

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszerésztudományi Kar
Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet

Ph.D. értekezés tézisei

**ORÁLIS HIDROXIPROPIL CELLULÓZ FILMEK ELŐÁLLÍTÁSA ÉS
VIZSGÁLATA**

Gottnek Mihály

Témavezető:
ifj. Dr. habil. Regdon Géza, Ph.D.

Szeged
2017

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Gyógyszertechnológia Program
Programvezető: Prof. Dr. habil. Révész Piroska, MTA doktor

Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet
Témavezető: ifj. Dr. habil. Regdon Géza, Ph.D.

Gottnek Mihály

Orális hidroxipropil cellulóz filmek előállítására és vizsgálata

Szigorlati bizottság:

Elnök: *Prof. Dr. Erős István MTA doktor, SZTE Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet*

Tagok: *Dr. Zupkó István Ph.D., SZTE Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet*
Dr. Antal István Ph.D., SE Gyógyszerészeti Intézet

Bíráló bizottság

Elnök: *Prof. Dr. Hohmann Judit MTA doktor, SZTE Farmakognóziái Intézet*

Opponensek: *Dr. Budavári Zoltán Ph.D., Sanofi Ltd., Chinoin ZRt.*
Dr. Vecsernyés Miklós Ph.D., DE Gyógyszertechnológiai Intézet

Tagok: *Dr. Szakonyi Zsolt Ph.D., SZTE Gyógyszerkémiai Intézet*
Dr. Doró Péter Ph.D., SZTE Klinikai Gyógyszerészeti Intézet

Szeged

2017

1. BEVEZETÉS

Bár a legnépszerűbb gyógyszerbeviteli út az orális, a GI traktus enzimeinek bontó hatása korlátozza bizonyos hatóanyagok bevitelét, továbbá a máj first-pass effektjének következtében csökken a hatóanyagok vérszintje.

Azonban, a mukoadhezív orális filmek kiküszöbölik mindezen hátrányokat és nemcsak helyi hatás (aphta, ínygyulladás vagy fogfájás kezelése), hanem szisztémás terápiás hatás is elérhető például fájdalom csillapítás vagy angina pectoris esetén. Komoly lehetőség rejlik a késleltetett, nyújtott és szabályozott szisztémás terápiában. A gyógyszeres filmek népszerűek a gyermekek körében, akiknek nagyon alacsony a beteg compliance és megoldást jelentenek nyelési nehézséggel küzdő betegek, vagy idősök kezelésében egyaránt. Utazás közben, vagy víz, folyadék nélkül is egyszerűen alkalmazhatóak. Mivel jobb beteg compliance érhető el, ezért nő a terápiás hatékonyság, ezáltal csökken a betegek, valamint az egészségügyi rendszer kiadásai. Végezetül, a szájnyálkahártya magas ellenálló képességgel bír potenciális allergénekkal szemben és gyors a regenerációs készsége irritáció vagy sérülés után.

Nagyon fontos a mukoadhezív filmek mechanikai tulajdonságainak vizsgálata és meghatározása, mivel a gyártás, csomagolás, kicsomagolás és alkalmazás során komoly mechanikai igénybevételnek vannak kitéve. Ezek a tulajdonságok a filmképző polimertől, az alkalmazott segédanyagoktól és a formulálástól függenek elsősorban.

Továbbá, a fizikai-kémiai tulajdonságok sem csak az alkalmazott filmképző polimer mátrixtól függenek, a segédanyagok komoly hatást gyakorolhatnak a rendszerre. Ezek lehetnek pozitív hatások, melyek javítják a mechanikai, vagy fizikai-kémiai tulajdonságait a filmeknek, de hátrányosan is befolyásolhatják technológiai szempontból a formulát, ezért kiemelten fontos hatásuk vizsgálata.

Ph.D. munkám során hidroxipropil-cellulóz szabad filmeket állítottam elő és vizsgáltam őket, mint potenciális hatóanyag hordozó rendszer. A segédanyagok polimer mátrixra gyakorolt hatását behatóan tanulmányoztam és a filmek fizikai-kémiai tulajdonságait széles körben vizsgáltam. *In vitro* mukoadhéziós mérési metódus kidolgozásában, a berendezés és software optimalizálásában vettem részt és gyorsított stabilitási vizsgálatokat is végeztem.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Munkám során hidroxipropil cellulóz (HPC) első generációs mukoadhezív szabad filmeket vizsgáltam, mint potenciális hatóanyag hordozó endszerek.

1. Tudományos munkám első felében kiválasztottam a filmképző polimer típusát és a segédanyagokat, az összetételt és a filmek előállítását optimalítottam, hogy helyi és szisztémás terápiára potenciálisan alkalmas hatóanyag hordozó rendszert tudjak előállítani. Az alábbi fejlesztési lépéseket és analitikai vizsgálatokat végeztem el a korai karakterizáció és preformuláció során:
 - a. preformulációs vizsgálatok az összetétel optimalálására;
 - b. orális használatra alkalmas HPC rendszer fejlesztése;
 - c. a segédanyagok polimer mátrixra gyakorolt hatásának meghatározása és
 - d. a hatóanyag-segédanyagok-polimer mátrix kompatibilitásának, interakcióknak, inkorporált anyagok polimer mátrixba épülésének vizsgálata:
 - i. szakító szilárdság vizsgálat
 - ii. Pozitron Annihilációs Életidő Spektroszkópia (PALS)
 - iii. nedvesedési peremszög (CA) és felületi szabadenergia (SFE) mérése
 - iv. termoanalitikai vizsgálatok
2. Munkám második felében a HPC filmek karakterizálására és a segédanyagok polimer mátrixra gyakorolt markáns hatásainak vizsgálatára és leírására fókuszáltam. Az alábbi célokat tűztem ki:
 - a. A termikus bomlás és bomlástermékek meghatározása:
 - i. Termogarvimetrikus Analízis (TGA)
 - ii. Differenciális Páztázó Kaloriméter (DSC) és
 - iii. Tömeg spektrométerrel kapcsolt Termogravimetrikus Analízis (TG-MS)
 - b. A kristályosság/amorfosság meghatározása por Röntgen diffrakcióval (XRPD).
 - c. Gyengített teljes reflexiós Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia (ATR-FTIR) a lehetséges kötések detektálására és a segédanyagok beépülésének igazolására.
 - d. Gyorsított stabilitás vizsgálat és a vízfelvétel a polimer rendszerre gyakorolt hatásának vizsgálata az alábbi analitikai nagyműszerekkel: TGA, ATR-FTIR, XRPD és szakítószilárdság vizsgálattal.
 - e. Az *in vitro* mukoadhéziós protokoll kidolgozása és a berendezés, szoftver, mérési protokoll optimalizálása.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Anyagok

3.1.1. Hidroxipropil cellulóz mint filmképző polimer

Filmképző polimerként Klucel[®] MF és LF típusú HPC-t (Aqualon; Hercules Inc., Wilmington, U.S.A.) alkalmaztam. Az MF típusnak nagyobb a viszkozitása és a molekula tömege.

3.1.2. Modell hatóanyagok és a további segédanyagok

A preformulációhoz és korai karakterizáláshoz a lidokain bázist (Lid) (Ph. Eur., Società Italiana Medicinali Scandicci, Firenze, Olaszország) választottam modell hatóanyagként. Xilitet (Xyl) (Ph. Eur., Roquette, Lestrem, Franciaország) alkalmaztam íz javítóként, míg íz fedőként glicerint (Gyl) (Ph. Eur., Molar Chemicals Kft., Budapest, Magyarország) használtam.

Munkám második felében az alábbi hatóanyagokat inkorporáltam a polimer mátrixba: lidokain hidroklorid (Lid HCl) (Ph. Eur.), fenilefrin hidroklorid (Phe HCl) (Ph. Eur.) és loperamid hidroklorid (Lop HCl) (Ph. Eur.). Az *in vitro* mukoadhéziós vizsgálathoz sertés gyomor mucint használtam (Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Németország).

3.2. Módszerek

3.2.1. Szabad filmek előállítása

Desztillált vízben (Ph. Eur.) 2 m/m%-os oldatot készítettem mindkét típusú HPC-ből. A malomban őrölt (Retsch RM 100, Retsch GmbH, Haan, Németország) Lid 100-200 µm-es por frakcióját inkorporáltam az oldatba. A Gly-t elegyítettem, a Xyl-t, Lid HCl-t, Lop HCl-t és a Phe HCl-t feloldottam az oldatban.

A preformuláció és korai karakterizáció során a ható és segédanyagok a filmképző polimer 5, 10 vagy 15 m/m%-ban kerültek felhasználásra, míg az *in vitro* mucoadhéziós vizsgálathoz minden anyag a HPC 5 m/m%-ban volt alkalmazva.

A buborék mentesített oldatból öntéses technológiával állítottam elő a vizsgálati mintákat, melyek üveg (felületi tulajdonságok meghatározásához) vagy teflon (minden más vizsgálathoz) felületre lettek kiöntve és szobahőmérsékleten (25 °C/65% RH) száradtak egy napon át. A filmek vastagságát 0,001 mm-es pontossággal csavar mikrométerrel mértem meg (Mitutoyo, Kawasaki, Japán). Öt különböző pont átlagából határoztam meg az átlagos filmvastagságot (~ 30 µm). A tárgylemezre öntött minták is szobahőmérsékleten száradtak

egy napig (25 °C/65% RH) majd mérés előtt 24 óráig szárító szekrényben tároltam őket (40 °C/50% RH).

3.2.2. Preformulációs vizsgálatok

3.2.2.1. *Szakító szilárdság*

A berendezéssel a deformációs erő mérhető. A kör alakú tartó idom vízszintesen helyezkedik el, míg a szakító idom függőlegesen mozog. A mérési tartomány 0-200 N, a bélyegző sebessége 20 mm/perc, a mintavételezési fok 50 Hz, a kimenet 0-5 V, az érzékenység pedig $\pm 0,1$. Az érzékelő UNICELL erőmérő berendezést tartalmaz, amelyet a C9B 200 N cellával kalibráltunk. Minta típusonként 10 párhuzamos mérést végeztem.

3.2.2.2. *Nedvesedési peremszög meghatározása*

A méréseket cseppkontúr analizátorral végeztem (Dataphysics OCA20, Dataphysics Instruments GmbH, Filderstadt, Németország), szobahőmérsékleten (25 ° C).

3.2.3. Pozitron annihilációs élettíds spektrószkópia (PALS)

Az alkalmazott élettíds spektrométer BaF₂ alapú detektorokból és standard ORTEC elektronikából épül fel. A spektrumokat egy többcsatornás analizátor 4096 csatornájában gyűjtötte össze a spektrométer. Az idő/csatorna értéke ~10 ps és a rendszer időeltolódása ~210 ps. Pozitron forrásként kapron fóliák közé zárt hordozómentes ²²NaCl-ot használtunk. A forrás aktivitása ~5-105 Bq, és csak a pozitronok 5-8% -a semmisült meg a forrásban.

3.2.4. Thermoanalitikai vizsgálatok

Mettler-Toledo TG/DSC1 és DSC 821e műszereket (Mettler Toledo, Svájc) használtunk. A DSC mérések során az alkalmazott fűtési sebesség -40 °C és 300 °C között 10 °C/perc volt. Argon atmoszférát használunk nitrogén-szárítással. Alumínium serpenyőbe (40 µl) 10±1 mg mintát mértünk. A görbéket három párhuzamos mérésből a STARe szoftverrel értékeltük ki. A TGA és a DSC mérésekhez (MS-el kapcsolt TG/DSC1 műszer esetén) a felhasznált fűtési sebesség 10 °C/perc volt +25 °C és 400 °C között. Nitrogén atmoszférát alkalmaztunk és alumínium serpenyőbe (100 µl) 10±1 mg mintát mértünk. A görbéket három párhuzamos mérésből a STARe szoftverrel értékeltük ki.

A minta tömegveszteségének egy termogravimetriás analizátorral (Mettler Toledo, TG/DSC1 modell) határoztuk meg, amelyhez négyfázisú tömeg spektrométer (Pfeiffer Vacuum, ThermoStar™ GSD 320 modell) kapcsolódik, mely N₂ atmoszférával működik (tisztaság = 99,999%, 70 ml/perc áramlási sebesség mellett). A TG és a tömeg spektrométer közötti kapcsolatot szilícium-dioxid kapilláris biztosítja, 120 °C-on.

3.2.5. Segédanyagok és polimer mátrix közötti interakciók meghatározása; gyorsított stabilitás vizsgálat

3.2.5.1. *Gyorsított stabilitás vizsgálat*

A mintákat nyitott Petri csészékben 4 hétre klímaszekrénybe helyeztem (40 °C/75% RH).

3.2.5.2. *Gyengített teljes reflexiós Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia*

Az FTIR spektrumokat egy Bio-Rad Digilab Division FTS-65A/896 FTIR spektrométerrel vettük fel (Bio-Rad Digilab Division FTS-65A/869, Philadelphia, USA) 4000 és 400 cm^{-1} között, 128 szkenneléssel, 4 cm^{-1} -es optikai felbontásban. Működési mód: Harrick's Meridian SplitPea egy reflexiós, gyémánt feltéttel. A spektrumokat Spectragryph 1.0.2 (F. Menges Softwareentwicklung, Németország) szoftverrel értékeltük ki.

3.2.5.3. *Por Röntgen diffrakció*

XRPD méréseket egy Bruker D8 Advance típusú diffraktométerrel (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Németország) végeztük, Cu K λ I besugárzással ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$). A mintákat 40 kV-os és 40 mA-es szkenneléssel vizsgáltuk 3 foktól 40 fok 2Θ -ig, 0,1 fok/s sebességgel és 0,010 fokos léptékkel.

3.2.5.4. *Termogravimetrikus analízis*

A mérési paraméterek a 3.2.4. alpontban találhatóak.

3.2.5.5. *Szakító szilárdság*

A mérési paraméterek a 3.2.2.1. alpontban találhatóak.

3.2.6. In vitro mukoadhézió

3.2.6.1. *Berendezés*

A nyomást egy a kutató csoport által kifejlesztett digitális (DAQ) dobozhoz csatlakoztatott terheléscellával lehet mérni. Ez egy, a Silicon Laboratories C8051F124 típusú mikrokontrolleren alapul. A mérés során a DAQ doboz a megszerzett adatokat RS232 kapcsolaton keresztül továbbítja a szoftverhez. Mind a kezdő, mind a végpont manuálisan vezérlésen alapul. Az adhézión erő mérési algoritmus a következő műveleteket hajtja végre:

- A mérési folyamat kezdetén a nyomó idom lefelé mozog és a polimer filmre addig nyomja, amíg el nem éri az előre meghatározott nyomás értéket (statikus nyomás).
- A beállított időtartamig tartja a nyomást (statikus nyomás idő).

- Végül a nyomó idom felfelé mozog, amíg az operátor leállítja a mérési folyamatot (dinamikus nyomás).

A mérés előtt a szoftveren be kell állítani a statikus nyomás és annak időtartamát. A mérési tartomány 0-200 N, a nyomó idom sebessége 20 mm/perc és a kimenet 0-5 V. Az érzékelő egy Unicell erőmérő, melyet a C9B 200 N cellával kalibráltunk.

3.2.6.2. *Minta előállítás*

A filmeket szárító szekrényben (40 °C/50 RH%) tároltuk egy héten át.

3.2.6.3. *Az adhéziós erő mérése*

500 mg mucint szuszpendáltam 5 ml desztillált vízben és minden mérés előtt frissen vittem fel az alsó tartó idomra. A mérések szobahőmérsékleten (20±5 °C) történtek. A mérési rendszer a következőképpen épül fel, fentről lefelé haladva: rozsdamentes acél nyomóidom, kétoldalas ragasztó, film, mucin gél és alsó tartó idom. Minden egyes alkotórészt külön-külön, kettesével és együttesen is megmértem. Minden adhéziós mérés előtt a filmeket 45 másodpercig 50 N erővel nyomtam a felső idom segítségével, majd a motor megfordulva felfelé mozgatva az idomot elkezd mérti az adhéziós erőt. Minden mintatípus esetén minimum 10 párhuzamos mérést végeztem.

4. EREDMÉNYEK

I. HPC FILMEK OPTIMÁLÁSA ÉS KORAI KARAKTERIZÁCIÓ

Munkám első felében a polimer mátrix mechanikai és fizikai-kémiai tulajdonságait vizsgáltam, mely segítette a további lépések, vizsgálatok megtervezését is.

4.1. Szakító szilárdság

Xyl hatására az MF filmek szakítószilárdsága 2,5-3,5-szeres növekedést mutatott. Ez korrelál a PALS eredményekkel (4.3. alpont) mely feltételezi, hogy a Xyl képes hidrogénhid kötésekkel létesíteni a szomszédos polimer láncokkal, egy erősebb filmszerkezetet eredményezve. Gly alkalmazása esetén 2-2,5-szeres növekedés volt tapasztalható a segédanyag nélküli HPC filmekhez képest. A Gly elasztikusabbá teszi a filmeket, csökken azok törékenysége, ezáltal nő a szakítószilárdság. Amikor a két segédanyagot együttesen alkalmaztam, nyolcszoros szakítószilárdságbeli növekedés volt mérhető, ez technológiai szempontból egy nagyon kedvező hatása a két segédanyagnak. Klucel® MF filmek esetén az inkorporált Lid nem befolyásolta jelentősen a segédanyagok polimer mátrixra gyakorolt

hatását. A modell hatóanyag kombinálása a két segédanyaggal megfelelő szakítószilárdságot eredményezett.

Ezzel szemben Klucel[®] LF filmek esetén nem találtunk szignifikáns különbséget a mért szakítószilárdságokban, függetlenül az inkorporált segédanyag kombinációktól, vagy azok koncentrációjától. Egyedül az önmagában alkalmazott Lid hatására nőtt meg kismértékben a szakítószilárdság. Az eredmények tükrözik, hogy LF rövidebb polimer láncokkal rendelkezik, mint MF.

4.2. Nedvesedési peremszög vizsgálata (CA)

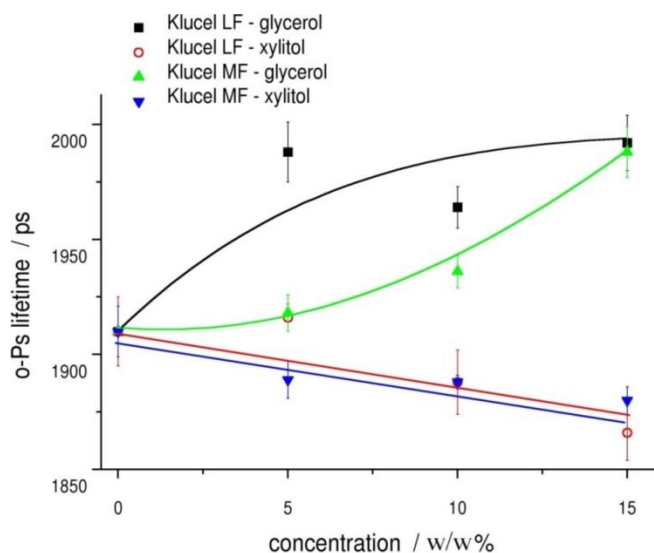
Mindkét típusú HPC esetén megmértem a filmek nedvesedési peremszögét (vízzel) és a felületi szabadenergiáját. MF esetén a vízre vonatkoztatott CA kis mértékben magasabb volt. Mindkét segédanyag 5 m/m%-ban történő alkalmazása során volt számottevően magasabb a CA, míg Lid 5 vagy 15 m/m%-ban való használata esetén a CA csökkent. Az SFE állandó volt, vagy kis mértékben nőtt; mindkét segédanyag 5 m/m%-os együttes használata esetén pedig csökkent. A vízre vonatkoztatott CA minden LF film esetén nőtt, átlagosan 7-10 fokkal. A CA számottevően nőtt, ha a Lid önmagában, vagy Xyl-tel 15 m/m%-ban volt kombinálva. A SFE állandó volt, vagy csak kismértékű csökkenést tapasztaltam LF filmek esetén. LF filmek esetén alacsonyabb CA és közel állandó SFE értékek voltak mérhetőek.

Mivel MF-nek hosszabbak a polimer láncai, az alkalmazott anyagok be tudnak lépni/épülni a láncok közti szabad üregekbe, így nincs komolyabb hatásuk a filmek felületi tulajdonságaira. Ezzel szemben LF-nek rövidebbek a polimer láncai és az inkorporált anyagoknak kevesebb helye van a láncok között, így az alkalmazott Gly és Xyl hatással volt a vízre vonatkoztatott CA értékekre. Az eredmények makroszkopikusan stabil film szerkezetre utalnak az állandó SFE pedig a jó bioadhéziót feltételezi.

4.3. Pozitron annihilációs életidő spektroszkópia (PALS)

Ez a technika nagyon fontos információkat szolgáltat a filmek szabad térfogatáról. Az eredményeket az *1. ábra* szemlélteti, ahol jól látható, hogy nincs számottevő különbség a Xyl-t tartalmazó kétféle Klucel[®] között. A Xyl koncentrációjának növekedésével a filmek szabad térfogata mindkét HPC típus esetén csökkent. Gly ezzel szemben ellentétes hatást gyakorolt a mintákra. A szabadtérfogat növekedett, de eltérően hatott a kétféle polimerre. LF filmek esetén a Gly gyorsabban fejtette ki a változásokat, mely a rövidebb polimer láncok miatt következett be. Azaz, a lágyító könnyebben tudta elmozdítani a szomszédos polimer láncokat, mint a nagyobb lánchosszúságú MF termék esetén. Végül, ugyanakkora szabad térfogat változást indukált a Gly mindkét HPC esetén.

Technológiai szempontból a legérdekesebb eredmény a két segédanyag ellentétes hatása a szabad térfogatra. Annak ellenére, hogy a két molekula nagyon hasonló szerkezetű, az egyik növeli, míg a másik csökkenti a filmek szabad térfogatát. Ez valószínűleg a molekulák méretbeli különbségével magyarázható. Mindkét molekula képes az eredeti hidrogénhid kötések felbontására, mely a szabadtérfogat növekedésben detektálható. Azonban, a Xyl vagy kitölti az üregeket, vagy képes hidrogénhid kötések létesíteni a szomszédos láncok között.

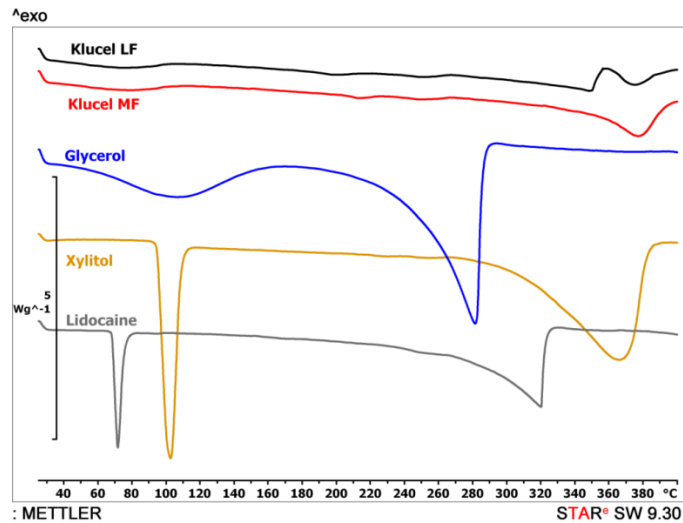


1. ábra Orto-pozitron életidő Klucel[®] filmekben. A vonalak a jobb érthetőséget segítik.

4.4. Termoanalitikai vizsgálatok

Az alkalmazott anyagok DSC görbéit a 2. ábra szemlélteti. Mindkét HPC esetén kismértékű alapvonal eltolódás észlelhető 40 és 100 °C között, mely a távozó vízzel magyarázható. Mindkét göbén 340 °C körül bomlás jelei észlelhetők. Gly esetén 50 és 150 °C között egy endoterm csúcs észlelhető, a magasabb víztartalom miatt, majd 200-300 °C között bomlás tapasztalható. Xyl esetén a kezdeti 92.2 °C-os érték után 95.6 °C-nál olvadáspont detektálható. Az entalpiaváltozás értéke 217.4 J g⁻¹. Xyl magasabb termikus stabilitással rendelkezik, mely az alapvonal változásból és a 280 °C-nál kezdődő, majd 380 °C-nál véget érő bomlásból látható (2. ábra). Lid olvadáspontja alacsonyabb, mely 67.2 °C-nál kezdődik és csúcsa 68.6 °C-nál detektálható. Az entalpiaváltozás: 59.1 J g⁻¹. Az alapvonal eltolódás kezdete 180 °C, a bomlási folyamat 200 °C-nál gyorsul fel és 330 °C-nál ér véget.

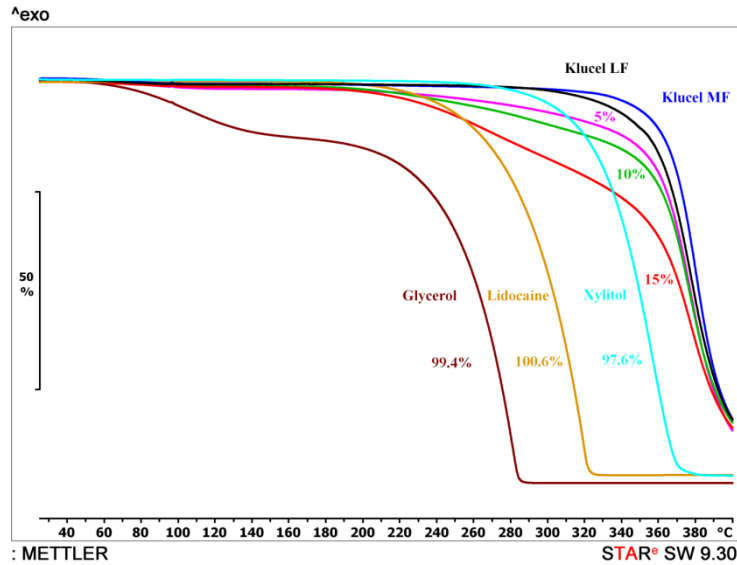
A TG eredményekből kitűnik (lásd 3. ábra), hogy mindkét HPC termikusan stabil, 100 °C-ig csak 1-1,5%-os tömegvesztés tapasztalható (a víz távozik a rendszerből), a bomlás kezdete 300 °C felett észlelhető és 400 °C-ig a tömegvesztés 85% Klucel[®] LF, míg 87% Klucel[®] MF esetén.



2. ábra Az alkalmazott Klucel[®] filmképző polimerek, modell hatóanyag és alkalmazott segédanyagok DSC görbéi.

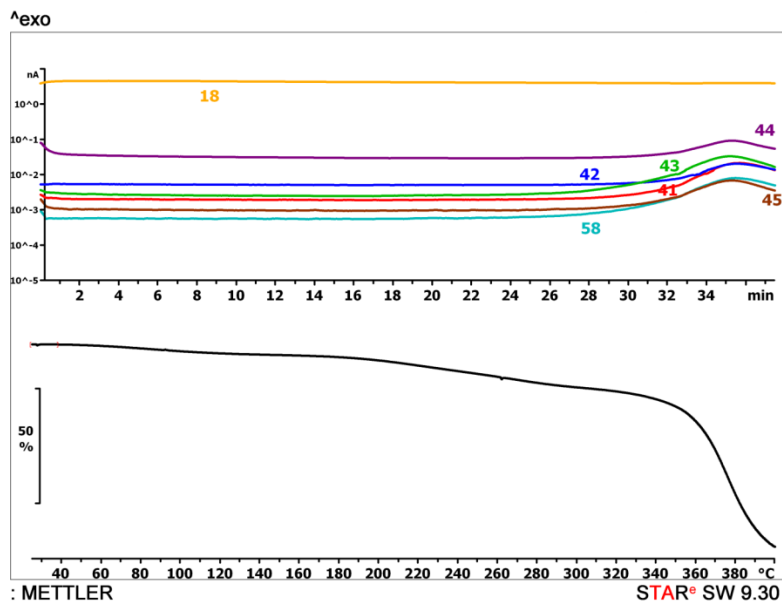
Klucel[®] LF-et választottam a korai karakterizációhoz. A TG eredmények azt mutatták, hogy a bomlási folyamat változik a segédanyagok koncentrációjának növekedésével, azonban 400 °C fölé melegítve a mintákat nem tapasztalható szignifikáns különbség a segédanyagokat nem tartalmazó filmekhez képest. 180-200 °C körül kezdődik a bomlási folyamat, ahol a TG görbék jobban szétnyílnak, ez pedig a segédanyagok beépülésére utal, melyek az eredeti szerkezet megváltozásával jár és ez a bomlás megváltozásában detektálható.

Lid tartalmú filmek TG görbéit tüntettük fel 3. ábrán. 5 és 10 m/m%-ban alkalmazva a Gly és Lid tömegcsökkenés változást okoz, mely a polimer mátrixban bekövetkező változásokra utal. A Lid hatását a polimer rendszerre szintén vizsgáltuk és az eredmények tükrében elmondható, hogy 5 és 10 m/m%-ban alkalmazva a filmek termikus stabilitása nem változik szignifikánsan, azonban 15 m/m%-ban inkorporálva a Lid gyorsabb bomlást indukál. Ez arra utal, hogy alacsonyabb koncentrációban beépül a polimer mátrixba, míg magasabb koncentrációban a film struktúrája változik és a termikus bomlás felgyorsul.



3. ábra Klucel[®] LF filmképző polimer és Lid, valamint Xyl és Gly tartalmú filmek, valamint az alapanyagok TG görbéi.

A 4. ábrán a Gly-t 15 m/m%-ban tartalmazó filmek TG-MS eredményeit mutatjuk be. Az ábrázolt bomlástermékek mennyisége az alábbi sorrendben csökken: $m/z = 44-43-42-41-58-45$.



4. ábra 15 m/m%-ban inkorporált Gly hatása Klucel[®] LF filmekre TG-MS görbékkel szemlélítve.

$m/z = 44$ értéke alapján megállapítható, hogy szén-dioxid képződik a legnagyobb arányban. $m/z = 43, 45$ ecetsav és/vagy izopropil alkohol képződésre utal, míg $m/z = 43, 58$ aceton képződést feltételez. Az preformulációs eredmények tükrében és a gyógyszer technológiai követelmények alapján, valamint a jó mechanikai tulajdonságok miatt Klucel[®] MF terméket

választottam filmképző polimernek. 5 m/m%-ban javasolt alkalmazni a modell hatóanyagot (Lid) és a két segédanyagot (Xyl és Gly) (a gyorsított stabilitás vizsgálat során a segédanyagokat 5-10-15 m/m%-ban is alkalmaztam, mert szerettem volna a polimer mátrixra gyakorolt hatásukat magasabb koncentrációban is megvizsgálni).

II. HPC SZABAD FILMEK KARAKTERIZÁLÁSA

Munkám második felében a rendszer karakterizálására fókuszáltam: segédanyagok beépülése, hatásuk a polimer mátrixra, HPC filmek stabilitása és *in vitro* mukodahéziós vizsgálatok.

4.5. A segédanyagok és polimer mátrix közötti kapcsolat, gyorsított stabilitás vizsgálat

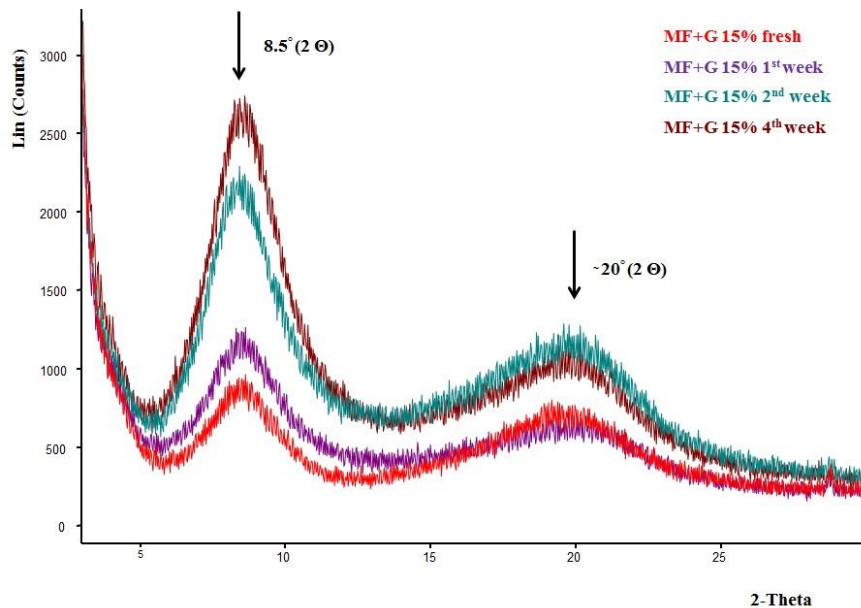
4.5.1. Gyengített teljes reflexiós Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia

Intermolekuláris hidrogénhid kötésekre utaló jeleket találtunk minden minta esetén. A 3200-3550 cm^{-1} közötti csúcsok arra utalnak, hogy a használt segédanyagok a polimer mátrixba beépültek és a HPC –OH csoportjaival hidrogénhid kötésekkel létesítettek. Xyl csak 5 m/m%-ban épült be teljes mértékben a HPC mátrixba, ezzel szemben Gly minden koncentrációban beépült. Az FTIR analízis kimutatta a Gly úgynevezett ‘szinergista’ hatását, vagyis, hogy segíti a Xyl beépülést a polimer mátrixba. 10 m/m%-ban alkalmazott Gly már elég a Xyl beépüléséhez. Mindkét segédanyag segítette a vízmegkötést. A gyógyszer technológiai szempontból a Xyl-t nem használják lágyítóként, azonban az eredmények arra utalnak, hogy a Xyl lágyítóként viselkedik a formulában. Ez a Xyl új alkalmazási területe a gyógyszer technológián belül, mely hasznos gyártási, és finanszírozási (gyártás és egészségügy) szempontból egyaránt. Továbbá, Gly és Xyl együttesen volt inkorporálva, alacsonyabb vízmegkötés volt tapasztalható. Ez megerősíti, hogy a két segédanyag együttes alkalmazásával egy stabilabb filmszerkezet érhető el és az úgynevezett ‘szinergista’ hatást is igazolja.

4.5.2. Por Röntgen diffrakció

Az eredmények tükrében megállapítható, hogy a Xyl beépült a HPC polimer mátrixba, mivel kristályosságra utaló jelet nem észleltünk. A tárolás alatti víz megkötést is detektáltunk – az 5. ábrán láthatóak a 15 m/m%-ban Gly filmek mintázatában bekövetkező változások – XRPD spektrumok alapján elmondható, hogy a Gly és/vagy Xyl tartalmú filmek is kötöttek meg vizet a gyorsított stabilitás vizsgálat során. Az XRPD spektrumok mintázatának alakjában és megásságában bekövetkező változások a kötött vizet jelzik. A vízfelvétel nem volt hatással a beépült Xyl-re, mert a rendszer amorf maradt, kristályosodásra utaló jel nem

volt észlelhető. A 15 m/m%-ban inkorporál Gly tartalmú filmek esetén a diffrakció növekedése 8,5 és 20 foknál (2Θ) a kötött vízre utal (jól látható az 5. ábrán).



5. ábra a vízfelvételt és migrációt szemlélteti Gly tartalmú HPC filmek XRPD spektrumán.

4.5.3. Termogravimetrikus analízis

Minden típusú mintában 60-100 °C között víz távozott a rendszerből. Az egyhetes filmek bomlása a leggyorsabb, egyhetes tárolás alatt a filmek nagyobb mennyiségű vizet kötöttek meg, mely a rendszerben vándorolt és jelentős hatást gyakorolt a fizikai bomlásra. Az feltételezhető, hogy két hét elteltével a felesleges víz elpárolgott a rendszerből, és lokális egyensúly alakult ki. A négyhetes 15 m/m%-ban Xyl-t és Gly-t tartalmazó filmek voltak a legstabilabbak. Ha Gly és Xyl együtt voltak inkorporálva, a rendszert stabilizálták.

4.5.4. Szakítószilárdság

Az erősen higroszkópos tulajdonsága miatt a 15 m/m%-ban Gly lágyított filmeket választottam szakítószilárdság vizsgálatra és hasonlítottam a kapott eredményeket az üres HPC filmek eredményéhez. Egyhetes tárolás után a filmek szakítószilárdsága 83%-kal csökkent. A polimer szerkezetét a víz-Gly lágyító duó letörte. Kéthetes tárolás után a felesleges vízmennyiség távozott a rendszerből, és négyhetes tárolás után a kezdeti szakítószilárdsághoz hasonló eredményeket mértünk. Egyhetes tárolás után a HPC filmek szakítószilárdsága kétszeresére nőtt, és nem csökkent, mint a Gly tartalmú filmeké. A megkötött víz H-kötéseket képezett a polimer láncok között és ez lágyító hatást okozott, melyet a szakítószilárdságbeli növekedés bizonyított.

4.6. *In vitro* mukoadhézió

Az adhézió mérési metódus magában foglalja a teljes deformációs folyamatot is. A görbék három szakaszra oszthatjuk. A nyomás során a kétoldalú ragasztó, a mucin és a film deformálódik: 1. szakasz. Az egyenes szakasz (2. szakasz) a 45 s-ig tartó 50 N-os nyomásra utal. 45 másodperc után a motor megfordul és elkezd húzni a filmet. Ezt a vertikális szak követi a 2 másodperces szünettel. A görbék végén lévő csúcs (3. szakasz) az adhéziós erő mértékét mutatja (43,5 N), és magában foglalja az elasztikus visszarugózását a kétoldalú ragasztónak, a mucinnak és a filmnek együttvéve. Végül az adhéziós erőt a ragasztó és a mucin adhéziós erejének kivonásával kapjuk meg: 18,1 N.

Az üres filmek rendelkeznek a legnagyobb adhéziós erővel (az üres filmek mozgékony hidroxipropil oldalláncai könnyen kapcsolódnak a mucin láncokhoz) szemben a segédanyag tartalmúakkal. Mindkét segédanyag, együtt és külön-külön is csökkenti az adhéziós erőt (lásd 1. táblázat).

1. táblázat *In vitro* mukoadhéziós erő

Minta	Adhéziós erő (N ± SD)	Eltérés az üres filmtől (N)	Eltérés az üres filmtől (%)
Üres film ¹	23,26 ± 6,21	—	—
Gly	12,43 ± 4,35	-10,83	-46,56
Xyl	8,58 ± 2,18	-14,68	-63,11
Gly+Xyl	15,28 ± 1,82	-7,98	-34,26
Phe HCl+Gly+Xyl	20,70 ± 6,00	-2,56	-11,01
Lid+Gly+Xyl	11,55 ± 4,50	-11,71	-50,34
Lid HCl+Gly+Xyl	34,57 ± 6,18	+11,31	+48,62
Lop HCl+Gly+Xyl	25,53 ± 6,88	+2,27	+9,76

¹Az üres film a ható és segédanyag nélküli HPC filmet jelenti.

A Xyl-nek volt a legerősebb hatása az adhézióra, több mint 60,0%-os változást mértem. A Gly szintén markáns hatást gyakorolt a mintákra. Mindkét segédanyag együttes alkalmazása esetén az adhéziós erő harmadával csökkent. A Xyl elfoglalta a polimer mátrixban lévő üregeket és kötéseket létesített a szomszédos polimer láncok között. Ezzel az adhéziós erő jelentősen lecsökkent, mivel a kötött láncok nem tudtak kapcsolódni a mucin láncokhoz. A kisebb Gly molekula több polimer láncot hagy szabadon, így azok mozgékonyaságukat megtartva kötődni tudnak a mucinhoz. Mindkét segédanyag együttes inkorporációja során a negatív hatás kisebb mértékű volt.

A Lid és a Phe-HCl csökkentette, míg a Lid HCl és a Lop HCl növelte az adhéziós erőt. A Phe HCl (kb. -10,0%) és a Lop HCl (kb. + 10,0%) hatása enyhébb volt Lid (kb. -50,0%) és a Lid HCl (kb. + 50,0%) hatásához képest. A Lid szuszpendálva, míg a HCl sók oldott

formában voltak jelen a filmekben és a sók valószínűleg homogéneen oszlottak el a mátrixban ezáltal nagyobb adhéziós erőt indukáltak. Ez eredmények értelmében elmondhatjuk, hogy az adhéziós erő az adott formula összetételétől és nem elsősorban a filmképző polimertől függ.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

A mukoadhezív filmek innovatív hatóanyag hordozó rendszerek, melyek alkalmasak mind lokális, mind szisztémás hatás elérésére. Nagyon fontos az adott rendszer alapos vizsgálata és megismerése.

A preformulációs vizsgálatok és a korai karakterizáció során az alábbi megállapítások tehetők:

- A szakítószilárdság eredmények arra utalnak, hogy a Xyl hidrogénhid kötésekkel létesít a polimerrel és a két segédanyag együttes alkalmazása eredményezte a legerősebb filmet.
- CA eredmények értelmében kimondható, hogy makroszkopikusan stabilak a filmek és az SFE eredmények jó bioadhézióra utalnak.
- PALS eredmények arra utalnak, hogy a Xyl hidrogénhid kötésekkel létesít a polimerrel és a Gly növeli, míg a Xyl csökkenti a HPC filmek szabad térfogatát.
- A termikus eredmények arra utalnak, hogy a segédanyagok alacsonyabb koncentrációban beépülnek a rendszerbe. Széndioxid, ecetsav és/vagy izopropil alkohol képződik a bomlás során (TG-MS). A vizsgált filmek termikusan stabilak, 100°C alatt csak vízvesztés detektálható.

A gyorsított stabilitás vizsgálat során és a segédanyagok beépülésének vizsgálata során az alábbi fő megállapításokat tehetjük:

- FTIR bebizonyította, hogy mindkét segédanyag hidrogénhid kötésekkel beépül a polimer mátrixba. Kiemelte a Gly és Xyl úgynevezett 'szinergista' hatását. A Xyl potenciális lágyító hatással rendelkezik, mely új felhasználási területe a gyógyszertechnológiában.
- XRPD is megerősítette a segédanyagok beépülését, a rendszer amorf maradt. A víz felvétel és migráció bizonyítást nyert a spektrum mintázat magasság és alakváltozásával.
- TGA megerősítette a kötött víz jelenlétét.
- A szakítószilárdság kiemelte a víz lágyító hatását és Gly-vel együttes túllágyítást.

Az *in vitro* mukoadhezív teszt bizonyította, hogy a berendezés és az új szoftver alkalmas mukoadhezív filmek deformációjának és adhéziójának meghatározására. Az eredmények

tükrében elmondható, hogy a mukoadhezív filmek karakterizálása megvalósítható. Az eredmények lehetővé teszik az optimális film összetétel meghatározását.

Az alábbiakban foglalható össze munkám újdonságértéke:

- PALS kimutatta, hogy a Gly növeli, míg a Xyl csökkenti a HPC filmek szabad térfogatát a polimer láncok elmozdítása révén.
- A szakítószilárdság vizsgálatok és az FTIR rávilágított a Gly és Xyl együttes alkalmazásának úgynevezett ‘szinergista’ hatására. A két segédanyagot együttesen tartalmazó filmek rendelkeznek a legjobb mechanikai, fizikai-kémiai tulajdonságokkal és stabilitással.
- Xyl-et a gyógyszertechnológiában tradicionálisan nem alkalmazzák lágyítóként, azonban az eredmények tükrében elmondható, hogy a Xyl rendelkezik lágyító hatással is. Az FTIR kiemelte ezt az új felhasználási területét a Xyl-nek, mely nemcsak technológiai szempontból (gyártás), hanem költséghatékonysági szempontból is előnyös.
- Az új *in vitro* adhéziós mérési protokoll, a kifejlesztett berendezés és szoftver lehetővé teszi szabad filmek deformációs vizsgálatát és adhézió meghatározását.

A Ph.D tézishez kapcsolódó cikkek

- I. András Kelemen, **Mihály Gottnek**, Géza Regdon jr, Klára Pintye-Hódi: New equipment for measurement of the force of adhesion of mucoadhesive films *J Adhes Sci Technol* 29:(13) pp. 1360-1367. (2015)
IF: 0.863 Citations: Independent: - Dependent: 1 Total: 1
- II. **Mihály Gottnek**, Klára Pintye-Hódi, Géza Regdon jr: Tracking of the behaviour of lidocaine base containing hydroxypropylcellulose free films with thermoanalytical method *J Therm Anal Calorim* 120: pp. 201-208. (2015)
IF: 1.781
- III. **Mihály Gottnek**, Károly Süvegh, Klára Pintye-Hódi, Géza Regdon jr: Effects of excipients on the tensile strength, surface properties and free volume of Klucel free films of pharmaceutical importance *Radiat Phys Chem* 89: pp. 57-63. (2013)
IF: 1.189 Citations: Independent: 3 Dependent: 2 Total: 5
- IV. **Gottnek Mihály**, Hódi Klára, ifj Regdon Géza: Szájnyálkahártyán alkalmazható mukoadhezív filmek.: I. rész: A szájnyálkahártya és a nyál anatómiai, élettani áttekintése *Gyógyszerészet* 57:(1) pp. 24-31. (2013)
IF: – Citations: Independent: - Dependent: 2 Total: 2
- V. **Gottnek Mihály**, Hódi Klára, ifj Regdon Géza: Szájnyálkahártyán alkalmazható mukoadhezív filmek.: II. rész: A mukoadhézió mechanizmusa, a mucin funkciói, penetráció a szájnyálkahártyán keresztül, a nyálkahártya barrier funkciója *Gyógyszerészet* 57:(2) pp. 69-75. (2013)
IF: – Citations: Independent: - Dependent: 2 Total: 2
- VI. **Gottnek Mihály**, Hódi Klára, ifj Regdon Géza: Szájnyálkahártyán alkalmazható mukoadhezív filmek.: III. rész: Bukkális mukoadhezív filmek esetén alkalmazott polimerek és segédanyagok *Gyógyszerészet* 57:(5) pp. 274-282. (2013)
IF: – Citations: Independent: - Dependent: 1 Total: 1
- VII. **Gottnek Mihály**, Hódi Klára, ifj Regdon Géza: Szájnyálkahártyán alkalmazható mukoadhezív filmek.: IV. rész: Bukkális mukoadhezív filmekben alkalmazott hatóanyagok. Mukoadhezív filmek előállítása és vizsgálata *Gyógyszerészet* 57:(6) pp. 323-329. (2013)
IF: –

- VIII.** **Mihály Gottnek**, András Kelemen, Klára Pintye-Hódi, Géza Regdon jr.: Effects of drug substances and excipients on the adhesive force of mucoadhesive buccal films (kézirat küldés előtt)

ABSZTRAKTOK

- I.** András Kelemen, **Mihály Gottnek**, Klára Pintye-Hódi, Géza Regdon jr: Dynamic adhesion force method for measuring the adhesion of mucoadhesive films In: Kasza Gy (szerk.) International Conference on Bio-Friendly Polymers and Polymer Additives: From Scientific Aspects to Processing and Applications: Program and Book of Abstracts. Budapest, Hungary, 2014.05.19-2014.05.21. Budapest: Palatinus Print Kft., 2014. p. 61.
- II.** András Kelemen, **Mihály Gottnek**, Géza Regdon jr, Klára Pintye-Hódi: Dynamic adhesion force measurement of mucoadhesive films In: 9th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology. Lisboa, Portugal, 2014.03.31-2014.04.03.p. TH141.
- III.** Kelemen András, **Gottnek Mihály**, ifj Regdon Géza, Hódi Klára: Dinamikus erőmérés mukoadhezív filmek vizsgálata során *Gyógyszerészet* 58:(S1) pp. 114-115. (2014)
- IV.** **Mihály Gottnek**, Gabriella Farkas, Tamás Sovány, Ottó Berkesi, Klára Pintye-Hódi, Géza Regdon Jr.: Accelerated stability tests and effects of excipients on the structure of hydroxypropylcellulose free films. *Eur J Pharm Sci* 50:(S1) Paper PP043. (2013)
- V.** **Gottnek Mihály**, Farkas Gabriella, Sovány Tamás, Hódi Klára, ifj Regdon Géza: Mukoadhezív szabad filmek fizikai-kémiai és stabilitás vizsgálata. XVIII. Országos Gyógyszertechnológiai Konferencia és IX. Gyógyszer az Ezredfordulón Konferencia, Előadáskivonatok (EA-10) 20 (2012) (2012)
- VI.** **Mihály Gottnek**, Károly Süvegh, Klára Pintye-Hódi, Géza Regdon jr: Formulation and physico-chemical description of bioadhesive films adhering to the oral mucosa In: 8th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology. Istanbul, Turkey, 2012.03.19-2012.03.22. Paper P29.
- VII.** **Mihály Gottnek**, Károly Süvegh, Klára Pintye-Hódi, Géza Regdon jr: Formulation and physico-chemical description of bioadhesive films containing lidocaine-hydrochloride In: International Conference on Bio-Based Polymers and Composites 2012. Siófok, Hungary, 2012.05.27-2012.05.31.p. 44.