos-amorf átalakulás nyomon követésére is. Amorf állapotban a kristályos hatóanyagra jellemző karakterisztikus csúcsok kiszélesednek, összeolvadnak, esetleg el is tűnnek a spektrumból. *Kazsoki és mtsai* papaverin-hidroklorid tartalmú nanoszálakban a kristályos hatóanyagra jellemző csúcsok eltűnését állapították meg, amely a papaverin kristályos-amorf átalakulásával volt magyarázható, és a szálak tárolása során részleges visszakristályosodást mutatott [60]. Egy kutató csoport riboflavin és koffein tartalmú PVA szálak vizsgálata során a koffeinre és a riboflavinra jellemző csúcsok csökkenését és eltűnését tapasztalták, amit azzal magyaráztak, hogy a PVA erős jele elfedte őket. Továbbá a kapott adatokból a hatóanyagok és a PVA közötti molekuláris kölcsönhatás hiányát is megállapították [61].

– *Raman-spektroszkópia, Raman-térképezés*

A Raman-spektroszkópia működési elve hasonló az infravörös spektroszkópiához, a módszer

a rezgési és forgási spektroszkópiai módszerek közé tartozik. Eltérés, hogy míg az IR-spektroszkópiával abszorpciót mérünk, addig a Raman esetében a monokromatikus fényvel való besugárzás következtében történő fényszóródást vizsgáljuk. Az így keletkezett spektrum segítségével információt kaphatunk a molekulákban található funkciócsoportokról, azok egymáshoz viszonyított helyzetéről és orientációjáról [56]. Itrakonazol tartalmú PVPVA szálak Raman-spektroszkópiával történt vizsgálata során a hatóanyag amorf állapotát bizonyították [62]. Különböző polimerekbe ágyazott, itrakonazol tartalmú szálak Raman-térképezéses vizsgálata során különbség volt megfigyelhető eltérő tárolási körülmények között. PVPVA polimer alkalmazásakor 25°C-on (60%-os relatív nedvességtartalom) a hatóanyag megőrizte amorf állapotát, azonban 40°C-on (75% relatív nedvességtartalom) 3 hónap alatt szinte teljes mértékben kikristályosodott. Ezzel ellentétben HPMC alkalmazásakor az itrakonazol 12 hónapig megőrizte eredeti struktúráját. Ezek az eredmények igazolhatók a DSC méréssel is, azonban a Raman-térképezés előnye a nem-invazív mérés lehetősége [39].

– *Szilárd fázisú mágneses magrezonancia spektroszkópia (SSNMR)*

Az NMR alkalmas szerves molekulák kémiai szerkezetének felderítésére, a molekulák NMR-aktív magjaiból származó spektrumok elemzése révén. A kiértékelés során a spektrumból kvalitatív és kvantitatív adatok is nyerhetők. Kvantitatív mérés során kihasználjuk, hogy a keletkezett jelek intenzitásának integrálja egyenesen arányos az NMR-jelet adó csoportban megtalálható magspinek számával. A szilárd fázisú NMR mérések során egy külön erre a célra tervezett műszert alkalmaznak [63]. A technika alkalmas két amorf anyagból álló szilárd diszperz rendszerben a részecskék méretének meghatározására, illetve a hatóanyag-polimer fázisszétválás tanulmányozására az előállított szálakban. A mérés előnye, hogy a fázisszétválást felismerve a rendszer instabilitását hamarabb észlelhetjük, mint a hagyományosabb DSC és XRD mérésekkel, amelyekkel nem mindig lehetséges a hatóanyag-polimer szétválás detektálása, csak a kristályosodás megállapítása [64].

Egy vizsgálat során PVP alapú, indometacint, illetve aliszikirent tartalmazó, különböző arányú szálakat állítottak elő elektrosztatikus szálképzéssel. A mérések a hatóanyag polimer hordo-

zóban való homogén eloszlását mutatták. Az alizsikirén-PVP szálat összehasonlítva olvadék extrúziós módszerrel előállított gyógyszerformával, az extrudátumban fázisszétválást figyeltek meg, míg a szálrendszer stabil maradt [64]. Emellett a szálak stabilitását 6 hónapra át (40°C, deszikkátor) nyomon követve a rendszer stabilitását sikerült igazolni a vizsgálati időn belül [65].

– *Repülési idő szekunder-ion tömegspektrometria (Time of flight secondary ion mass spectrometry; ToF-SIMS)*

A ToF-SIMS egy igen érzékeny, kvalitatív felülelelemzésre alkalmas módszer. A mérés során egy primer ionforrásból származó ionok csapódnak a vizsgálati minta felületéhez. Ennek következményeként az anyagból atomok lépnek ki, melyek egy része ionizálódik. Az így keletkezett szekunder ionok a repülési idő detektorban gyorsító feszültség hatására, tömeg/töltés (m/z) szerint különböző sebességgel repülnek, így a becsapódási idők közötti eltérések alapján lehetséges az ionizált részecskék azonosítása. A gyógyszerfejlesztésben a módszert szilárd fázisú minta felületi hatóanyag-eloszlásának vizsgálatára alkalmazzák [45, 66]. Érdekességként említendő, hogy más területeken 3D-s analízisre is felhasználják, azonban szálrendszer-

formák vizsgálatában ezen formája még nem terjedt el [67].

A felületanalízisre leggyakrabban röntgenfotoelektron spektroszkópiát (XPS) alkalmaznak, de újabban a TOF-SIMS is előtérbe került. Előnye, hogy szelektivitása meghaladja az XPS-ét, azonban hátránya, hogy nagyobb mértékben károsítja a vizsgálati mintát. A TOF-SIMS alkalmas a felületösszetételének és eloszlásának vizsgálatára is [45,68]. A módszer a nanoszálak vizsgálata területén még újszerűnek tekinthető. A szakirodalomban, ahogy az alábbi példák is mutatják, leginkább felületi struktúra vizsgálatára használatos.

*Baiardo és mtsai* különböző felületmódosított természetes cellulóz szálok felszíni kémiai feltérképezését végezték, amelyekkel igazolták a megfelelő funkciócsoportok jelenlétét a szálok felszínén [69].

*Uyar és mtsai*  $\beta$ -ciklodextrinnel funkcionizált poli(sztirén) alapú szálrendszerű molekuláris szűrőt állítottak elő. Mivel a filtrációs kapacitás nagymértékben függ a ciklodextrinek felszíni jelenlététől és eloszlásától, ezért szükséges a felszíni topográfia megismerése. XPS és TOF-SIMS analízist alkalmazva információt kaptak a felszínen jelenlévő ciklodextrin mennyiségéről (XPS) és azok eloszlásáról (TOF-SIMS) [70].

III. táblázat

*Hatóanyag-hordozó elektrosztatikus szálképzéssel előállított polimer szálrendszer formulálása során alkalmazott vizsgálati módszerek*

Hatóanyag	Hordozó	Vizsgálati módszerek	Referencia
-	PCL	SEM AFM/ optikai mikroszkópia kombinált technika AFM oldalirányú erő, nyomás, feszítés mérések	[30]
-	PVDF	AFM-IR polarizált FT-IR	[43]
-	PVA PVA/HA PEO PEO/CS	AFM DSC ATR-IR	[42]
-	PVA	SEM AFM nedvesedési peremszög-meghatározás biológiai mérések	[41]
-	PLGA PLGA/kitozán PLGA/kitozán/PVA	SEM TEM DSC FT-IR mechanikai sajátságok nedvesedési peremszög-meghatározás in vitro degradáció biológiai mérések	[35]



Folytatás az előző oldalról

Hatóanyag	Hordozó	Vizsgálati módszerek	Referencia
-	méz/PVA/kitozán	SEM TEM higany-porozimetria DSC TGA XRD duzzadás vizsgálat degradációs vizsgálat biológiai vizsgálatok	[48]
-	PCL	SEM nedvesedési peremszög vizsgálat FT-IR mikro-Raman-spektroszkópia TOF-SIMS	[72]
-	PCL	SEM gravimetriás porozitás mérés LIM porozitás mérés LEP porozitás mérés kapilláris áramlásos porozitás mérés nedvesedési peremszög vizsgálat	[46]
aliskirén	PVP	SEM DSC TGA XRD SSNMR	[64,65]
ezüst-ion	PLA	SEM FESEM TOF-SIMS XPS hatóanyag-felszabadulás biológiai vizsgálatok	[71]
grizeofulvin	PVP	SEM DSC TGA XRD FT-IR in silico modellezés in vitro kioldódás	[73]
indometacin	PVP	SEM DSC TGA XRD FT-IR in silico modellezés in vitro kioldódás	[73]
indometacin	PVP	SEM DSC TGA XRD SSNMR	[64,65]
itrakonazol	PVPVA	polarizált-fénymikroszkópia Raman-spektroszkópia HPLC in vitro kioldódás	[62]
itrakonazol	PVPVA HPMC	SEM DSC XRPD Raman-térképezés in vitro kioldódás	[39]

Folytatás a következő oldalon

Folytatás az előző oldalról

Hatóanyag	Hordozó	Vizsgálati módszerek	Referencia
itakonazol	PVPVA	SEM DSC XRPD in vitro kioldódás	[38]
itakonazol	PU	SEM DSC in vitro kioldódás (HPLC)	[15]
ketanszerin			
karvedilol	PVP Eudragit-EPO Eudragit-L100-55	SEM DSC XRPD in vitro kioldódás	[53]
klotrimazol	PVP + hidroxipropil- $\beta$ -ciklodextrin	SEM DSC XRPD FT-IR nedvesedési és dezintegrációs idő bezárési határfok (HPLC) in vitro kioldódás biológiai mérések	[25]
klotrimazol	PVP + hidroxipropil- $\beta$ - ciklodextrin + kitozán-cisztein (CS-SH)/ PVA bevonat	SEM állományelemzés XRPD FT-IR bezárési határfok (HPLC) in vitro kioldódás mukoadhezivitás (ex vivo) biológiai mérések	[59]
koffein	PVA	SEM nedvesedési és dezintegrációs idő XRD FT-IR in vitro kioldódás	[61]
riboflavin	PVA	SEM nedvesedési és dezintegrációs idő XRD FT-IR in vitro kioldódás	[61]
kolisztin-szulfát	PVA	SEM biológiai mérések	[74]
APO monomer peptid	PVA	SEM biológiai mérések	[74]
kurkumin	PVP + Tween 20	SEM DSC XRD FT-IR Raman-spektroszkópia in vitro kioldódás	[75]
kurkumin	PLGA	SEM FESEM AFM nedvesedési peremszög-meghatározás TGA-DTA (termogravimetria-differenciál termál analízis) FT-IR XRD H-NMR GPC (géláthatolási kromatográfia) in vitro kioldódás bezárési hatékonyság biológiai mérések	[51]

Folytatás a következő oldalon

Folytatás az előző oldalról

Hatóanyag	Hordozó	Vizsgálati módszerek	Referencia
kurkumin	PVP	SEM XRD FT-IR in vitro kioldódás biológiai mérések	[16]
kurkumin	PVA + $\beta$ -ciklodextrin	SEM DSC TGA XRD FT-IR H-NMR in vitro kioldódás	[37]
naproxén	TPU	SEM DSC TGA FT-IR in vitro kioldódás	[21]
nebivolol-hidroklorid	PVA	SEM DSC PALS ATR-FT-IR hatóanyag-tartalom meghatározás kioldódás vizsgálat	[17]
ofloxacin	gellán/PVA	FESEM BET porozimetria TGA, DTG, DTA XRD FT-IR bezárési hatékonyság in vitro kioldódás biológiai vizsgálatok	[44]
piroxikám	Soluplus (PCL-PVAc-PEG)	SEM DSC XRPD Raman-spektroszkópia in vitro kioldódás	[76]
spironolakton	PVP + hidroxipropil- $\beta$ -ciklodextrin	SEM DSC XRD transzmissziós Raman-spektroszkópia in vitro kioldódás	[24]
triklozán + kurkumin	PEG + PBS	optikai mikroszkóp SEM ATR-FT-IR nedvesedési peremszög-meghatározás DSC XPS (röntgen fotoelektron spektroszkópia) H-NMR in vitro kioldódás biológiai mérések	[31]

Mohiti-Asli és mtsai PLA szálak egyenletes ezüst réteggel való borítottságát igazolták TOF-SIMS módszerrel [71].

Egy kutatás során *Rebollar és mtsai* poli( $\epsilon$ -kaprolakton) (PCL) nanoszálakat képeztek elektrosztatikus szálképzéssel és femto-szekundumos lézer besugárzással annak érdekében, hogy nagyobb porúsátmérőt érjenek el. A PCL

lézer-besugárzásra bekövetkező esetleges kémiai módosulásait különböző módszerekkel vizsgálták, úgymint FT-IR, mikro-Raman-spektroszkópia és TOF-SIMS. Míg az FT-IR és a Raman-spektroszkópiai mérések nem mutattak szignifikáns különbséget a besugárzott és nem besugárzott minták között, addig a TOF-SIMS, mint az előbbieknél érzékenyebb módszer, már

mutatott némi eltérést, mely a kapott jelek intenzitásában mutatkozott meg. A relatív intenzitás csökkenésének oka a molekulaionok nagyobb mértékű fragmentációjának következménye volt. További vizsgálatok szerint a szálakban lévő különböző ionok homogén eloszlást mutattak [72].

### Összefoglalás

Elmondható, hogy a gyógyszerforma tervezés során kiemelt fontossággal bírnak a különböző fizikai-kémiai vizsgálati módszerek, melyek egyaránt alapját képezik a kiindulási anyagok, a köztes termékek és a végtermékek vizsgálatának. A szálak rendszerek esetében jelentős szerepe van a szálak morfológiájának (átmérő, homogenitás), illetve a hatóanyag homogén eloszlásának és kristályos/amorf állapotának a polimer rendszerben, ugyanis e sajátosságok befolyásolják leginkább a hordozó rendszerből történő hatóanyag-felszabadulási folyamatot. Ugyancsak fontos a szálléképítéshez alkalmazott kiindulási hatóanyag-tartalmú oldat reológiai tulajdonságainak ismerete, hiszen a polimer hordozó koncentrációja, a rendszer viszkozitása, adhezivitása meghatározza a kialakuló szálak szerkezetét. A különböző fizikai-kémiai, analitikai vizsgálati módszerek segítségével a formuláció különböző fázisaiban képet kaphatunk a vizsgálati anyagunkról, tehát a paraméterek megfelelő változtatásával lehetséges a számunkra optimális szerkezetű szálak előállítását. A mikro- és makroszerkezeti vizsgálati módszerek kombinációjával akár háromdimenziós képet is kaphatunk a nanoszálak által felépített szálak szerkezetéről.

### IRODALOM

- Kiss, É.: *Fizikai Szemle*. 12, 413-417 (2011).
- Fülöp, V., Balogh, E., Jakab, G., Antal, I.: *Acta Pharm Hung.* 86, 43-52 (2016).
- Kapahi, H., Khan, N., Bhardwaj, A., Mishra, N.: *Curr Pharm Des.* 21, 2021-2036 (2015).
- Sebe, I., Szabo, P., Kallai-Szabó, B., Zelko, R.: *Int J Pharm.* 494, 516-530 (2015).
- Kai, D., Liow, S.S., Loh, X.J.: *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 45, 659-670 (2014).
- Lipinski, C.A.: *J Pharmacol Toxicol Methods.* 44, 235-249 (2000).
- Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J.: *Adv Drug Deliv Rev.* 64, 4-17 (2012).
- Sebe, I., Petzke, M., Zelkó, R., Szabó, B.: *Acta Pharm Hung.* 83, 1-9 (2013).
- Sebe, I., Kállai-Szabó, B., Zelkó, R., Szabó, D.: *Curr Med Chem.* 22, 604-617 (2015).
- Venugopal, J., Ramakrishna, S.: *Appl Biochem Biotechnol.* 125, 147-158 (2005).
- Sebe, I., Szabo, B., Nagy, Z.K., Szabo, D., Zsidai, L., Kocsis, B., Zelko, R.: *Int J Pharm.* 458, 99-103 (2013).
- Klumpp, D., Horch, R.E., Kneser, U., Beier, J.P.: *J Cell Mol Med.* 14, 2622-2629 (2010).
- Gunn, J., Zhang, M.: *Trends Biotechnol.* 28, 189-197 (2010).
- Sebe, I., Szabo, B., Zelkó, R.: *Acta Pharm Hung.* 82, 138-154 (2012).
- Verreck, G., Chun, I., Rosenblatt, J., Peeters, J., Dijck, A.V., Mensch, J., Noppe, M., Brewster, M.E.: *J Control Release.* 92, 349-360 (2003).
- Wang, C., Ma, C., Wu, Z., Liang, H., Yan, P., Song, J., Ma, N., Zhao, Q.: *Nanoscale Res Lett.* 10, 439 (2015).
- Sipos, E., Szabo, Z.I., Redai, E., Szabo, P., Sebe, I., Zelko, R.: *J Pharm Biomed Anal.* 129, 224-228 (2016).
- Sinka, M., Zelkó, R., Kállai-Szabó, B.: *Gyógyszerészet.* 58, 78-85 (2014).
- Pelipenko, J., Kocbek, P., Kristl, J.: *Int J Pharm.* 484, 57-74 (2015).
- Rošic, R., Pelipenko, J., Kocbek, P., Baumgartner, S., Bešter-Rogač, M., Kristl, J.: *Eur Polym J.* 48, 1374-1384 (2012).
- Akduman, C., Ozguney, I., Kumbasar, E.P.: *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 64, 383-390 (2016).
- Vasconcelos, T., Sarmento, B., Costa, P.: *Drug Discovery Today.* 12, 1068-1075 (2007).
- Pelipenko, J., Kristl, J., Jankovic, B., Baumgartner, S., Kocbek, P.: *Int J Pharm.* 456, 125-134 (2013).
- Vigh, T., Horvathova, T., Balogh, A., Soti, P.L., Dravavolgyi, G., Nagy, Z.K., Marosi, G.: *Eur J Pharm Sci.* 49, 595-602 (2013).
- Tonglairoum, P., Ngawhirunpat, T., Rojanarata, T., Kaomongkolgit, R., Opanasopit, P.: *Pharm Res.* 31, 1893-1906 (2014).
- Hurler, J., Engesland, A., Poorahmary Kermany, B., Škalko-Basnet, N.: *J Appl Polym Sci.* 125, 180-188 (2012).
- Szabó, P., Kállai-Szabó, B., Kállai-Szabó, N., Sebe, I., Zelkó, R.: *Cellulose.* 21, 4419-4427 (2014).
- Szabo, P., Kallai-Szabo, B., Sebe, I., Zelko, R.: *Int J Pharm.* 477, 643-649 (2014).
- Szabo, P., Sebe, I., Stiedl, B., Kallai-Szabo, B., Zelko, R.: *J Pharm Biomed Anal.* 115, 359-367 (2015).
- Baker, S.R., Banerjee, S., Bonin, K., Guthold, M.: *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 59, 203-212 (2016).
- Llorens, E., Ibanez, H., Del Valle, L.J., Puiggali, J.: *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 49, 472-484 (2015).
- Domingo, C., Saurina, J.: *Anal Chim Acta.* 744, 8-22 (2012).
- Amelinckx, S., Dyck, D.v., Landuyt, J.v., Tendeloo, G.v.: *Electron microscopy: principles and fundamentals.* John Wiley & Sons, 2008.
- [http://fizikatsz.nyf.hu/jegyzetek/anyagszerk\\_vizsg\\_modszerek.pdf](http://fizikatsz.nyf.hu/jegyzetek/anyagszerk_vizsg_modszerek.pdf) (Megtekintés dátuma: 2016.11.24.)
- Ajallouei, F., Tavanai, H., Hilborn, J., Donzel-Gargand, O., Leifer, K., Wickham, A., Arpanaei, A.: *Biomed Res Int.* 2014, 475280 (2014).
- Nagy, Zs. K., Nyúl, K., Wagner, I., Molnár, K., Marosi, Gy.: *eXPRESS Polym Lett.* 4, 763-772 (2010).
- Sun, X.Z., Williams, G.R., Hou, X.X., Zhu, L.M.: *Carbohydr Polym.* 94, 147-153 (2013).
- Nagy, Z.K., Balogh, A., Demuth, B., Pataki, H., Vigh, T., Szabo, B., Molnar, K., Schmidt, B.T., Horak, P., Marosi, G., Verreck, G., Van Assche, I., Brewster, M.E.: *Int J Pharm.* 480, 137-142 (2015).
- Demuth, B., Farkas, A., Pataki, H., Balogh, A., Szabo, B., Borbas, E., Soti, P.L., Vigh, T., Kiserdei, E., Farkas, B., Mensch, J., Verreck, G., Van Assche, I., Marosi, G., Nagy, Z.K.: *Int J Pharm.* 498, 234-244 (2016).

40. Damjanovich, S., Fidy, J., Szöllösi, J.: *Orvosi biofizika*. Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest, 2007, 575-577. old.
41. Pelipenko, J., Kocbek, P., Govedarica, B., Rosic, R., Baumgartner, S., Kristl, J.: *Eur J Pharm Biopharm.* 84, 401-411 (2013).
42. Jankovic, B., Pelipenko, J., Skarabot, M., Musevic, I., Kristl, J.: *Int J Pharm.* 455, 338-347 (2013).
43. Dazzi, A., Prater, C.B., Hu, Q., Chase, D.B., Rabolt, J.F., Marcott, C.: *Appl Spectrosc.* 66, 1365-1384 (2012).
44. Vashisth, P., Raghuvanshi, N., Srivastava, A.K., Singh, H., Nagar, H., Pruthi, V.: *Mater Sci Eng C.* (2016).
45. Nisbet, D.R., Rodda, A.E., Finkelstein, D.I., Horne, M.K., Forsythe, J.S., Shen, W.: *Colloids Surf B Biointerfaces.* 71, 1-12 (2009).
46. Cortez Tornello, P.R., Caracciolo, P.C., Cuadrado, T.R., Abraham, G.A.: *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 41, 335-342 (2014).
47. Kissa, E.: *Dispersions: Characterization, Testing, and Measurement*. CRC Press, New York, 1999, 71. old.
48. Sarhan, W.A., Azzazy, H.M., El-Sherbiny, I.M.: *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 67, 276-284 (2016).
49. Giesche, H.: *Part Part Syst Charact.* 23, 9-19 (2006).
50. Söti, P.L., Bocz, K., Pataki, H., Eke, Z., Farkas, A., Verreck, G., Kiss, E., Fekete, P., Vigh, T., Wagner, I., Nagy, Z.K., Marosi, G.: *Int J Pharm.* 494, 23-30 (2015).
51. Sampath, M., Lakra, R., Korrapati, P., Sengottuvelan, B.: *Colloids Surf B Biointerfaces.* 117, 128-134 (2014).
52. Sebe, I., Szabó, B., Zelkó, R.: *Acta Pharm Hung.* 82, 23-32 (2012).
53. Balogh, A., Cselko, R., Demuth, B., Verreck, G., Mensch, J., Marosi, G., Nagy, Z.K.: *Int J Pharm.* 495, 75-80 (2015).
54. Zelko, R., Orban, A., Suvegh, K.: *J Pharm Biomed Anal.* 40, 249-254 (2006).
55. Guo, Y., Shalaeov, E., Smith, S.: *Trends Anal Chem.* 49, 137-144 (2013).
56. [http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop412A/2011\\_0025\\_vegy\\_4/ch07s03.html](http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop412A/2011_0025_vegy_4/ch07s03.html) (Megtekintés dátuma: 2016.10.11.).
57. Damjanovich, S., Fidy, J., Szöllösi, J.: *Orvosi biofizika*. Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest, 2007, 404-409. old.
58. [https://www.ogyei.gov.hu/dynamic/Gyk\\_1\\_2/2.2.24.pdf](https://www.ogyei.gov.hu/dynamic/Gyk_1_2/2.2.24.pdf) (Megtekintés dátuma: 2016.10.17.).
59. Tonglairoum, P., Ngawhirunpat, T., Rojanarata, T., Panomsuk, S., Kaomongkolgit, R., Opanasopit, P.: *Carbohydr Polym.* 132, 173-179 (2015).
60. Kazsoki, A., Szabó, P., Süvegh, K., Vörös, T., Zelkó, R.: *J Pharm Biomed Anal.* 143, 62-67 (2017).
61. Li, X., Kanjwal, M.A., Lin, L., Chronakis, I.S.: *Colloids Surf B Biointerfaces.* 103, 182-188 (2013).
62. Demuth, B., Farkas, A., Balogh, A., Bartosiewicz, K., Kallai-Szabo, B., Bertels, J., Vigh, T., Mensch, J., Verreck, G., Van Assche, I., Marosi, G., Nagy, Z.K.: *J Pharm Sci.* 105, 2982-2988 (2016).
63. <https://www.ogyei.gov.hu/dynamic/2.2.33.pdf> (Megtekintés dátuma: 2016.10.17.).
64. Brettmann, B., Bell, E., Myerson, A., Trout, B.: *J Pharm Sci.* 101, 1538-1545 (2012).
65. Brettmann, B.K., Myerson, A.S., Trout, B.L.: *J Pharm Sci.* 101, 2185-2193 (2012).
66. Furudate, T., Kurasaki, Y., Takata, E., Morishita, T., Miwa, A., Suzuki, R., Terada, K.: *Int J Pharm.* 495, 642-650 (2015).
67. Lee, T.G., Park, J.-W., Shon, H.K., Moon, D.W., Choi, W.W., Li, K., Chung, J.H.: *Appl Surf Sci.* 255, 1241-1248 (2008).
68. Fardim, P., Gustafsson, J., von Schoultz, S., Peltonen, J., Holmbom, B.: *Colloid Surf A-Physicochem Eng Asp.* 255, 91-103 (2005).
69. Baiardo, M., Frisoni, G., Scandola, M., Licciardello, A.: *J Appl Polym Sci.* 83, 38-45 (2002).
70. Uyar, T., Havelund, R., Nur, Y., Hacaloglu, J., Besenbacher, F., Kingshott, P.: *J Membr Sci.* 332, 129-137 (2009).
71. Mohiti-Asli, M., Pourdeyhimi, B., Lobo, E.G.: *Acta Biomater.* 10, 2096-2104 (2014).
72. Rebollar, E., Cordero, D., Martins, A., Chiussi, S., Reis, R.L., Neves, N.M., León, B.: *Appl Surf Sci.* 257, 4091-4095 (2011).
73. Lopez, F.L., Shearman, G.C., Gaisford, S., Williams, G.R.: *Mol Pharm.* 11, 4327-4338 (2014).
74. Sebe, I., Ostorhazi, E., Fekete, A., Kovacs, K.N., Zelko, R., Kovalszky, I., Li, W., Wade, J.D., Szabo, D., Otvos, L., Jr.: *Amino Acids.* 48, 203-211 (2016).
75. Rahma, A., Munir, M.M., Khairurrijal, Prasetyo, A., Suen-do, V., Rachmawatia, H.: *Biol Pharm Bull.* 39, 163-173 (2016).
76. Paaver, U., Tamm, I., Laidmae, I., Lust, A., Kirsimae, K., Veski, P., Kogermann, K., Heinamaki, J.: *Biomed Res Int.* 2014, 789765 (2014).





