

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszerésztudományi Kar
Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet

Ph.D. értekezés tézisei

**Allergiaterápiában alkalmazott cetirizin és
nátrium-alginát tartalmú
bukkális mukoadhezív polimer film fejlesztése**

Pamlényi Krisztián

gyógyszerész

Témavezetők:

Dr. Kristó Katalin Ph.D.

ifj. Dr. habil. Regdon Géza Ph.D.

Szeged

2023

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola
Vezető: Prof. Dr. Hohmann Judit, akadémikus

Gyógyszertechnológia Ph.D. program
Programvezető: Prof. Dr. habil Csóka Ildikó Ph.D.

Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet
Témavezetők: Dr. Kristó Katalin Ph.D. és ifj. Dr. habil. Regdon Géza Ph.D.

Pamlényi Krisztián

Allergiaterápiában alkalmazott cetirizin és nátrium-alginát tartalmú bukkális mukoadhezív polimer film fejlesztése

Komplex vizsga bizottság:

- Elnök:** Prof. Dr. Szabó-Révész Piroska, D.Sc., Szegedi Tudományegyetem,
Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet
- Tagok:** Prof. Dr. Zelkó Romána, D.Sc., Semmelweis Egyetem, Egyetemi
Gyógyszertár Gyógyszerügyi Szervezési Intézet
- Dr. habil. Berkó Szilvia, Ph.D., Szegedi Tudományegyetem,
Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet

Bíráló bizottság:

- Elnök:** Prof. Dr. Csupor Dezső, D.Sc., Szegedi Tudományegyetem, Klinikai
Gyógyszerészeti Intézet
- Opponensek:** Prof. Dr. Vecsernyés Miklós, Ph.D., Debreceni Egyetem,
Gyógyszertechnológiai Tanszék
- Dr. Gottnek Mihály, Ph.D., XELLIA Gyógyszervegyészeti Kft.
- Tagok:** Dr. Sztojkov-Ivanov Anita, Ph.D., Szegedi Tudományegyetem,
Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet
- Dr. habil Vasas Andrea, Ph.D., Szegedi Tudományegyetem,
Farmakognóziái Intézet

Szeged
2023

1. BEVEZETÉS

A bukkális polimer filmek alternatív és innovatív lehetőséget kínálnak a gyógyszerhatóanyag (API) szisztémás keringésbe juttatására anélkül, hogy a betegnek le kellene nyelnie gyógyszerformát. A bukkális polimer filmek előnyös tulajdonságai számos betegségben kihasználhatóak úgy, mint az allergiában, magas vérnyomásban, Parkinson-kórban, kómában, valamint az idősek és gyermekek kezelésében. A gyógyszeripar már elkezdett a bukkális filmekre felfigyelni, és potenciális gyógyszer szállító rendszerként tekintik, amit pl. a Breakyl[®] nevű, fentanilt tartalmazó bukkális film is bizonyít.

Napjainkban a bukkális gyógyszeradagoló rendszerek a gyógyszerhatóanyag bejuttatás fontos alternatív módjaivá válik. A hatóanyag bejuttatásának ez a lehetősége eddig kiaknázatlan volt és kevésbé vizsgálták. A bukkális gyógyszeradagoló rendszernek van néhány bioadhezív szilárd gyógyszerformája, például bioadhezív tabletták, gélek, tapaszok és bukkális bioadhezív filmek. Előnyös tulajdonságuk, hogy a betegeknek nem kell lenyelni, csupán a száj bukkális nyálkahártyájára kell helyezniük, a hatóanyag pedig innen felszívódhat a szisztémás keringésbe. Számos kutatócsoport próbálkozott már különböző hatóanyag-tartalmú bukkális polimer filmek formulálásával, de a formulált filmeket nem vizsgálták elég széleskörűen, mivel ez nem hivatalos gyógyszerforma a Gyógyszerkönyvben.

2. CÉLKITŰZÉS

Kutatómunkám során bukkális mukoadhezív polimer filmeket formuláltam SA filmképző anyaggal és CTZ hatóanyaggal, mint potenciális bukkális gyógyszeradagoló rendszer.

Munkám első részében különböző összetételű polimer filmeket állítottam elő hatóanyag nélkül. Kezdetben a következő célokat tűztem ki:

- a nátrium-alginát filmképző tulajdonságának vizsgálata
- a filmek összetételének optimalizálása preformulálás során
- a filmek mechanikai tulajdonságainak (vastagság, törési szilárdság, in vitro mukoadhezivitás) tanulmányozása
- különböző mennyiségű glicerin (GLY) polimer rendszerre gyakorolt hatásának vizsgálata
- a filmek komponensei közötti kémiai kölcsönhatások (FT-IR spektroszkópia, TGA, DSC) értékelése
- SA alapú gyógyszerhordozó polimer mátrix fejlesztése bukkális alkalmazásra

- mérési eredmények statisztikai elemzése vegyes két- és háromszintű faktoriális tervezéssel

Kutatómunkám második részében hatóanyagot inkorporáltam a polimer filmrendszerbe. Hatóanyagként a CTZ-t választottam. A hatóanyag befolyásolhatja a filmek komponensei közötti kötéseket és kölcsönhatásokat, emiatt a filmek tulajdonságai is változhatnak. Ezért a további céljaim a következők voltak:

- a filmek mechanikai tulajdonságainak (vastagság, törési szilárdság, in vitro mukoadhezivitás) vizsgálata és felületi szabadenergia (SFE) meghatározása
- a GLY és a CTZ polimer rendszerre gyakorolt hatásának tanulmányozása
- a filmek komponensei közötti kölcsönhatások (FT-IR és RAMAN spektroszkópia, TGA, DSC) analizálása
- az API felszabadulás kinetikájának (kioldódás) tanulmányozása különböző filmösszetételekből
- a filmek mérési és vizsgálati eredményeinek statisztikai értékelése vegyes, két- és háromszintű faktoriális tervezéssel.

Tudományos munkám utolsó részében a formulált filmek stabilitását és az eddigi eredmények alapján ígéretes összetételű filmek élő sejtekhez való viszonyát vizsgáltam. Ezen tulajdonságok ismerete nagyon fontos a tárolás és az alkalmazás szempontjából. A Ph.D. munkám utolsó részében a céljaim a következők voltak:

- a formulált filmek stabilitásának tanulmányozása
 - o mechanikai stabilitás (vastagság, törési szilárdság, in vitro mukoadhezivitás)
 - o fizikai-kémiai stabilitás (FT-IR spektroszkópia)
 - o hatóanyagtartalom egységessége
- irodalmi adatok alapján a citromsav (CA) fokozza a hatóanyag permeációját, ezért a filmekben a hatóanyag permeációjának fokozása érdekében került inkorporálásra
- a polimer filmek citotoxicitásának és sejttétleképességének vizsgálata
- a bukkális filmekből a CTZ mesterséges membránon való átjutásának tanulmányozása
- a formulált filmekből a CTZ permeációjának mérése és értékelése TR 146 bukkális sejtvonalon keresztül

Végső célom megfelelő mechanikai és kémiai tulajdonságokkal, jó stabilitással, magas sejttétleképességgel és nagy permeabilitással rendelkező összetétel kiválasztása volt.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Anyagok

A polimer filmek alapját a vázképző, mukoadhezív polimer a **nátrium-alginát** (SA) (10.000–600.000 g/mol) (BioChemica, Németország), valamint a **hidroxipropil-metil-cellulóz** (HPMC) (Pharmacoat® 603, Shin Etsu Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japan) képezte. A **cetirizin-dihidroklorid** (CTZ) (Ph. Hg. VIII.) a hatóanyag szerepét töltötte be a polimer filmekben. A **glicerint** (Ph. Hg. VIII.) lágyítóként, a **citromsavat** (CA) (Ph. Hg. VIII.) permeáció fokozóként inkorporáltam a polimer mátrixban. A **desztillált víz** (Ph. Hg. VIII.) pedig oldószerként szerepelt a különböző összetételekben. A **mucin**, a mukoadhézió folyamatának értékelésében, a mukoadhéziós erő meghatározásában játszott szerepet. A **dijódmétánt** a SFE meghatározása során használtam.

3.2. A polimer filmek előállítása és összetétele

A bukkális polimer filmeket szobahőmérsékleten, öntéses módszerrel, oldószerelpárologatáson alapuló eljárással állítottam elő. Az előállítás első lépéseként SA-t (1, 1,33, 1,5, 2, 3, 4 m/m%) desztillált vízben oldottam, és szobahőmérsékleten kevertem (900 fordulat/perc). Az oldatot 70 °C-ra melegítettem és tovább kevertem (900 fordulat/perc), majd a CTZ-t részletekben a meleg oldathoz adtam (70 °C, 0,5523 g/100 g oldat), és a keverést 5 órán át folytattam. Harmadik lépésként HPMC-t (0, 0,66, 1, 1,5 m/m%) és CA-t adtam az oldathoz melegítés nélküli, keverés közben. A negyedik lépésben a következő napon GLY-t (0, 1, 3, 5 m/m%) elegyítettem a rendszerhez. A keverést 100 fordulat/percre csökkentettem 3 órán át, hogy a légbuborékok eltűnjenek az oldatból.

A polimer oldatot Petri-csészékbe üvegfelületre öntöttem, 10 g oldattal Petri-csészénként; majd szobahőmérsékleten ($24,4 \pm 0,5$ °C) szárítottam. A megszáradt polimer filmeket a felületről eltávolítva zárt edényekbe ($24,4 \pm 1$ °C, 60 ± 2 % relatív páratartalom (RH)) helyeztem, az elkészített filmek másik részét pedig szintén zárt edényekbe, de 40 ± 2 °C-on, 75 ± 5 % RH mellett. Az elkészített filmek 10 mg CTZ-t tartalmaztak 4 cm²-es területen, ami a CTZ terápiás dózisa. A polimer filmek összetételét az **1. táblázatban** foglaltam össze.

1. táblázat: A különböző polimer filmek összetétele

Minta	SA	HPMC	GLY	CA	CTZ
	(m/m%)				
1	2	0	0	-	-
2	3	0	0	-	-
3	4	0	0	-	-
4	2	0	1	-	-
5	2	0	3	-	-
6	2	0	5	-	-
7	3	0	1	-	-
8	3	0	3	-	-
9	3	0	5	-	-
10	2	0	1	-	+
11	2	0	3	-	+
12	2	0	5	-	+
13	3	0	1	-	+
14	3	0	3	-	+
15	3	0	5	-	+
16	4	0	1	-	-
17	4	0	3	-	-
18	4	0	5	-	-
19	1	1	1	-	-
20	1	1	1	-	+
21	1	1	3	-	-
22	1	1	3	-	+
23	1	1	5	-	-
24	1	1	5	-	+

Minta	SA	HPMC	GLY	CA	CTZ
	(m/m%)				
25	1,33	0,66	1	-	-
26	1,33	0,66	1	-	+
27	1,33	0,66	3	-	-
28	1,33	0,66	3	-	+
29	1,33	0,66	5	-	-
30	1,33	0,66	5	-	+
31	1,5	1,5	1	-	-
32	1,5	1,5	1	-	+
33	1,5	1,5	3	-	-
34	1,5	1,5	3	-	+
35	1,5	1,5	5	-	-
36	1,5	1,5	5	-	+
37	2	1	1	-	-
38	2	1	1	-	+
39	2	1	3	-	-
40	2	1	3	-	+
41	2	1	5	-	-
42	2	1	5	-	+
43	3	0	1	+	+
44	3	0	3	+	+
45	1,5	1,5	1	+	+
46	1,5	1,5	3	+	+
47	2	1	1	+	+
48	2	1	3	+	+

3.3. MÓDSZEREK

3.3.1. Filmvastagság vizsgálata

A polimer filmek vastagságát csavarmikrométerrel (Mitutoyo Co. Ltd., Japán) mértem, melynek érzékenysége 0,001 mm volt. Az összes filmből véletlenszerűen választottam ki hat pontot (n = 6). Az átlagok és a szórások (SD) kiszámítása ezek alapján történt.

3.3.2. Törési szilárdság vizsgálata

A törési szilárdságot egy saját fejlesztésű eszközzel és szoftverrel teszteltem. Az eszközt és a szoftvert intézetünkben fejlesztették ki. A készülék két különböző típusú nyomóídommal rendelkezik (tűszerű-, rúdszerű-nyomóídom). A berendezés fix mintatartóval és függőlegesen mozgó nyomóídommal rendelkezik. Regisztrálható az erő, az erő-elmozdulás és az idő. A filmek törési szilárdsága a tűszerű nyomóídommal (felülete 201 mm² volt) vizsgálható. A teszt elején a mintát a berendezés alsó részére rögzítettem, majd a nyomóídomot állandó sebességgel (20 mm/perc) elidítotam lefelé. A nyomóídom elérte a filmet, és végül átszakította. A tesztet

hatszor ($n = 6$) ismételt meg minden filmnél. Kiszámoltam a mérési eredmények átlagait és szórásait.

3.3.3. In vitro mukoadhéziós erő meghatározása

A mukoadhéziót ugyanazzal a textúra-analizátorral vizsgáltam, mint amellyel a törési szilárdságot is mértem, de különböző beállításokkal és paraméter-módosításokkal. Ebben a vizsgálatban 5 mm átmérőjű rúdszerű felső nyomóidomot használtam. A felső nyomóidom felületére vizsgálandó polimer filmet helyeztem. A berendezés alsó részén lévő fémkorongra 40 μ l frissen készített mucin diszperziót (10 w/w%) injektáltam. A felső nyomóidom az alsó korong irányába ment, majd $30 \pm 0,1$ N erővel 30 másodpercig rányomta a polimer filmet a felületén mucint tartalmazó alsó korongra. Ezt követően a felső mintatartó elindult vissza az eredeti helyére, és az erő addig csökkent, amíg a minta el nem kezdett elválni a mucintól. A tesztet hatszor végeztem el ($n = 6$), és kiszámítottam a mérési eredmények átlagait és a szórásokat.

3.3.4. Felületi szabadenergia meghatározása

A nedvesedési peremszög mérése OCA20 (DataPhysics Instrument GmbH, Filderstadt, Germany) berendezéssel történt. Egy-egy csepp desztillált vizet és dijódmetánt cseppentettünk a polimer filmek felületére. Hat azonos minta mérési eredményéből számítottam ki az átlagokat és a szórásokat.

A filmek SFE értékének kiszámításához a mért nedvesedési peremszögek átlagait és a szórásait használtam a Wu módszer alapján.

3.3.5. Termoanalitikai mérések

A termogravimetriai méréseket Mettler-Toledo TGA–DSC1 készülékkel végeztem (Mettler-Toledo GmbH, Svájc). A mintákat alumínium tégelyben, nitrogén atmoszférában vizsgáltam 25 és 500 °C között, 5 °C/perc fűtési sebességgel.

A hőáram mérésével kapcsolatos vizsgálatok részben a TGA–DSC1, részben a DSC 821° (Mettler-Toledo GmbH, Svájc) készülékekkel történtek. A mintákat alumínium tégelyben, argon atmoszférában mértem, a vizsgálat során ugyanazon hőmérséklet tartományban és ugyanolyan fűtési sebességgel dolgoztam, mint a TG-DSC1 készülék esetében. A termoanalitikai görbék kiértékelése két párhuzamos mérés átlagából történt STARe® (Mettler-Toledo GmbH, Svájc) szoftverrel.

3.3.6. Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia (FT-IR)

Az FT-IR mérésekhez a horizontális attenuált teljes reflexión alapuló (HATR) módszert használtam. A vizsgálatokhoz az AVATAR 330 (Thermo Nicolet USA) típusú FT-IR készülék állt rendelkezésemre. A mérésekhez ZnSe kristályt használtam. A leolvasások száma 128, a spektrális felbontás pedig 4 cm^{-1} volt.

3.3.7. Raman spektroszkópia

A hatóanyag eloszlásának vizsgálatához a Raman spektrumokat Thermo Fisher DXR Dispersive Raman (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) berendezéssel vettem fel, mely CCD kamerával és 780 nm hullámhosszon működő dióda lézerrel volt felszerelve. A Raman méréseket 24 mW lézerteljesítménnyel végeztem $25\text{ }\mu\text{m}$ résnyíláson, $2\text{ }\mu\text{m}$ pontméreten. Az egyes anyagok diszkrét spektrumát, valamint a polimer filmek különböző összetételeit 6 másodperces expozíciós idővel gyűjtöttem össze, az expozíciók száma 20, a háttérexpozíciók száma 512, az alkalmazott spektrális tartomány pedig $3200\text{-}200\text{ cm}^{-1}$ volt.

3.3.8. Kioldódás vizsgálat

A kioldódás vizsgálatokat ERWEKA DT700 (Erweka GmbH, Németország) típusú forgókosaras kioldókészülékkel végeztem mindegyik általam előállított, hatóanyag tartalmú, 4 cm^2 méretű filmből. Kioldóközegként 900 ml $37\text{ }^\circ\text{C}$ hőmérsékletű, pH = 6,8-as foszfát puffert használtam. A keverés fordulatszáma 100 fordulat/perc volt.

Hat párhuzamos mérést végeztem. A mintákat 5., 10., 15., 20., 30., 40., 50., 60., 90. és 120. percben automata mintavevő vette, minden esetben 5 ml mennyiségben. A mintákat Genesys 10S UV-VIS (Thermo Fisher Scientific, USA) spektrofotométerrel $\lambda=207\text{ nm}$ hullámhosszon mértem.

3.3.9. Stabilitás vizsgálat

A stabilitás vizsgálatokat az ICH guideline-nak megfelelően 6 hónap időtartamban 75% RH mellett, $40\text{ }^\circ\text{C}$ -on végeztem (gyorsított stabilitás vizsgálat). Az elkészült filmekből frissen, a 3. hónapban és a 6. hónapban vettem mintákat, amelyek törési szilárdságát és in vitro mukoadhéziós erejét mértem. A hatóanyag mennyiségének ellenőrzésére kioldódás vizsgálatokat alkalmaztam. Végül analizáltam a filmekben lejátszódó interakciókat is, melyeket FT-IR vizsgálatokkal követtem nyomon.

3.3.10. Sejtéletképesség vizsgálat

A bukkális filmek citotoxicitásának vizsgálatára kooperációban egy Guava® easyCyte™ 5HT (Luminex, Austin, TX, USA) áramlási citométert használtam. A TR-146 sejteket sejtenyésző flaskákból tripszin-EDTA oldattal gyűjtöttem össze majd az emésztő oldat eltávolítása után a CTZ oldattal sejtuszpenziót képeztem, amit külön centrifugacsövekbe osztottam szét, úgy, hogy 1 millió sejt 1 ml CTZ-oldattal legyen kezelve. 30 perces inkubálás után a sejteket centrifugáltam, a tesztoldatokat eltávolítottam, és a sejteket óvatosan mostam hideg Hank's puffer (HBSS)-sel, majd ismét centrifugáltam.

A felülúszót eltávolítottam, és ismét 1 millió sejt/ml sejtuszpenziót készítettem HBSS-sel, majd 1 µl 100 µg/ml propídiám-jodid oldattal megfestettem őket. 15 perc elteltével a szuszpenziókat 96 lyukú mikrolemezekre mértem 200-200 µl térfogatban (3 lyuk/csoport). A propídiám-jodidot 488 nm-es lézerrel gerjesztettem, és az 525/30 nm-es csatornán detektáltam (zöld paraméter).

A Forward és Side Scatter Patterns (FSC-SSC) diagramról a nem sejtes eseményeket kizártam. A fennmaradó eseményeket (8000–10 000) szórásdiagramon elemeztem, és kapukat hoztam létre a festett (elhalt) és nem festett (élő) sejtek meghatározására. A kísérletet háromszori ismétléssel végeztem. Negatív kontrollként HBSS-t használtam, az így kezelt sejtek elhalt/élő sejt arányát tekintettem 100%-nak, amihez az összes kezelt csoportot hasonlítottam. Pozitív kontrollként a sejteket 1% Triton-X 100-zal kezeltem.

3.3.11. Permeációs vizsgálat

A hatóanyag permeációját először mesterséges cellulóz-acetát membránon keresztül vizsgáltam Franz cellában. Donor fázisként 2 ml, 37 °C-os, pH = 6,8 foszfát puffer használtam, az akceptor fázis 300 ml, 37 °C-os, pH = 6,8 foszfát puffer volt. Ebből 2 ml mintát vettem a 15., 30., 60., 90., 120., 180. és 240. percben, amelyet pótoltam és UV spektrofotométerrel mértem az átjutott hatóanyag koncentrációját.

In vitro permeációs vizsgálatokat kooperációban TR146 bukkális sejtvonalon végeztem. 10^5 db sejtet szintetikus PET membránra (pórusméret: 0,4 µm, pórusűrűség: $2 \times 10^6/\text{cm}^2$, felület: 33,6 mm²) szélesztettem, amelyeket 24 lyukú plate-re helyeztem. A vizsgálat során a donor fázis 400 µl pH ~7 Hank's puffer volt, az akceptor fázis pedig 1400 µl szintén pH ~7 Hank's puffer volt. A 60., 120. és 180. percben 100 µl mintát vettem az akceptor fázisból, amelyet pótoltam, majd UV-spektrofotométerrel vizsgáltam a transzportálódott hatóanyag koncentrációját.

3.3.12. Statisztikai értékelés

A kísérleti körülményeket vegyes, két- és háromszintű faktoriális kísérletterv alapján határoztam meg. Az összegyűjtött adatokat faktoriális ANOVA módszerrel elemeztem a Tibco Statistica v13.4.0.14 (Statsoft, Tulsa, OK, USA) szoftver alkalmazásával. Az egyenletek leírják a két tényező (az SA koncentráció (x_1) és a GLY koncentráció (x_2)) és az öt optimalizációs paraméter (y_1 – vastagság, y_2 – törési szilárdság, y_3 –mukoadhéziós erő, y_4 – felületi szabadenergia és y_5 – kioldódás) közötti kapcsolatot.

A törési szilárdság és az in vitro mukoadhezivitás szignifikancia vizsgálatát Microsoft Excel (15-ös verzió, Redmond, Washington, USA) szoftverrel értékeltem. Kétmintás T-tesztet alkalmaztam, a vizsgálatot minden mintánál hatszor végeztem el. A mintákat minden esetben a CTZ nélküli összetételhez hasonlítottam.

A stabilitási vizsgálatoknál a törési szilárdság és in vitro mukoadhezivitás eredményeket a frissen készített mintához (0 hónap) hasonlítottam. A filmek látszólagos permeabilitási értékeit Kruskal–Wallis teszttel, Dunn teszttel, mint post hoc teszttel elemeztem. Minden esetben $p < 0,05$ szignifikanciaszintet alkalmaztam.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Filmvastagság és törési szilárdság vizsgálata

A különböző összetételű filmek vastagsága (y_1) egyaránt függ a polimer és a GLY-koncentrációjától, ezért a 3%-os polimer filmek vastagabbak, mint a 2%-osak, tehát a polimer koncentrációjának növelése növelte a filmek vastagságát a nagyobb mennyiségű polimer szárazanyag tartalom miatt. A polimer típusa nem befolyásolta jelentősen a vastagságot, de a csak SA-t tartalmazó filmek (4-6., 10-12. és 7-9., 13-15. minták) valamivel vastagabb, mint a 2:1 SA:HPMC filmek. A 2:1 SA:HPMC filmek vastagabbak, mint az 1:1 arányú filmek, de nem volt szignifikáns különbség a HPMC nélküli csak SA-t tartalmazó filmek (4-6, 10-12 és 7-9, 13-15 minták), az 1:1 SA és HPMC (19–24. és 31–36. minták) filmek és 2:1 SA és HPMC filmek között (25–30. és 37–42. minták). Látható, hogy a c_{SA} (x_1) hatása minden esetben nagyon alacsony volt, és sehol sem adódott szignifikánsnak. A c_{GLY} (x_2) a vastagságot befolyásolta, és ez minden esetben statisztikailag is szignifikáns ($p < 0,05$) volt. A CTZ a filmek vastagságát is növelte, ami azzal magyarázható, hogy a CTZ növelte a filmek szárazanyag-tartalmát.

Munkám során megállapítottam, hogy a GLY csökkentette a filmek törési szilárdságát (y_2). Ez a megfigyelés annak a ténynek köszönhető, hogy a GLY kölcsönhatásba léphet a filmek

más komponenseivel (SA, HPMC és CTZ) jellemzően H-kötések formájában, valamint vízmegtartó tulajdonsággal is rendelkeznek, ezáltal is növelte a vastagságot. Továbbá a GLY növelhette a kötési távolságot is, így a magas GLY koncentrációjú filmek törékenyebbek.

Megállapítható, hogy a törési szilárdság (14,82 N és 9,55 N) 2%-os polimerkoncentráció esetén alacsonyabb volt, mint 3%-os filmek esetében (25,32 N és 13,81 N). A polimer mennyiségének növelése nagyobb törési szilárdságot eredményezett, mert a polimer láncok közötti kötések kialakulása miatt összetartó, erős, kohezív, stabil szerkezetet tudott kialakulni a filmekben.

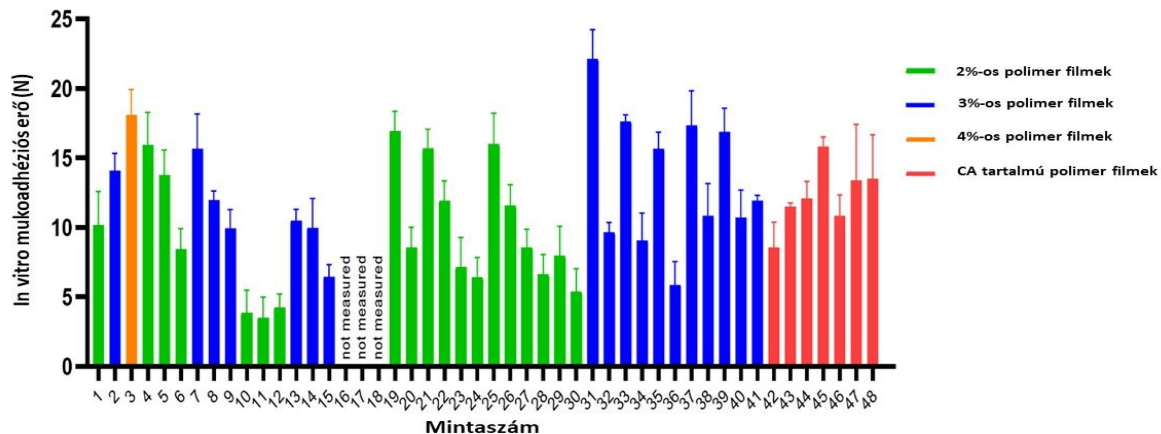
Végül elmondható, hogy azok a 2%-os polimer filmek, melyek alacsonyabb SA koncentrációval (19–24. minták) rendelkeztek, alacsony törési szilárdsággal bírtak (kevesebb, mint 10 N), ridegek és törékenyek voltak. Ez a tulajdonság az alkalmazás szempontjából nem elfogadható. A többi filmösszetétel nagyobb törési szilárdsággal rendelkezett, ezért megfelelő lehet bukkális alkalmazásra, mivel felhelyezés során az ujj nyomóerejének hatására nem törnek el.

Az statisztikai elemzésből az látszott, hogy a 2%-os polimer filmekben az SA és a GLY is jelentős hatást fejt ki. Az SA koncentrációjának emelése növelte a filmek törési szilárdságát, de a GLY fordított hatással volt a törési szilárdságra, csökkentette azt. A 3%-os polimer filmek esetében hasonló hatást tapasztalhatam, de a GLY hatása ebben az esetben nem szignifikáns.

4.2. In vitro mukoadhéziós erő meghatározása

A formulált filmek in vitro mukoadhéziójának mértékét a **1. ábra** mutatja be. A CTZ-nélküli filmek nagy mukoadhéziós erővel (y_3) rendelkeztek, legtöbbjük 10 N feletti értéket mutatott, ugyanakkor néhány minta esetében meghaladta a 15 N-t (3., 4., 7., 19., 21., 31., 33., 37., 39. minták). A CTZ tartalmú minták in vitro mukoadhéziós ereje szignifikánsan kisebb volt, így azt a következtetést lehet levonni, hogy a CTZ csökkentette a polimer filmek mukoadhézióját, valószínűleg az SA, HPMC és CTZ molekulák karboxilcsoportjai közötti kölcsönhatás miatt, így pedig kevesebb funkciós csoport volt képes kötődni a mucinhoz. Ezen minták esetén mérsékelt volt a mukoadhézió, de már használhatóak lehetnek bukkális gyógyszeradagoló rendszerként, mert ez a kisebb erő is elegendő a megfelelő bukkális mukoadhézió kialakulásához. A polimerek mennyiségének növekedése fokozta a mucinhoz való kötődést a rendszerben lévő szabad oldalláncok nagyobb számának köszönhetően, ezért erősebben képesek kötődni a szájnyálkahártya mucinjához is. Ezek a minták már megfelelő mukoadhéziós erővel voltak képesek kötődni a szájnyálkahártya mucin rétegéhez.

A GLY szintén befolyásolta a mukoadhéziós erőt. A nagyobb mennyiségű GLY csökkentette a mukoadhéziós erőt, valószínűleg ez annak köszönhető, hogy a GLY és a filmképző polimerek között H-kötések jöttek létre, valamint annak, hogy a mucin láncával nem tudott kellő mértékű kötődés létrejönni, mivel az összetett rendszerben a szabad oldalláncok száma kevesebb volt a kialakuló kölcsönhatások miatt.



1. ábra: A polimer filmek in vitro mukoadhéziós erejének nagysága

A statisztikai elemzés során azt találtam, hogy a GLY minden összetétel esetében (CTZ-nélküli és CTZ-tartalmú) a filmek mukoadhéziós erejét szignifikánsan csökkentette. Hasonlóképpen az SA is csökkentette a CTZ-mentes filmekben, mivel az SA-nak közepes, míg a HPMC-nek nagyobb a mukoadhéziós ereje, így a nagyobb HPMC koncentráció nagyobb mukoadhéziót okozott. Ennek a hatásnak az oka lehet az, hogy az SA és a CTZ funkciócsoportjai közötti kölcsönhatás alakult ki, így az SA-ban kevesebb olyan csoport maradt, amely képes volt kapcsolódni a mucinhoz (**1. ábra**).

4.3. Nedvesedési peremszög és felületi szabadenergia (SFE) meghatározása

A nedvesedési peremszög mérése és a SFE (γ_4) meghatározása nagyon fontos és kritikus a bukkális gyógyszerformák alkalmazása szempontjából, mivel a nyálnak nagymértékben szét kell terülnie a filmek felületén ahhoz, hogy a nyálkahártyához megfelelően tudjon tapadni. A CTZ-nélküli filmek közepes SFE értéket mutattak (51,99 mN/m és 57,81 mN/m), míg a CTZ-tartalmú filmek szignifikánsan magasabb SFE értékkel rendelkeztek. Utóbbi esetben az átlagos érték 69 mN/m és 76,11 mN/m volt, ezért kijelenthető, hogy a CTZ növelte a filmek SFE-jét, különösen az SFE poláris részét. A CTZ tartalmú filmek szignifikánsan nagyobb polaritást mutattak, amit a CTZ molekula karboxilcsoportja okozhatott. Ezekből az eredményekből arra lehet következtetni, hogy a CTZ kitekeredett (unfolded) konformere volt megtalálható a filmekben. A nedvesedési peremszög alacsonyabb értéket mutatott a CTZ tartalmú filmeknél.

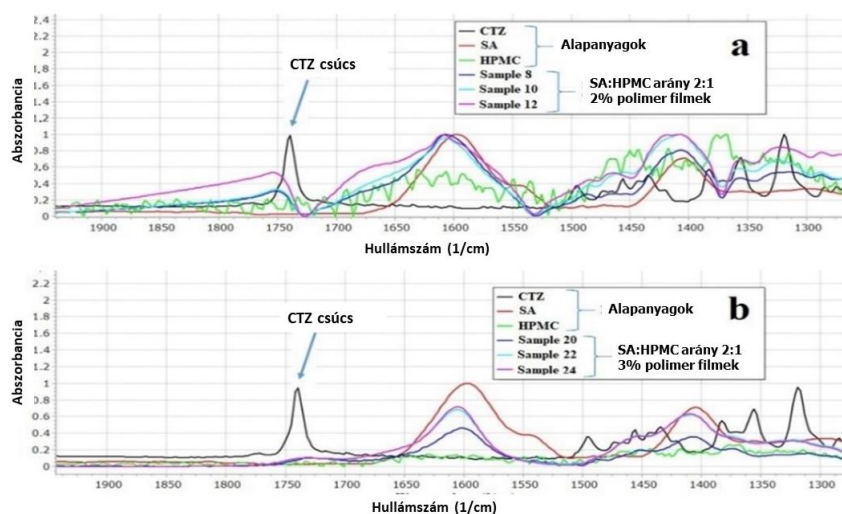
A CTZ nélküli filmek SFE-értéke nagymértékben a növekedett a GLY koncentráció növekedésével és csak kis mértékben változott az SA koncentráció függvényében. Ez a megfigyelés nem igaz a CTZ tartalmú filmek esetén, mert ezekben a filmekben az SFE-k hozzávetőleg konstans értékeket mutattak a GLY és a polimer koncentrációtól függetlenül.

A CTZ-t, SA-t és GLY-t tartalmazó filmekben, melyek 2% polimert tartalmaztak, az SA növelte, míg a 3%-os, CTZ-nélküli filmekben pedig csökkentette az SFE-t.

4.4. Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia (FT-IR)

A polimer filmeket FT-IR spektroszkópiával vizsgáltam, hogy azonosítsam a filmek komponensei közötti kölcsönhatásokat. CTZ karboxilcsoportja 1739 cm^{-1} -nél éles csúcsként volt detektálható az FT-IR spektrumon (2. ábra). A filmek spektrumain azonban ez a csúcs eltolódott és eltűnt a polimer koncentrációjától függően. A 2%-os polimer filmeknél a CTZ csúcs a nagyobb hullámszám felé tolódott el, és a csúcs intenzitása kisebb volt, mint az alapanyag esetében. A 3%-os polimer filmeknél a csúcs teljesen eltűnt, ami azt jelentette, hogy a filmekben kölcsönhatások alakultak ki a CTZ, az SA és a HPMC között. Kijelenthető, hogy H-kötések jöttek létre az SA, a HPMC és a CTZ karboxilcsoportja között. Az alacsony polimerkoncentráció miatt a filmekben kevesebb volt az SA és HPMC hidroxil csoportja, ami H-kötéseket volt képes létrehozni, így ebben az esetben a csúcs csak eltolódott. A 3%-os polimer filmek azonban több OH csoportot tartalmaztak, így több H-kötés jött létre, ami jelentősebb szerkezetváltozást okozott, ezért a csúcs teljesen eltűnt.

Ezekkel a megállapításokkal kellőképpen demonstráltam a filmekben előforduló kölcsönhatásokat. A Raman-spektroszkópia eredményei is megerősítették ezeket a kölcsönhatásokat.

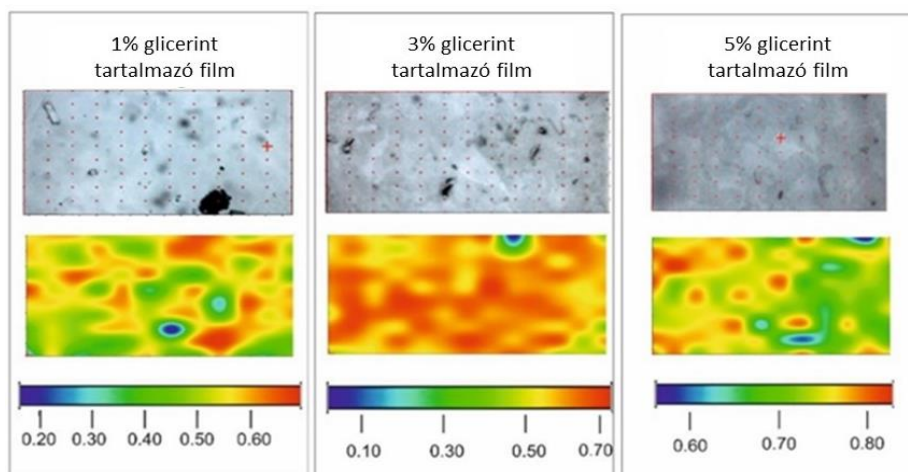


2. ábra: A ható- és segédanyagok egyedi FT-IR spektrumai és (a): 2%-os és (b): 3%-os polimer filmek FT-IR spektrumai

4.5. Raman spektroszkópia

A komponensek spektrumának összehasonlításához az $1598,15\text{ cm}^{-1}$ -nél jelentkező CTZ csúcsot választottam. A CTZ kémiai szerkezetében ez a csúcs fenil- és klórfenilcsoportban található C-C kötésekkel jelöli. Ezt az éles csúcs, egyedileg jellemzi az API-t, ezért ezt választottam a kémiai leképezési profilhoz.

A kémiai térképeket a **3. ábra** mutatja. A CTZ homogén módon eloszlást mutatott a különböző GLY tartalmú polimer filmekben. A meleg (piros és narancssárga) színek nagyobb API-tartalmat jelentettek a mintákban. Az 1% GLY tartalmú filmben az API kristályos agglomerátumokban (sárga, narancssárga foltok) volt a mintákban. A másik két esetben, különösen a 3% GLY-t tartalmazó minta esetében, a térképek színeloszlása nagyon egyenletes volt. Ez az API lehetséges molekuláris diszperz eloszlását jelentette a filmben. Következésképpen a vízben oldódó API részlegesen oldott formában volt a filmekben, mivel a nagyobb GLY koncentráció nagyobb víztartalmat is jelentett a GLY hidratáló, vízmegtartó tulajdonsága miatt. A filmek ezen tulajdonsága hátrányos lehet, mert a minták fizikai instabilitását okozhatta. Emellett a nagyobb GLY koncentráció hátrányos lehet a bukkális filmek mukoadhéziójának kialakulása során, mivel a GLY csökkentette a mukoadhézív polimer láncok mennyiségét, amelyekkel képesek kötődni a szájnyálkártya mucin rétegéhez.



3. ábra: Különböző GLY tartalmú filmek kémiai Raman térképezése

4.6. Termoanalitika mérések

A SA tömegvesztesége 180 °C -ig 11,84%, 500 °C -ig 47,56%. volt A bomlási folyamat jellemzően 75 °C felett indult meg. A GLY tömegvesztesége 180 °C -ig közel hasonló, de 500 °C -ig több mint 86%-a elbomlott. A CTZ esetében a bomlás 200 °C felett indult csak meg, így a CTZ hőstabil API-nak mondható.

Az SA DSC görbéje endoterm csúcsot mutat 40 és 150 °C között, és exoterm csúcs látható 200 és 280 °C között. A GLY esetében két endoterm csúcs detektálható. A CTZ bomlása

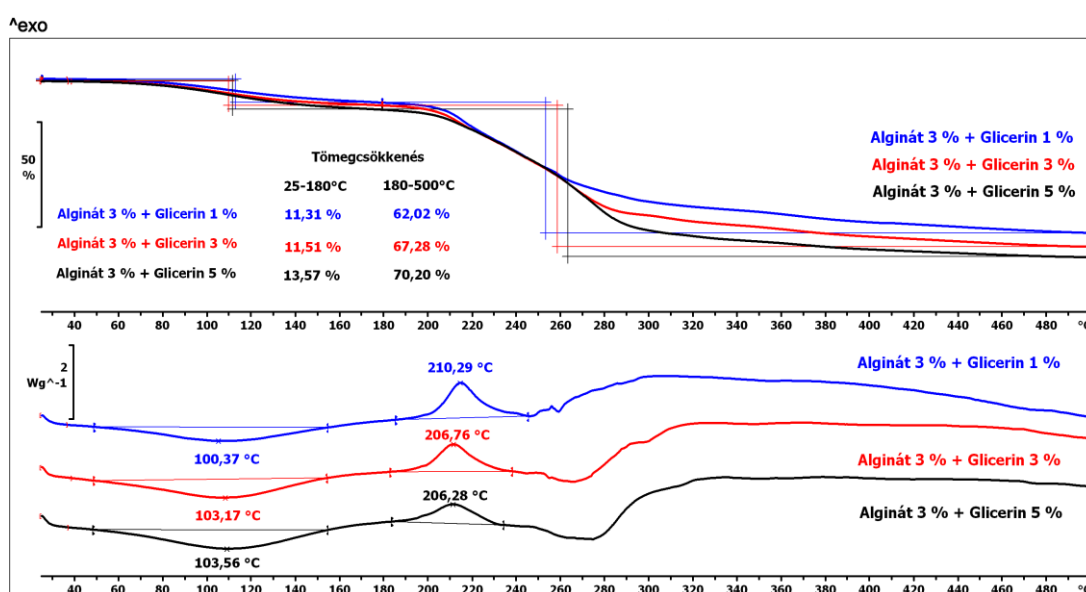
az olvadáspont után indul meg, ami 223,32 °C-on jelenik meg, majd ezután a CTZ általános bomlása következik.

A **4 ábrán** a 3%-os polimer filmek termoanalitikai görbéi láthatóak. A polimer filmek bomlása két lépésben ment végbe. Első lépésben (180 °C-ig) látható, hogy a legalacsonyabb GLY koncentrációjú film (10. minta) a legkisebb tömegvesztéssel rendelkezett, ami az alacsony GLY koncentrációjú filmek alacsonyabb víztartalmával volt magyarázható. Nagyobb GLY és SA koncentrációk esetében tehát a filmek magasabb víztartalommal rendelkeztek, emiatt a tömegvesztés is nagyobb volt. A 11-15. minták tömegvesztésében nem volt jelentős különbség.

Az **4. ábrán** a bomlási folyamat második lépcsője esetén ugyanezek a megfigyelések tehetők, de a különböző összetételű filmek tömegvesztésének értékei magasabbak voltak, 62%-tól 70%-ig terjedtek.

Az SA két jellegzetes csúcsa a különböző összetételű filmek DSC görbéin látható (**4. ábra**). Az első csúcs a magasabb hőmérséklet felé tolódott el a GLY koncentráció növekedésével. Ez a megfigyelés mérsékelt kölcsönhatást tárt fel a filmek segédanyagai között, ami H-kötések jelenlétére utalhatott, amit az FT-IR spektroszkópia mérések eredményei is megerősítettek. A DSC görbék exoterm csúcsa is eltolódást mutatott a GLY koncentráció növekedésével, a csúcs az alacsonyabb hőmérséklet felé mozdult el. Ez az összefüggés a 2 és 3% SA koncentrációjú filmek esetében is megfigyelhető volt.

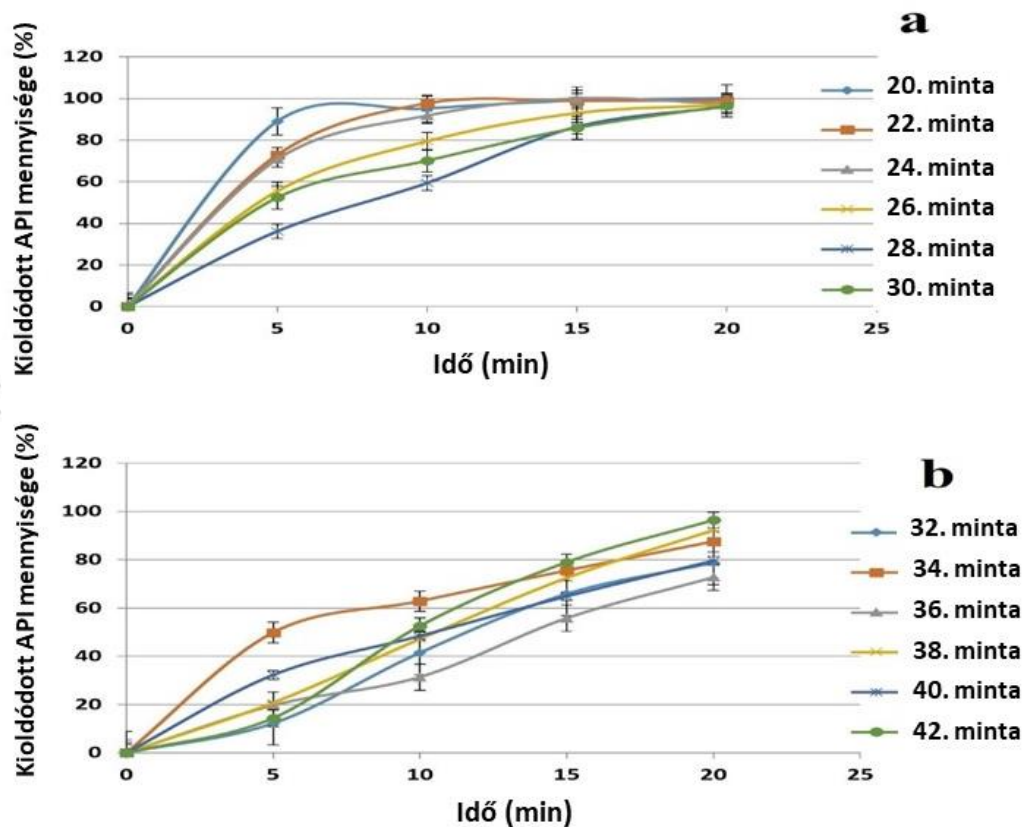
Összességképpen elmondható, hogy a bomlási folyamatok általában 70 °C-tól kezdődtek, így a polimer filmek e hőmérsékletig termikusan stabilnak tekinthetők.



4. ábra: 3%-os SA-t tartalmazó polimer filmek TGA és DSC görbéi

4.7. Kioldódás vizsgálat

A vizsgálat során (120 perc) mindegyik filmösszetételből a CTZ teljes mennyisége kioldódott (y_5). A 2%-os polimer koncentrációjú filmekből az első 20 percen az API közel 100%-a felszabadult (**5. ábra**). A vékonyabb polimer filmek gyorsabban adták le a CTZ-t, mint a vastagabb filmek. Az SA és GLY koncentrációk növelésével a hatóanyag kioldódása lassult és 20 perc alatt sem tudott a CTZ teljes mennyisége felszabadulni. A 3%-os polimer filmekből az API 65-96%-a oldódott ki a vizsgálat teljes időtartama alatt. Az **5. ábra** "B" részén megfigyelhető, hogy az 1:1 arányú mintákból (32. és 34. minta) a vizsgálat kezdetén (első 5 perc) az API viszonylag gyorsan, majd ezt követően lassabban szabadult fel. Ennek az az oka, hogy 3%-os polimer koncentráció esetén stabil, összefüggő, kohezív szerkezet alakul ki az SA, HPMC, GLY és CTZ funkciós csoportjai között, mely korrelált a vastagság- és törési szilárdság eredményekkel is, és amit az FT-IR spektroszkópiai mérések is alátámasztottak. A GLY a 3%-os polimer filmek esetében nem befolyásolta jelentősen a hatóanyag kioldódását.

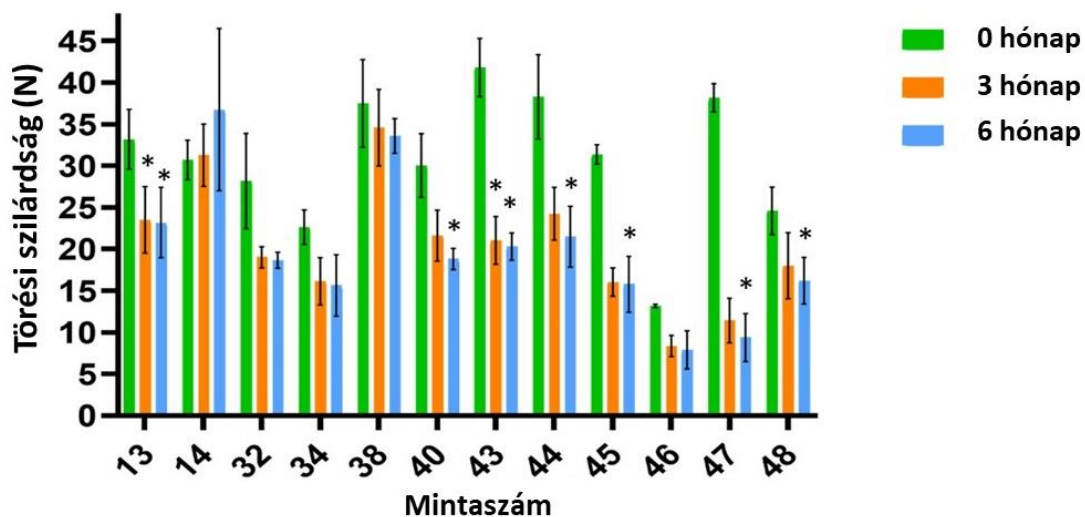


5. ábra: A különböző filmek kioldódás görbéi az első 20 percen (**a:** 2%-os polimer filmek, **b:** 3%-os polimer filmek)

4.8. Stabilitás vizsgálat

4.8.1. Törési szilárdság vizsgálata

A törési szilárdság minden összetétel esetében csökkent a vizsgált időszak alatt (6. ábra). A friss minták esetében a CA tartalmú filmek törési szilárdsága nagyobb volt, mint a CA nélküli filmeké. Ugyanakkor a tárolási idővel a CA tartalmú minták esetében (43., 44., 45., 46., 47., 48. minta) nagyobb volt a törési szilárdság csökkenése, mint a CA nélküli (13., 14., 32., 34., 38., 40. minta) filmek esetében. A GLY koncentráció növelésével a filmek törési szilárdsága szintén csökkent. A tárolás során a GLY bomlást szenvedhet, ennek köszönhetően a filmek víztartalma is csökkenhet, ami a filmek törési szilárdságának csökkenését okozhatja. Ezt a feltételezést az FT-IR mérések eredményei alátámasztották. Ezen tények alapján elmondható, hogy a CA-t nem tartalmazó és alacsony GLY tartalmú filmek törési szilárdság szempontjából megfelelő stabilitásúak (13., 32., 38. minta).



6. ábra: A polimer filmek törési szilárdsága (a 43., 44., 45., 46., 47., 48. minták tartalmazznak CA-t) (* $p < 0,05$; $n = 6$). A mintákat a friss mintával (0 hónap) hasonlítottam össze.

4.8.2. In vitro mukoadhéziós erő meghatározása

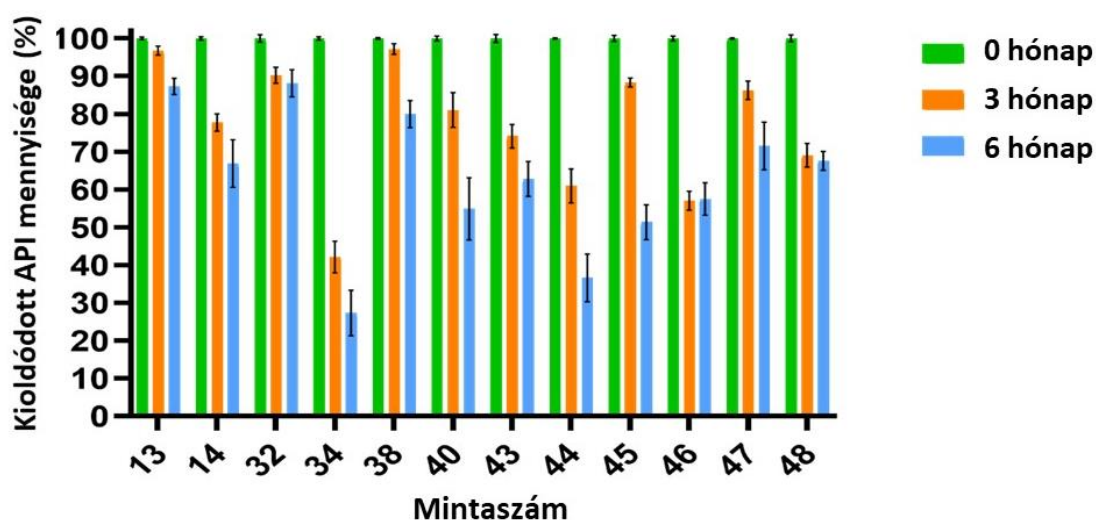
A mukoadhéziós erő szinte minden minta esetében nőtt a 6 hónapos periódus alatt. Ez azt jelenti, hogy a filmek a tárolási idő után erősebben tudtak kapcsolódni a szájnyálkahártyához. Ez a jelenség azzal magyarázható, hogy a tárolás során több szabad lánc képződött, így több karboxil- és hidroxilcsoport kapcsolódhatott a mucin oligoszacharid láncjaihoz.

A GLY koncentráció a filmek mukoadhezivitását is befolyásolta. A magasabb GLY-koncentrációjú filmek kisebb mértékű növekedést okoztak a mukoadhezivitásban. Ez a megfigyelés annak volt betudható, hogy a nagy mennyiségű GLY nagyobb mértékben épült be

a polimer film szerkezetébe, így a tárolás során kevesebb lánc szabadult fel, mely képes kötődni a szájnyálkahártya mucinjához.

4.8.3. Hatóanyagtartalom vizsgálata

A várakozásoknak megfelelően a tárolás során forszírozott körülmények között minden mintánál hatóanyagtartalom csökkenés volt megfigyelhető (7. ábra). Az API mennyiségének csökkenése a 0. és 3. hónap között nagyobb volt, 3. és 6. hónap között viszont a különbségek már csökkentek. A változások nagyobbak voltak a CA-t tartalmazó filmeknél, így megállapítható, hogy a CA csökkentette a filmek stabilitását a hatóanyagtartalom szempontjából. Megállapítottam azt is, hogy a nagyobb GLY koncentrációjú filmek 6 hónap elteltével kevesebb API-t tartalmaztak, mint a kisebb GLY koncentrációjú filmek, tehát a GLY is fokozta az API lebontását, ami csökkentette a filmek stabilitását. Mint látható, a 13. minta és a 32. minta 6 hónapig, míg a 38., 45., 47. minta 3 hónapig tudta megőrizni az API szükséges mennyiségét.



7. ábra: A különböző filmek hatóanyagtartalmának változása gyorsított stabilitási vizsgálat során, (A 43., 44., 45., 46., 47., 48. minták tartalmaznak CA-t) (n = 6).

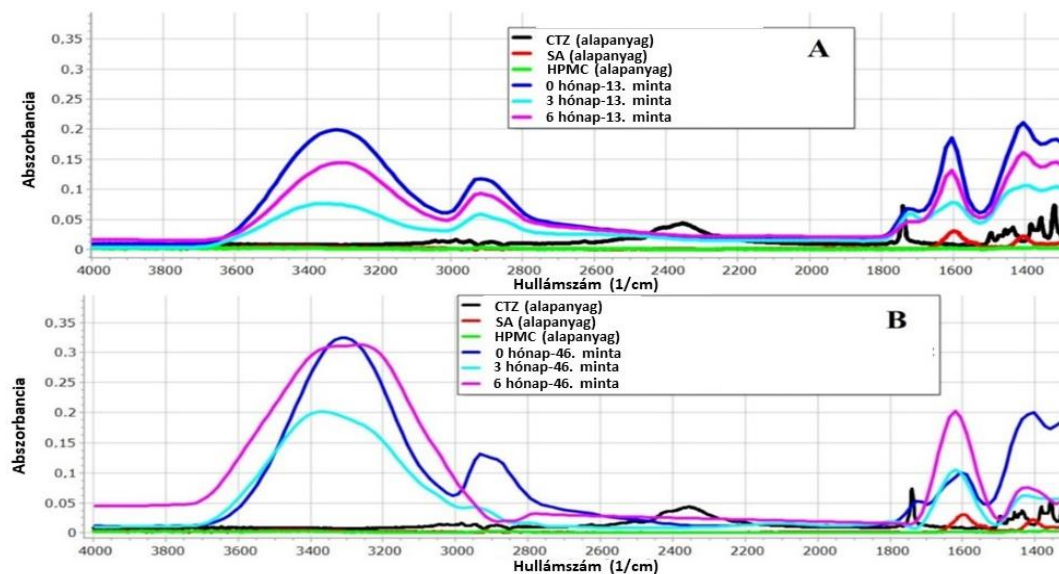
4.8.4. Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia (FT-IR)

A 8. ábrán a filmek FT-IR spektrumai láthatóak. A 8. ábra „A” részén a 13. minta FT-IR spektruma látható, mely leginkább megőrizte stabilitását, ugyanis 6 hónap elteltével is ebben az esetben volt mérhető a legnagyobb hatóanyagtartalom. A 8. ábra „B” részén pedig a 46. minta FT-IR spektrumai láthatóak, ahol a legnagyobb mértékű a hatóanyagbomlás, tehát ez a minta a legkevésbé volt stabil.

A CTZ karboxilcsoportja az FT-IR spektrumban 1739 cm^{-1} -nél detektálható. A CTZ, mint alapanyag spektrumában ez a csúcs élesen megkülönböztethető. A 13. mintában (8. ábra

„A” rész) a CTZ csúcs magasabb hullámszám felé tolódik el, de a csúcs intenzitása kisebb, mint az alapanyag esetében. A 8. ábra „B” részében, a 46. mintánál a csúcs a hatodik hónap után teljesen eltűnt, ami azt mutatja, hogy a tárolás során a forszírozott körülmények miatt csökkent az API mennyisége, és H-kötések alakultak ki az SA, a HPMC és a CTZ karboxilcsoportja között, amely jelentősebb szerkezeti változásokat okozott.

Összességében elmondható, hogy az API lebomlása gyorsabb volt a CA tartalmú filmekben, mint a CA nélküli filmekben. Ezen túlmenően a filmek komponensei között kémiai kölcsönhatások léptek fel.



8. ábra: A polimer filmek FT-IR spektrumai („A” rész 13. minta, „B” rész 46. minta)

4.9. Sejtéletképesség vizsgálat

A TR-146 sejteket az HBSS-ben oldott filmekkel kezeltem, 0,35 mg/ml CTZ koncentrációban. A 2. táblázat az áramlási citometriás eredményeket mutatja, az elhalt sejtek festésére propídiium-jodidot alkalmaztam. Látható, hogy egyes filmek jelentősen befolyásolták a sejtek életképességét. A 34. minta és a 47. minta esetén jelentős mértékű, több, mint 60%-os citotoxicitás volt tapasztalható. A 14., 32. és 48. minták esetén minimális volt a sejtkárosodás mértéke. A többi minta sejtéletképesség értékei 55 és 87% közöttiek voltak.

A transzcelluláris transzport kísérletet csak a 13., 14., 32., 38., 43., 46. és 48. mintákkal végeztük, amelyek sejtéletképessége nagyobb volt, mint 60%.

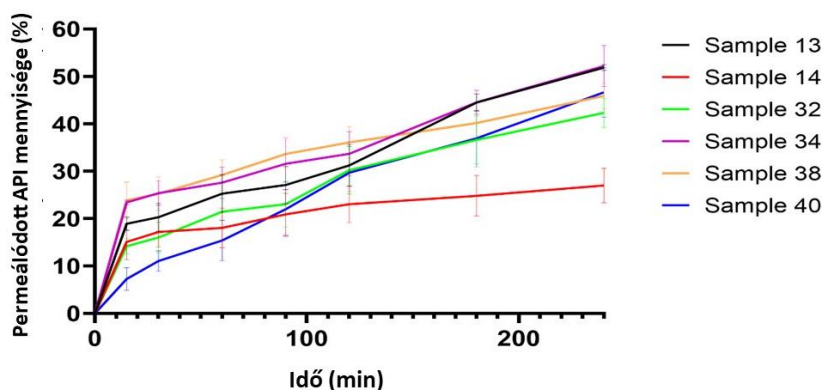
2. táblázat: A formulált filmek sejtéletképessége. (A 43., 44., 45., 46., 47., 48. minta CA-t tartalmaz)

Minta	Sejtéletképesség a kontrollhoz viszonyítva (% \pm SD)
13	67,1 \pm 2,7
14	92,8 \pm 0,4
32	99,3 \pm 0,8
34	33,6 \pm 0,7
38	87,2 \pm 0,5
40	56,4 \pm 4,6
43	78,7 \pm 0,6
44	56,3 \pm 1,0
45	55,9 \pm 0,2
46	87,7 \pm 0,1
47	17,4 \pm 0,3
48	91,3 \pm 1,5
Triton X	0,20 \pm 0,10

4.10. Permeációs vizsgálat

4.10.1. Permeációs teszt mesterséges membránon keresztül

A **9. ábrán** a mesterséges cellulóz membránon keresztüli permeációs teszt eredményei láthatóak. A legtöbb készítményből az API több mint 40%-a átjut az akceptor fázisba. Az SA koncentráció befolyásolta a permeált API mennyiségét. A magasabb SA koncentrációjú filmekből nagyobb mennyiségű API tudott átjutni az akceptor fázisba, mint ahol kisebb volt a koncentráció. Ezt az összefüggést a **9. ábra** mutatja, ahol a 13. minta (fekete görbe) nagyobb permeációs rátával rendelkezett, mint a kevesebb SA-t tartalmazó minták esetén (32. minta – zöld görbe, 38. minta – barna görbe) azonos GLY tartalom mellett. Ugyanez a korreláció figyelhető meg a 14. mintánál (piros görbe) és a 40. mintánál (kék görbe) is. Továbbá az is megállapítható, hogy a GLY koncentráció nem befolyásolta az API permeációjának sebességét. Ezek az eredmények azért tekinthetők jelentősnek, mert a permeált API teljes mennyisége hatást tud kifejteni a szervezetre a per os tablettákkal szemben, ahol a máj first-pass hatása miatt, a permeálódott hatóanyag egy része metabolizációs folyamaton megy keresztül.



9. ábra: A polimer filmek permeációs görbéi mesterséges membránon keresztül (n = 6)

4.10.2. In vitro permeációs teszt

A TR-146 sejtvonal elfogadott modell a bukkális felszívódás in vitro tesztelésére. Az elkészített filmeket HBSS-ben oldottam, és a hatóanyag transzportot 90 percig figyeltem. A 48. minta permeációja kiemelkedően magas volt, míg a 43. minta a legalacsonyabb értékkel rendelkezett. A CA jelenléte nem volt közvetlen hatással a sejten keresztüli API transzportra. Ezen túlmenően a HPMC tartalmú filmek permeabilitása kisebb volt. A legtöbb film 30 és 90 perc közötti lineáris transzport sebességgel haladt át a sejteken. A 43. minta kivételével minden filmnél gyorsabb volt a permeáció sebessége az első 30 percben, ezután a hatóanyag átjutása lelassult. A CTZ oldódása és transzportja minden filmből stabil volt.

5. ÖSSZEFOGLALÁS ÉS GYAKORLATI HASZNOSSÁG

Az eredmények alapján elmondható, hogy sikeresen állítottam elő CTZ tartalmú bukkális polimer filmeket. A filmek mechanikai tulajdonságai széles tartományban változtak. Megállapítottam, hogy a SA, GLY és CTZ növelte a filmek törési szilárdságát. A GLY és a CTZ csökkentette a filmek mukoadhezitását, ugyanakkor az SA fokozta azt. A SA, a HPMC, a GLY és a CTZ között kémiai kölcsönhatás volt megfigyelhető, amely elsősorban H-kötések formájában nyilvánult meg. Az API teljesen homogén eloszlást mutatott a filmekben, és a GLY koncentrációtól függően kristályos és molekuláris diszperz formában is megtalálható volt. A filmek 70 °C-ig stabilak voltak, így az előkészítés és a szárítás során a szobahőmérsékletnél magasabb hőmérséklet is alkalmazható. Az első 20 percben az API több mint 80%-a kioldódott a legtöbb készítményből. A mesterséges membránon keresztül az API több mint 40%-a áthatolt a vizsgált donor kompartmentből. A CTZ transzport sebessége bukkális sejtvonalon keresztül minden készítmény esetében közel állandó volt és egyik komponens sem befolyásolta szignifikánsan. A 14-es, 32-es, 8-as, 38-as, 46-os és 48-as minták citokompatibilitása megfelelő és elfogadható volt. A stabilitási teszt alapján elmondható, hogy a CA és a GLY jelentősen fokozta az API tartalmának csökkenését.

Találtam néhány olyan összetételt, amely a gyógyszerkönyvi elvárásoknak megfelelően képes volt megőrizni a szükséges hatóanyag-tartalmat (13., 32., 38., 45., 47. minta) 3 vagy 6 hónap elteltével is. Végül elmondható, hogy gyorsan kioldódó SA alapú bukkális mukoadhezív polimer filmet fejlesztettem ki, és ígéretes (optimális) összetételt találtam a 32. minta esetében, amely alkalmas arra, hogy egy lehetséges bukkális gyógyszeradagoló rendszerként továbbfejlesszük.

A Ph.D. munkám új eredményei/gyakorlati jelentősége:

- Kémiai kölcsönhatásokat detektáltam a filmek komponensei között, amelyek többnyire H-kötések, és bebizonyosodott, hogy ezek a kölcsönhatások meghatározták és befolyásolták a filmek fizikai tulajdonságait, valamint az API felszabadulását, tehát a további fejlesztés során fontos figyelembe venni.
- A GLY mennyisége nemcsak a filmek fizikai tulajdonságait és stabilitását befolyásolta (sok paraméter mellett), hanem az API kémiai formáját is.
- Bár a CA növelte az API permeációját, alkalmazása polimer filmekben nem javasolt, mivel nagymértékben csökkentette a filmek stabilitását.
- A polimer filmek permeációs vizsgálatát sikeresen alkalmaztuk TR146 bukkális sejtvonalon, hogy in vitro körülmények között modellezzük a sejteken áthaladó API mennyiségét, amely a szisztémás keringésbe kerülés után azonnal képes kifejteni hatását. A bukkális filmjeimből a hatóanyag sejteken keresztüli transzportja lineáris volt és kellő mennyiség átjutott, 30 perc alatt több mint 60%.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

1. **Pamlényi, K.**, Kristó, K., Jójárt-Laczkovich, O., Regdon jr., G.:
„*Formulation and Optimization of Sodium Alginate Polymer Film as a Buccal Mucoadhesive Drug Delivery System Containing Cetirizine Dihydrochloride*”.
Pharmaceutics 13, 619 (2021) doi: 10.3390/pharmaceutics13050619.
Független hivatkozások: 10 Q1 IF = 6,525 (2021)
2. **Pamlényi, K., Kristó, K., Sovány, T.**, Regdon jr., G.:
„*Development and evaluation of bioadhesive buccal films based on sodium alginate for allergy therapy*”
Heliyon 8, e10364 (2022) doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e10364
Q1 IF = 3,776 (2021)
3. **Pamlényi, K.**, Regdon jr., G., Nemes, D., Bácskay, I., Fenyvesi, F., Kristó, K.:
„*Stability, permeability and cytotoxicity of buccal films in allergy treatment*”
Pharmaceutics 14, 1633 (2022) doi: 10.3390/pharmaceutics14081633
Független hivatkozások: 1 Q1 IF = 6,525 (2021)
Összesítve: 3 db első szerzős Q1 IFösszesített = 16,826

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ NEM KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

1. Litauszki, K; Kiserdei, É; **Pamlényi, K.**; Szarka, Gy; Kmetty, Á; Kovács, Zs.:
„*Controlled Drug Release from Laser Treated Polymeric Carrier*”.
Journal of Pharmaceutical Sciences, 12 pp. 3297-3303., 7 p.(2022)
doi: 10.1016/j.xphs.2022.08.018
Független hivatkozások: 2 Q2 IF = 3,784 (2021)
2. **Pamlényi, K.**; Kristó, K; Nemes, D., Bácskay, I.; Regdon jr., G:
„*Formulation and characterization of pramipexole containing buccal films for using in Parkinson's disease*”
European Journal of Pharmaceutical Sciences Editori döntés: revízióra
visszaküldés, amelyen jelenleg dolgozunk
Q1 IF = 5,112 (2021)

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ ELŐADÁSOK

1. **Pamlényi, K.**, Sovány, T., Kristó, K., Regdon jr., G.: „*Formulation of an innovative buccal mucoadhesive drug delivery system with sodium alginate polymer film*”, XII. Central European Symposium on Pharmaceutical Technology and Regulatory Affairs conference, Szeged, 2018. Szeptember – **előadó** (poszter előadás)
2. **Pamlényi, K.**, Kristó, K., Regdon jr., G.: „*Szájnyálkahártyán alkalmazható, Na-alginát tartalmú mukoadhezív polimer film előállítása és vizsgálata*”, 2018. évi Tudományos Diákköri Konferencia, Szeged, 2018. november – **előadó** (verbális előadás)
3. **Pamlényi, K.**, Kristó, K., Regdon jr., G.: „*Szájnyálkahártyán alkalmazható, Na-alginát tartalmú mukoadhezív polimer film előállítása és vizsgálata*”, XXVI. Tudományos Diákköri Konferencia, Marosvásárhely, 2019. április – **előadó** (verbális előadás)
4. **Pamlényi, K.**, Kristó, K., Regdon jr., G.: „*Szájnyálkahártyán alkalmazható, Na-alginát tartalmú mukoadhezív polimer film előállítása és vizsgálata*”, XXXIV. Országos Tudományos Diákköri Konferencia Debrecen, 2019. május - **előadó** (verbális előadás)
5. Regdon jr., G, Módra, Sz., **Pamlényi, K.**, Sovány, T., Kristó, K., „*Formulation, structural and thermal analysis of an innovative buccal mucoadhesive film drug delivery system from two different polymers*”, 2nd Journal of Thermal Analysis and Calorimetry Conference (2ndJTACC+V4 2019), Budapest, 2019. június – **társszerző** (felkért előadás)
6. **Pamlényi, K.**, Kristó, K., Regdon jr., G.: „*Bukkális szájnyálkahártyán alkalmazható innovatív, nátrium-alginát alapú gyógyszerhordozó rendszer kialakítása és termoanalitikai vizsgálata*” Gyógyszertechnológiai és Ipari Gyógyszerészeti Konferencia, Siófok, 2019. szeptember – **előadó** (poszter előadás)
7. **Pamlényi, K.**, Kristó, K., Regdon jr., G.: II. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science, „*Development and characterization of sodium alginate polymer film as a buccal mucoadhesive drug delivery system*”, Szeged, 2020. január - **előadó** (verbális előadás)
8. **Pamlényi, K.**, Kristó, K., Regdon jr., G.: „*Buccal polymer film as an innovative drug delivery system*”, Medical Conference for PhD Students and Experts of Clinical Sciences (MedPECS 2020), Pécs, 2020. október - **előadó** (verbális előadás)
9. **Pamlényi, K.**, Kristó, K., Regdon jr., G.: „*Nátrium-alginát, mint bukkális mukoadhezív gyógyszerhordozórendszer*”, III. Fiatal Technológusok Fóruma, Budapest, 2020. december – **előadó** (verbális előadás)
10. **Pamlényi, K.**, Regdon jr., G., Nemes, D., Bácskay, I., Kristó, K.: „*Preparation and investigation of permeability and physical-chemical properties of buccal films with sodium alginate*”, III. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science, Szeged, 2021. január - **előadó** (verbális előadás)
11. **Pamlényi, K.**, Kristó, K., Regdon jr., G.: „*Nátrium-alginát alapú bukkális mukoadhezív polimer film gyógyszerforma formulálása*” Kárpát-medencei Fiatal Magyar Kutatók Konferenciája (EFOP-3.10.1-17-2017-00001), Budapest, 2021. március - **előadó** (verbális előadás)

12. **Pamlényi, K.**, Regdon jr., G., Nemes, D., Bácskay, I., Kristó, K.: „*Investigation of stability and permeability of buccal films based on sodium alginate*”, XIII. Central European Symposium on Pharmaceutical Technology and Regulatory Affairs conference, Gdansk, 2021. szeptember - **előadó** (verbális előadás)
13. **Pamlényi, K.**, Regdon jr., G., Nemes, D., Bácskay, I., Kristó, K.: „*Cetirizin tartalmú nátrium-alginát alapú polimer filmek stabilitási és permeabilitási vizsgálata*”, XIV. Clauder Ottó emlékverseny, Budapest 2021. november – **előadó** (verbális előadás)
14. **Pamlényi, K.**, Regdon jr., G., Nemes, D., Bácskay, I., Kristó, K.: „*Stability and permeability properties of sodium alginate buccal films*”, IV. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science, Szeged, 2022. január - **előadó** (verbális előadás)
15. **Pamlényi, K.**, Regdon jr., G., Nemes, D., Bácskay, I., Kristó, K.: „*Pramipexolt tartalmazó innovatív bukkális polimer film formulálása és vizsgálata*”, V. Fiatal Technológusok Fóruma, Budapest, 2022. május – **előadó** (verbális előadás)
16. **Pamlényi, K.**, Regdon jr., G., Nemes, D., Bácskay, I., Kristó, K.: „*Parkinson-kór kezelésében alkalmazható, pramipexolt tartalmazó innovatív bukkális polimer film formulálása és vizsgálata*”, SZTE Gyógyszerésztudományi Kar 2021. évi ÚNKP díjazottjainak tudományos előadóülése, Szeged, 2022. június – **előadó** (verbális előadás)
17. **Pamlényi, K.**, Regdon jr., G., Nemes, D., Bácskay, I., Kristó, K.: „*Preparation of buccal films in Parkinson's Disease*” 9th BBBB Conference on Pharmaceutical Sciences, Ljubljana, Slovenia, 2022. szeptember - **előadó** (verbális előadás)
18. **Pamlényi, K.**, Regdon jr., G., Nemes, D., Bácskay, I., Kristó, K.: „*Formulation of Buccal Films in Parkinson's Disease*”, V. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science, Szeged, 2023. január - **előadó** (verbális előadás)
19. **Pamlényi, K.**, Regdon jr., G., Nemes, D., Bácskay, I., Kristó, K.: „*Evaluation of Stability and Cell Line Studies of Alginate Films Containing Cetirizine as Anti-Allergic Agent*”, V. International Conference on PharmScience Research & Development Las Vegas, NV, USA, 2023. február - **előadó** (verbális előadás)

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani **Prof. Dr. Hohmann Juditnak**, a Gyógyszertudományi Doktori Iskola vezetőjének és **Prof. Dr. Csóka Ildikónak**, a Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet igazgatójának, a „Gyógyszertechnológia, gyógyszerfelügyelet” képzési program vezetőjének, hogy lehetővé tették számomra, hogy folytathattam a graduális hallgatóként megkezdett kísérletes munkát.

Hálás köszönetemet fejezem ki témavezetőimnek, **Dr. Kristó Katalinnak** és **ifj. Dr. Regdon Gézának** útmutatásukért, hasznos tanácsaikért, türelmükért, támogatásukért és önzetlen segítségükért, amelyeket a doktori fokozatszerzés során kaptam tőlük.

Köszönöm **Dr. Sovány Tamásnak** az FT-IR spektroszkópiai mérésekben nyújtott segítségét.

Ezúton szeretném megköszönni **Dr. Jójártné Laczkovich Orsolyának** tanácsait és segítségét, különösen a Raman mérések és értékelések terén.

Hálás köszönetemet fejezem ki **Prof. Dr. Bácskay Ildikónak** és **Dr. Nemes Dánielnek** a Debreceni Egyetem Gyógyszertechnológiai Tanszékéről, a citotoxicitás és in vitro permeabilitási vizsgálatok során nyújtott óriási segítségükért Ph.D. munkám során.

Külön szeretném megköszönni **Prof. Dr. Bruno Sarmentonak** és az **NTDD (Nanomedicines & Translational Drug Delivery) kutatócsoport** minden tagjának, hogy inspiráló segítséget nyújtottak tanulmányaim során az Erasmus-mobilitás alatt töltött időszakban az i3S-ben - Instituto de Investigaçao e Inovação em Saúde Universidade do Porto.

Köszönöm az **1. kutatócsoport további tagjainak** és a **Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti intézet minden tagjának** a segítséget.

Ószinte hálámat és köszönetemet fejezem ki a **Richter Gedeon Talentum Alapítványnak**, hogy támogatásuk révén lehetőségem nyílt, hogy részt vehessek a Ph.D. programban.

Köszönetet mondok „múzsámnak”, annak a lánynak, aki elindított a kísérleti munkában és ebben a témában.

Végezetül külön köszönettel tartozom **szüleimnek**, **nővéremnek** és **fivéremnek**, valamint **családom minden tagjának** támogatásukért, óriási segítségükért, türelmükért és a békés háttér biztosításáért tanulmányaim során. Szeretném megköszönni **barátaimnak** a szeretetet és fáradhatatlan támogatást, biztatást, megértést, amit kaptam tőlük.