

Gyógyszerhatóanyagok kezelése impulzuslézeres ablációval gáz környezetben

Doktori (PhD) értekezés

Gera Tamás Bence

Témavezető:

Prof. Dr. Hopp Béla

egyetemi tanár

Fizika Doktori Iskola

Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék

Szegedi Tudományegyetem

Természettudományi és Informatikai Kar



Szeged

2021

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK ÉS JELÖLÉSEK	5
1. BEVEZETÉS	7
2.1 Gyógyszerhatóanyagok részecskeméretének csökkentési módszerei	9
2.1.1 Őrlési technikák	10
2.1.2 Nagynyomású homogenizáló eljárások	13
2.1.3 Kombinált technológiák és eredményeik	14
2.2 Impulzuslézeres anyagmegmunkálási alkalmazások.....	15
2.2.1 Impulzuslézeres abláció, PLA	15
2.2.2 Impulzuslézeres rétegleválasztás, PLD	17
2.3 Nanorészecskék és nanokompozitok előállítása lézeres besugárzással.....	18
2.4 Amorfizáció lézeres besugárzással	21
2.5 Nanorészecskék és kompozitok gyógyászati alkalmazásainak lehetőségei	23
3. CÉLKITŰZÉSEK	27
4. VIZSGÁLT ANYAGOK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK	29
4.1 Vizsgált anyagok	29
4.1.1 Ibuprofén.....	29
4.1.2 Nifluminsav.....	30
4.1.3 Meloxikám	31
4.1.4 Magnetit	31
4.2 Vizsgálati módszerek.....	33
4.2.1 Spektroszkópiai vizsgálatok (FTIR, Raman).....	33
4.2.2 Differenciális pásztázó kalorimetria (DSC).....	35
4.2.3 Részecskék méreteloszlásának vizsgálata (SMPS, OPC).....	35
4.2.4 Pásztázó elektronmikroszkópia (SEM) és energiadiszperzív röntgen spektroszkópia (EDX).....	37
4.2.5 Gyorsfényképezés pumpa-próba módszerrel	38

4.2.6 Ellipszometria	40
5. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK	41
5.1. Nem-szteroid alapú gyulladás csökkentő (NSAID) gyógyszerhatóanyagok részecskeméret csökkentése impulzuslézeres ablációval (PLA)	41
5.1.1 A tiszta hatóanyag tartalmú tabletták lézeres besugárzása	41
5.1.2 A keltett részecskék kémiai összetételének vizsgálata	42
5.1.3 Részecskék méreteloszlásának vizsgálata.....	45
5.1.4 Összefoglalás	48
5.2 A lézerrel aprított hatóanyag-részecskék kialakulási mechanizmusának meghatározása az ablációs folyamatok vizsgálata alapján.....	49
5.2.1 Ellipszometriai mérések és hőmérséklet kalkuláció	49
5.2.2 Gyorsfényképezés és nyomáskalkuláció.....	51
5.2.3 Az ablációs gödrök morfológiai vizsgálata.....	53
5.2.4 Következtetések	54
5.2.5 Összefoglalás	56
5.3 Amorf és kevert fázisú ibuprofén vékonyréteg előállítása impulzuslézeres rétegleválasztással (PLD)	57
5.3.1 Ibuprofén tabletták PLD-je vákuumkörnyezetben különböző impulzusidejű lézernyalábokkal	57
5.3.2 A létrehozott vékonyréteg spektroszkópai vizsgálata.....	58
5.3.3 Az elkészített rétegek kristályossági állapotának vizsgálata	63
5.3.4 Diskusszió	65
5.3.5 Összefoglalás és konklúzió	67
5.4 Mágneses gyógyszer-nanokompozit részecskék előállítása PLA módszerrel.....	69
5.4.1 A nanokompozitok létrehozása impulzuslézeres besugárzással	69
5.4.2 A keltett többkomponensű részecskék spektroszkópai vizsgálata	69
5.4.3 A részecskék méreteloszlásának és morfológiájának vizsgálata	72
5.4.4 Kísérletek és vizsgálatok a keltett részecskékkel külső mágneses tér jelenlétében. 73	

5.4.5 Diszkusszió	77
5.4.6 Összefoglalás	80
5.5 PLA módszerrel, gáz környezetben előállított csökkentett méretű NSAID hatóanyagok oldékonyságának, oldódási sebességének és citotoxicitásának vizsgálata	82
5.5.1 Oldódási vizsgálatok.....	82
5.5.2 A citotoxicitás vizsgálata	84
5.5.3 Összefoglalás	86
6. ÖSSZEFOGLALÁS	88
6.1 Tézispontok	88
6.2 Kiegészítő pont a tézisekhez.....	91
7. SUMMARY	93
7.1 Thesis points	93
7.2 Additional point for thesis	95
8. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK LISTÁJA	97
8.1. A tézispontokhoz kapcsolódó referált nemzetközi szakfolyóiratokban megjelent tudományos cikkek listája	97
8.2 Nemzetközi szakfolyóiratokban megjelent további publikációk listája	97
8.3 Konferencia előadások és posztterek.....	97
IRODALOMJEGYZÉK.....	99

RÖVIDÍTÉSEK ÉS JELÖLÉSEK

ArF –argon-fluorid

CCD - *Charge-coupled Device*: Töltés-csatolt eszköz (kamera)

DDG – *Digital Delay Generator*: Digitális késleltető generátor

EDX - *Energy Dispersive X-ray Spectroscopy*: Energiadisziperzív röntgenspektroszkópia

FTIR – *Fourier-transform infrared spectroscopy*: Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia

IBU – ibuprofén

IL-6 – interleukin-6

IR – *Infrared*: infravörös

KBr – kálium-bromid

KrF – kripton-fluorid

LPS – lipopoliszacharid

MAPLE - *Matrix Assisted Pulsed Laser Evaporation*: Mátrix alapú impulzuslézeres rétegépítés

MEL – meloxicám

Nd:YAG – neodímiummal szennyezett ittrium-alumínium-gránát

NIF – nifluminsav

NIR – *Near-infrared*: közeli infra-tartomány

NSAID – *NonSteroidal Anti-Inflammatory Drugs*: Nem-szteroid gyulladáscsökkentő szerek

OPC – *Optical Particle Counter*: Optikai részecskeszámláló

PLA – *Pulsed Laser Ablation*: impulzuslézeres abláció

PLD – *Pulsed Laser Deposition*: impulzuslézeres rétegleválasztás

Raman – *Raman Spectroscopy*: Raman spektroszkópia

SEM – *Scanning Electron Microscope*: pásztázó elektronmikroszkóp

SMPS – *Scanning Mobility Particle Sizer*: Pásztázó mozgékonyág szerinti részecskeszeparátor

UV – *Ultraviolet*: ultraibolya

WHO – *World Health Organization*: Egészségügyi Világszervezet

1. BEVEZETÉS

Az elmúlt évtizedekben és napjainkban, a gyógyszerhatóanyag kutatások egyik legnépszerűbb területe a már meglévő hatóanyagok kritikus tulajdonságainak fejlesztése. A modern gyógyszer technológiai fejlesztések két fő célja a jól bevált hatóanyagok biológiai hasznosíthatóságának maximalizálása, valamint a káros mellékhatások és a toxicitás csökkentése az alap hatásmechanizmusok megváltoztatása nélkül. Emellett a hatások maximalizálásának érdekében igény mutatkozik olyan új gyógyszerformulák kifejlesztésére, melyek célzottan, térben és időben is jól meghatározottan alkalmazhatóak az emberi szervezet különböző szegmensein. A gyógyszerek biológiai hasznosíthatósága definíció szerint, a dózisnak az a hányada, amely a szisztémás keringésbe eljut. Erre legnagyobb hatással a gyógyszerhatóanyagok oldhatósági tulajdonságai és az oldódási képességük van. A gyógyszerek szervezeten belüli útjának leglassabb folyamata a felszívódás, amely az oldódási tulajdonságok fejlesztésével és új alternatív beviteli módok létrehozásával (mint például dermális, pulmonális bevitel) nagyságrendekkel gyorsítható. Ezért e tulajdonság fejlesztése a gyógyszer technológia egyik legfontosabb feladata és számos különböző módszert dolgoztak ki a javítására. A teljesség igénye nélkül, ilyen például a só képzés, a különböző diszperziós eljárások, a nanoszuszpenzió, az amorfizáció és a részecskeméret csökkentés. E módszerek közül a legígéretesebbek a részecskeméret csökkentés és az amorfizáció, melyek jelentősen növelhetik a gyógyszerek hatékonyságát. A fejleszteni kívánt hatóanyagok leggyakrabban a nem-szteroid alapú gyulladáscsökkentő szerek (Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug, NSAID) közül kerülnek ki. Ezek többsége vízben igen nehezen oldható szokásos, kereskedelemben kapható formájában. A gyógyszerhatóanyagok irányított felszívódását innovatív nanotechnológiai megoldásokkal érik el, melyekben olyan nanokompozit részecskéket állítanak elő, amelyek valamilyen új, bejuttatási szempontból előnyös (mágneses vagy egyéb) tulajdonságokra tesznek szert. A nanokompozit részecskék magját képzik rengeteg modern orvosdiagnosztikai és terápiás alkalmazásnak és napjaink kutatásaiban is kiemelt figyelmet szentelnek nekik. Az alkalmazások során a leggyakrabban használt mágneses nanorészecske a magnetit (Fe_3O_4), magas biokompatibilitása és szuperparamágneses tulajdonsága miatt. A mágneses nanorészecskék és nanokompozitok alkalmazhatósága nagyban függ a részecskék méretétől, alakjától és felületi tulajdonságaitól.[1,2]

Szervetlen anyagok és egyszerűbb polimerek esetén a lézerek alkalmazásával történő amorfizálás és részecskeméret csökkentés már bevett eljárásnak számít. Impulzuslézeres abláció (Pulsed Laser Ablation, PLA) segítségével egészen a nanométeres tartományig is

képesek vagyunk csökkenteni bizonyos anyagok részecskéinek átmérőjét. Továbbá az elmúlt években PLA alkalmazásával már sikeresen állítottak elő szervesen nanokompozit részecskéket. Ugyanezen a jelenségen alapuló impulzuslézeres leválasztással (Pulsed Laser Deposition, PLD) pedig lehetőségünk adódik olyan vékonyrétegeket előállítani, melyek bizonyos fizikai tulajdonságai hangolhatók a kísérleti paraméterek helyes megválasztásával, így akár amorf fázisú rétegek létrehozása is megvalósítható. A lézereket napjainkban már igen széleskörűen használják az anyagmegmunkálásban, amely az egyik legnépszerűbb és legjobb hatékonyságú eljárásnak számít. A lézerfény megfelelően alkalmazva, egy igen megbízható, kopás- és érintésmentes (steril) „szerszámnak” tekinthető, amellyel az átlagos megmunkálási módszereknél nagyságrendekkel gazdaságosabb és magasabb minőségű termékek állíthatók elő. Ez szintén igaz a szerves és orvosi anyagok megmunkálásánál is, ahol legnagyobb előnyét egyértelműen steril tulajdonsága szolgáltatja.

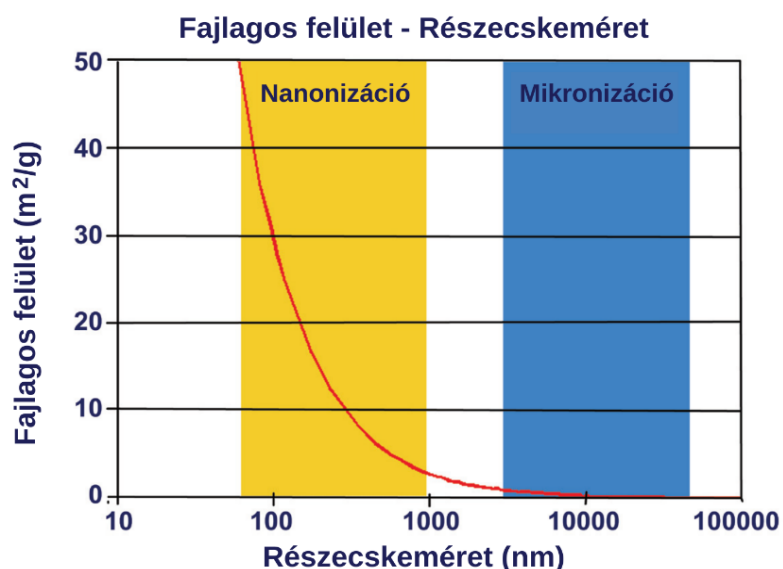
Disszertációmban gázközegben végzett impulzuslézeres gyógyszer technológiai alkalmazásokat ismertetek. A dolgozat első részében összefoglalom a gyógyszerhatóanyagok részecskeméret csökkentésének egyes módszereit, az alkalmazott kísérleti technikák elméleti hátterét és alkalmazási lehetőségeit. Továbbá bemutatom az általam vizsgált anyagokat és az alkalmazott vizsgálati módszereket. Dolgozatom második felében demonstrálom, hogy gáz környezetben, PLA módszer segítségével sikeresen hoztam létre nano- és szubmikrométer nagyságú részecskéket kereskedelemben kapható NSAID gyógyszerhatóanyagokból. Spektroszkópiai módszerekkel bebizonyítom, hogy az általam előállított részecskék kémiaiilag megegyeznek a kiindulási hatóanyagokkal látható és infravörös lézernyalábok alkalmazása esetén. Részletesen kifejtem az ablációs folyamatok vizsgálatát, melyeket a keltett részecskék kialakulási mechanizmusának meghatározása érdekében tettem. Ismertetem, hogy PLD alkalmazásával, nanoszekundumos UV lézerimpulzusokkal és a kísérleti paraméterek helyes megválasztásával előállíthatók kevert fázisú és tisztán amorf ibuprofén vékonyrétegek. Az általam létrehozott vékonyrétegek kémiai összetételét és kristályossági állapotát spektroszkópiai, morfológiai és termodinamikai mérésekkel elemzem. Végezetül megmutatom, hogy elsőként alkalmaztam impulzuslézeres ablációt mágneses, aktív hatóanyag-tartalmú nanokompozitok előállítására. Itt a már említett anyagvizsgálati módszerek segítségével igazolom a kiindulási anyagokkal való kémiai egyezést, valamint meghatározom a keltett kompozit részecskék mérettartományát (100-150 nm). Külső mágneses tér alkalmazásával bebizonyítom, hogy a különböző anyagi minőségű, kezdetben szeparált kiindulási anyagok valóban összekapcsolódnak a lézeres abláció során. Dolgozatom záró részében pedig összefoglalom az elért tudományos eredményeimet.

2. TUDOMÁNYOS ELŐZMÉNYEK

E fejezet célja, hogy átfogó képet adjon a gyógyszertechnológiában használt részecskeméret csökkentő eljárásokról olyan mélységben, hogy ésszerű összehasonlíthatósági alapot adjon az általam alkalmazott technikákkal. További célom egy rövid elméleti összefoglaló megadása, mely segíti azon módszerek megértését, melyekre dolgozatomat építem.

2.1 Gyógyszerhatóanyagok részecskeméretének csökkentési módszerei

A gyógyszerhatóanyagok oldódási képességei igen erős összefüggésben vannak a részecskék méretével. A részecskeméret csökkenésével a fajlagos felület jelentősen megnő, főként a mikrométer alatti tartományokban (1. ábra), amely az oldószer molekuláinak eredményesebb kölcsönhatást biztosít. Az oldódási sebesség egyenesen arányos a kölcsönható felülettel és fordítottan arányos a diffúziós távolsággal, ez a diffúziós hossz pedig fordítottan arányos a térfogat négyzetgyökével. Ezáltal a méretcsökkentés révén több nagyságrendbeli növekedést lehet elérni a hatóanyagok e tulajdonságában. A méretcsökkenés emellett közvetlen növeli az oldhatóság telítési határát egyrészt az anyag gőznyomásának megemelkedésén keresztül, másrészt a részecskék felszínén amorf és kristályos fázisú átmenet jön létre a nagy energiájú méretcsökkenést célzó folyamatok alatt. Az amorf fázisú anyagok oldhatósági telítési határa pedig magasabb a kristályos változatuknál. [3,4] A hatóanyagok részecskeméret redukálásának további ígéretes alkalmazási területe az új alternatív beviteli módok kialakításának lehetősége (pl. pulmonális vagy dermális bevitel).



1. ábra: Fajlagos felület növekedése a részecskeméret csökkenésével.[5]

A részecskeméret csökkentés módszerei két fő csoportba sorolhatók, melyeknek két találó gyűjtőnevet is adtak az irodalomban: a „fentről le” és a „lentől fel” módszerek. Az első csoportba tartoznak a különböző aprítási módszerek, amikor az anyag nagyobb egységeinek felbontásával érik el a méretcsökkenést. A második esetben a finom port feloldott molekuláris állapotából, kristályosodási folyamatok során építik fel különböző oldószerek és kristályosodást elősegítő anyagok segítségével. Ez utóbbi leggyakoribb esete az oldat fagyasztva vagy porlasztva történő szárítása kontrollált kristályosodás mellett. Bizonyos eljárásokkal amorf fázisú hatóanyag létrehozása is lehetséges. Valamint léteznek modern kombinált módszerek is, melyek további ígéretes eredményekkel szolgáltak. Dolgozatomban csak az első eset azon különböző típusait mutatom be részletesen, melyeket a gyógyszertechnológiában előszeretettel használnak és elméleti megközelítésben közelebb állnak az általam alkalmazott módszerekhez. Az általam létrehozott formulák méreteinek összehasonlíthatósága érdekében a többi alkalmazás eredményeit is ismertetem a későbbiekben.[3,6]

2.1.1 Örlési technikák

A konvencionális örlési eljárások két nagy csoportra oszthatók attól függően, hogy milyen közegben végezzük azokat. A gáz közegben alkalmazott örlési technikákat száraz, a folyékony közegben végzetteket pedig nedves örlésnek nevezi az irodalom. Mindkét esetben a részecskék egymás közötti és fallal való kölcsönhatásai okozzák a részecskék méretének csökkentését. Ezek során olyan mechanikai hatások érik az anyagot, mint a törés, kopás, valamint a vágó- és nyíróerők, melyek kézenfekvően az anyag felaprózásához járulnak hozzá. Aprításnál a részecskék térfogati deformáción esnek át, új felületeket alakulnak ki, majd az anyag szerkezeti hibáinál elválnak egymástól. Az aprítást általában különböző geometriájú örlőmalmok segítségével valósítják meg. A végtermékek tulajdonságai számos tényezőtől függenek. Általánosságban elmondható, hogy fontos paraméternek számít az aprítani kívánt anyag sűrűsége, mely közvetlen kapcsolatban áll az ütközések számával, valamint a malom előtolási sebessége és az örlési idő is. Ezen kívül szerepet játszik még az örlőmalmok belső felületének nagysága, a részecskék morfológiai tulajdonságai, valamint az aprítani kívánt anyag keménysége és törési ellenállása. Ez utóbbiak nagysága kapcsolatban áll a malmokban alkalmazott vagy létrejött hőmérséklettel is. A végtermékek mérete mindig rendelkezik egy viszonylag széles eloszlással, melyek általában lognormál, bizonyos esetekben multimodális

eloszlást mutatnak. Ezért gyakori, hogy az őrlőmalmokban méretszűrőket alkalmaznak, a kívánt mérettartomány eléréséhez. Az őrlési technikák előnye, hogy segítségükkel egyszerre nagy mennyiségű hatóanyag aprítható, relatíve egyszerűek és nem igényelnek kiegészítő speciális anyagokat vagy eljárásokat. Hátrányuk, hogy a berendezések telepítési költségei viszonylag nagyok, a végtermék részecskéinek alakja nem állítható tetszőlegesen, valamint nem minden hatóanyag alkalmas arra, hogy őrlési módszerekkel kezeljék mechanikai- és hőérzékenyséjük miatt.[3,7]

A szárazőrlési eljárások rendkívül széles palettával rendelkeznek, és többnyire az őrlő malmok geometriája alapján csoportosítják őket (vágómalom, hengermalom, golyósmalom, bolygómalom stb.). Mindegyik rendelkezik néhány általánosan jellemző hátránnyal. Az egyik ezek közül a részecskék utólagos agglomerációjának lehetősége, melyek akadályozhatják az aktív hatóanyagtartalom oldódását.[8] Az őrlőmalmok mozgó egységei által keletkezett súrlódási hőmérséklet gyakran akár 40-80 C°-ot is elérhet, mely számos gyógyszerhatóanyag esetében meghaladhatja a degradációs hőmérsékletüket. A felmerülő problémák különböző gázáramoltatási és hűtési technikákkal kiküszöbölhetők ugyan, ám ezek növelik az őrlés energiaigényét, időtartamát és így a költségeit is. Ilyen eljárásoknál az anyag mechanikai keménysége (pl. Mohs-féle keménységi skála) és az elérhető legkisebb részecskeméret között igen jelentős a korreláció. Az alsó mérethatár továbbá függ az őrlés mechanizmusától és az őrlésbe fektetett energia nagyságától is.[9] A teljesség igénye nélkül néhány lényeges, jó eredménnyel szolgáló szárazőrlési eljárást kívánok ismertetni.

A bolygómalom őrlő a nagy energiájú őrlési technikák közé tartozik, melyben az őrlő tartály egyszerre forog egy külső- és a saját tengelye körül. Innen is kapta a „bolygó” előtagot. Az őrlést a malomban fellépő centrifugális- és Coriolis-erők hatására létrejövő ütközések végzik.[9] Népszerűek még a különböző gázsugaras őrlési technikák vagy ún. sugármalmok, ahol a részecske-részecske ütközések számát nagy sebességű gáz áramoltatásával növelik meg, ezáltal finomabb port kaphatunk végeredményül. A gázsugár egy másik hasznos tulajdonsága, hogy gátolja a részecskék agglomerációját is. A sugár nyomása és sebessége közvetlen hatással van a végtermékek méretére. Megfelelő sugárirányítás révén elérhető, hogy túlsúlyba kerüljenek a szemcsék egymással való ütközései a tartállyal való ütközésekkel szemben, valamint az őrlési minőség javulásában a Magnus-effektus is szerepet játszik. Bizonyos elrendezésekben a gázáramokat méretszűrőként is alkalmazhatjuk, melyben a sugár sebességével hangolhatjuk az elszállítani kívánt részecskék méretének nagyságát.[10,11] A tisztán szárazőrlést megvalósító elrendezések közül említésre méltó még az ún. csapos-malom, amely az összes hasonló módszer közül a legkisebb átlagos

részecskeméretet képes produkálni. Ebben az elrendezésben a fő elemeket egy forgó és egy álló lemez, vagy két egymással ellentétes irányban forgó lemez alkotja, melyeken kiálló, szoros átfedésben illesztett csapok helyezkednek el. Az aprítandó anyagot az álló lemez közepén juttatják a malomba, melyek a forgás következtében ütköznek egymással és a lemezek csapjaival. Az aprított részecskék végül a centrifugális erők hatására elhagyják a tartályt. A lemezek egymáshoz viszonyított forgási sebessége itt is kritikus tényező az ütközések számát és így a végtermék méretét illetően. A száraz őrléses alkalmazások közül a legkifinomultabb módszerek is - anyagtól függően - csupán 1 μm -nél nagyobb (mikronizálás) méretű részecskéket képesek elérni. Bizonyos gyógyszerhatóanyagok akár robbanékonyak is lehetnek az őrlés során. Ilyen esetben további védelmi intézkedések megtétele szükséges, mint például az őrlési mechanizmus sebességének korlátozása vagy inert gázközeg biztosítása az őrlési térben.[3,7]

A nedves őrlési eljárások egyaránt alkalmasak nanonizálásra és mikronizálásra is. E módszerek elrendezéseinek nagy része nem sokban különbözik a száraz módszerekétől. A gázáramot nem alkalmazó módszerek szinte mindegyike alkalmas nedves őrlés elvégzésére is. Ilyenkor az aprítandó szilárd részecskék valamilyen folyékony anyagba merülnek és végtermékként valamilyen gyógyszer nanoszuszpenziót kapunk. Az aprításban ekkor a folyadékban jelentkező nyíróerők is részt vesznek. Az egyik legnagyobb előnyük a száraz módszerekkel szemben, hogy működési hőmérsékletük nagyon jól kontrollálható, ezáltal a hőérzékeny anyagok könnyebben kezelhetővé válnak. Általános problémaként lép fel, hogy a legkisebb részecskék könnyen feloldódhatnak a folyékony közegben, valamint hogy a részecskék mérete az Ostwald-érés révén növekedhet.[12] E jelenségnél a korábban feloldódott kisebb részecskék molekulái hozzákapcsolódnak a nem feloldódott részecskékhez, ezáltal növelik azok méreteit. Nedves őrléseknél problémát okozhat a berendezésekben használt tömítések és tömítő olajok minősége és élettartama. Ezek szennyezhetik, vagy rosszabb esetben reagálhatnak az őrlést segítő folyadékkal vagy aktív hatóanyaggal, így ezek helyes megválasztása kritikus lehet a végtermék szempontjából. Az aprításnál fontos paraméter a folyadék áramlási sebessége, valamint az őrlési idő. Gyakori, hogy a legkisebb lehetséges részecskeméret elérése akár több órás őrlést is igénybe vesz. A szuszpenziós végtermékeket fogyasztás előtt legtöbbször visszaalakítják valamilyen szilárd állapotba (tabletta vagy kapszula formájában) granulátumok létrehozásával, fagyasztással vagy porlasztva szárítással. A gyógyszertechnológiában két közkeletű eljárás a forgó-nedves őrlés, valamint őrlőgyöngyök nedves közegben történő alkalmazása. Ezeken kívül jelentős szerepet játszik még a kriogén őrlés is bizonyos speciális anyagok esetében. A forgó-nedves őrlés a

csapos-malomhoz hasonlóan egy forgó és egy álló elem segítségével valósul meg. Az itt elérhető legkisebb részecskeméret a mikrométeres tartományba esik.[13] Őrlőgyöngyök használata esetén a folyadékba nagy sűrűségű ($3 - 7 \text{ kg/m}^3$) és relatíve kis méretű (0,1-10 mm) részecskéket helyeznek, melyek sokféle anyagból készülhetnek (üveg-, kerámia-, fémgyöngyök). Az aprítási mechanizmusok itt sem különböznek a korábban bemutatott módszerektől. A gyöngyök alkalmazása több nagyságrendben növeli az ütközések és az ütközési felületek nagyságát. A végtermék méretének szempontjából fontos paraméter a gyöngyök alakja és geometriai tulajdonságai. Legoptimálisabb a gömb alakú gyöngyök használata, valamint célszerű 6 mm-nél kisebb átmérőjűeket alkalmazni, melyek segítségével már mikrométer alatti átmérőjű részecskék is létrehozhatók. E módszer egyik hátránya, hogy a gyöngyök az őrlőmalom kijáratánál összegyűlhetnek és eltömíthetik azt, mely csökkenti az aprítás hatékonyságát, valamint nem kívánatos magas hőmérsékletek keletkezését is okozhatja az őrlési térben. További veszélyt jelenthet, hogy a gyöngyök kopása következtében szennyeződhet a szuszpenzió a gyöngyök anyagával. A nanométeres végtermékek érdekében speciális felületaktív anyagokat is alkalmaznak, hogy elkerüljék az Oswald-érést, amely tovább bonyolítja az eljárást. Ezeket az anyagokat a későbbiekben szükséges eltávolítani a végfelhasználás érdekében.[3,14]

Kriogén őrlésnek két különböző módszert is neveznek az irodalomban. A „krio” előtag a nagyon alacsony hőmérsékletre utal és főleg gázok cseppfolyósításánál használják. Az egyik módszerben kriogén folyadékba merítik az aprítani kívánt részecskéket, a másikban kriogén őrlőgyöngyöket alkalmaznak. Mindkettő egyértelmű előnye, hogy megakadályozza az őrlőmalom túlmelegedését és túlhűtött állapotba hozhatja az aprítandó részecskéket, melyek ezáltal ridegebbé, törékenyebbé válnak. Ilyen módszereket főként hőérzékeny anyagok esetén alkalmaznak, hiszen igen költséges és körülményes eljárásnak számít.[3,7]

2.1.2 Nagynyomású homogenizáló eljárások

Ezen eljárások közös tulajdonsága, hogy a részecskék méreteit folyékony közegben, magas nyomás alkalmazásával csökkentik. Itt is minden esetben szükség van felületaktív anyagok használatára. A méretcsökkenést a homogenizáló berendezés áramlási tereiben kialakuló magas nyíróerő, turbulencia és kavitáció végzi. Két típusát különböztetjük meg: a dugattyús homogenizálót és a mikrofluidizációt (vagy másnéven sugaras homogenizálót). A dugattyús homogenizálók diszpergáló közege a desztillált víz, ahol a méretcsökkentést főként a kavitáció végzi. A kezdeti szuszpenzió egy viszonylag széles tartályban helyezkedik el,

majd egy dugattyú nagyon keskeny résein keresztül áramoltatják át magas külső nyomást alkalmazva. Az áramlási tér átmérőjének nagymértékű csökkenése igen nagy sebességeket és jelentős nyomáscsökkenést idéz elő a folyadékban. Amint a nyomás a víz gőznyomása alá csökken, a víz elkezd forrni és intenzív gázbuborék termelés indul meg, amely akusztikus lökéshullámokat vált ki (kavitáció). A lökéshullámok hullámfrontjában hatalmas nyomások alakulnak ki, melyek a szuszpenzióban lévő szilárd részecskék aprítását végzik. Gyakran több ciklus elvégzése és megfelelő nagyságú homogenizáló nyomás szükséges a kontrollált méretcsökkenés elvégzéséhez. Természetesen a gyógyszerhatóanyag és a felületaktív anyagok keménysége itt is fontos szerepet játszik a végtermékek minőségében. A külső/homogenizáló nyomás növekedésével a részecskeméret folyamatosan csökken, ám körülbelül 4000 bar nyomásnál egy telítés figyelhető meg és a részecskék átmérői már nem csökkennek tovább. Ugyanez mondható el a homogenizáló ciklusok számáról, amelynél általában ötnél több ciklus már nem javít a méreteloszlás modulusának értékén. Azonban további ciklusokat beiktatva az eloszlás szélessége szűkíthető, így javítható a szuszpenzió méretbeli homogenitása. Ezzel az eljárással a nagyobb keménységű hatóanyagok esetén már 500-800 nm átmérőjű részecskéket tudtak létrehozni. Mikrofluidizáció során a méretcsökkentést nagy sebességű folyadéksugarakban fellépő erők segítségével végzik. A folyamatban egy elő-homogenizált folyadékot magas nyomással áramoltatnak keresztül egy speciális kamrán, melyben a folyadékot szétválasztják és két szűk keresztmetszetű csőben keringetik nagy sebességgel. Az aprítási mechanizmust főként a folyadékban fellépő nyíróerők és a részecskék egymással történő ütközései adják. A módszer hátránya, hogy a dugattyús technikához képest nagyobb részecskék állíthatók elő, valamint igen időigényes lehet (akár 75 ciklus is szükséges).[3,15]

2.1.3 Kombinált technológiák és eredményeik

E fejezetben felsorolt módszereknek meglehetősen sok kombinációja létezik és folyamatosan zajlanak a kutatások az újabb és eredményesebb módszerek kidolgozása érdekében. Komolyabb elméleti bemutatás nélkül néhány ígéretes technológiát szeretnék megemlíteni, amelyek napjainkban élen járnak a részecskeméret csökkentésben. A végtermékek minősége természetesen hatóanyag függő, ezért csak az általam később vizsgált gyógyszerhatóanyagok esetén végzett aprítások eredményeit ismertetem.

Az ún. NANOEDGE technológiában, a feloldott hatóanyag mikrokicsapódásai következtében keletkezett kristályosodott részecskéket vetik alá magas nyomású homogenizálásnak. E

módszer alkalmazásával 702 nm átmérőjű ibuprofén, és 212 nm átmérőjű meloxicám részecskéket tudtak előállítani. A H42 elnevezésű módszer során az aktív hatóanyag tartalmú oldat porlasztva szárítása után végzik el a homogenizálást. A NANOEDGE technológia továbbfejlesztett változata a H69 nevű eljárás alatt pedig a kristályosodás a homogenizáló kamrában történik és szinte azonnal elkezdik a keletkezett részecskék aprítását. H42 nevezetű eljárással 636 nm-es, H69-es technológiával pedig 170 nm átmérőjű ibuprofén részecskéket hoztak létre. Érdekes eredményként szolgált (tekintve a folyamat egyszerűbb mivoltát), hogy megfelelő folyadékok és felületaktív anyagok kiválasztásával nedves őrlésű bolygómalom módszert alkalmazva (NanoCrystal technológia) már 123 nm részecske-átmérőjű ibuprofént állítottak elő. Valamint a nedves őrlésű bolygómalom és őrlőgyöngyök kombinációjával 90 perces őrlési idővel 116 nm átmérőjű meloxicám részecskéket is publikáltak.[7,16,17] Nifluminsav hatóanyag részecskéinek csökkentésében pedig 500 nm-es mérettartományt értek el a Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerésztudományi Karának kutatói.[18] Ezen túlmenően számos olyan alkalmazást valósítottak meg, melyekben különböző hordozó anyagokhoz kapcsolnak aktív gyógyszerhatóanyagokat és ezeket a kompozit anyagokat a már leírt eljárások alá vetik. Így készítenek kisebb, de többkomponensű nanorészecskéket, ám ezek tárgyalása messze túlmutat dolgozatom terjedelmi lehetőségein.[19]

2.2 Impulzslézeres anyagmegmunkálási alkalmazások

Az anyagmegmunkálás számos területén meglehetősen régóta használnak lézernyalábokat. Ezek közül két széleskörűen alkalmazott eljárás az impulzslézeres abláció (Pulsed Laser Ablation, PLA), és az impulzslézeres rétegleválasztás (Pulsed Laser Deposition, PLD). Dolgozatomban mindkét eljárás központi szerepet játszik a gyógyszerhatóanyagokkal végzett kísérleteimben. A lézernyalábok egyedülálló tulajdonsága, hogy alkalmazásukkal nagyon kicsiny térfogatba igen nagy energiákat lehet becsatolni (lokális behatás), ezáltal új lehetőségeket nyitott meg az anyagmegmunkálás különböző szegmenseiben. A különböző paraméterekkel rendelkező lézernyalábok sokrétű alkalmazási lehetőségeket biztosítanak és ma már számtalan anyagmegmunkálási eljárásban játszanak fontos szerepet.

2.2.1 Impulzslézeres abláció, PLA

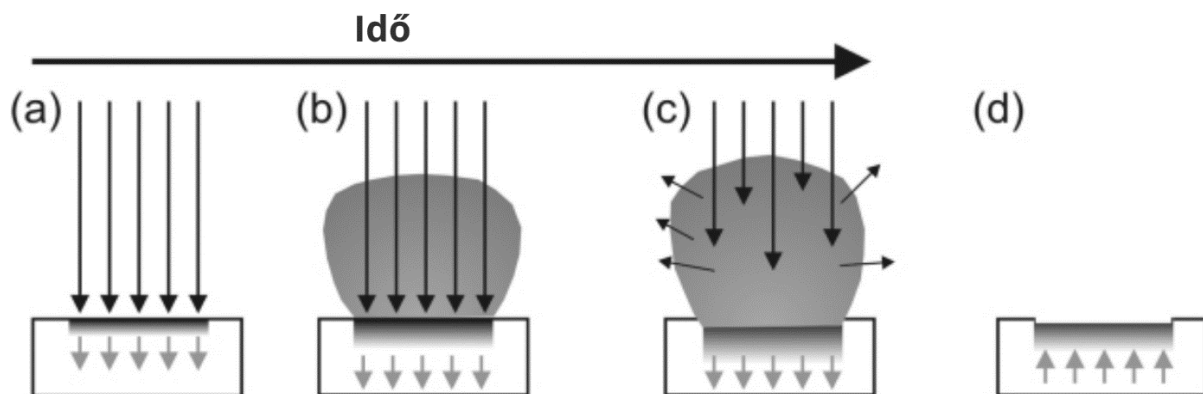
Szerves anyagok lézeres ablációját először excimer lézeres besugárzásnál figyelték meg az 1980-as évek elején, és ez rögtön kutatások ezreit indította útjára. A folyamat

elrendezésében viszonylag egyszerű, ám meglehetősen komplex fizikai folyamatok mentén jön létre. Lényege, hogy nagy energiájú impulzusokban érkező lézernyalábokat optikai lencse segítségével egy céltárgy felületére fókuszáljuk, ahol mikro-robbanások keletkeznek, aminek következtében anyag távozik el a felületről. A robbanás során magas hőmérsékletű plazma is keletkezhet (a lézernyaláb energiasűrűségének függvényében), és a felület normálisának irányában egy nagy energiájú lökeshullám indul ki. A robbanás helyén (összefüggő szilárd anyagok esetében) egy sima és éles peremű kráter keletkezik. Az abláció végeredménye függ az anyag optikai, termodinamikai, topológiai és bizonyos esetekben mechanikai tulajdonságaitól. Továbbá nagy szerepet játszanak az alkalmazott lézernyaláb paraméterei, mint például a hullámhossz, impulzusidő, energiasűrűség és térbeli modus-szerkezet.

Az abláció eléréséhez elengedhetetlen, hogy a céltárgy az adott lézernyaláb hullámhosszán megfelelő optikai abszorpcióval rendelkezzen ahhoz, hogy kellő mennyiségű energiát nyelhessen el a robbanásszerű anyageltávozás létrejöttéhez. Az abláció kialakulásához szükséges, hogy a nyaláb energiasűrűsége meghaladjon egy határértéket, melyet ablációs küszöbnek (F_{th}) nevezünk. Kezdetben az elnyelt energia az anyag elektronjait és rezgési nivóit gerjesztve igen rövid idő alatt, nagyon magas hőmérsékleteket hoz létre, így a besugárzott térfogatban az anyag gyors fázisátalakulásokon megy keresztül. Ez jelentős mechanikai hatásoknak teszi ki (lökeshullámok formájában) a céltárgyat (2. ábra (a)). A besugárzott térfogatban lévő anyag felforr és elhagyja a céltárgy felületét (2. ábra (b)). Az anyageltávozás piko-szekundumos időskálán kezdődik meg. Ha a lézernyalábunk ennél hosszabb impulzus idővel rendelkezik, akkor további fotokémiai mechanizmusok is életbe lépnek, ugyanis a nyalábban később érkező fotonok elnyelődnek az eltávozó anyagfelhőben tovább fűtve azt, amely plazma állapot létrehozásához vezet (2. ábra (c)). Ezért a távozó anyagfelhő összetétele nagymértékben függ a lézernyaláb energiasűrűségétől, impulzusának hosszától, valamint a céltárgy optikai és termikus tulajdonságaitól. Ezek függvényében ez tartalmazhat ionokat, atomokat, molekulákat vagy akár nano-, mikrométer nagyságú részecskéket is. Utolsó lépésként a visszamaradt kráter olvadt részei a gyors lehűlés következtében megdermednek és bizonyos esetekben egy vékony amorf réteget képeznek, amely az ablált felület simaságát okozza (2. ábra (d)).[20]

A lézeres abláció sikerességét mutatja, hogy igen széleskörű alkalmazási területei jelentek meg az elmúlt évtizedekben, mint például az iparban a speciális anyagok gravírozása. Legnagyobb előnye, hogy akár nanométeres pontosságú megmunkálást is lehetővé tesz, amely szinte egyedi tulajdonságnak számít az anyagmegmunkálási módszerek között.[21] A PLA a nanorészecskék és nanokompozitok keltésének is egyik közkedvelt módszere,

melyekkel később részletesebben is foglalkozom. Egy másik eredményes alkalmazási terület az excimer lézer használata a műalkotások felületének tisztítása és restaurálása érdekében, mellyel akár szobrokra fűjt graffitik eltávolítása is lehetségessé vált. Továbbá számtalan modern orvosi kezelés alapjául szolgál a lézeres ablációs mechanizmus. Ilyen például a látáskorrekciós szemműtét, rákos sejtek kezelése, vese- és epekő eltávolítás, valamint csontszövetek formálása is.[22]



2. ábra: Az impulzslézeres besugárzás fázisai. (a) A lézernyaláb kezdeti elnyelése, az anyag megolvadása. (b) A gáz fázisú anyag távozása a felületről. (c) Hosszabb impulzusok esetén az anyagfelhő és a lézernyaláb kölcsönhatása révén létrejött plazmaképződés. (d) Kialakult kráter gyors lehűlése.[20]

2.2.2 Impulzslézeres rétegleválasztás, PLD

Az impulzslézeres rétegleválasztás (PLD) gyakorlatilag a PLA módszer egy továbbfejlesztett változata, ám alkalmazási lehetőségeit tekintve merőben különbözik és minden esetben vékonyréteg építésre használják. A lézerrel megmunkálható anyagok palettája igen széles és ez számos hasznos alkalmazás kifejlesztésének adott teret.

A PLD módszer lényege, hogy a céltárgyat egy kamrába helyezik és a lézeres abláció korábban leírt folyamatainak segítségével annak anyagát gőzfázisba juttatják. A céltárggyal szemben egy szubsztrátot helyeznek, és erre fogják fel a céltárgyat elhagyó részecskéket. Ezáltal az impulzusszám változtatásával tetszőleges vastagságú vékonyréteg állítható elő. A PLD kamrában a legtöbb esetben vákuumot hoznak létre, hogy fokozzák a hatékonyságot, ugyanis ekkor az olvadt anyag azonnal gőz fázisba jut és a részecskék közepes szabad úthossza nagyságrendekkel megnő. Azonban gyakori az is, hogy a kamrában háttérgázokat alkalmaznak normál vagy relatíve alacsony nyomáson, hogy elkerüljék vagy elősegítsék bizonyos reakciók létrejöttét. Arra is lehetőség adódik, hogy a háttérgáz és a kicsapódott anyagfelhő kölcsönhatása következtében a gázatomok beépüljenek az elkészített

vékonyrétegbe. A céltárgy anyagának függvényében sokféle hullámhosszúságú impulzuslézerrel végeznek PLD-t, azonban a legkedveltebbek az ultraibolya (UV) tartományban sugárzó excimer lézerek (ArF $\lambda=193$ nm, KrF $\lambda=248$ nm) vagy a Nd:YAG szilárd test lézer harmadik felharmonikusa ($\lambda=355$ nm). Az UV tartományban működő impulzus lézerek nagy fotonenergiával rendelkeznek és általában rövid (\sim ns) impulzusuk és nagy impulzusenergiájuk van, így nagy teljesítménysűrűségeket érhetünk el velük. Továbbá az anyagok többségének optikai abszorpciója ebben a tartományban magas, így hatékonyabb abláció valósítható meg a segítségükkel. A céltárgyat legtöbbször egy forgatható mintatartóra helyezik, hogy a lézernyaláb folyamatosan friss felületeket érjen, ami szintén fontos tényező a jó minőségű vékonyrétegek elkészítésében.[23,24]

A PLD előnye a többi vékonyrétegépítő technikával szemben, hogy a különféle hullámhosszúságú lézerek segítségével szinte tetszőlegesen választott anyagból készíthetünk vékonyrétegeket, valamint a rétegépítési folyamat nagyon precízen kontrollálható. Ennélfogva a PLD-vel készített vékonyrétegek alkalmazási lehetőségei legalább olyan szélesek, mint a lézeres abláció különböző alkalmazásai. Kezdetben főként szervetlen anyagokból készült vékonyrétegek építésére használták, de már a korai időszakokban is sikeresen alkalmazták bonyolultabb és törékenyebb szerkezetű polimerekkel. A lézerfény anyagmegmunkálásban előnyös tulajdonságainak (pl. sterilitás) és néhány innovatív elrendezésnek köszönhetően (pl. Matrix Assisted Pulsed Laser Evaporation, MAPLE) azonban kémiaiag sértetlen és alap funkcióit megőrző szerves anyagokból álló vékonyrétegek létrehozására is alkalmas, egészen komplex molekulák esetén is (DNS, fehérjék, enzimek). Ezért a módszert előszeretettel használják az orvosbiológia területén, ahol biokompatibilis bevonatok mellett manapság a sejt- és szövetnyomtatás területén is ígéretes eredményeket értek el.[25]

2.3 Nanorészecskék és nanokompozitok előállítása lézeres besugárzással

Napjainkban a nanométeres részecskékkel végzett kutatások kiemelkedő figyelmet kapnak. Ez a mérettartomány azért kiemelten fontos és érdekes, mivel itt az atomok és molekulák kisszámú csoportokat alkotnak, átmenetet képezve az atomi és a makroszkopikus világ között. Így az anyagok fizikai tulajdonságaiban is kedvező változásokat tudunk előidézni, ami új kutatások százainak adott alapot. Ezen tulajdonságok megváltozása leginkább a megnövekedett felület-térfogat aránynak köszönhető. Nanométeres nagyságú részecskék és nanokompozitok előállítására már viszonylag régóta használnak lézernyalábokat. Ehhez főként az előző részben részletezett PLA (és PLD) módszert

alkalmazzák, azonban igen gyakori ugyanennek a módszernek a folyékony közegben történő alkalmazása (Pulsed Laser Ablation in Liquid, PLAL) is.

A nanorészecskék keletkezésénél két mechanizmust lehet elkülöníteni a PLA módszer során, attól függően, hogy a céltárgynak milyen szerkezeti tulajdonságai vannak. Tömbi anyagok esetén a nanorészecskék közvetlenül a besugárzott térfogatban kialakuló folyamatokból származnak és főleg fototermális hatások következményei. Az igen magas (10^3 - 10^6 K) kialakuló hőmérsékletek hatására az anyagok kristályszerkezete felbomlik, és mint korábban említésre került, sokféle állapotú és méretű részecske keletkezik, majd hagyja el a besugárzott térfogatot. A minta felszínén és belsejében kialakuló hőmérsékleteket a módosított Beer-Lambert törvénnyel határozhatjuk meg:

$$\Delta T(x) = \frac{\alpha * F}{\rho * c} * e^{-\alpha x}, \quad (1)$$

ahol α az anyag optikai abszorpciós együtthatója, F az alkalmazott lézernyaláb energiasűrűsége, ρ az anyag sűrűsége, c a fajhő, x a behatolási hossz és ΔT a kialakult hőmérsékletváltozás. Az anyag abszorpciójától függően ilyen optikai hőközlés révén igen nagy hőmérsékletek is kialakulhatnak a felszínen ($\Delta T > 10^3$ K), azonban minél nagyobb az abszorpciós együttható, annál kevésbé hatol be a lézernyaláb az adott céltárgyba. Ez a kialakult magas, lokális hőmérséklet okozza a mikro-robbanások létrejöttét. A direkt optikai fűtésen kívül természetesen a hővezetést is figyelembe kell venni. A robbanás alatt az ionok és atomok megfelelő közegben (egy szubsztrát felületén, gázban vagy vízben) kondenzációs és egyéb nukleációs folyamatokon (mint pl. az Ostwald-érés) mennek keresztül, melyek következtében nanométeres nagyságú részecskéket képeznek. E folyamat leginkább a plazmafelhőben megy végbe, ahol a kialakult részecskék összetételét - a korábban említett paramétereken kívül - nagymértékben meghatározza az abláció közege, valamint annak kémiai és fizikai tulajdonságai (nyomás, reagens vagy inert közeg). Ekkor a nanorészecskék kialakulása jobban hasonlít a gyógyszer technológiában használt kontrollált kristályosodást alkalmazó technikákra.[26] Porózus és bonyolultabb szerves anyagoknál a csökkentett méretű és kémiailag érintetlen részecskéknek egy másik forrását is figyelembe kell venni. Az abláció következményeképpen jelentős fotomechanikai effektusok is létrejönnek. Ezek a hatásokat a bekövetkező robbanások során keletkezett és a céltárgy felszínére visszaható erők hozzák létre, melyek az impulzus-megmaradás elvéből adódóan arányosak a céltárgy felszínét elhagyó anyag impulzusával.[27] Ez az effektus a céltárgy belsejében lévő anyag mechanikai felaprítását és kilökődését okozza. Nagyságát közelítőleg úgy tudjuk meghatározni, hogy

kiszámoljuk a lökeshullám frontjában kialakult nyomást egy nullához közeli időpontban (például a lézer impulzushosszának megfelelő időpillanatban). Ekkor feltételezhetjük, hogy a felületre eső visszaható nyomás nagyságrendileg megegyezik ezzel az értékkel. Ezt a nyomásértéket a lökeshullám sebességének és a közeg fizikai tulajdonságának ismeretében meg tudjuk határozni:

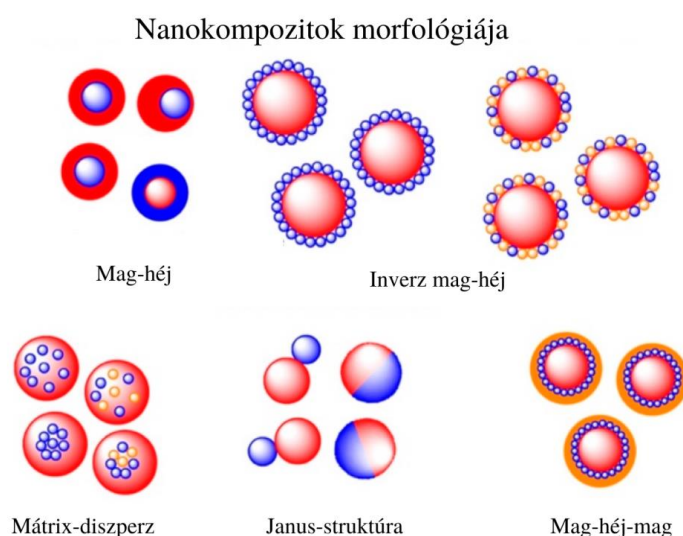
$$P = \frac{2}{\gamma + 1} * \rho * v^2, \quad (2)$$

ahol P a lökeshullám hullámfrontjában kialakult nyomás, ρ a közeg sűrűsége, v a hullámfront sebessége és γ az anyag állandó nyomáson és állandó térfogaton vett fajhő hányadosa. Természetesen a két eset kombinációja is létrejöhet a kísérleti paraméterek függvényében.[28–30]

Ezek a megállapítások nanokompozitok létrehozásakor is érvényben maradnak. Ilyen többféle atomból vagy molekulából álló nanorészecskék lézeres keltésénél kétféle esetet különíthetünk el. Egyik eset, amikor egy egykomponensű céltárgyon végzünk ablációt és a kompozit másik tagja az abláció közegében helyezkedik el gáz vagy oldat formájában. Második eset, amikor a céltárgyunk eleve több anyagi komponensből áll és az abláció során ezek az anyagok egyesülnek. Mindkét esetnek számtalan alfaja lehetséges és kettőnél több komponens esetén ezek kombinációjára is lehetőség nyílik. A módszer megválasztása nagyban függ attól, hogy milyen összetételű nanokompozit részecskéket kívánunk létrehozni (szervetlen-szervetlen, szerves-szervetlen, stb.). A kompozitok előnye, hogy lehetőség adódik az egyes komponensek előnyös fizikai tulajdonságainak ötvözésére, valamint az is gyakori, hogy a két komponens szinergiát alkot és teljesen új tulajdonságot vesz fel. A nanokompozitok különböző morfológiával rendelkezhetnek, mely elősegítheti vagy akár gátolhatja is az alkalmazási lehetőségeiket. Ilyen például a mag-héj szerkezet, amikor a kompozit egyik tagja gömbhéj-szerűen körbefogja a magot, a Janus-struktúra, ahol a két részecske egymáshoz illeszkedik, vagy a mátrix-diszperz elrendezés, ahol egy anyag egyszerre több típusú nanorészecskét foglal közre (2. ábra).[31–33]

A keltett nanométeres részecskéknek anyagi minőségtől és összetételtől függően számtalan új, ígéretes és hatékony alkalmazása létezik. Kiemelkedő szerepük van az elektronikában, az iparban, valamint a modern orvos- és gyógyszer tudományban egyaránt. Az energiatárolással kapcsolatos kutatásokban például előkelő szerepük van a mag-héj elrendezésű nanorészecskéknek. Így olyan nanométeres kapacitásokat tudnak tervezni, melynek magjában valamilyen kerámia helyezkedik el, melyet fémből álló gömbhéj vesz

körbe. Igen gyakori a szerves héjjal és szerves maggal rendelkező nanokompozitok alkalmazása, amellyel védelmet nyújthatnak az esetleges oxidáció ellen vagy akár biokompatibilissé tehetik a szerves anyagokat, miközben megtartják előnyös tulajdonságaikat. Igen jelentősek az orvosi diagnosztikai és terápiás alkalmazásaik, melyekről e fejezet végén részletesebben is szót ejtek. A nanorészecskéket és kompozitokat ezen kívül felhasználják az információtárolásban, a génmódosításban és rengeteg fejlett optikai és elektro-optikai eszközben.[34,35]



3. ábra: Nanokompozitok lehetséges morfológiai struktúrái.[36]

2.4 Amorfizáció lézeres besugárással

Az amorf fázis a szilárd halmazállapot egy olyan speciális fajtáját jelenti, melyben az anyag részecskéi nem rendeződnek szabályos kristályrácsba és szerkezetük inkább a folyadékokra hasonlít, azonban jóval nagyobb viszkozitással rendelkeznek azoknál. A kristályszerkezet hiánya természetesen az oldhatóságon kívül egyéb fizikai tulajdonságokban is drasztikus változást okoz. Elektromos- és hőszigetelő képességük nagyságrendekkel magasabb a kristályos változatokénál, mivel az elektronok a rácsszerkezet hiányában csak nehezen képesek a helyváltoztatásra, valamint az ilyen anyagoknak nincs éles olvadáspontjuk sem.

Szinte minden anyagból állíthatunk elő amorf fázist. A kulcs a megolvasztott anyag rendkívül gyors hűtésében van, amikor is a részecskék megdermednek és már nincs elég mozgási energiájuk ahhoz, hogy a kristályrács természetesen módon kialakulhasson. A teljes amorfizáció eléréséhez általában az anyagokat egy rájuk jellemző karakterisztikus, ún. üvegesedési hőmérséklet alá kell hűteni, ahol a makromolekulák már csak rezgő mozgásra

képesek. Ez a gyors hűtés azonban sok esetben hatalmas energiákat igényelhet, ezért különböző találékony megoldásokat és elrendezéseket hoznak létre, hogy biztosítsák a megfelelő körülményeket.[37,38] A párologtatással történő vékonyréteg építéseknél igen gyakori, hogy amorf fázisú filmeket hoznak létre. A gőzfázisba juttatott anyag felhevült állapotában egy szobahőmérsékletű szubsztrátra érkezik, ahol a fent leírt módon rövid idő alatt megdermed és nem alakul ki kristályos rácsszerkezet. Bizonyos anyagok esetében, melyeknek az üvegesedési hőmérséklete szobahőmérséklet alatt található, a szubsztrátot előre lehűtik, hogy ezzel is gátolják a kristályosodási folyamatokat. Lézeres besugárzás alkalmazásával a PLD elrendezés alkalmas amorf fázisú vékonyrétegek létrehozására, hiszen e módszer mechanizmusa igen hasonló a szokványos párologtatási eljárásokhoz. A szubsztrátra felvitt anyag kristályossági fázisa vagy halmazállapota függ a szubsztrát hőmérsékletétől, a becsapódó részecskék halmazállapotától, valamint a beérkező részecskék kinetikus energiájától. A részecskék kinetikus energiáját pedig a kamrában uralkodó nyomás, a lézernyaláb energiasűrűsége, hullámhossza és a céltárgy optikai abszorpciója határozza meg elsősorban. Általában a kisebb hullámhosszú lézernyalábokkal nagyobb sebességeket lehet elérni fotonjaik nagyobb energiája miatt. Ha a szilárd részecskék mozgási energiája meghaladja a fázisátalakuláshoz szükséges energiamennyiséget, akkor a teljes produktum megolvad és - a szubsztrát hőmérsékletétől függően - nagy valószínűséggel amorf fázis jön létre.[37,39]

Mint dolgozatomban már korábban említésre került, az amorf fázisú anyagok gyógyszertechnológiai előnye, hogy nagyságrendekkel nagyobb oldhatósággal rendelkezik, mint a kristályos változatai. Ez által eredményesebb gyógyító hatásokat érhetnek el velük. Éppen ezért népszerűek az ilyen irányú kutatásokban is. Az orvosi biológiában is kiemelkedő figyelmet kapnak az amorf védőrétegek, melyek fokozhatják az anyagok biokompatibilitását ezáltal lehetővé teszik, hogy emberi szervezetben alkalmazzanak olyan anyagokat, melyekre korábban nem volt lehetőség. Ez új utakat nyitott meg a diagnosztikai és terápiás alkalmazások területén, továbbá az orvosi implantátumok készítésében. Számos egyéb alkalmazási lehetőségeit ismerték fel az iparban és az elektronikában is. Rendkívül elterjedt az olyan felületi védőrétegek létrehozása, amikor is egy kristályos anyagra azonos anyagi minőségű, de amorf állapotban lévő védőréteget visznek fel. Így elérhető, hogy új anyag hozzáadása nélkül megnöveljék az eszközök áram- és hőszigetelő képességét. Az egyik ilyen viszonylag új alkalmazás, amikor tervezérlésű tranzistorban a PLD segítségével felvitt utólagosan kikristályosított ZnO tartalmú rétegre egy amorf ZnO bevonatot visznek fel. Az első réteg csatornaként a második réteg pedig kapuként funkcionál a tranzistorban. Továbbá

fotovoltaikus rendszerek fejlesztésénél is használnak amorf szilícium bevonatokat, melyeknél a réteg minősége kritikus lehet a kívánt hatásfok eléréséhez.[37,40,41]

2.5 Nanorészecskék és kompozitok gyógyászati alkalmazásainak lehetőségei

Dolgozatom korábbi részeiben már - a teljesség igénye nélkül - igyekeztem betekintést adni a nanométeres nagyságú részecskék, kompozitok és amorf fázisú anyagok sokrétű és hasznos alkalmazási területeibe. Azonban szeretnék részletesebb képet adni ezek orvosi és gyógyszer technológiai kutatásokban és innovációkban betöltő pótolhatatlan szerepéről, melyek forradalmasították és a jövőben is forradalmasítani fogják a már meglévő és új gyógyászati módszereket, mind a diagnosztika, terápia mind pedig a megelőzés területén. Ezen kutatások fő célja igen fontos, hisz mind az emberi élet jobbá tételét, valamint a testi fájdalmak és a szervezeti károsodás minimalizálását hivatottak megvalósítani a gyógyítás hatásfokának növelése mellett.

Nanométeres gyógyszerhatóanyagok egyértelmű előnye a jobb oldódási tulajdonságaikban rejlik, ami csökkenti a pozitív hatás eléréséhez szükséges bejuttatandó dózist. Ennek előnye nem csupán abban rejlik, hogy kevesebb anyagmennyiséget kell a betegnek adni. Egyrészt ilyen esetekben a felszívódási idő jelentősen lecsökken, másrészt a kisebb nanométeres részecskéket tartalmazó dózis csökkenti vagy akár meg is szüntetheti az egyébként nem feloldódó részét a hatóanyagoknak, ami a káros mellékhatások nagy részéért felelős. (Ezek a megállapítások amorf fázis esetén is igazak.) Ezen kívül lehetőség adódik, hogy a szokásos emésztő szervrendszeren keresztüli felszívódáson kívül, egyéb beviteli útvonalakat is biztosítsanak. Ilyen a légző szervrendszeren keresztüli (pulmonális), szemcsepp formájában történő vagy akár bőrön keresztüli (dermális) bevitel, melyek még tovább gyorsítják a felszívódás folyamatát. Ezekben az esetekben szinte azonnali hatás fejthető ki, közvetlenül a gyógyításra szoruló területen.[42] A hatóanyagok pulmonális úton történő felhasználásához például száraz porinhalációs készítményeket állítanak elő, melyekben a gyógyszerhatóanyag-részecskék méretének kritikus szerep jut. A tüdő kicserélődési zónájába (légzési bronchiólusok és alveolusok (léghólyagocskák)) bejutott hatóanyagok már közvetve a véráramba hatolnak, melyen keresztül a test többi részébe is eljutnak és képesek kifejteni gyógyító hatásukat. A légzési bronchiólusokig már az 1 μm átmérőjű részecskék is képesek behatolni, míg a legalsóbb léghólyagocskákig (alveolusok), melyek felszíne hajszálerekkel dúsan átszőtt, már a 650 nm átmérő alattiak is eljutnak. A tüdő legkisebb pórusai a 400 nm átmérőnél kisebb részecskéket pedig már nem tudják felfogni, így azok közvetlenül a

véráramba kerülnek.[43] Pulmonális beviteli alkalmazásnál a gasztrointesztinális bevitelhez képest jóval kevesebb lépés szükséges ahhoz, hogy a hatóanyag a véráramba kerüljön, így a korábbi szükséges mennyiség akár 1/10-e is elegendő az azonos hatás eléréséhez.

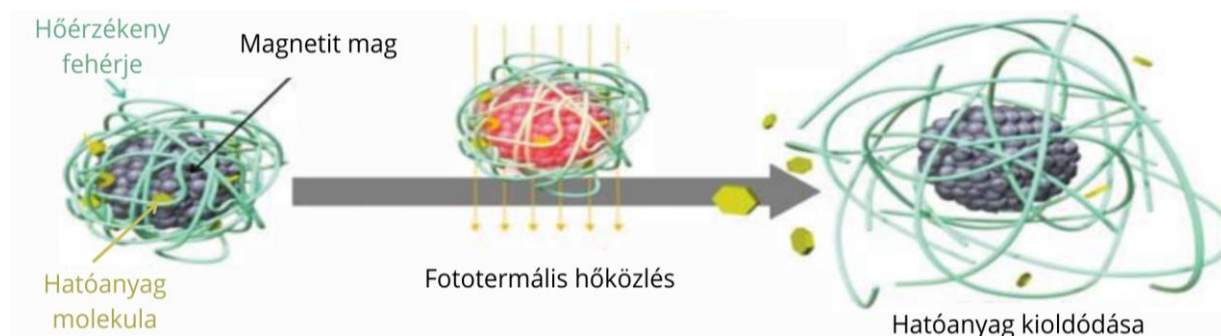
A szerves anyagokból és egyszerűbb polimerekből készült nanorészecskék is fontos szerepet játszanak a legújabb gyógyászati alkalmazásokban. A diagnosztikai képalkotás területén jelentős eredményeket értek el félvezető nanokristályok segítségével, melyek a Quantum-dot (Q-dot) technológia alapjait képezik. (Ez a technológia adja az alapját az egyik legmodernebb kommersziálisan elérhető monitoroknak is.) A képalkotás egyes pixeleiben egy nanokristály helyezkedik el, melyeknek elektronjait UV fénnel gerjesztik. Ezek az elektronok a relaxáció során fluoreszcens fényt bocsátanak ki, melynek hullámhossza a valencia és vezetési sáv közötti energiakülönbségtől függ, ami nanométeres nagyságú részecskék esetén arányos a részecskék tömegével és így a méretével is. A részecskék méretének hangolásával tehát, szinte tetszőleges színű fény kibocsátását érhetjük el megfelelő gerjesztéssel.[44,45] E tulajdonság lehetővé teszi, hogy a szervezeten belül lokalizáljanak és azonosítsanak különböző sejteket és sejteken belüli biológiai aktivitásokat. Ezzel képesek detektálni bizonyos rendellenességeket és gyakran előre jelezni komolyabb betegségek kialakulásának valószínűségét. A Quantum-dot-ok nagyon érzékeny detektorokként működnek, melyek akár 10-szer hatékonyabbak is lehetnek az egyéb szerves fluoreszcenciára képes molekuláknál, azonban toxicitásuk miatt csak *in vitro* diagnosztikai alkalmazásokra használják őket. A félvezető anyagokon kívül, arany nanorészecskéket például előszeretettel alkalmaznak terhességi, influenza és HIV-vírust kimutató gyorsesztekben. Ezen felül antibakteriális szerként is kutatják és ígéretes eredményeket értek el a szokványos antibiotikumokra rezisztenssé vált baktériumok esetén, melyek jelenleg ellenanyag híján igen nagy veszélyt jelentenek az emberi egészségre nézve.[46,47]

A szerves anyagok nagy része nem alkalmas arra, hogy az emberi szervezeten belül használják fel az előnyös tulajdonságaikat. Éppen ezért népszerűek a korábban említett magháj elrendezésű nanokompozit részecskék, melyek lehetővé teszik, hogy biokompatibilissé váljanak. A legígéretesebb és legnagyobb népszerűségnek örvendő vizsgálatok a mágneses vas-oxid (legfőképpen magnetit) tartalmú nanokompozitok előállítása és alkalmazása körüli területeken folynak. Egyrészt ezeket is elsősorban a képalkotásban és a diagnosztikában alkalmazzák, mivel képesek feljavítani a mágneses-rezonancián alapuló képalkotó eszközök (MRI) minőségét és pontosságát, így sokkal precízebben tudják behatárolni például a rákos szövetek helyzetét.[48] Szintén nagy figyelmet kapnak azok a kutatási területek, melyeknél terápiás alkalmazásokat fejlesztenek. Igen reménytelik a napjainkban folyamatosan fejlesztett

gyógyszertechnológiai alkalmazások is, melyek e részecskék szuperparamágneses tulajdonságait használják ki. A magnetit részecskék például önmagukban is biokompatibilisek, azonban az agglomerációs képességeik miatt további módosítások szükségesek, hogy az emberi testben is alkalmazhatóak legyenek. Kezdetben valamilyen szerves vagy polimer héjat képeznek a mágneses mag köré. A héjat alkotó anyagok palettája nagyon széles és anyagi minőségtől függően különböző funkciókat látnak el. Klasszikus esetben egyszerűbb polimerekkel vonják be őket, hogy meggátolják a részecskék összekapcsolódását és felhalmozódását. Gyakori, hogy a héj több rétegből áll, melyek mindegyike különböző anyagi minőségű, így egyszerre több tulajdonsággal is felruházhatják a kompozit részecskét. Igen népszerű az olyan speciális anyagok alkalmazása, melyekhez a gyógyszerhatóanyagok részecskéit relatíve könnyedén hozzákapcsolhatjuk kémiai kötésekkel, mint például a kovalens, hidrofób vagy Van der Waals kötés. De akár egyszerű adhéziós jelenségek is elegendőek lehetnek a kompozitok kialakulásához. A legtöbb esetben a nanorészecskék számos lépésben, kémiai szintéziseken keresztül jönnek létre, melyek mindegyikéhez egyéb segédanyagok felhasználása szükséges. Az eljárások kidolgozását tovább bonyolítja, hogy szinte minden gyógyszermolekulához más és más kapcsoló-anyag szükséges. A végső cél egy olyan nanokompozit előállítása, amellyel a hozzákapcsolt gyógyszermolekulákat az emberi szervezet tetszőleges pontjára tudjuk szállítani külső mágneses tér segítségével, hogy ott fejtsék ki hatásukat, ahol arra a legnagyobb szükség van. Ha a kompozitok elérték a kívánt tartományt, akkor szükséges, hogy a hozzákapcsolt hatóanyagot leválasszuk a kompozit részecskéről. Ennek számos módszere van a kompozitok anyagától függően, mely módszerek ismertetése messze túlhaladja dolgozatom tartalmi lehetőségeit. Ilyen például, amikor különböző sugárzások (rádiófrekvenciás sugárzás, ultrahang, fototermális jelenségek, stb.) hatására megváltozik a hordozó polimer szerkezete és ennek folyamán a hatóanyag molekulái leválnak a nanokompozitokról.

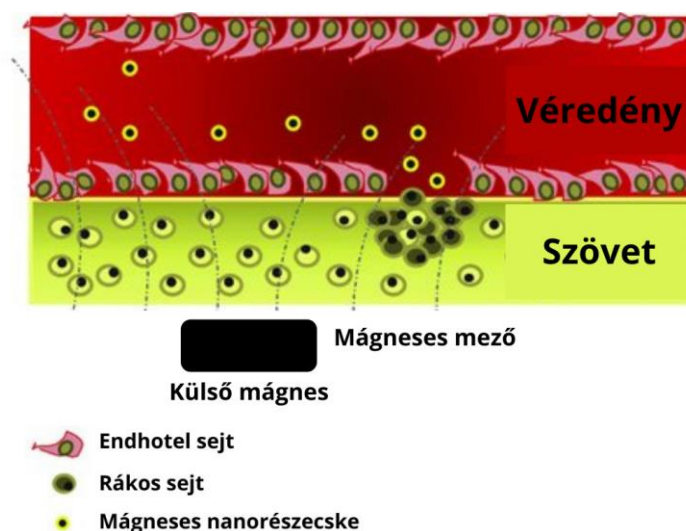
Egy konkrét példát mutat a 4. ábra, ahol a magnetit nanorészecskék kisszámú együttesére egy hőérzékeny szerves polimert (a példánkban tej kazein fehérjét) visznek fel, melynek molekulái szobahőmérsékleten rideg amorf állapotban vannak. Ebbe ágyazzák bele a gyógyszerhatóanyag molekulákat hidrofób kölcsönhatás révén. A megfelelő helyen és időpillanatban fototermális folyamatok segítségével felmelegítik a magnetit tartalmú magot, melynek következtében a polimer is felmelegszik. Ha a polimer hőmérséklete meghaladja az üvegesedési hőmérsékletét, akkor az anyag meglágyul, és olyan alakváltozáson megy át, melynek hatására a hidrofób kölcsönhatás már nem lesz elegendő ahhoz, hogy magához kapcsolja a hatóanyag molekuláit. Bizonyos összeállítások esetében a hatóanyagok

nanokompozitokból való kioldódási sebessége nagyon jól kontrollálható és elérhető, hogy a kívánt területen egységnyi idő alatt éppen annyi gyógyszermolekula hasznosuljon, amennyit az emberi szervezet fel tud használni.



4. ábra: Összetett mágneses, gyógyszerhatóanyag tartalmú nanokompozit részecske irányított kioldódása fototermális gerjesztéssel.[49]

Ezek az eljárások egyrészt a nanométeres hatóanyagok bevitelénél még jobban csökkentik a szükséges mennyiséget, még gyorsabb hatásmechanizmus érhető el velük, valamint nagyságrendekkel csökkenthető a gyógyszerek káros hatása a nem kívánt területeken. Ez főként a kemoterápiás gyógyszerek esetén szükséges és kritikus, mivel ezek közismerten nem csak a rákos, hanem az egészséges szöveteket is károsítják. A rákos szövetek kezelésében alkalmazott magnetit tartalmú nanorészecskék külső mágneses térrel történő irányítását szemléltetem sematikusan az 5. ábrán. A mágneses nanorészecskéket tartalmazó készítményeket legtöbbször intravénásan juttatják a szervezetbe, de szájon át történő bevitelre alkalmas termékeket is fejlesztettek ki az elmúlt években.[2,49–54]



5. ábra: Rákos szövetek célzott gyógyítása külső mágneses tér és magnetitet tartalmazó nanokompozitok segítségével.[55]

3. CÉLKITŰZÉSEK

Doktori tanulmányaim során célul tűztem ki vízben nehezen oldódó, nem-szteroid alapú gyulladáscsökkentő (NSAID) gyógyszerhatóanyagok lézeres besugárzással történő kontrollált kezelését. A fejlesztésekkel két konkrét dolgot kívántam elérni. Az egyik a hatóanyagok oldhatósági tulajdonságainak jelentős javítása részecskeméret csökkentés és amorfizáció által. A másik célom, hogy olyan nanokompozitot hozzak létre, amellyel mágneses tulajdonságokkal ruházhatom fel a hatóanyagokat. Ezáltal lehetővé válik térbeli és időbeli lokalizációjuk. Munkám során három különböző NSAID gyógyszerhatóanyagot vizsgállok: ibuprofén, nifluminsav és meloxicám. Ezek közül is főként az ibuprofénnel végzek átfogóbb kutatásokat, a hatóanyag szélesebb körben vett használata és ismertsége okán. A nanokompozitok létrehozásakor pedig mágneses vivőanyagként magnetit (Fe_3O_4) nanorészecskéket alkalmazok, azok jó biokompatibilitása és szuperparamágneses tulajdonságai miatt. A keltett részecskéket minden esetben impulzuslézeres abláción (PLA, PLD) alapuló eljárásokkal hozom létre és szisztematikus vizsgálatoknak vetem alá az egyes módszerek igényei szerint.

Részecskeméret csökkentés esetén a három említett hatóanyagot PLA módszerrel különböző hullámhosszakon (248, 532 és 1064 nm) és különböző energiasűrűségeken ($F=1 \text{ Jcm}^{-2}$ - 15 Jcm^{-2}) munkálom meg. A redukált méretű részecskéket spektroszkópiai módszerekkel vizsgálom (FTIR, Raman), hogy megbizonyosodjak a kezelt részecskék kémiai érintetlenségéről. A részecskék méreteloszlását pásztázó mozgékonyaság szerinti részecske szeparátorral (SMPS) és optikai részecskeszámlálóval (OPC) határozom meg. Továbbá ellipszometriás és gyorsfényképezéses vizsgálatok segítségével modellszámításokat végzek, hogy empirikus képet kapjak a csökkentett méretű részecskék eredetéről.

Amorf ibuprofén létrehozásához nano- és femtoszekundumos impulzusidejű UV ($\lambda=248 \text{ nm}$) excimer lézeres PLD-t végzek. A kísérlet alatt a vákuumkamra nyomását változtatom $10\text{-}10^{-4}$ mbar-ig, valamint méréseket végzek normál nyomáson (1 bar) is. Az elkészített rétegek kémiai összetételét itt is a már említett spektroszkópiai vizsgálatokkal határozom meg. Továbbá a minták differenciális pásztázó kalorimetriás (DSC) méréseknek lesznek alávetve. Ezen felül pásztázó-elektronmikroszkópiával (SEM) felvételeket készítek a létrehozott rétegek morfológiájáról.

Legvégül mágneses gyógyszer-nanokompozitok létrehozása érdekében PLA módszer segítségével kevert ibuprofén-magnetit tablettákat használok céltárgyként. A kísérleteket nanoszekundumos Nd:YAG lézer hullámhosszakkal ($\lambda=532$ és 1064 nm) és különböző

keverési arányú tablettákkal végzem. A létrehozott nanokompozitokat a részecskeméret csökkentés során végzett vizsgálatokkal elemzem, továbbá SEM és energiadiszperzív röntgen spektroszkópiával is (EDX) vizsgálom. A nanométeres nagyságú részecskék egyesülését pedig külső mágneses térben történő kísérletekkel bizonyítom.

4. VIZSGÁLT ANYAGOK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

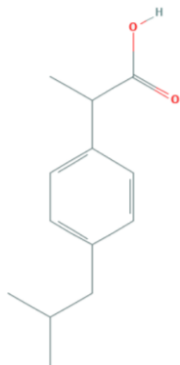
4.1 Vizsgált anyagok

4.1.1 Ibuprofén

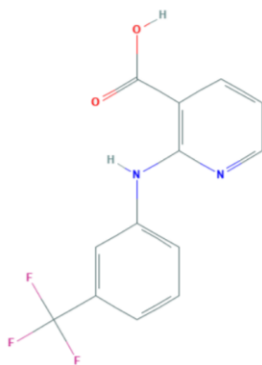
Dolgozatomban a legnagyobb szerepet az ibuprofén (α -Metil-4-(izobutil) fenilecetsav) gyógyszerhatóanyag kapja. Ez az egyik legismertebb és legszélesebb körben használt NSAID, mely gyulladásgátló, fájdalom- és lázcsillapító hatással rendelkezik. Kereskedelemben már 1969 óta kapható az USA-ban és az Egyesült Királyságban. Népszerűségét is mutatja, hogy a WHO alapvető gyógyszereket tartalmazó listáján is szerepel, valamint 2018-ban ez volt a 28. leggyakrabban felírt gyógyszer az Egyesült Államokban, több mint 24 millió kiadott recepttel.[56,57] Szinte az összes piacon kapható, népszerű fájdalomcsillapítónak a fő hatóanyaga, mint például az Advil®, Algoflex®, Nurofen®, Dolowill®, stb.. Napjainkban is kutatják újabb és újabb alkalmazási területeit, például ígéretes eredményeket értek el az Alzheimer-kór részleges megelőzésében és kezelésében is.[58] Szájon keresztül és intravénásan is alkalmazható, felszívódási ideje pedig szokásos gyógyszerbevitel esetén általában egy órát tesz ki, köszönhetően gyenge oldhatósági tulajdonságainak. Habár a többi NSAID-hoz képest kevesebb káros mellékhatással rendelkezik, túlادagolás vagy allergia esetén előfordulhat magas vérnyomás, gyomorégés, kiütés, de szélsőséesebb esetekben belső vérzés, máj- és vesekárosodás is kialakulhat. Épp ezért van szükség az említett tulajdonságainak javítására és a mellékhatások minimalizálására. Természetes formájában, szobahőmérsékleten száraz fehér porként jelenik meg, vízben szinte oldhatatlan (21 mg/l 25°C-on (aszpirin esetében ez az érték 3g/l)), szerves oldószerekben (mint pl. etanol, metanol, acetone) azonban nagyon jól oldódik. A molekulájának közepén egy benzol gyűrű található, melynek egyik ágán két metil csoport, másik ágán pedig egy metil csoport, egy hidroxilcsoport (-OH) és egy kötött oxigén atom helyezkedik el (6. ábra). A hidroxilcsoport és a kötött oxigén atom (karbonil csoport) között létrejövő molekulák közötti hidrogénkötések felelősek a kristályszerkezet létrejöttéért. Az ibuprofén molekula moláris tömege $M=206,3$ g/mol, olvadás pontja $T_o=75-77$ °C, forráspontja $T_f=157$ °C, degradációs hőmérséklete pedig $T_{deg}=230-250$ °C között található. Nanokompozit keltésnél éppen ezért esett a választás az ibuprofénre, mivel molekulája folyadék és gőz fázisban is megtartja szerkezeti képletét. A kísérleteimben kereskedelemben kapható, Sigma-Aldrich gyártmányú, 99%-os tisztaságú ibuprofén részecskéket alkalmaztam tablettá formájában. A részecskék átlagos mérete (D0.5) 15,5 μ m volt. [59,60] A mérések szempontjából ezen kívül fontos fizikai jellemzője a

sűrűsége, melynek értéke $\rho=1030 \text{ kgm}^{-3}$, valamint a fajhője, ami szobahőmérsékleten $c=1553 \text{ Jkg}^{-1}\text{K}^{-1}$.

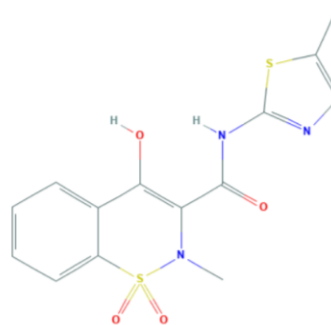
Ibuprofén



Nifluminsav



Meloxicám



6. ábra: Alkalmazott gyógyszerhatóanyagok szerkezeti képlete. (Balról jobbra: ibuprofén, nifluminsav és meloxicám)

4.1.2 Nifluminsav

A nifluminsav (2-[[3-(trifluorometil)fenil] amino] -3-piridinekorboxil sav) is egy NSAID hatóanyag, melyet főként ízületi és izomfájdalmak kezelésére írnak fel. Az ibuprofénnél és a meloxicámnál kevésbé ismert és használt anyagról van szó. Piaci forgalomban egyedül a Richter gyártmányú Donalgin® nevezetű gyógyszerben van jelen fő hatóanyagként. Alkalmazása főként szájon keresztül történik, hatását pedig egy óránál több idő alatt fejti ki. Káros mellékhatások között szerepel a gyomorégés vagy fájdalom, hányinger, hasmenés, fejfájás, allergiás reakció, valamint kis mértékben fokozhatja a szívinfarktus vagy sztrók kialakulását. Kereskedelemben kapható formája halványsárgaszínű fehér por, mely vízben szintén nagyon nehezen oldódik (19 mg/l 25 C°-on). Szerkezeti modellje a 6. ábrán található és az ibuprofénnél valamivel bonyolultabb. Tartalmaz foszfát és egy piridil csoportot is. A kristályszerkezetet itt is a szabad hidroxilcsoport és a karbonilcsoport közötti hidrogénkötések hozzák létre. Molekulájának moláris tömege $M=282,22 \text{ g/mol}$ olvadáspontja egybeesik a degradációs hőmérsékletével, melynek értéke $T_{\text{deg}}=203 \text{ C}^\circ$. A nifluminsav kristály sűrűsége $\rho=1400 \text{ kgm}^{-3}$, fajhője pedig $c=2000 \text{ Jkg}^{-1}\text{K}^{-1}$. Kísérleteim során a Richter Gedeon Nyrt. által forgalmazott 99%-os tisztaságú nifluminsav részecskéket alkalmaztam tablettá formájában, amelyben a részecskék átlagos mérete (D0.5) $18,9 \mu\text{m}$ volt.[61–63]

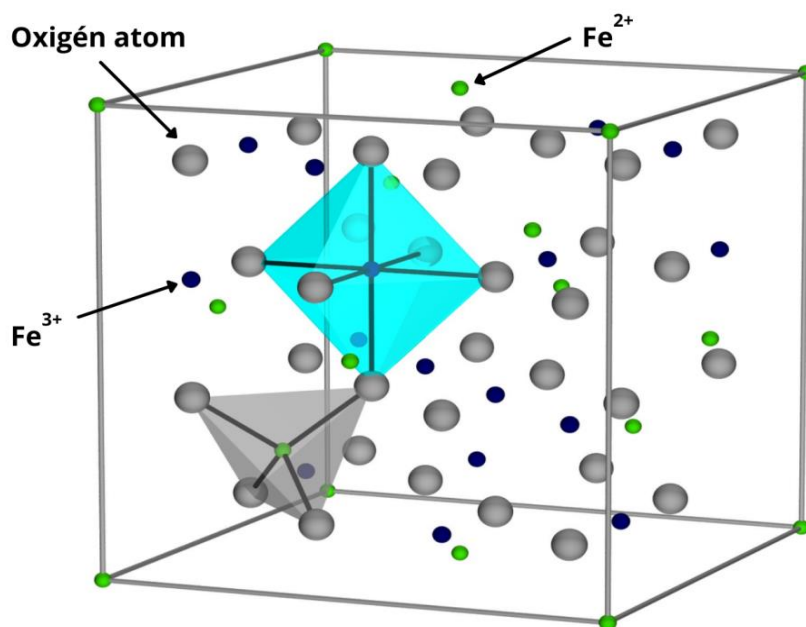
4.1.3 Meloxicám

A meloxicám (4-hidroxi-2-metil-N-(5-metil-2-tiazolil)-2H-benzotiazin-3-karboxamid-1,1-dioxid) gyógyszerhatóanyag szintén a NSAID-k közé tartozik, melyet főként reumás megbetegedések kezelésénél alkalmaznak előszeretettel. Az ibuprofénhez hasonlóan ez is egy népszerűbb hatóanyag, 2018-ban ez volt a 34. leggyakrabban felírt gyógyszer az USA-ban, 22 millió recepttel.[57] Szájon át és intravénásan is alkalmazzák. Igen fiatal hatóanyagnak számít, ugyanis orális bevitelre 2000-ben kapott engedélyt, míg az egyik intravénás verziója (Ansejo®) csak 2020 februárja óta engedélyezett.[64] Szájon keresztüli bevitelre alkalmas tabletta formájában a Meloxicam Sandoz® nevű gyógyszerről lehet ismerős. Káros mellékhatásai lehetnek az emésztőrendszeri mérgezés és vérzés, fejfájás, kiütés. A többi NSAID-hoz hasonlóan szintén fokozhatja a szívroham és sztrók esélyeit, valamint súlyos vesekárosodást is okozhat. Szobahőmérsékleten sárga por formájában jelenik meg. Vízben az előző két hatóanyagnál is rosszabbul oldódik (7,15 mg/l 25 °C-on). Molekulájának szerkezete a három hatóanyag közül a meloxicámé a legbonyolultabb (6. ábra). A kristályszerkezete az előző anyagokénál összetettebb, ugyanis itt nem csak a hidroxil- és karbonil csoportok között alakul ki kötés, hanem a szulfonil (kén atomhoz kétféleképpen kötött oxigén atom) és szekunder amin csoport (a két gyűrűt összekötő nitrogén atom és a hozzá kapcsolódott hidrogén atom) között is.[65] Molekulájának moláris tömege $M=351,4 \text{ g/mol}$ és a nifluminsavhoz hasonlóan olvadáspontja és degradációs hőmérséklete egybeesik. Ennek értéke $T_{\text{deg}}=254 \text{ °C}$. Kristályának sűrűsége $\rho=1614 \text{ kgm}^{-3}$ és fajhőjének szobahőmérsékleti értéke $c=1800 \text{ Jkg}^{-1}\text{K}^{-1}$. A méréseimben az Egis gyógyszergyár által forgalmazott 99%-os tisztaságú meloxicám hatóanyagot alkalmaztam tablettába préselve, melyben a részecskék átmérőjének irodalmi értéke $3,78 \mu\text{m}$. [66][67]

4.1.4 Magnetit

A magnetit (Vas(II, III)-oxid, Fe_3O_4) az egyik legfontosabb vasércásvány, amely az oxidásványok közé sorolható. A legtöbb magmás kőzetben rész-alkotó ásványként van jelen. Oxidáció hatására maghemitté ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) alakul át, ezért nehéz nagy tisztaságú magnetitet előállítani.[68] Nagy keménységű, erős ferromágneses kőzet, mely természetes formájában fekete áttetsző kristály alakjában jelenik meg. A kristályrácsban lévő kationok fele (Fe^{3+}) tetraéderes elrendezésben, míg a másik fele (Fe^{2+}) oktaéderes alakzatban rendeződik el (7. ábra).[69] Modern gyógyászati alkalmazásokban előszeretettel alkalmazzák nanorészecske formájában szuperparamágneses tulajdonságai és biokompatibilitása miatt. A nanométeres

tartományokhoz közeledve a részecskéket már csak egy-két mágneses domén alkotja, így a mágnesezhetőségi hiszterézis hurok szinte egyetlen görbévé zsugorodik, amely az első mágnesezési vonallal esik egybe, azaz paramágnesként viselkedik. Azonban külső mágneses térben sokkal erősebben mágnesezhető, mint a szokás paramágneses anyagok. Innen is kapta a szuperparamágnes elnevezést.[70,71] Nanométeres nagyságrendű részecskeátmérővel rendelkező fekete por formájában már kereskedelemben is kapható, ez is mutatja felhasználásának népszerűségét. Az erős kristályszerkezet miatt a tömbi magnetit olvadáspontja jóval magasabb az alkalmazott gyógyszerekénél, értéke $T_o=1597\text{ }^{\circ}\text{C}$, forráspontja pedig $T_f=2623\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra tehető. Optikai abszorpciója két nagyságrenddel nagyobb ($\alpha\sim 10^7\text{ 1/m}$) a kísérletekben használt hatóanyagokénál, ami jóval nagyobb hőmérsékletek kialakulását eredményezi a lézernyalábbal besugárzott anyagban. A tömbi kristály sűrűsége $\rho=5175\text{ kgm}^{-3}$, fajhője pedig $c=657\text{ Jkg}^{-1}\text{K}^{-1}$. Kísérleteim során a Sigma-Aldrich cég által forgalmazott 50-100 nm átmérőjű részecskéket alkalmaztam. Ebben a tartományban a mechanikai és hőtani fizikai tulajdonságok értékei még jó közelítéssel megegyeznek a tömbi anyag paramétereinek értékeivel, így a dolgozatomban szereplő közelítő számításoknál is ezeket alkalmaztam.[72]



7. ábra: A magnetit kristály egységcellája. Az oxigén atomok szürke, a Fe^{3+} kationok kék, míg az Fe^{2+} kationok zöld gömbökkel vannak ábrázolva.

4.2 Vizsgálati módszerek

Az alkalmazott vizsgálati módszerek a lézerrel kezelt anyagok kémiai és fizikai tulajdonságait, valamint az általam keltett részecskék kialakulásának eredetét hivatottak meghatározni. A kísérletek sikerességének igazolása szempontjából elengedhetetlen a létrehozott termékek többoldalú spektroszkópai vizsgálata, valamint a részecskék méretének és morfológiájának meghatározása. Ezen felül a tudományos igényesség megköveteli, hogy elfogadható magyarázatot adjunk a készített részecskék kialakulására.

4.2.1 Spektroszkópai vizsgálatok (FTIR, Raman)

Fourier Transzformációs Infravörös Spektroszkópia (FTIR Spektroszkópia)

Az FTIR spektroszkópia nagy előnye a többi spektroszkópai módszerrel szemben, hogy igen széles spektrumban képes információt gyűjteni, emellett nagy spektrális felbontást biztosít. A módszer másik előnye, hogy minden halmazállapotú anyag esetén roncsolásmentes mérésre ad lehetőséget. A műszer a molekulák rezgési és forgási módjait detektálja az infravörös (IR) tartományban, ezért alkalmas kötés szerkezetek és molekulák összetételének vizsgálatára. Így arra is felhasználható, hogy megkülönböztessük egyazon anyag különböző halmazállapotait a vizsgált mintán belül. A nevét onnan kapta, hogy a végleges spektrumhoz a nyers adatok Fourier-transzformációjára van szükség. Az FTIR spektroszkópia elvi alapja, hogy egy Michelson-interferométerben elhelyezett átlátszó mintán kis teljesítményű, széles spektrumú infravörös fénynyalábot bocsátanak keresztül. Az interferométer egyik karjában lévő tükör a mérés során folyamatosan, állandó sebességgel mozog. A tükör egyes pozícióiban a különböző hullámhossz-komponenseknek eltérő interferenciaképei jelennek meg a detektoron. A mintát a detektor elé helyezik, hogy a nyalábosztón interferált fény nyelődjön el rajta. Az itt felvett interferogramokat Fourier transzformációnak vetik alá, így meghatározható annak abszorpciós vagy transzmissziós spektruma. Ahhoz, hogy a minta átlátszó és mérhető legyen, egy kis mennyiségre van szükségünk az analizálni kívánt anyagból, melyet valamilyen átlátszó kristállyal (például KBr, polietilén, CsI) por formájában szükséges homogén módon összekeverni. Ezután préseléssel egy vékony pasztillát állítunk elő, ami elhelyezhető a spektrométer mintatartójába. A mérésnél a pasztillába helyezett összes részecske együttes abszorpcióját határozzuk meg.[73]

Doktori munkám során - a termékek és kiindulási anyagok kémiai összetételének és molekulaszerkezetének meghatározása érdekében - minden készített minta esetén végeztem FTIR spektroszkópai méréseket. Minden alkalommal egy Thermo Nicolet gyártmányú

AVATAR 330 LabX Midland típusú FTIR spektrométert használtam abszorpciót mérő üzemmódban. A mintáimat 140-150 mg KBr porral kevertem össze és készítettem belőlük pasztillákat. A spektrumokat 400-4000 $1/\text{cm}$ -es tartomány között vettem fel, 4 $1/\text{cm}$ -es feloldással és 128 mérés átlagából lettek meghatározva.

Raman spektroszkópia

A Raman spektroszkópia segítségével szintén az anyagok rezgési és forgási nívóinak felderítésére van lehetőség. Az FTIR spektroszkópiától az analitikai jel előállításának módjában különbözik, valamint nem a közvetlen optikai abszorpción, hanem a fényszóródáson alapul. A létrejött spektrum itt is infravörös tartományban észlelhető, ám a gerjesztés monokromatikus UV, látható, vagy közeli infravörös (NIR) fény segítségével valósul meg. Az elméleti háttér a fotonok rugalmatlan szóródása adja, melyet Raman szórásnak nevezünk. Innen is ered az eljárás neve. A fénynyaláb fotonjai kölcsönhatásba lépnek az anyagban lévő fononokkal, ezért a gerjesztő foton frekvenciái mellett a szórt fényben megjelennek kisebb (Stokes sáv) és nagyobb (Anti-Stokes) frekvenciák is. Az információt természetesen mindig a gerjesztő fény frekvenciájától való eltérés adja. Mivel természetes fényforrásokat használva a Raman-jelek intenzitása nagyon csekély, a megfelelő méréshez fókuszált lézernyaláb és hosszú integrációs idővel rendelkező detektor használata szükséges. Az általános elrendezésben a szórt jelet a mintára beeső fénnel merőleges irányban detektálják, hogy minél jobban kiküszöböljék a gerjesztő fotonok hatását. Az újabb elrendezésekben a szórt fény detektálása párhuzamos a beeső fénnel és holografikus szűrők segítségével szelektálják a mérni kívánt frekvenciák intenzitását. Összességében ez az eljárás is alkalmas roncsolásmentes mérésre, azonban nagyon körültekintően kell eljárni, hogy a vizsgált anyag optikai abszorpciója ne legyen túl nagy a használt lézernyaláb hullámhosszán. Ennek elkerülése érdekében a legtöbb Raman spektrométerben lehetőség van több különböző hullámhosszúságú gerjesztő lézerfényt is alkalmazni. A spektrumokat a lézernyaláb mintára fókuszált átmérőjével és behatolási mélységével határolt térfogathoz kapjuk, így sokkal lokálisabb információk gyűjthetők össze e módszer segítségével, szemben az FTIR spektroszkópiával. Ezért is volt szükség egy olyan analitikai vizsgálatra is, mely az anyagi minőség térbeli homogenitásáról tud információt szolgáltatni.[74]

A kísérleteim során Raman spektroszkópiás vizsgálatot is végeztem minden készített mintán. A mérésekhez egy ThermoScientific gyártmányú DRX Raman típusú spektrométert használtam. Két különböző hullámhosszúságú gerjesztő lézert is alkalmaztam (532 nm, 780 nm) 0,7 μm átmérőjű foltmérettel, viszonylag széles teljesítmény tartományban (0,1-10 mW),

a vizsgált anyagok optikai tulajdonságai szerint. A spektrális tartomány szélességét és az egyéb beállításokat (apertúra nagysága, használt optikai rács rácssűrűsége, stb.) pedig úgy változtattam, hogy a lehető legnagyobb jel/zaj arányú spektrumokat érjem el.

4.2.2 Differenciális pásztázó kalorimetria (DSC)

Hőtani vizsgálatoknál a fázisátalakulási hőmérsékletek értéke adhat érdemi információt az anyagok állapotáról (pl. kristályos vagy amorf fázisban van-e jelen az anyag). Ez az eljárás az anyagok fázisátalakulási pontjait képes nagy pontossággal meghatározni, az anyag által felvett hőmennyiségek mérésének segítségével (kalorimetria). A DSC mérés alatt a mintát és egy referencia anyagot térben elkülönítve elektromosan fűtenek. A kaloriméter a fűtéshez szükséges teljesítményt méri és mindig azonos hőmérsékleten tartja a két anyagot. Fázisátalakulás során létrejövő endoterm és exoterm reakciók esetén, az energiaszükségletben megfigyelhető változából nagyon pontos analitikai képet lehet kapni a halmazállapot változásokról. A felvett adatok kiértékelésekor a görbék szélessége csúcs-hőmérsékletei minőségi értékelésre adnak lehetőséget. A görbe alatti terület pedig mennyiségi meghatározást szolgáltat.[75]

A méréseket egy Mettler Toledo gyártmányú DSC821 típusú műszerrel végezték. A mért hőmérsékleti tartomány 25-100 C° között volt és a fűtési ráta 10C°/perc értékre lett beállítva. 2,4 mg általam készített por lett összehasonlítva 3,4 mg tiszta ibuprofén referenciával.

4.2.3 Részecskék méreteloszlásának vizsgálata (SMPS, OPC)

A keltett részecskék méreteloszlásának meghatározásánál kétféle mérőműszer alkalmazására is szükség volt, annak érdekében, hogy megfelelően széles tartományt (10 nm – 10 µm) tudjunk vizsgálni. A méréseket mindkét esetben igyekeztünk azonos paraméterek mellett végezni, a kellő összehasonlíthatóság érdekében.

a) Pásztázó mozgékonyág szerinti részecskeszeparátor (Scanning Mobility Particle Sizer SMPS)

Az SMPS egy olyan analitikai műszer, mellyel részecskék méretét és koncentrációját képesek mérni a 2,5 nm - 1 µm tartományban. A folyamatos és gyors pásztázási technikának köszönhetően nagyon magas felbontású mérések valósíthatóak meg az eljárással. Főként légköri aeroszolok méréséhez alkalmazzák, mellyel a levegő minőséget és a gépkocsik által

kibocsátott káros anyagokat mérik, valamint az atmoszférát vizsgáló kutatásokban és toxikológiai teszteknel is használják. A mérés alapelve az elektromosan töltött részecskék elektromos mezőben történő eltérülésén alapul. A mérőműszer bemenetén gázáramban szállított részecskék lépnek be. Itt radioaktív sugárzás segítségével töltött állapotba hozzák őket, melyeket ezután egy szeparátorba vezetnek. A szeparátorban az aeroszol részecskéket elektromos mobilitás szerint osztályozzák, ez a mobilitás pedig arányos a részecskék méretével. Egyszerre csak egy szűk mérettartományban lévő részecskéket engednek ki a szeparátor kimenetén. Ezeket a monodiszperz részecskéket egy kondenzációs részecskeszámlálóhoz viszik és az adott mérettartományban meghatározzák a koncentrációt.[76]

A méréseket egyrészt egy GRIMM System (Germany) gyártmányú Aerosol Technik +C típusú másrészt egy TSI System (USA) Model 3938 SMPS mérőműszerrel valósítottuk meg. Mindkét esetben 10-800 nm-es tartományban tudtunk vizsgálatokat folytatni, a pásztázási időt pedig 5 és 7 perc között változtattuk és minden mérési adat legalább 3 mérés átlagából lett meghatározva. A gázáram áramlási sebessége 0,3 l/perc volt a pásztázás során.

b) Optikai részecskeszámlálás (Optical Particle Counter, OPC)

Az OPC műszer is részecskék méretét és koncentrációját hivatott meghatározni, bár megbízhatóságát tekintve az SMPS-hez képest nagyobb átmérőjű részecskék vizsgálhatóak vele (200 nm - 1 mm). Leginkább a levegő és víz szennyezettségének mérésére használják, de ugyanúgy alkalmazzák az atmoszféra tanulmányozására is. A mérésnél a részecskék méretét a rájuk eső fény szóródása alapján állapítják meg. A részecskék mérése egyesével történik, ezáltal számlálásra is kiválóan alkalmas. A mérendő objektumok itt is egy gázáramban utazva egy kicsiny mérőzónába kerülnek, ahol teljesen homogén világítást valósítanak meg, általában lézerek segítségével. A részecskék átkelése ezen a homogén zónán zavart kelt a fényforrással szemben elhelyezett detektor jelében, amelyből a részecskék méretére következtethetünk, hiszen a szórási szög arányos a szóró objektum átmérőjével.[77]

A méréseket egy GRIMM System gyártmányú Aerosol Technik 1.108 típusú optikai részecskeszámlálóval végeztük. A vizsgált mérettartomány 400 nm - 10 µm volt, összhangban azzal a kívánattal, hogy legyen átfedési tartomány a két különböző elven működő mérőműszer mérése között, valamint a felső határ érje el a részecskék kezdeti átmérőjének nagyságrendjét. A pásztázási időt 4 percre állítottuk és az adatok legalább 4 mérés átlagából

lettek megállapítva. A gázáram szükséges minimum áramlási sebessége ennél a műszernél 1 l/perc.

4.2.4 Pásztázó elektronmikroszkópia (SEM) és energiadiszperzív röntgen spektroszkópia (EDX)

A pásztázó elektronmikroszkóp egy elektronoptikai eszköz, mellyel a vizsgált objektumok felszínét az optikai mikroszkópoknál nagyságrendekkel nagyobb (akár 50-100000-es) nagyításban képes megjeleníteni. A műszer a szokásos mikroszkópiai elvek alapján működik, azonban fizikája merőben eltérő az optikai alapú elődeinél. Fénysugár helyett egy fókuszált elektronnyalábot alkalmaznak leképző sugár gyanánt, ami végigpásztázza adott mintázat szerint a vizsgált tárgyat (általában sorról sorra haladva). Az elektronsugár és a tárgy közötti kölcsönhatásból eredő (elektronszórás, Auger effektus, röntgen sugárzás) jeleket pedig megfelelő detektorokkal érzékeli a műszer, majd ezeket a jeleket megfelelő transzformációnak alávetve számítógép segítségével képi formában jeleníti meg. Mivel a képalkotás az elektromos kölcsönhatások tulajdonságain alapul, ezért nem csak morfológiai vizsgálatra, de egyéb fontos tulajdonságok megállapítására is alkalmas (például a kémiai összetétel). Ilyen eszközökkel készített képek legnagyobb előnye, hogy egyszerre nagy nagyítással, felbontással és nagy mélységélességgel rendelkeznek. Az elméleti háttér az elektron hullámtermészetén alapul, hiszen bármilyen leképezés pontossága arányos a leképező sugár hullámhosszával (Abbe-egyenlet). Mivel az alkalmazott nagy sebességű elektron hullámhossza ($\sim 10^{-12}$ m) több nagyságrenddel kisebb a szokásos optikai leképezésben használt fotonok hullámhosszával ($\sim 10^{-7}$ m) ezért az elektronnyalábbal történő leképezés pontossága is hasonló tendenciát követ. Az elméleti felbontóképesség 0,01 nm, azonban a detektálás körülményei miatt a tényleges érték ennél nagyobb. Az elektronnyalábbal történő leképezés nagyon precíz beállításokat, különleges eszközöket és elrendezést igényel. Az egész rendszert a vizsgált tárggyal együtt egy vákuumkamrába szükséges helyezni. Az elektronnyalábot egy elektronágyú bocsátja ki, melyből egy katódra adott gyorsító feszültség segítségével lépnek ki az elektronok. Minél nagyobb a gyorsító feszültség értéke annál nagyobb energiájú, tehát annál kisebb hullámhosszúságú elektronok lépnek ki (De Broglie-egyenlet). A létrehozott elektronsugár monokromatikus és ezt a sugarat elektrooptikai eszközökkel (megfelelő geometriájú elektromos és mágneses terek gerjesztésével) fókuszálják a minta felületére. Mindezek függvényében, az elrendezés igen korlátozza a vizsgálható anyagokat anyagi minőség és méret szempontjából, ezért a leképezni kívánt mintáknak olyan

előkészületeken kell átesniük, amelyek a lehető legjobban kiküszöbölik az elektronsugár roncsoló hatását. Ennek érdekében, a legtöbb esetben valamilyen vezető anyagból (általában aranyból) készült vékonyréteget kell felvinni a vizsgálni kívánt tárgyak felületére. Egy átlagos, jó minőségű SEM vizsgálat ára, technológiai bonyolultsága, műszer és munkaigényessége nagymértékben meghaladja más képalkotó eszközök hasonló igényeit. Mindennek ellenére a képalkotás minősége és egyedisége miatt több tudományterület eredményes művelése ma már elképzelhetetlen lenne nélküle.[78]

A pásztázó elektronmikroszkópos elrendezésben kiegészítő eszközök segítségével kémiai összetétel szerinti elem-térképet kaphatunk az adott felületről. Az EDX műszer segítségével pontosan ilyen térképet vehetünk fel. A beérkező elektronsugár hatására a vizsgált anyag, elektronszerkezetétől függően eltérő (karakterisztikus) röntgensugárzást bocsát ki, melyből az anyagot alkotó atomok típusa egyértelműen beazonosítható (belső elektronok kilökődésének köszönhetően). Az anyagok karakterisztikus emissziós spektrumában lévő foton szám és energia meghatározása segítségével a minőségi analízis mellett mennyiségi információkkal is szolgálhat.[79]

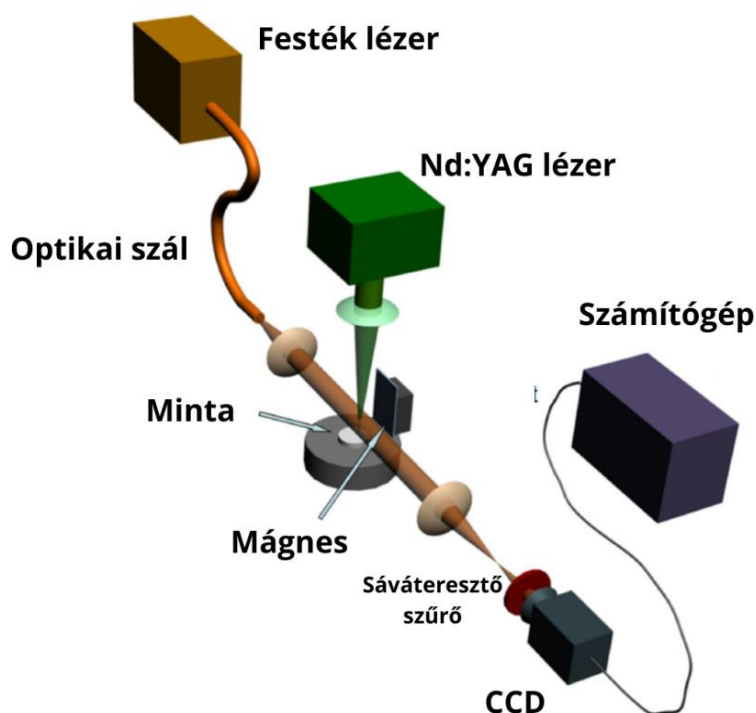
A doktori munkám során egy Hitachi gyártmányú S4700 típusú elektronmikroszkópot és egy RÖNTEC gyártmányú XFlash Detector típusú EDX röntgenspektroszkópot használtam. A mintáinkat minden esetben arany vékonyréteggel vontuk be egy Bio-Rad gyártmányú SC502 típusú katód-porlasztóval. A SEM képeket 100x - 50000x nagyítások között vettük fel 10-15 kV-os gyorsító feszültség mellett.

4.2.5 Gyorsfényképezés pumpa-próba módszerrel

Annak érdekében, hogy a lézeres abláció során keletkezett részecskék eredetét és mechanizmusát vizuálisan is megfigyelhessük, gyorsfényképezést alkalmaztunk egy szokásos pumpa-próba elrendezésben (8. ábra). A pumpa-próba elrendezés lényege, hogy két lézernyaláb segítségével, egy adott indukált folyamatot (szinte) tetszőleges időpillanatában tudjuk lencsevégre kapni. A pumpa lézerrel létrehozuk az anyagban a változást, míg a rá merőleges síkban a próba lézert vakuként alkalmazva, az exponáló fénnel szemben elhelyezett CCD kamera felvételt készít. Az expozíciós idő egyenlő lesz a próba lézer impulzus hosszával (\sim ns), így ebbe az időintervallumba eső folyamatokról tudunk képeket készíteni. Ahhoz, hogy tetszőleges időpontban tudjuk felvenni a lejátszódó folyamatokat, egy digitális késleltető generátort (DDG) kell alkalmazni, ami a kellő pillanatban és kellő időbeli késleltetéssel tud indító jeleket küldeni a két lézernek. Így a próba nyaláb, azaz a vaku

tetszőlegesen késleltethető a pumpa lézerhez képest. Ahhoz, hogy a pumpa lézer szórt fénye ne vigye telítésbe a CCD kamerát, általában olyan optikai szűrőket kell alkalmazni, melyek nem engedik át a fényt ezen a hullámhosszon.

Az általunk felépített pumpa-próba elrendezés a 8. ábrán látható. Pumpa lézerként mindig egy Quantel gyártmányú Q-smart 450 típusú, 6 ns impulzusidejű és 532 nm-es hullámhosszúságú Nd:YAG lézert használtunk. Próba lézernek pedig egy nitrogén lézer által gerjesztett festéklézert építettünk. A lézer aktív anyaga a Rhodamine 6G jelű festékmolekula volt, kibocsátott lézernyalábjának hullámhossza 590 nm és impulzusideje 1 ns. Így egyrészt rövid expozíciós időt biztosítottunk a felvételekhez, másrészt a próba nyaláb hullámhossza nem került átfedésbe a pumpa nyaláb hullámhosszával. A próba lézer fényét egy optikai szál segítségével vezettük a kísérleti térbe és egy $f=17,5$ cm fókusztávolságú N-BK7-es lencsével kollimáltuk. A képeket egy The Imaging Source gyártmányú DMK 23G445-ös típusú CCD kamerával vettük fel ötszörös nagyításban. A keletkezett plazma fényének kivédése érdekében egy sáváteresztő optikai szűrőt is alkalmaztunk a CCD kamera előtt. A lézerek indító jelét egy Stanford Research Systems gyártmányú DG645 típusú DDG generátorral állítottuk elő, amely külön indította a pumpa és a próba lézert is, miközben az indító jel közötti különbségeket nanoszekundumos tartománytól kezdve a milliszekundumosig változtattuk.



8. ábra: Pumpa-próba módszerrel megvalósított gyorsfényképezés kísérleti elrendezése.

4.2.6 Ellipszometria

A lézeres abláció során az anyagok optikai abszorpciója (α) kulcsszerepet játszik a lejátszódó folyamatokban. Az alkalmazott gyógyszerhatóanyagok esetén nem találhatóak megbízható adatok a kísérleteimet érintő látható és NIR tartományban az optikai abszorpciók értékeiről, ezért ezeket ellipszometriával határoztuk meg. Az ellipszometria szilárd anyagok optikai együtthatóinak (n , κ , ϵ_1 , ϵ_2), valamint rétegvastagságának megállapítására szolgáló módszer. Emellett alkalmas többkomponensű vékonyréteg rendszerek elemzésére is. A módszer nagyon nagy érzékenységgel rendelkezik, így akár nanométer alatti tartományokban is képes rétegvastagságot mérni, valamint az optikai együtthatók is nagy pontossággal határozhatóak meg. Az eljárás nagy előnye, hogy nem igényel különösebb előkészületeket a mintát tekintve és nem okoz semmilyen maradandó fizikai változást a mintában. A mérési elv alapja, hogy a minta felületére bocsátott fény visszaverődése során, a fény polarizációs állapota megváltozik. Ez a változás jellemző a minta anyagára és szerkezetére. A mérésnél a mintát az ellipszométer két karja közé helyezik. Az egyik kar fényforrásként szolgál, melyből ismert intenzitású és polarizációjú fénynyaláb érkezik a mintára. A beesési szöggel azonos visszaverődési szögben, az ellipszométer másik karjában pedig egy detektort helyeznek, mely méri az intenzitás és a polarizációs állapotban bekövetkező változásokat.

A méréseket egy Woolam gyártmányú M2000F típusú ellipszométerrel végeztük el 75°-os beesési szögben. Az adatok 250 nm-1000 nm-ig terjedő hullámhosszakon lettek rögzítve. Az optikai abszorpciós együtthatók meghatározása pedig a komplex törésmutató méréséből az $\alpha=4\pi\kappa/\lambda$ képlet segítségével valósulhatott meg.

5. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK

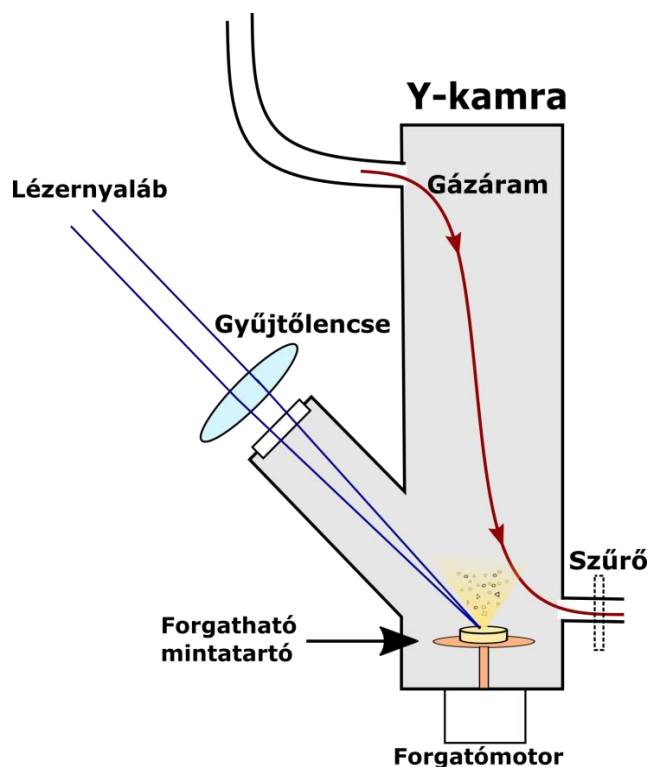
5.1. Nem-szteroid alapú gyulladás csökkentő (NSAID) gyógyszerhatóanyagok részecskeméret csökkentése impulzuslézeres ablációval (PLA)

Disszertációm kísérleti eredményeinek első részében a három említett NSAID gyógyszerhatóanyag sikeres részecskeméret csökkentését mutatom be, melyet PLA módszer segítségével valósítottam meg. E kísérletek motivációját a gyógyszerhatóanyagok gyenge oldódási képességeinek javítása, ezáltal pedig a káros mellékhatások minimalizálásának igénye adta. A szokásos aprítási folyamatok mellett a lézernyalábbal történő aprítás egy relatíve egyszerű elrendezésű, érintésmentes és gyors előállítási lehetőséget nyújt. Korábbi kutatásokban már sikeresen végeztek gyógyszerhatóanyagokon aprítási folyamatokat lézernyaláb segítségével eltérő elrendezésekben, így célom volt megvizsgálni, hogy gáz környezetben, eltérő anyagi minőségű hatóanyagok esetén is igazolható-e a módszer létjogosultsága.[29]

5.1.1 A tiszta hatóanyag tartalmú tabletták lézeres besugárzása

A lézeres aprításhoz három különböző hullámhosszúságú lézernyalábot használtam fel (lefedve az UV, látható, és NIR tartományokat). UV besugárzás során egy KrF excimer lézert (LLG Twinamp, FWHM=18 ns, $\lambda=248$ nm, $f=10$ Hz), látható és NIR tartományban pedig egy Nd:YAG lézer első és második felharmonikusát (Quantel, FWHM=6 ns, $\lambda=532$ nm/1064 nm, $f=10$ Hz) alkalmaztam. Céltárgyként minden esetben egy hidraulikus préssel 175 MPa nyomáson készített tiszta gyógyszerhatóanyag tablettákat használtam a korábbi fejezetben említett gyógyszerhatóanyagokból (ibuprofén, nifluminsav, meloxicám). A részecskék keltésénél az energiasűrűségeket $1,5 \text{ Jcm}^{-2}$ - 15 Jcm^{-2} között változtattam, hatóanyagonként eltérően. A lézernyalábokat egy 1 mm^2 -es területű, szabályos kör alakzatú foltba fókuszáltam le. A foltméret alsó határát a megfigyelhető részecskehozam szabta meg, a felső határt pedig a lézernyaláb tablettára kifejtett mechanikai hatásai (tabletták szétesése) limitálták. A kísérleti elrendezést a 9. ábrán láthatjuk. A tablettákat egy Y-kamrában elhelyezett forgatható mintatartóra rögzítettem. A nyalábokat a kamra rövidebbik ágán, $f=17,5$ cm fókusztávolságú gyűjtőlencsék segítségével fókuszáltam a minták felszínére 45° -os beesési szögben. UV nyalábok esetén ömlesztett kvarc, míg a másik két esetben N-BK7-es plán-konvex lencsét alkalmaztam. A keltett részecskék összegyűjtése érdekében a kamra hosszabb karján keresztül

nitrogén (N_2) gázáramot vezettem keresztül. A gázáram áramlási sebességét állandó 0,3 – 2 l/perc között tartottam egy belépő nyílásra szerelt T-elem segítségével. Ez a gázáram a tablettákhoz közeli kilépő nyíláson át szállította a részecskéket az áramlási térbe helyezett 1 μ m-es pórusú szűrőkhöz (Merck Millipore Ltd. Omnipore Membránszűrő), méreteloszlás mérés során pedig a mérőműszerek belépő nyílásához.

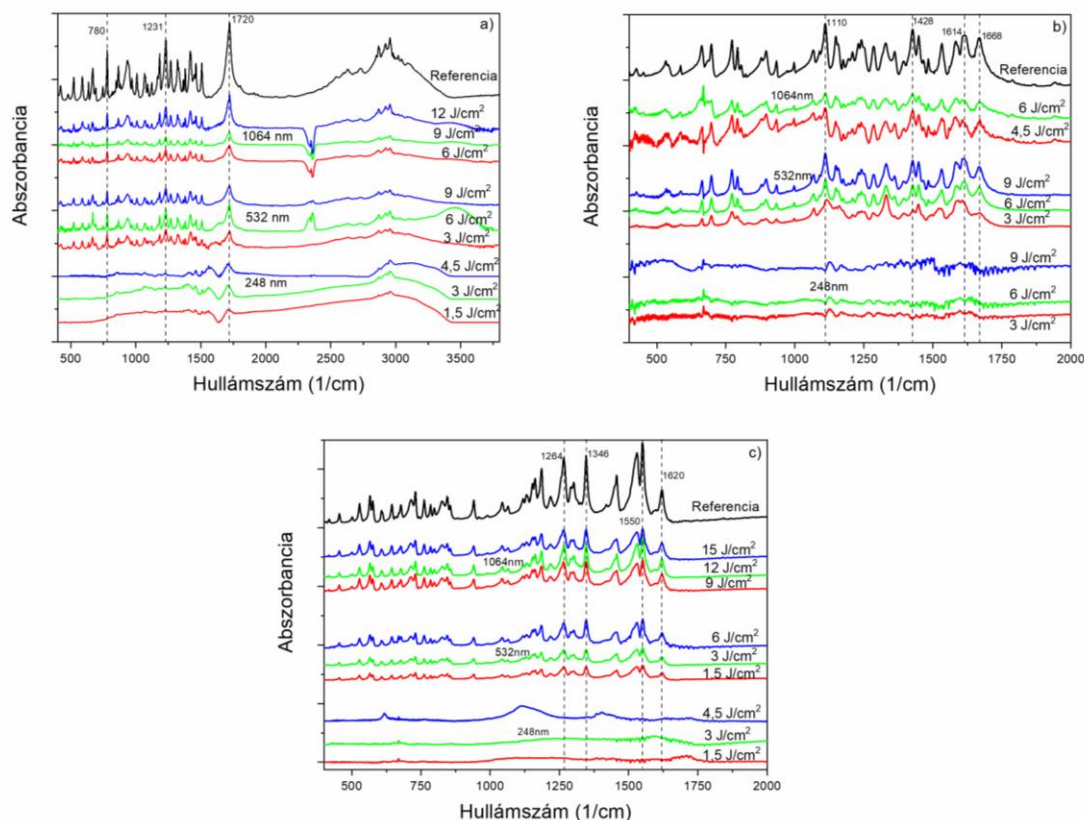


9. ábra: Lézeres aprítás során alkalmazott kísérleti elrendezés.

5.1.2 A keltett részecskék kémiai összetételének vizsgálata

a) FTIR spektroszkópia

A keltett részecskéket a gázáramba helyezett szűrőn fogtam fel, majd a szűrőről történő lekaparás után ezeket kevertem össze KBr porral, az előző fejezetben leírt módszer alapján. Az összegyűjtött részecskék FTIR spektrumai a 10. ábrán láthatóak. A spektrumokon a 2250 – 2500 $1/cm$ között található pozitív és negatív csúcsok a H_2O és CO_2 molekulák forgási szintjeinek felelnek meg és nem hordoznak értékes információt számunkra.[80] Csupán a referenciaként használt tiszta KBr tabletta vízgőztartalmához viszonyított eltérést jelzik.

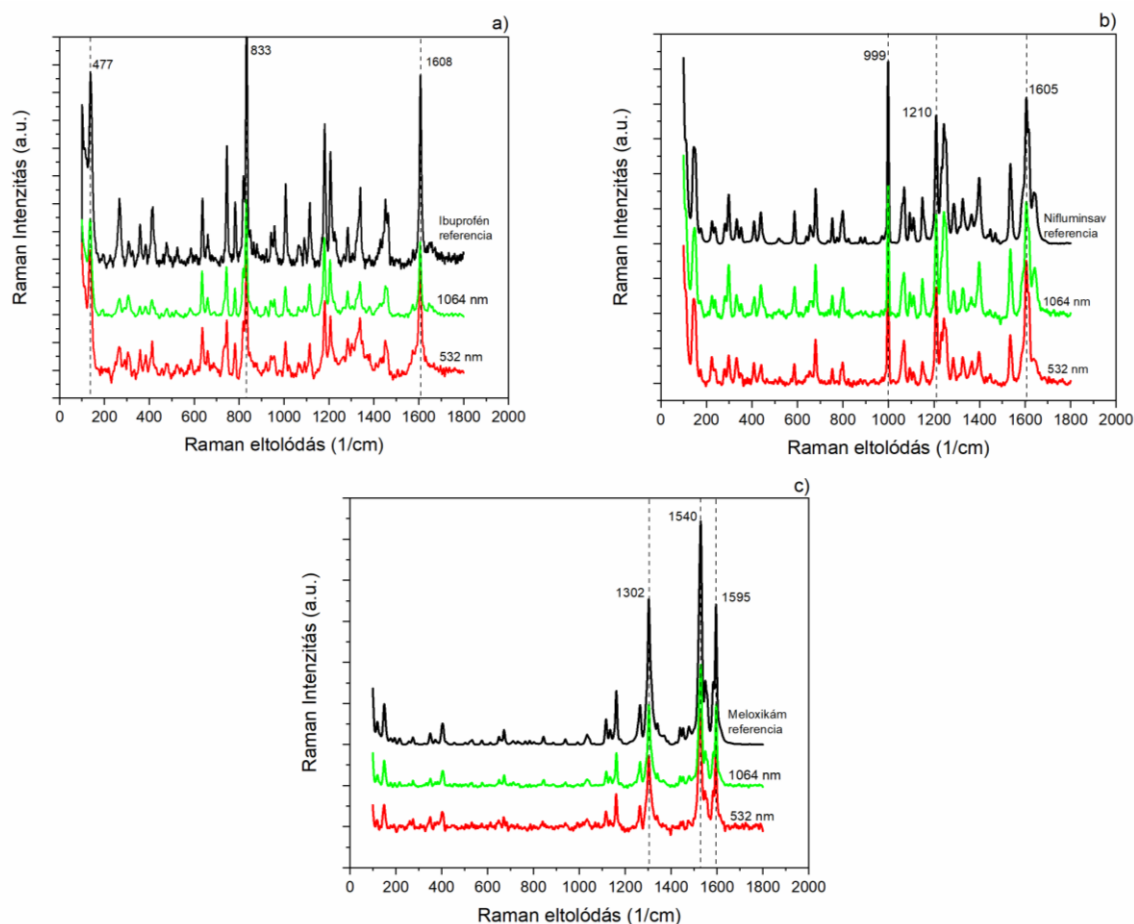


10. ábra: PLA módszerrel létrehozott a) ibuprofén; b) nifluminsav; c) meloxicám részecskék FTIR spektrumai különböző lézer hullámhosszak és energiasűrűségeknél.

Az infravörös spektrumokról minden alkalmazott hatóanyagnál általánosságban elmondható, hogy 1064 és 532 nm-es hullámhosszúságú lézernyalábok használatával, a keltett részecskék kémiaiilag egyezők a referencia minta anyagával, míg az UV ($\lambda=248$ nm) hullámhossz alkalmazása esetén molekuláik roncsolódtak (10. ábra). Referenciaként mindig a tabletták készítésére alkalmazott tiszta hatóanyagokat használtam fel. Továbbá az is megállapítható, hogy a látható és NIR hullámhosszon alkalmazott energiasűrűségek (a vizsgált tartományokban) nem befolyásolják a végtermékek kémiai szerkezetét. Nifluminsav és meloxicám grafikonjain a spektrumokat csak 2000 $1/\text{cm}$ -ig ábrázoltam, mivel e felett nem rendelkeznek karakterisztikus csúcsokkal. A kémiai egyezés további megerősítése érdekében megjelöltem néhány fontosabb csúcsot minden hatóanyag grafikonján. Ilyenek például ibuprofénél az 1720 cm^{-1} (H-kötött C=O), 1231 cm^{-1} (H-kötött CO-H), 780 cm^{-1} (C=O), nifluminsavnál az 1668 cm^{-1} (C-O), 1614 cm^{-1} (benzol gyűrű), 1428 cm^{-1} (C=O/OH), 1110 cm^{-1} (C-F) csúcsok. Meloxicámnál pedig az 1620 cm^{-1} (N-H), 1550 cm^{-1} (tiazol gyűrű), 1346 and 1264 cm^{-1} (szulfonil csoport) vonalakat tüntettem fel.[81–85] Mivel a létrehozott részecskék szempontjából a kiindulási anyaggal vett kémiai egyezés kritikus, ezért a további vizsgálatoknál (ebben a kísérlet sorozatban) UV lézernyalábot már nem alkalmaztam.

b) Raman spektroszkópia eredményei

Az elkészített minták kémiai egyezőségének további alátámasztása érdekében, Raman spektroszkópiai vizsgálatokat is folytattunk, mely a mintaösszetétel térbeli homogenitásáról adhat nekünk pótlólagos információt az FTIR spektroszkópiához képest. A spektrumok felvételénél elegendő volt a szűrőn lévő részecskéket vizsgálnunk. Minden egyes mintáról számos (9-10 db) spektrumot vettünk fel annak különböző helyein, hogy kellő információt kaphassunk és megbizonyosodhassunk a részecskék kémiai homogenitásáról.



11. ábra: PLA módszerrel létrehozott a) ibuprofén; b) nifluminsav; c) meloxicám részecskék Raman spektrumai különböző lézer hullámhosszakon, a legnagyobb alkalmazott energiasűrűségeken.

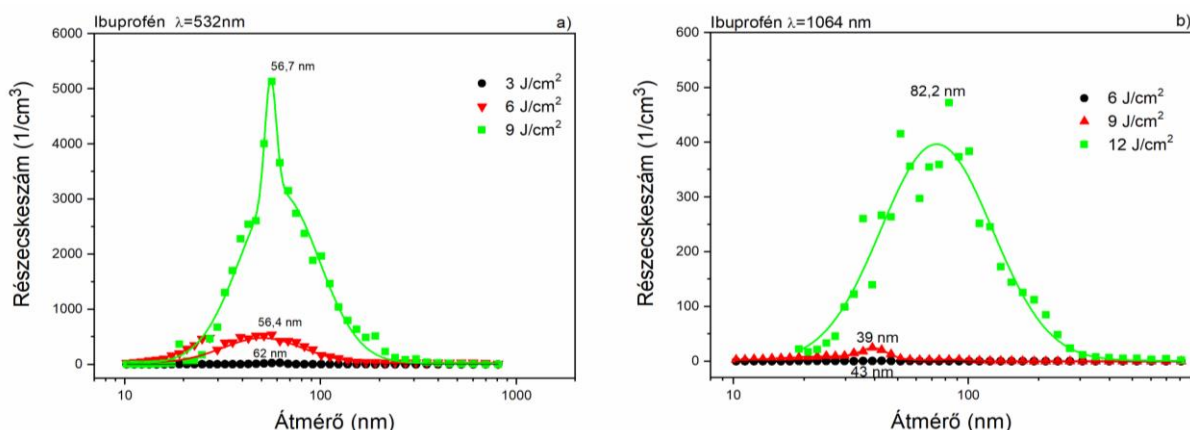
A felvett Raman spektrumok a 11. ábrán láthatóak. Itt az egyszerűség kedvéért csak a legnagyobb energiasűrűségeken készült minták spektrumainak átlagát tüntettük fel, hiszen itt lehetett volna a legnagyobb valószínűsége a részecskék roncsolódásának. A mérések során egyetlen degradált részecskére utaló spektrumot sem találtunk. Az előzőekhez hasonlóan itt is megjelöltem néhány karakterisztikus Raman csúcsot (ibuprofén: 477, 833, 1608 $1/\text{cm}$, nifluminsav: 999, 1210 és 1605 $1/\text{cm}$, meloxicám: 1302, 1540 és 1595 $1/\text{cm}$) a spektrumok könnyebb összehasonlíthatósága érdekében. Látható, hogy a vizsgált térfogatok felvett

spektrumai 532 és 1064 nm-es abláció esetén is teljes egyezést mutatnak a gyógyszerhatóanyagok eredeti Raman spektrumaival.

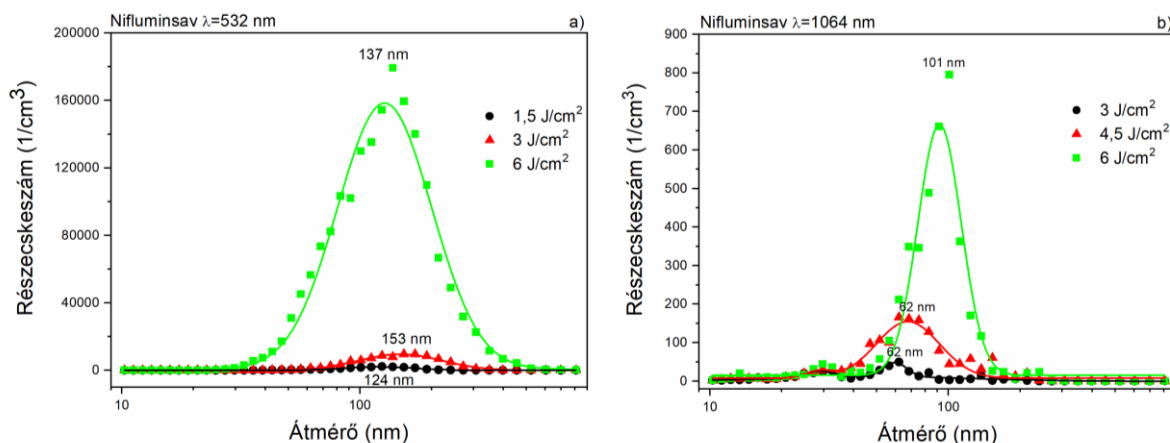
5.1.3 Részecskék méreteloszlásának vizsgálata

A méreteloszlás vizsgálatokat igyekeztünk a lehető legszélesebb mérettartományban elvégezni. Éppen ezért két különböző elven működő műszer is alkalmazásra került, egymással átfedő tartományokban. SMPS-nél az 10 nm - 800 nm-ig, míg OPC-nél a 400 nm - 10 μ m-ig terjedő tartományt vizsgáltunk. A lézerimpulzusok ismétlési frekvenciáját csökkentenünk kellett, annak érdekében, hogy a keltett részecskék ne tudják eltömíteni a mérőműszereket. Ez az ismétlési frekvencia energiasűrűségként és hatóanyagonként változott, valamint a gáz áramlási sebessége is különbözött a két műszer esetén. Ezért a mérések során felvett minden egyes méreteloszlási görbét 1 Hz ismétlési frekvenciára és 0,3 l/perc áramlási sebességre lettek normálva az összehasonlíthatóság érdekében.

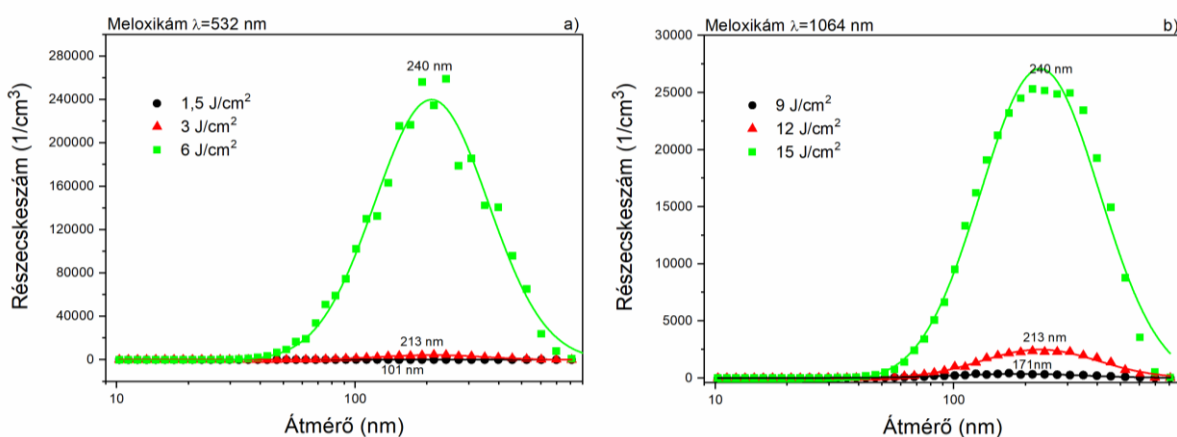
A keltett részecskék SMPS-el felvett méreteloszlásai láthatóak a 12-14. ábrán. Ibuprofénél mindkét hullámhosszon végzett abláció során megfigyelhetjük, hogy az eloszlások modulusai 100 nm alatt helyezkednek el (12. ábra). Azonban az ablációs hozam (a folyamat során létrejött részecskék száma) jóval a többi gyógyszerhatóanyagé alatt marad. Nifluminsav lézeres ablációja során a részecskék átmérőinek modulusai a 60-150 nm-es tartományon detektálhatóak (13. ábra). A legnagyobb átmérőjű ($d > 200$ nm) részecskéket, emellett a legnagyobb ablációs hozamot a meloxicám ablációjánál kaptuk (14. ábra). A mérési pontokra lognormál görbéket illesztettünk a könnyebb értelmezhetőség érdekében. A 12-14. ábrán látható paraméterekkel minden egyes mérést megismételtünk OPC műszerrel is. A két műszer az eltérő mérési elvek alapján más részecskeátmérő értékeket adhat, azonban normális körülmények között ez az eltérés minimális. Ezért is végeztünk átfedő tartományokban (400-800 nm) méréseket a két eszközzel. Az OPC-vel végzett mérések során nem találtunk számottevő mennyiségű részecskét a 800 nm-nél nagyobb tartományokban, valamint a két módszer jó pontossággal azonos eredményeket adott az átfedési sávban. A 15. ábrán csak egyetlen kísérleti paraméter-készlet mellett felvett méreteloszlást szemléltetünk, melyen mindkét mérés eredménye szerepel. Az összes többi alkalmazott paraméter esetén is hasonló eredmények születtek.



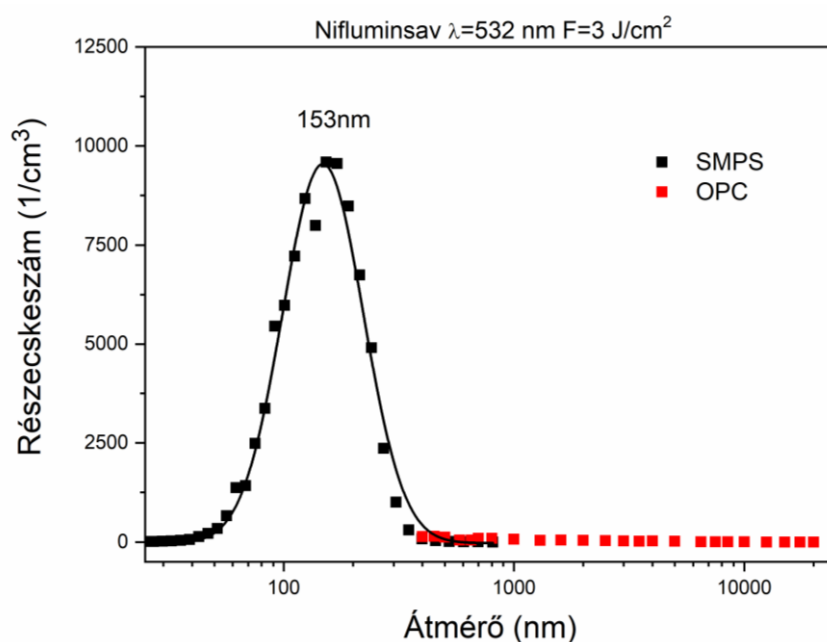
12. ábra: PLA módszerrel keltett ibuprofén részecskék méreteloszlásai a) $\lambda=532$ nm-en 3 Jcm^{-2} energiasűrűséggel (fekete), 6 Jcm^{-2} (piros), 9 Jcm^{-2} (zöld); b) $\lambda=1064$ nm-en 6 Jcm^{-2} energiasűrűséggel (fekete), 9 Jcm^{-2} (piros), 12 Jcm^{-2} (zöld).



13. ábra: PLA módszerrel keltett nifluminsav részecskék méreteloszlásai a) $\lambda=532$ nm-en $1,5 \text{ Jcm}^{-2}$ energiasűrűséggel (fekete), 3 Jcm^{-2} (piros), 6 Jcm^{-2} (zöld); b) $\lambda=1064$ nm-en 3 Jcm^{-2} energiasűrűséggel (fekete), $4,5 \text{ Jcm}^{-2}$ (piros), 6 Jcm^{-2} (zöld).



14. ábra: PLA módszerrel keltett meloxicam részecskék méreteloszlásai a) $\lambda=532$ nm-en $1,5 \text{ Jcm}^{-2}$ energiasűrűséggel (fekete), 3 Jcm^{-2} (piros), 6 Jcm^{-2} (zöld); b) $\lambda=1064$ nm-en 9 Jcm^{-2} energiasűrűséggel (fekete), 12 Jcm^{-2} (piros), 15 Jcm^{-2} (zöld).



15. ábra: A részecskeméret eloszlásának vizsgálata két különböző műszerrel egyazon paraméterek mellett.

Ibuprofén 532 nm		
F (J/cm ²)	D(nm)	N _{max}
3	62	281
6	56,4	545
9	56,7	5131

Ibuprofén 1064 nm		
F (J/cm ²)	D(nm)	N _{max}
6	42,75	0,61
9	39	25
12	82,2	472

Nifluminsav 532 nm		
F (J/cm ²)	D(nm)	N _{max}
1,5	123,71	2218
3	153	9590
6	137	179400

Nifluminsav 1064 nm		
F (J/cm ²)	D(nm)	N _{max}
3	62	50
6	62	166
9	101	795

Meloxicám 532 nm		
F (J/cm ²)	D(nm)	N _{max}
1,5	100,89	115
3	213	4739
6	240	259158

Meloxicám 1064 nm		
F (J/cm ²)	D(nm)	N _{max}
9	170,49	414
12	213	2374
15	240	25306

1. táblázat: A keltett részecskék méreteloszlásainak általános adatai a különböző kísérleti paraméterek esetén; Jelölések: F - energiasűrűség; D – átmérő modusa; N_{max} – Részecskeszám az eloszlások modulusainál.

Mivel az átfedési tartományokban láthatóan nagyon jól illeszkedik a két műszer által mért eloszlás, így joggal feltételezhetjük, hogy a keletkezett és elszállított részecskék méretei az SMPS által megadott eloszlásoknak megfelelő tulajdonságokkal rendelkeznek. Minden mérést többször is megismételtünk és elfogadható hibahatáron belül mindig ugyanazokat a tendenciákat figyelhettük meg. Az eredmények fontosabb adatait táblázatban (1. táblázat)

foglaltam össze a könnyebb átláthatóság érdekében. Várakozásaink ellenére nem találtunk egyértelmű kapcsolatot a keltett részecskék méretei és az alkalmazott energiasűrűségek között a vizsgált tartományokban. Megállapítható azonban, hogy az ablált részecskék száma növekszik az alkalmazott energiasűrűségekkel mindkét hullámhosszon. Az is szembetűnő, hogy az 532 nm-es hullámhosszal keltett részecskék hozama minden hatóanyag esetén nagyságrendekkel nagyobb, mint infravörös besugárzás alkalmazásával. E megállapítások okairól disszertációm következő fejezetében írok részletesebben. Ibuprofén és nifluminsav hatóanyagoknál általánosságban elmondható, hogy adott energiasűrűségen végzett ablációs termékeket összehasonlítva az infravörös besugárzás hatására kisebb átmérőjű részecskék érhetőek el, az ablációs hozam nagymértékű csökkenése árán. Meloxicám megmunkálása során sajnos nem volt lehetőségem átfedő energiasűrűségeken megfelelő számú részecskéket keltetni, azonban a részecskék méreteloszlását a lézernyaláb hullámhosszúsága ezen a tartományon nem befolyásolta.

5.1.4 Összefoglalás

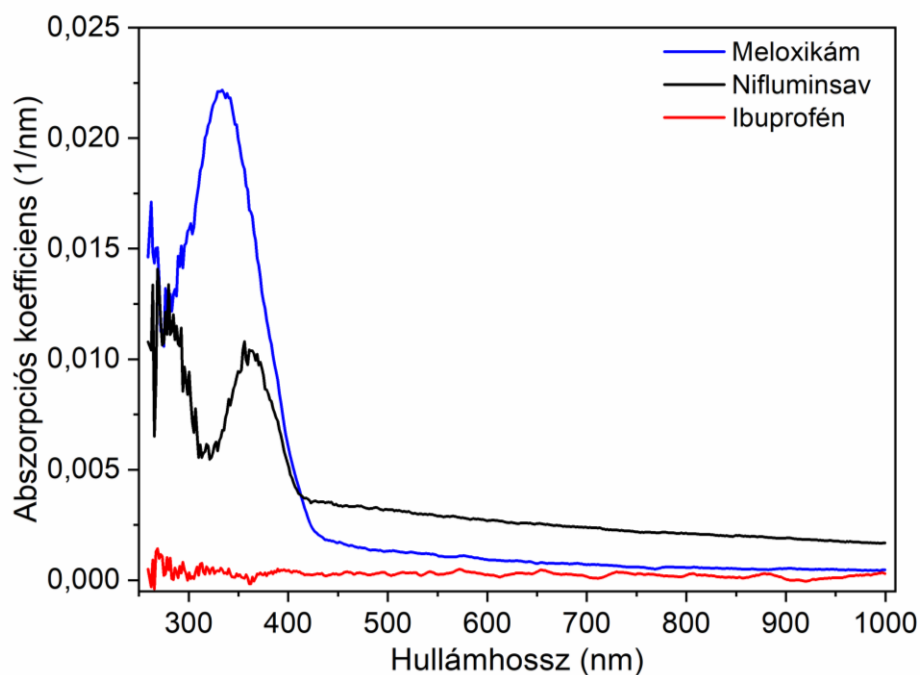
Három különböző hullámhosszúságú nanoszekundumos lézerimpulzussal ibuprofén, meloxicám és nifluminsav aprítását végeztem el különböző energiasűrűségeken. A spektroszkópiai vizsgálatokkal bebizonyítottam, hogy az általam létrehozott részecskék 1064 és 532 nm-es hullámhosszúságú lézernyalábok alkalmazásánál kémiai egyezést mutatnak a kiindulási anyagokkal, függetlenül az alkalmazott energiasűrűségek nagyságától a vizsgált tartományon. A KrF excimer lézer UV ($\lambda=248$ nm) nyalábjával generált részecskék minden energiasűrűség és gyógyszerhatóanyag esetén sérült a kémiai szerkezetük. A részecskék szerkezete a Raman spektroszkópiás mérések alapján térben homogénnek tekinthető a teljes mintában. Széles tartományban vett méreteloszlás vizsgálatok azt mutatták, hogy a keltett részecskék átlagos átmérői 50-250 nm közé esnek. Így sikerült a kiindulási méretekhez képest két-három nagyságrenddel csökkenteni azt. Kimutattam tehát, hogy a lézeres abláció egy relatíve egyszerű, gyors és adalékanyag-mentes módszert kínál a gyógyszerhatóanyagok méretének csökkentésére, miközben a létrehozott részecskék kisebbek vagy közel azonos méretűek az irodalomban fellelhető legkisebb elért részecskeátmérőknél.

5.2 A lézerrel aprított hatóanyag-részecskék kialakulási mechanizmusának meghatározása az ablációs folyamatok vizsgálata alapján.

A tudományos irodalom szokásos megközelítésében a lézeres abláció során létrehozott nanométeres nagyságú részecskék eredetének általában a besugárzott térfogatban lezajló folyamatokat jelölik meg. Tekintve a kísérleteim során alkalmazott energiasűrűségek nagyságát és az aprított anyagok termikus tulajdonságait, esetünkben ez a megközelítés kevésbé tűnik valószínűnek. Ezért célul tűztem ki, hogy egy empirikus, közelítő számításokkal alátámasztott magyarázatot adok meg a keltett részecskék kialakulási mechanizmusára. A céltárgy ablált felületéről kilépő részecskék kialakulásának vizsgálatánál néhány tanulmányban már jelezték korábban, hogy az abláció másodlagos hatásai (pl. a fotomechanikai effektus) is szerepet játszhatnak a keltési folyamatokban, ezért igyekeztem e hatásokat is feltérképezni. A szokásos elméletekkel való összevethetőségben nagy akadályt jelent, hogy kísérleteimben az abláció nem tömör tömbi anyagon, hanem részecskékből összepréselt tablettákon megy végbe. A céltárgy e porózus jellege jelentős eltérést okozhat a jól bevált elméletektől és nagyfokú bizonytalanságot eredményez a végtermékek tulajdonságai és a kísérleti paraméterek közötti összefüggések meghatározásában.

5.2.1 Ellipszometriai mérések és hőmérséklet kalkuláció

A lézeres abláció végeredménye legfőképpen a céltárgy optikai abszorpciójától (α) függ az adott hullámhosszon. Az UV tartományon kívül a tudományos irodalomban nem találhatóak meg az egyes gyógyszerhatóanyagok optikai tulajdonságainak értékei, ezért a közelítő számítások elvégzéséhez ellipszométer segítségével abszorpciós spektrumokat mértünk a besugárzásra szánt tablettákon. Az eredményeket a 16. ábrán tüntettem fel. Jól látható, hogy az UV tartományban a nifluminsav és meloxicám abszorpciója jelentősen megnő. Ibuprofénnél ez a vizsgált tartományon nem figyelhető meg, azonban irodalmi adatokból ismeretes, hogy az abszorpció éppen a mérési tartomány alsó határánál kezd felfutni (260 nm-nél).[86] Továbbá megfigyelhetjük, hogy a látható és NIR tartományokban nincs jelentős változás az abszorpciós koefficiensek értékeiben. Az ellipszometria mérések adatai alapján már lehetőségessé vált a közelítő számításaim elvégzése. A mérés során a minta reflexióját is meghatároztuk különböző szögek és polarizációk esetén. Ezek értéke minden esetben 10% alattinak bizonyult, így elhanyagolhatónak tekintettem őket a továbbiakban.



16. ábra: A felhasznált gyógyszerhatóanyagok abszorpciós koefficiensei a hullámhossz függvényében. Ibuprofén (piros), nifluminsav (fekete) és meloxicám (kék).

A mért optikai abszorpció értékeinek és az irodalomból kapott adatok ismeretében megbecsültem a besugárzott térfogatban létrejövő hőmérsékletváltozásokat. (A besugárzott térfogaton (V_e) a behatolási mélység ($d=1/\alpha$) és a lézernyaláb foltméretének ($A_{\text{spot}}=1 \text{ mm}^2$) szorzatát értem ($V_e=A_{\text{spot}}*d$)). Kezdetben számítógépes szimulációval próbálkoztunk, azonban a gyógyszerhatóanyagok szükséges fizikai tulajdonságai (pl. fajhő hőmérséklet függése, hővezetés) a tudományos irodalomban nem ismertek. A szimuláció bemeneti értékeinek hiányában ez a módszer sajnálatos módon teljesen ellehetetlenült, így olyan egyszerűbb, közelítő modellszámítást alkalmaztam, amelyhez a szükséges paraméterek értékeit megtaláltam az irodalomban. Ehhez a 2. fejezetben ismertetett módosított Beer-Lambert törvényt használtam fel és a hővezetést elhanyagoltam a tabletták porozitása miatt. A használt képlet (1. egyenlet) tömbi anyagokra vonatkozik, így egy durva felső becslést ad az abláció során kialakult hőmérsékletekre. Két karakterisztikus pontban határoztam meg a hőmérsékleteket minden egyes kísérleti paraméternél. A számításoknál felhasznált rögzített fizikai paraméterek adatai a 2. táblázatban találhatóak. Itt feltüntettem a három gyógyszerhatóanyag sűrűségét (ρ), ezen kívül az abszorpciós együtthatókat (α) és az ezeknek megfelelő behatolási mélységeket ($d=1/\alpha$) is a vizsgált három különböző hullámhosszon. Mivel az ellipszometriai mérések adatai (260-1000 nm) csak megközelítették az általunk alkalmazott UV és NIR lézernyalábok hullámhosszát, így a mérési tartomány két szélén felvett abszorpciós együtthatók adatait (260, 1000 nm) alkalmaztam a

modellszámításokban. Ezen kívül a fajhő értékek esetén csak az anyagok szobahőmérsékleten vett átlagos fajhő értékeit vettem figyelembe az irodalmi adatok hiánya miatt.

	ρ (kg*m ⁻³)	c (J/(K*kg))	$\lambda=260$ nm	$\lambda=532$ nm	$\lambda=1000$ nm	$\lambda=260$ nm	$\lambda=532$ nm	$\lambda=1000$ nm
			α (1/ μ m)	α (1/ μ m)	α (1/ μ m)	d (nm)	d (nm)	d (nm)
Ibuprofén	1030	1553	0,514	0,2	0,305	1940	5000	3280
Nifluminsav	1400	2000	10	3	1,6	100	333	625
Meloxicám	1614	1800	14	1	0,407	71,42	1000	2146

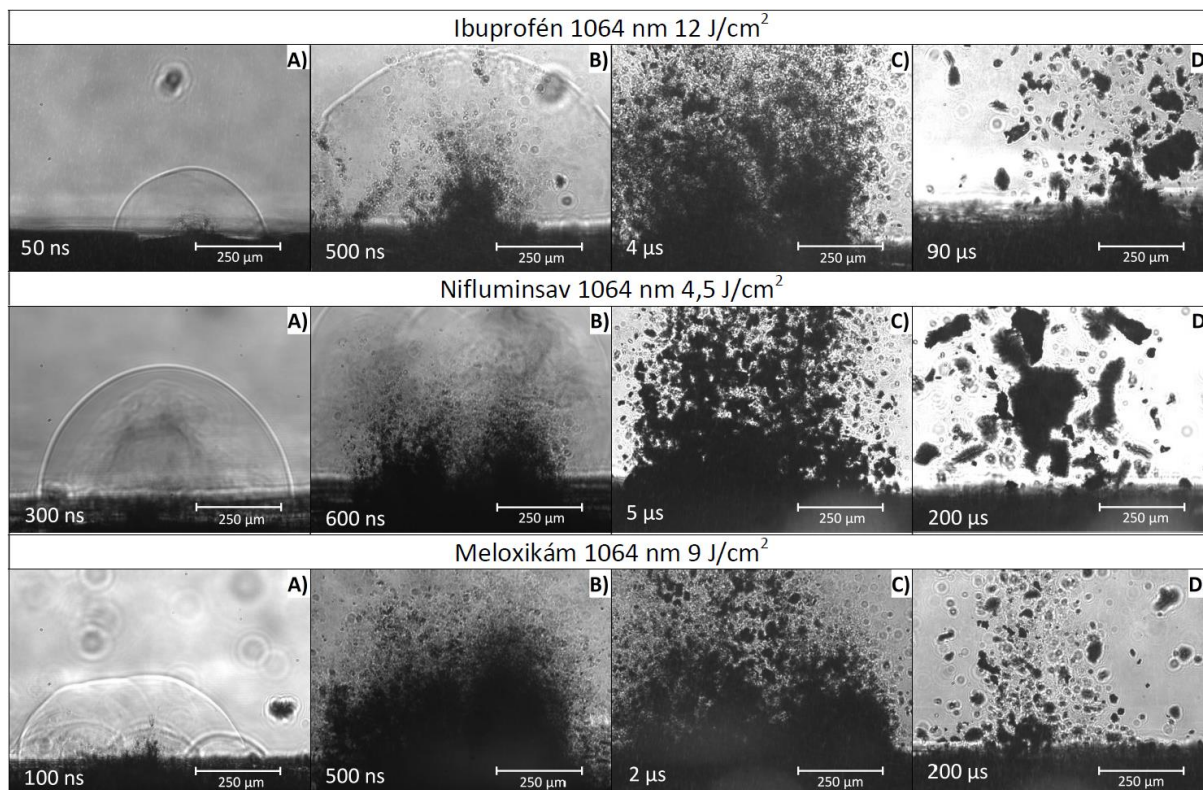
2. táblázat: A vizsgált gyógyszerhatóanyagok modellszámításához használt fizikai paraméterei.

A fenti adatokkal a minta felületén és a behatolási mélységben számítottam ki a létrejött hőmérsékleteket. A sok paraméter (3 anyag, 3 energiasűrűség, 3 hullámhossz, két behatolási mélység) miatt a végső számítási adatokat nem tüntetem fel, csupán a fő megállapításokat kívánom közölni. Mindhárom anyagnál a legnagyobb hőmérsékletek ($> 10^5$ K) az UV lézernyalábnál alakultak ki, miközben itt a legkisebbek a behatolási mélységek. A látható (532 nm) és NIR (1000 nm) hullámhosszon létrejövő hőmérsékletek a számítások alapján egy nagyságrendbe esnek (10^3 K - 10^4 K anyagtól függően), hiszen az abszorpciós koefficiensek értékei viszonylag közel helyezkednek el egymáshoz. A legkisebb hőmérsékleteket ibuprofén esetén kapjuk, azonban a behatolási mélységben is több ezer Kelvin jön létre. Az ibuprofén után a meloxicám, majd a nifluminsav mintákban keletkezik a legmagasabb hőmérséklet, ahol már több tízezer Kelvint is elér a behatolási mélységben. A számításokból azt kapjuk, hogy bár felső becslést alkalmaztunk, azonban a hőmérsékletek az általunk definiált besugárzási térfogatban (V_e) minden esetben több nagyságrenddel meghaladják a gyógyszermolekulák bomlási hőmérsékletét. Ebből és a spektroszkópiai méréseinkből arra következtettünk, hogy az általunk létrehozott kémiaiag érintetlen részecskék nem származhatnak a V_e térfogattól.

5.2.2 Gyorsfényképezés és nyomáskalkuláció

Az ablációs folyamatok gyorsfényképezését két okból végeztük el. Egyrészt, hogy vizuálisan is megfigyelhessük az ablációt porózus anyagok esetén. Másrészt, hogy az abláció során kialakuló lökeshullám terjedési sebességének mérésével következtethessünk a robbanásszerű anyageltávozás következtében létrejövő fotomechanikai hatások nagyságára. A gyorsfényképezéssel értékes információkat szereztünk, amelyekkel modellezhattuk és jobban megérthettük a részecske keltés dinamikáját. Az így készített felvételeket a 17. ábra jeleníti

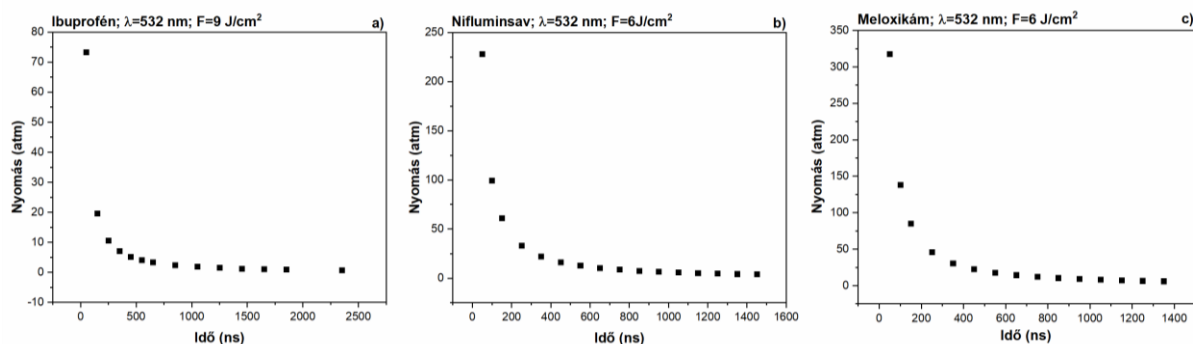
meg, ahol minden gyógyszerhatóanyagnál egy-egy kísérleti paraméter-szettet választottam ki. A méréseket természetesen mindkét hullámhosszon (amellyel kémiaiag sértetlen részecskéket keltettem) és minden korábban alkalmazott energiasűrűség mellett elvégeztük. A mérések során igyekeztünk az ablációs folyamat fontosabb állomásairól felvételeket készíteni.



17. ábra: A lézeres ablációs folyamatok gyorsfényképezésének felvételei.

Egyértelműen megfigyelhető, hogy az ablációs folyamat mindhárom vizsgált anyagnál hasonlóan játszódik le. A lézerimpulzus beérkezése után közvetlenül (50-300 ns) egy lökéshullám keletkezik, melynek frontját szorosan követi egy nem-kondenzált anyagból álló felhő, amely valamivel kisebb sebességgel tágul, mint a lökéshullám frontja. Ezen anyagfelhő után többségében szilárd halmazállapotú részecskék hagyják el a tabletta felszínét. A kirepülő részecskék mérete az idővel folyamatosan nő, ami azt jelzi, hogy a nagyobb és nehezebb részecskék későbbi időpillanatban indulnak, és kisebb sebességgel rendelkeznek. Látható, hogy a keletkezett részecskék között mindenfajta méretűek előfordulnak, akár nagyobbak is mint a kiindulási porszemcsék méretei, ami valószínűleg a préselés során kialakult kohéziós erőknek köszönhető. Ez ellentmondásban van az előző fejezetben bemutatott részecskeméret méréseknél kapott eloszlási adatokkal. Az eltérés azzal magyarázható, hogy a nagyobb tömegű részecskék nem jutnak el a szállító gázáramig és visszahullnak a kamra aljába, valamint az alkalmazott gázáram áramlási sebessége limitálja az elszállítható részecskék maximális méretét.

Azért, hogy megbecsülhessük a fotomechanikai effektusok nagyságát az abláció során, 50 ns-os intervallumonként készítettünk felvételeket a lökeshullámokról, melyekből megtudtuk határozni ezek frontjának terjedési sebességét. Az egyes időpillanatokban megmértük a hullámfront távolságát a robbanás epicentrumától és út-idő grafikonokat készítve meghatároztuk a lökeshullám terjedési sebességét. A 2. fejezet 2. egyenlete segítségével kiszámoltam a nyomásértékeket a lökeshullám frontjában különböző időpillanatokban. Ezek a nyomás értékek a terjedési sebesség négyzetével arányosak. A felületre visszaható nyomás, amely a másodlagos fotomechanikai effektus egyik forrása, megegyezik a lökeshullám frontjában uralkodó nyomással a kezdeti pillanatokban. A nyomáskalkulációk eredményei a 18. ábrán láthatók, ahol az 532 nm-es hullámhosszakon és legnagyobb energiasűrűségekkel végzett ablációra vonatkozó számításokat tüntettem fel. Megfigyelhetjük, hogy a robbanás utáni pillanatokban a visszaható nyomás minden esetben igen nagy (80-350 atm) értékeket vesz fel. Ez a kalapáló hatás végzi el a tablettákban lévő részecskék aprítását. Ha visszatekintünk az előző fejezet részecskeméret eloszlásainak vizsgálatára (12-14. ábra), akkor azt is észrevehetjük, hogy a legnagyobb visszaható nyomás esetén (meloxikám) keletkeznek a legnagyobb méretű részecskék és ezek mellett figyelhetjük meg a legnagyobb részecskehozamot is.

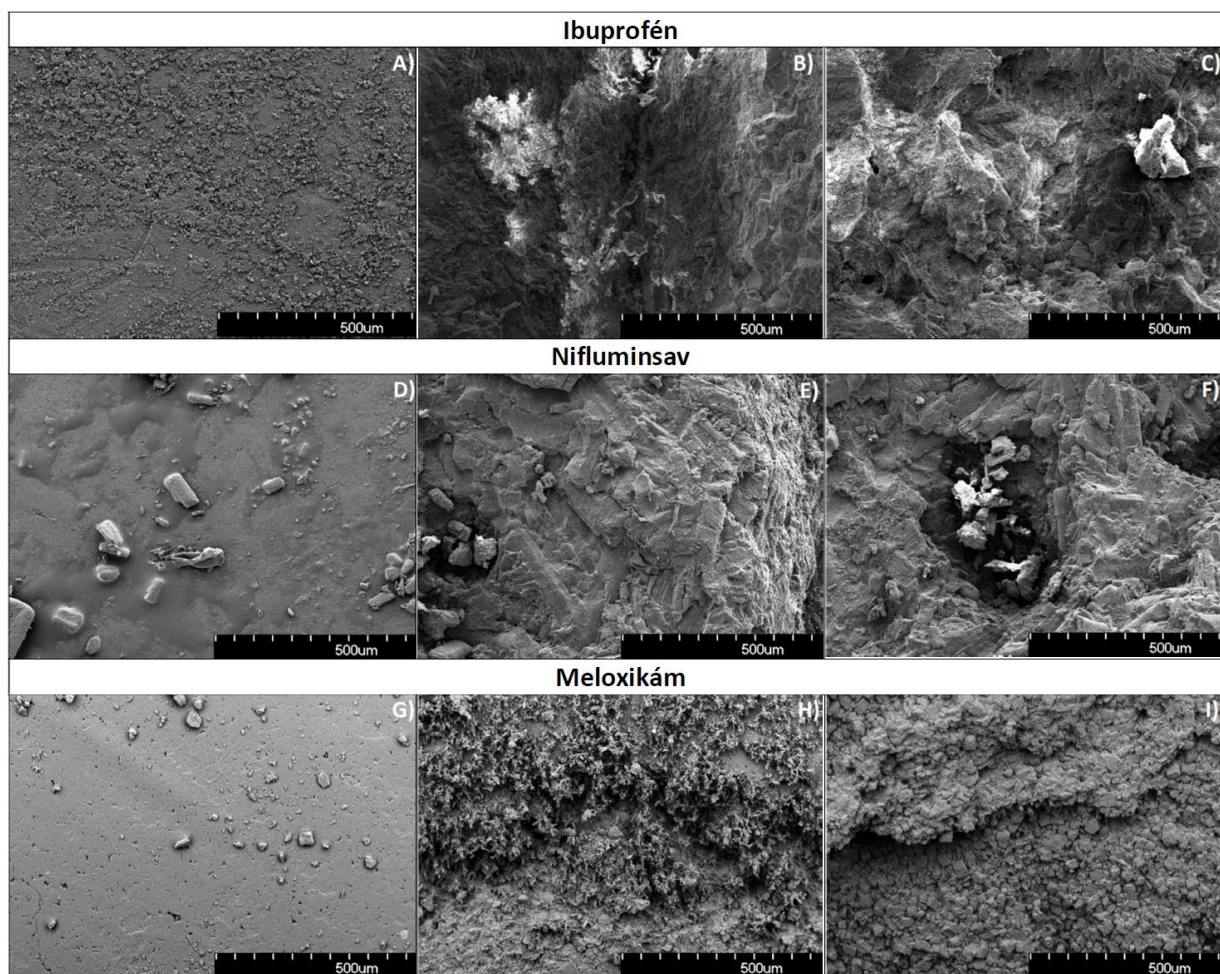


18. ábra: Nyomáskalkulációk az abláció során keletkezett lökeshullám frontjaiban az alkalmazott tablettáknál.

5.2.3 Az ablációs gödrök morfológiai vizsgálata

Az aprított részecskék fotomechanikai eredete a lézeres abláció során az anyagban keletkezett gödrök alakjában is különbséget kell, hogy mutasson a tisztán fototermikus abláción alapuló esethez képest. Tömbi anyagok ablációjánál ugyanis az ablációs gödör egy éles peremű, geometriailag jól definiált alakzatot vesz fel, amelynek nagysága főként az abszorbeáló térfogatra korlátozódik. Porózus anyagoknál, ahol a részecskék közötti kötések jóval gyengébbek, ez a megállapítás érthetően érvényét veszítheti. Ennek vizsgálata

érdekében készítettünk SEM felvételeket (19. ábra) a lézernyalábbal besugárzott tabletták felszínéről. Megfigyelhetjük, hogy az ablációs gödrök minden hatóanyag és hullámhossz esetén hasonló felületi struktúrát vesznek fel. A felületeken viszonylag nagy repedések és éles peremű kristályrétegek láthatóak, a tömbi anyag ablációjára jellemző sima vagy olvadt rétegeket és felületeket a vizsgálatok során nem találtunk. Ez a megfigyelés is megfelel annak a ténynek, hogy erős fotomechanikai effektusok játszanak szerepet abban, hogy a kiindulási anyaggal kémiaiailag azonos végtermékeket tudunk létrehozni.



19. ábra: SEM felvételek az érintetlen (A; D; G), az 532 nm-en (B; E; H) és az 1064 nm-en ablált tabletták felszínéről mindhárom alkalmazott hatóanyag esetén.

5.2.4 Következtetések

PLA módszer esetén tehát két egymástól jelentősen különböző részecske-keltési mechanizmusról beszélhetünk. Az, hogy melyik mechanizmus fog dominálni, függ a céltárgy anyagi tulajdonságaitól, valamint a lézernyaláb hullámhosszától és energiasűrűségétől. Elsőként a besugárzott térfogatban létrejövő hőmérsékletemelkedés hatására, az itt lévő anyag egy része igen gyorsan megsemmisül (plazmaképződés során atomjaira bomlik), míg másik

része gőz fázisba jut és igen rövid idő alatt elpárolog. Másrészt a létrejövő robbanás következtében erős fotomechanikai effektusok érik az anyagot, amelynek részecskéi annak szerkezetétől függően (pl. porózus anyagok esetén) felaprózódnak. Ezek az aprított részecskék a robbanáskor kialakult visszaható nyomás hatására kilöködnek és követik a lökeshullám frontját (17. ábra). A részecskék különböző sebességekkel hagyják el a felszínt a tömegüknek és méretüknek megfelelően. Az eredményekből jól látszik, hogy a tömbi anyagokra alkalmazott ablációs elmélet nem állja meg a helyét az általunk használt porózus belsejű tabletták esetén. A kialakult tényleges hőmérsékletek egyrészt kisebbek a tömbi anyaghoz képest, mivel a részecskék nincsenek szoros kapcsolatban egymással, továbbá az első ablációs robbanások után az újabb lézernyalábok már egy szabálytalan, rücskös felszínű ablációs üreget érnek. Ez jól kivehető a 17. ábra alsó sorának első képéből, amikor is egyszerre több lökeshullám indul ki a besugárzott felület különböző pontjaiból. Mivel a tablettát alkotó részecskék lazán kötődnek egymáshoz, ezért nagyobb részecskehozamot tudunk elérni. A céltárgy porozitása tehát nagyszámú véletlenszerű hatást eredményez, melyeknek részletesebb vizsgálata túlmutat disszertációmon.

Az UV ($\lambda=248$ nm) lézernyalábok alkalmazásakor a spektroszkópiai vizsgálatok kémiai roncsolódott végtermékek létrejöttét mutatták minden kísérleti paraméternél. Ez köszönhető a hatóanyagok nagyobb optikai abszorpciójának az UV régióban, ami nagyságrendekkel nagyobb hőmérsékletet és arányosan kisebb behatolási mélységeket eredményez. Az UV lézernyalábok kis behatolási mélysége pedig összefügg azzal, hogy ezek másodlagos fototermális és fotomechanikai hatásai kevésbé jelentősek, hiszen ekkor a besugárzott térfogathoz távozó tömeg és így az impulzus is csekély, amely a visszaható nyomást okozza. Ezen felül az UV lézernyalábok magasabb foton energiával rendelkeznek ($E_f(\lambda = 248 \text{ nm}) = 5 \text{ eV}$), ami meghaladja számos kémiai kötés kötési energiáját a vizsgált gyógyszermolekulákban. Ez meglehetősen növeli a valószínűségét annak, hogy direkt fotokémiai reakció mentén (mint a fotolízis vagy fotodisszociáció) a gyógyszermolekulák elemeikre essenek szét.[90,91] Magasabb hullámhosszakon, ahol a foton energia [$E_f(\lambda = 532 \text{ nm}) = 2,33 \text{ eV}$; $E_f(\lambda = 1064 \text{ nm}) = 1,16 \text{ eV}$] nem éri el a molekulák kötési energiáját, a fotokémiai bomlás veszélye nem áll fenn és sokkal radikálisabb fotomechanikai effektusok jönnek létre, ami lehetőséget ad csökkentett méretű, mégis kémiai érintetlen részecskék kilöködésére. Az 1. táblázatban megfigyelhetjük, hogy 532 nm-es hullámhossznál minden hatóanyag esetén nagyobb ablációs hozamot érhetünk el, ami feltehetően a nagyobb abszorpciós koefficiensnek köszönhető, ugyanis ekkor nagyobb az a hasznos energia, amely a kilöködő részecskék impulzusára fordítódik. 1064 nm-es lézernyalábbal, a legmagasabb

energiasűrűségeken ($12-15 \text{ Jcm}^{-2}$) létrehozott részecskénél megfigyeltem, hogy a tabletták igen gyorsan darabjaikra hullottak, ami nagymértékben csökkentette az ablációs hozamot és a maximális lehetséges megmunkálási időt. Feltehetőleg ekkor a létrejövő fotomechanikai effektusok már túl drasztikusak voltak és a mintában kialakuló lökeshullámok szétvetették a tablettát. Az ablációs hozam emellett szoros összefüggésben van az anyag olyan mechanikai tulajdonságaival is, mint a sűrűség és a mechanikai keménység.[92] Nagy valószínűséggel ez az oka annak, hogy például meloxikám esetén jelentősen nagyobb ablációs hozamot kapunk, mint nifluminsav megmunkálásánál, annak ellenére, hogy az utóbbi magasabb abszorpciós koefficienssel rendelkezik. Az abláció során létrejövő magas hőmérsékletek minden bizonnyal létrehoznak ionizálódott, atomi és degradált molekulákat is. Ezek a termékek egyrészt elillannak az ablációs térből, másrészt a mi módszereinkkel nem gyűjthetőek össze. A degradált gyógyszermolekulákra is igaz ez a megállapítás, hiszen nagy valószínűséggel ezek gázhalmazállapotúak, a felfogott degradált gyógyszermolekulák pedig a spektroszkópiai vizsgálatok szerint elenyésző részét képezik a létrehozott részecskéknek.

5.2.5 Összefoglalás

Az aprított részecskék kialakulási mechanizmusának megismerése érdekében meghatároztuk az anyagok releváns optikai tulajdonságait és ezek segítségével közelítő hőmérsékletszámításokat végeztem. Az eredmények alapján az általunk keltett és analizált részecskék egyik hullámhossz esetén sem származhatnak a lézernyalábbal közvetlenül besugárzott térfogathoz, így az abláció fotomechanikai effektusainak eredményeként jönnek létre, melyek nincsenek hatással az anyag kémiai kötéseire. A gyorsfényképezéses felvételek azt mutatták, hogy a bekövetkező robbanások során igen változatos méretű töretek, részecskék keletkeznek. Kezdetben a kisebb, majd az idő előrehaladtával egyre nagyobb részecskék lépnek ki a tableta felszíni rétegéből. A lökeshullám frontok kinematikai vizsgálatával, a kialakult nyomások meghatározásával és az ablált tabletták felszínének morfológiai vizsgálatával pedig képet kaptunk a létrejött fotomechanikai effektusok nagyságáról.

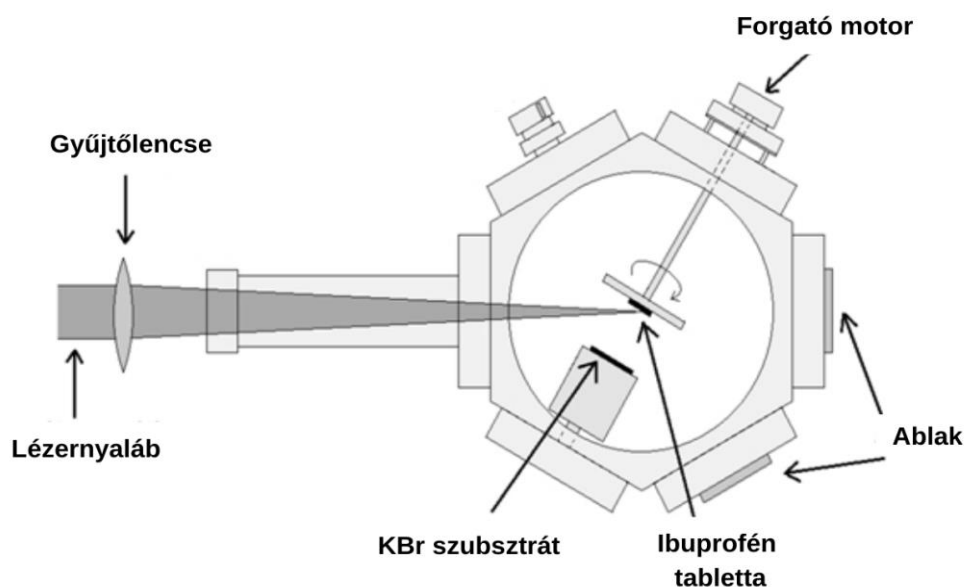
5.3 Amorf és kevert fázisú ibuprofén vékonyréteg előállítása impulzuslézeres rétegleválasztással (PLD)

A gyógyszerhatóanyagok oldódási tulajdonságainak javítására a részecskeméret csökkentés mellett, a szilárd fázisú részecskék amorfizációja nyújt még lehetőséget. E fejezetben ibuprofén gyógyszerhatóanyag kristályossági állapotának módosítását mutatom be, melyet PLD módszerrel végeztem. A korábban használt hatóanyagok közül egyedül az ibuprofén az, amelynek molekulája folyadék és gőz halmazállapotban is létezik. Így amorf fázis létrehozására a korábban alkalmazott anyagok közül csak ennél a hatóanyagnál van lehetőségünk. PLD során a létrehozott vékonyrétegek igen gyakran amorf fázist vesznek fel, amikor a szubsztrát nem megfelelő hőmérsékletű. Kísérleteimben nanoszekundumos és femtoszekundumos impulzusidejű UV lézernyalábokkal végeztem a vékonyrétegek létrehozását. A vékonyrétegek építését a vákuumkamra különböző nyomásértékei mellett és atmoszférikus nyomáson is megvalósítottam. A korábbi módszerek, melyek a hatóanyagok stabil amorf állapotát hivatottak létrehozni általában anyag-specifikusak. Az alacsony olvadási hőmérséklettel rendelkező gyógyszer-molekuláknál (pl. ibuprofén; $T_0=75-77\text{ }^{\circ}\text{C}$) pedig különösen nagy kihívást jelenthet, ahol az amorfizáció előtt az anyag szakszerű előkészítése és egyéb adalékanyagok hozzáadása nélkülözhetetlen, ezért relatíve bonyolult és költséges módszernek számítanak. A PLD módszer tehát egy új és adalékmentes lehetőséget nyújt amorf fázisú ibuprofén létrehozására.

5.3.1 Ibuprofén tabletták PLD-je vákuumkörnyezetben különböző impulzusidejű lézernyalábokkal

A kísérleteimet egy tipikus PLD elrendezésben (20. ábra) valósítottam meg. Az alkalmazott lézernyaláb egy KrF excimer lézerből származott (LLG Twinamp, FWHM=18 ns, $\lambda=248\text{ nm}$, $f=10\text{ Hz}$). A nyalábot egy 40 cm fókusztávolságú ömlesztett kvarc lencsével fókuszáltam a minta felszínére, amelyet egy forgatható tartón helyeztem el. A minták minden esetben gyári porból összepréselt ibuprofén tabletták voltak, melyeket 175 MPa nyomáson préseltek. Szubsztrátként KBr lemezeket használtam, melyeket 145 mg porból préseltem össze. A mintát és a szubsztrátot egymással szemben, 5 cm távolságra egy vákuumkamrába helyeztem, amelyben a kamranyomásokat rotációs és turbo-molekuláris vákuumszivattyúk segítségével 10 mbar és 10^{-4} mbar között változtattam. Az alkalmazott lézernyaláb energiasűrűségét fixen 3 Jcm^{-2} -en tartottam és mindegyik vékonyréteg 10000 impulzussal

készítettem el. Bár az előző fejezet kísérletei azt mutatták, hogy atmoszférikus nyomáson nem kelthetőek megfelelő kémiai szerkezetű részecskék, ettől függetlenül itt is elvégeztem a kísérleteket a teljes kísérleti paramétersor lefedése érdekében. A részecskék ezen a nyomáson nem tudták elérni a KBr szubsztrát felszínét, ezért az összegyűjtésüket az előző fejezetben leírt módszerhez hasonlóan végeztem el.



20. ábra: PLD kísérleti elrendezés.

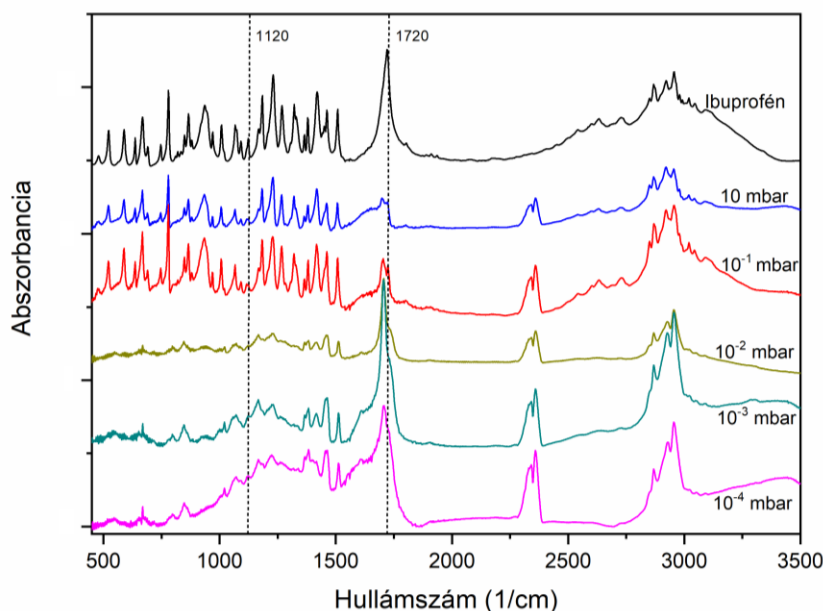
A folyamatot femtoszekundumos lézerrel is megismétltem, ugyanilyen elrendezésben, szintén KrF excimer lézer segítségével (Short Pulse KrF Dye-Excimer Hybrid Laser System, FWHM=500 fs, $\lambda=248$ nm, $f=2,5$ Hz). Itt a lézernyaláb energiasűrűségét 1 Jcm^{-2} -re állítottam be, mivel ez volt az elérhető legnagyobb energiasűrűség. A vákuumkamrában uralkodó nyomásértékeket két értékre állítottam be, 10^{-1} mbar és 10^{-4} mbar nyomásra.

5.3.2 A létrehozott vékonyréteg spektroszkópai vizsgálata

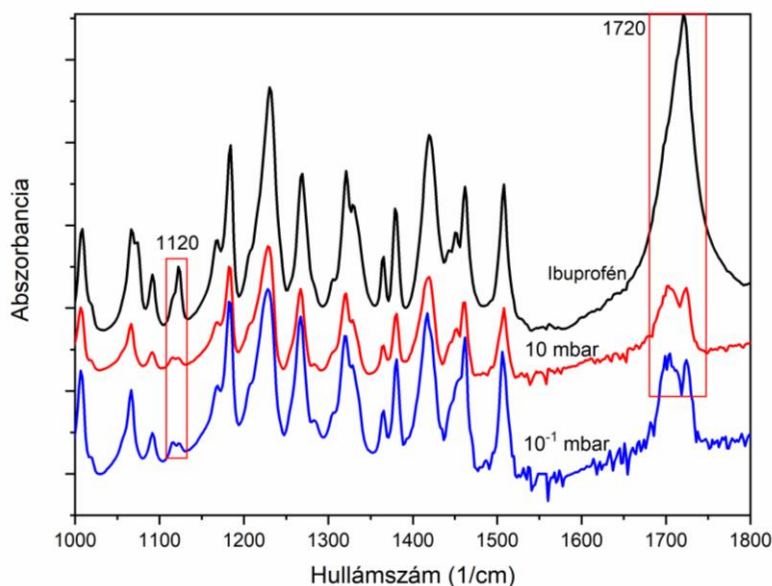
A szubsztrátra felvitt ibuprofén réteget FTIR és Raman spektroszkópai vizsgálatoknak vetettem alá annak érdekében, hogy képet kapjunk a végtermékek kémiai összetételéről. A szubsztrátként alkalmazott KBr tabletta alkalmas volt FTIR spektroszkópai mérésekre, így a minták további előkészítést nem igényeltek és rögtön az elkészítés után vizsgálhatóak voltak.

a) Az FTIR spektroszkópiai vizsgálatok eredményei

A kezdeti kísérleti paraméterek (FWHM=18 ns; $p=10^{-10^{-4}}$ mbar) mellett elkészített minták FTIR spektruma láthatók a 21. ábrán. Itt az eredmények már korántsem egyértelműek és a spektrumok nem mutatnak százszázalékos egyezést a karakterisztikus csúcsok egyeztetése során, ezért mélyrehatóbb vizsgálatokat igényelnek.



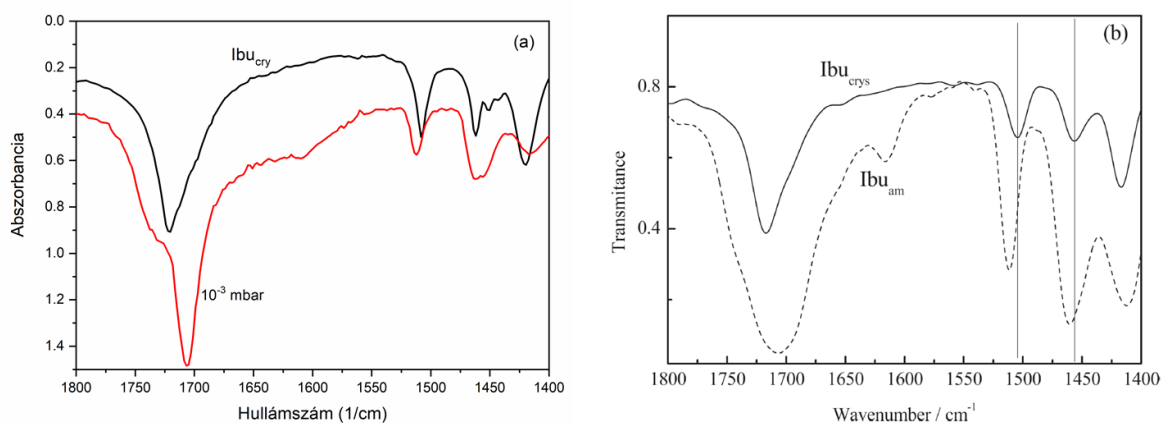
21. ábra: Ibuprofén vékonyrétegek FTIR spektrumai a különböző kamranyomások esetén.



22. ábra: FTIR spektrumok 10 és 10^{-1} mbar kamranyomások esetén. A karakterisztikus csúcsokban lévő változást piros négyzetekkel jelöltem.

Észrevehetjük, hogy 10 - 10^{-1} mbar nyomások esetén minimális eltérés van a karakterisztikus csúcsok helyzetében. Ezt a jelenséget a 22. ábrán fel is tüntettem kinagyítva a kézenfekvőbb vizsgálhatóság érdekében. Láthatjuk, hogy csupán az 1120 és 1720 $1/\text{cm}$ -en elhelyezkedő

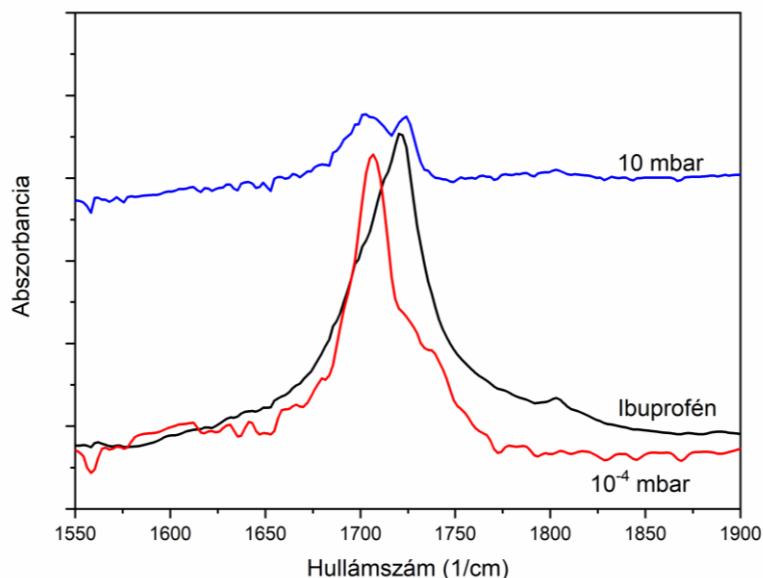
csúcsok esetén figyelhetünk meg változást, amikor is ez a két csúcs felhasad. Az irodalomban fellelt vizsgálatok azt mutatják, hogy a két csúcs megfelel az ibuprofén molekula C=O (1720 cm^{-1}) és C-O kötések rezgési energianívóinak.[88,93] Mindkét kötés a karbonil csoporthoz tartozik, amely felelős a molekulák közötti hidrogénkötések, azaz a kristályos szerkezet létrejöttéért. Így arra következtethetünk, hogy ezeken a nyomásokon a molekulák közötti kölcsönhatásokban hoztam létre változást, míg a molekula egésze érintetlen maradt. Még több eltérést találhatunk 10^{-2} - 10^{-4} mbar nyomáson készült minták spektrumában. Itt csak részleges egyezés volt megfigyelhető és több csúcs is eltolódott az eredeti helyétől. Főként az 1500 1/cm alatti tartományban láthatunk jelentős eltéréseket, míg az e feletti tartományban lévő csúcsok szinte teljesen megegyeznek. (A $2000\text{-}2500\text{ 1/cm}$ közötti csúcsok szintén csak a minta H_2O és CO_2 tartalmának jele és nem kapcsolódik a molekula szerkezetéhez.[80]) Ezek a spektrumok további vizsgálatok alapján egyezést mutattak az irodalomban fellelhető amorf ibuprofén FTIR spektrumával.[94,95] A 23. ábrán ezt a megfelelést mutatom be, melyen az általam készített vékonyréteg spektrumát hasonlítom össze az irodalomban talált spektrummal. Az ábrán az abszorpciós spektrum helyett a transzmissziós spektrumokat tüntettem fel a könnyebb összehasonlíthatóság érdekében. A többi (10^{-2} mbar; 10^{-4} mbar) nyomáson készített rétegek spektrumai teljes egyezést mutattak az ábrán feltüntetett (10^{-3} mbar) spektrummal.



23. ábra: FTIR spektrumok (a) az általam készített mintáról 10^{-3} mbar-on (piros görbe), valamint a kristályos ibuprofén referenciáról (fekete görbe) és (b) az irodalomban fellelhető párjaikról (szaggatott vonal).[95]

Még egy fontos megállapítást szükséges tennem. A korábban tárgyalt csúcsfelhasadások során az amorf és tisztán kristályos fázishoz tartozó csúcsok együttesen visszaadják a 10^{-1} mbar nyomáson készített rétegek felhasadt csúcsait (24. ábra). Ebből

azt a következtetést vonhatjuk le, hogy ezekben a rétegekben együttesen van jelen a kristályos és az amorf fázisú ibuprofén.



24. ábra: C=O kötés megnyúlásához tartozó rezgési nívók változása az amorf (piros), a kristályos (fekete) és kevert fázisú (kék) ibuprofénben.

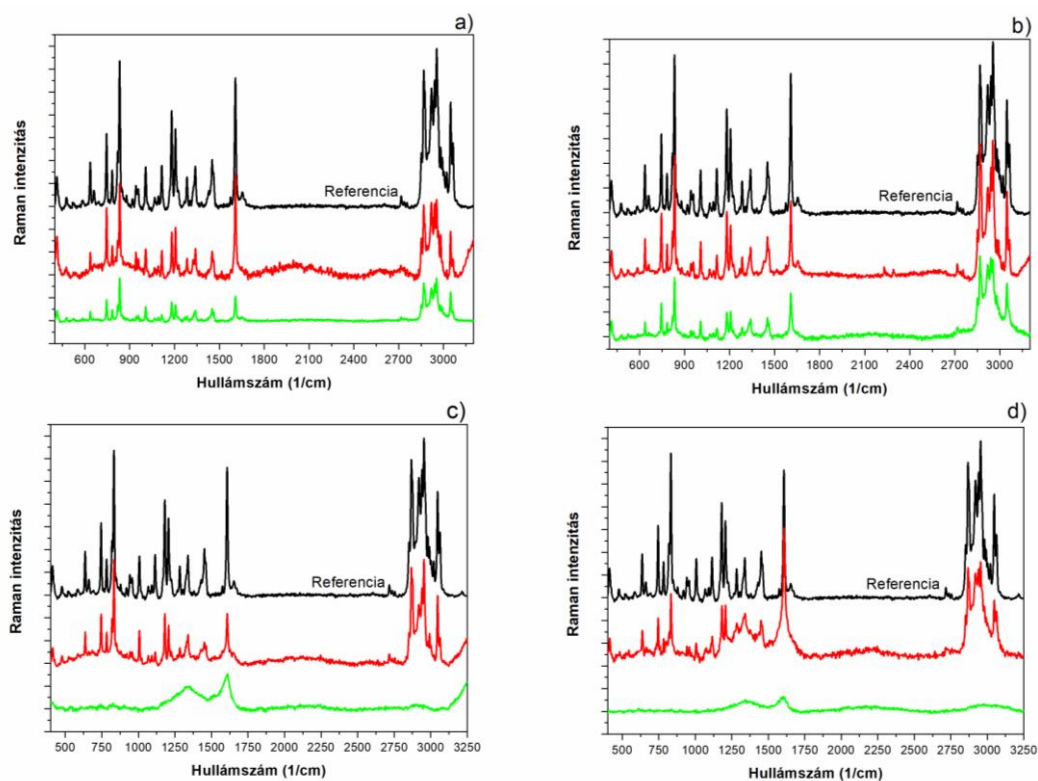
A vizsgálatokat légköri nyomáson és femtoszekundumos impulzussal készített rétegeken is elvégeztem, azonban az eredmények egyértelmű kémiai roncsolódást mutattak minden esetben. Atmoszférikus nyomáson egyértelmű volt a degradáció, míg femtoszekundumos esetben változás volt megfigyelhető a különböző nyomásokon (10^{-1} mbar- 10^{-4} mbar) készült rétegek FTIR spektrumai között. A magasabb nyomáson (10^{-1} mbar) még egy-két csúcs megegyezett a referencia csúcsokkal, amiből arra következtethetünk, hogy a molekula ugyan degradálódott, de bizonyos részei megmaradtak. Ezzel szemben a legnagyobb változás 10^{-4} mbar nyomáson volt tapasztalható, ahol egyetlen korábbi csúcsot sem lehetett beazonosítani így a molekulák szinte teljesen atomjaikra estek. A kémiai degradáció miatt ezeken a kísérleti paramétereken készített rétegekkel nem dolgoztunk a továbbiakban, de a külső nyomástól függő degradáció megjelenése (melyet ns impulzusok esetén is tapasztalhattunk) fontos következtetésekhez vezetett a későbbiekben.

Az FTIR spektrumok alapján tehát arra következtethetünk, hogy nanoszekundumos UV ($\lambda=248$ nm) lézerpulzusokkal magasabb kamranyomás mellett (10^{-1} mbar) kevert fázisú, míg alacsonyabb nyomások mellett (10^{-2} - 10^{-4} mbar) amorf ibuprofén réteget sikerült előállítanunk.

b) A Raman spektroszkópiai vizsgálatok eredményei

Az FTIR spektroszkópia következtetéseit és eredményeit alátámasztandóan további Raman spektroszkópiás méréseket végeztem. Minden mintán több (10-11 db) spektrumot

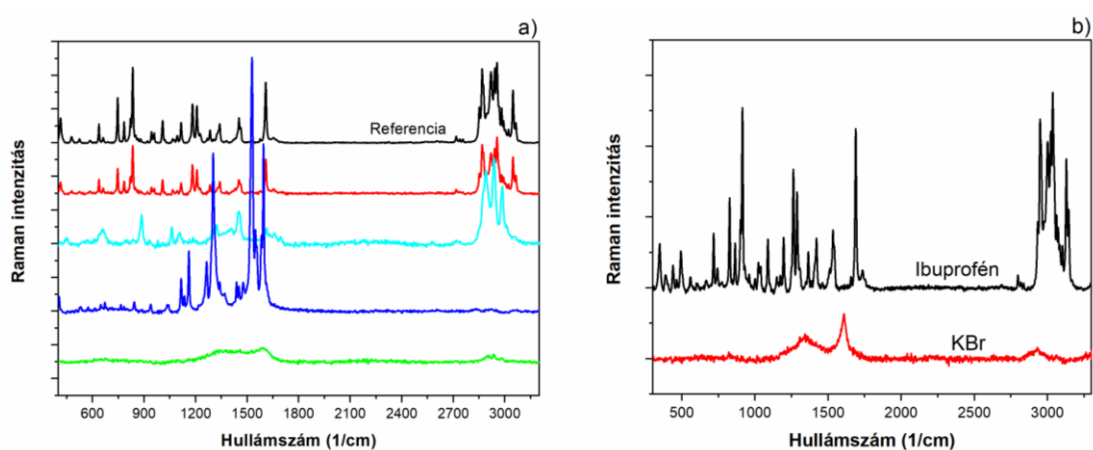
vettem fel, hogy megbizonyosodjak azok kémiai összetételének térbeli homogenitásáról. Ezek láthatóak a 25. ábrán, ahol csak a mérési sorozat során előforduló spektrumokból tüntettem fel egyet-egyét. Az itt elvégzett mérések is igen nagy változatosságot mutattak a minták között.



25. ábra: Készített vékonyrétegekről felvett Raman spektrumok (a) 10 mbar, (b) 10^{-1} mbar, (c) 10^{-2} mbar, (d) 10^{-3} mbar nyomásokon.

A 25. ábrán megfigyelhetjük, hogy 10 mbar (a) és 10^{-1} mbar (b) nyomásokon a felvett spektrumok mindegyike megegyezik a kristályos ibuprofén referencia spektrumával. Az irodalomban nem lelhető fel amorf ibuprofén Raman spektruma, ezért az ezzel való összehasonlítás lehetetlenné vált. Így ezeken a nyomásokon azt állapíthattam meg, hogy minden egyes vizsgált terület tartalmaz kristályos ibuprofént, ami megegyezik az infravörös spektroszkópiás megfigyeléseinkkel. 10^{-2} mbar (c) és 10^{-3} mbar (d) nyomásokon a kép már nem volt ilyen egyértelmű. A legtöbb esetben a 25. ábra (c) és (d) zöld görbéin látható spektrumokat kaptunk, amelyek megegyeznek a KBr spektrumával (26. ábra (b)). Néhány nagyobb részecskén, melyek elvétele helyezkedtek el a rétegeken, sikerült kristályos ibuprofén spektrumokat kimutatni (25. ábra (c) és (d) piros görbéi), azonban ezek számossága igen csekély volt. Ezek a részecskék a tablettából való kilökődés hatására kerülhettek át érintetlen formában. Minél alacsonyabb nyomáson végzettem a rétegépítést, annál kevesebb ilyen érintetlen részecske jelent meg a mintán. (Ezt a később megjelenített 28. ábrán található SEM képeken is megfigyelhetjük.) A tisztán KBr spektrumokat visszaadó területeket az optikai

mikroszkópos megfigyelések alapján teljesen beborította egy vékony réteg, melynél a csekély anyagmennyiség jelenléte megakadályozta, hogy a réteg anyagáról is információkat szerezzünk. Ennek a ténynek és az amorf ibuprofén referencia spektrumának hiányában nem tudjuk megerősíteni az amorf fázis jelenlétét vagy hiányát a mintában. A 26. ábrán a 10^{-4} mbar-on készült rétegek spektrumaiból kivehetjük, hogy jóval változatosabb görbéket kaptunk a minta vizsgálata során. Egyes esetekben szintén találtunk kristályos ibuprofén részecskét (piros görbe), azonban az elszórtan fellelhető részecskéken több módosult spektrumot figyelhettünk meg, melyek a vizsgált egységek roncsolódását jelzik.



26. ábra: 10^{-4} mbar nyomáson készült réteg Raman spektrumai (a) és (b) a tiszta KBr (piros) és ibuprofén (fekete) Raman spektruma.

Összefoglalásképpen, a magasabb nyomáshoz (10^{-1} mbar) tartozó rétegek egyértelműen kristályos állapotú ibuprofén tartalmat jeleztek, míg a többi rétegen csak elvétve találhatunk ilyen részecskéket/területeket és nagyobb részben a KBr felületét beborító vékony amorfnak tekintett részekből állnak. A 10^{-4} mbar nyomáshoz tartozó spektrumok továbbá bizonyos helyeken degradált részecskék jelenlétét mutatták.

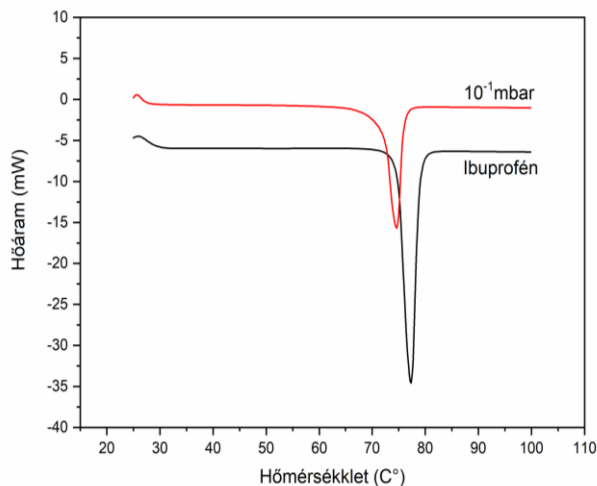
5.3.3 Az elkészített rétegek kristályossági állapotának vizsgálata

A mintákon további vizsgálatokat kívántunk végezni, melyekkel a rétegek kristályossági állapotát határozhatjuk meg és megerősíthetjük a spektroszkópai megfigyeléseket. Ennek érdekében DSC méréseket végeztünk, valamint SEM felvételeket is készítettünk.

a) DSC vizsgálatok

A kristályos állapot vizsgálatát hőtanilag is szükségesnek tartottuk elvégezni. A 27. ábrán látható a 10^{-1} mbar nyomáson készült réteg hőmérséklet profilja. A 70-80 °C közötti endoterm csúcs jelzi a szilárd-folyékony halmazállapot változást (olvadást). Láthatjuk, hogy

az olvadáspont eltolódik a tisztán kristályos ibuprofén olvadáspontjától. Ez a jelenség akkor figyelhető meg, amikor az anyag újrakristályosodik, vagy a mintában egyszerre több szilárd fázis van jelen.[96,97] Ebből arra következtethetünk, hogy a 10^{-1} mbar nyomáson létrehozott rétegek valóban kevert állapotban vannak.

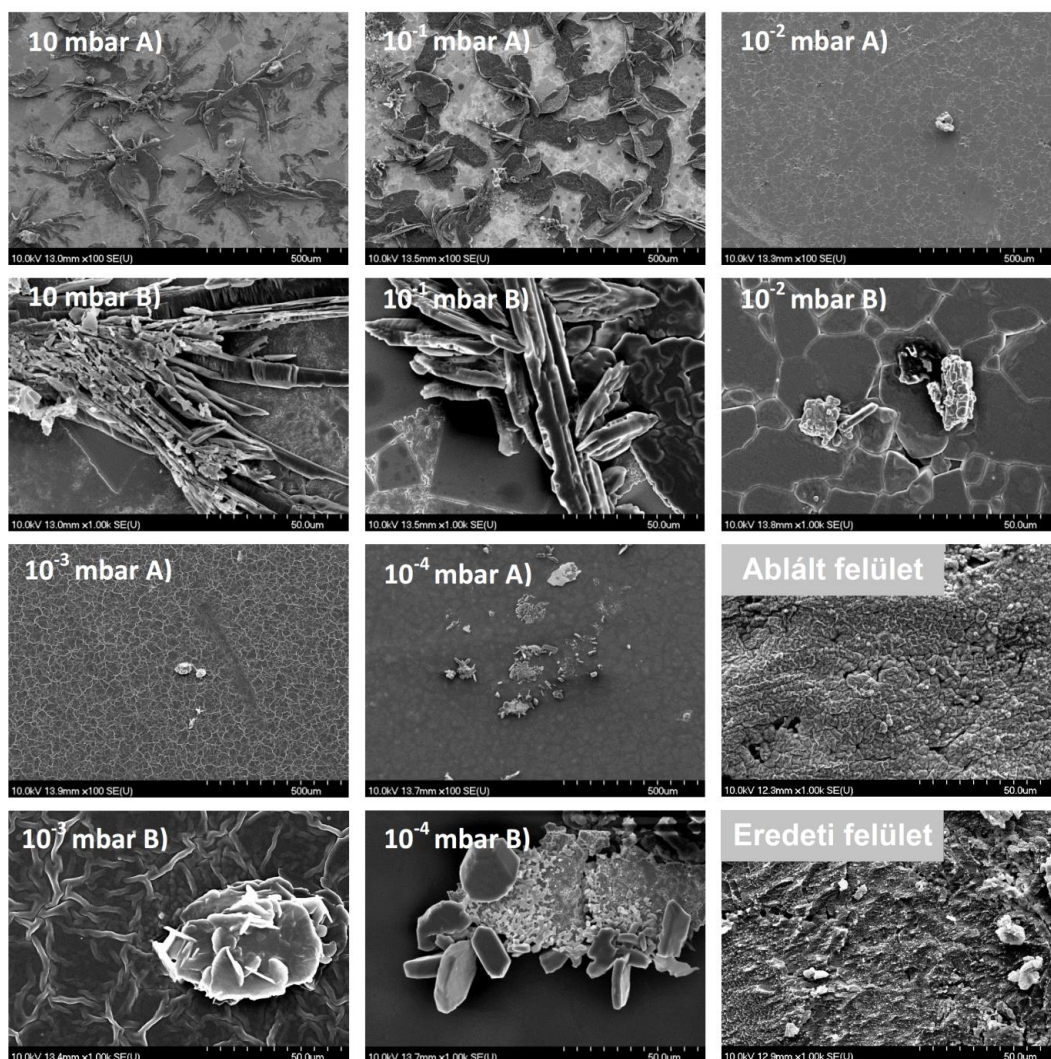


27. ábra: A tisztán kristályos ibuprofén (fekete) és a 10^{-1} mbar nyomáson készült réteg (piros) DSC termogramja.

b) Morfológiai vizsgálatok (SEM)

Az anyagok kristályossága általában a morfológiájuk alapján is megállapítható. Amorf anyagok esetén a minták többnyire jellegtelen geometriájú szerkezetet hoznak létre. A kristályráccsal rendelkező anyagok esetén viszont a rendezett rácsba történő beépülés miatt, a minták felszíne éles peremű, jól meghatározott formákat vesznek fel.[98] Az általunk elkészített SEM felvételeket a 28. ábra mutatja. A rétegek morfológiája a magasabb nyomások esetén (10^{-1} mbar) azonos jelleget mutat. A KBr felszínén nem egy összefüggő réteg, hanem nagyobb kristályszigetek terülnek el. Az alacsonyabb nyomásokon (10^{-2} - 10^{-4} mbar) ellenben a minták ettől teljesen eltérő karakterisztikát mutatnak, ugyanis itt a teljes KBr felszínt egy vékony egybefüggő réteg borítja, amelyen elszórtan helyezkednek el kisebb méretű részecskék. Ezen részecskék egy része kisebb kristályos egységeket tartalmaz (a Raman mérések alapján), más részükön azonban lekerekedett élű és amorf fázisra utaló jeleket fedezhetünk fel. Az ábrán az ablált és érintetlen tabletta felszíneket is feltüntettem

A minták kristályossági állapotának vizsgálatával tehát sikerült megerősítenem a spektroszkópiai megfigyeléseket, ami szerint 10 mbar és 10^{-1} mbar nyomásokon készült minták kevert (kristályos és amorf) állapotúak, míg a 10^{-2} mbar kamranyomáson és az alatt a szubsztrátot nagyrészt egy amorf egybefüggő ibuprofén réteg borítja be, melyen elvéve találhatunk kisebb részecskéket.



28. ábra: SEM képek a készített rétegerőről KBr szubsztráton 10 - 10^{-4} mbar nyomáson, valamint az ablált és eredeti tablettá felületéről. Nagyítások A) $\times 100$ és B) $\times 1000$.

5.3.4 Diszkusszió

Az elkészített minták összetételének nyomás- és impulzusidő függését fenomenológiai megállapításokkal támasztottam alá. Mint azt az előző fejezetben kiszámítottam, nagy energiájú UV ($\lambda=248$ nm) lézerimpulzusok esetén igen magas hőmérsékletek (10^4 - 10^5 K) jönnek létre a besugárzott térfogatban és a kémiai szerkezetükben nem módosult részecskék eredete a lézernyaláb másodlagos fotomechanikai és fototermális effektusaihoz köthető. Femtoszekundumos impulzusok esetén ezek a hatások minimálisak, így az itt keltett részecskék degradációja ezzel a megállapítással jól értelmezhető.[99] A mintából kilöködött anyag többféle halmazállapotú részecskéket tartalmaz, melyek nagy sebességekkel hagyják el a minta felszínét. Más szerves anyagok, mint például a polimerek esetén a nagyobb részecskék sebessége atmoszférikus nyomáson a 400 m/s-ot is elérheti, melyek sebességprofilja lineáris.[100] Az ibuprofén molekulák folyadék ($T_0=75$ - 77 C°) és gőz

($T_f=157\text{ C}^\circ$) halmazállapotban is megtartják funkcióikat, így a kilökődött, nem szilárd halmazállapotú részecskék utólagos kondenzációjára is van lehetőség. A tabletták porózus volta lehetővé teszi nagyobb méretű, mikrométeres részecskék kilökődését is. A mintába préselés során bezárt légbuborék zárványok még jobban elősegítik ezt a folyamatot. Így vákuumban ezek a nagyobb méretű részecskék is könnyedén eljuthatnak az 5 cm-re lévő szubsztrátra, szemben az atmoszférikus nyomáson végzett kísérletekkel. A kamrában uralkodó nyomás erősen befolyásolja a PLD során keletkezett plazma dinamikáját és a keltett részecskék mozgását. A kilökődött részecskék kezdeti kinetikus energiái annál nagyobbak, minél kisebb a környezeti nyomás.[101] Ezen felül alacsonyabb nyomásokon a részecskék a közegellenállási erő csökkenése miatt nagyobb sebességgel érkeznek meg a szubsztrátra is. Atmoszférikus nyomáson a részecskék teljesen szétroncsolódtak, amiből arra lehet következtetni, hogy a besugárzott térfogathoz származnak. Ebben az esetben a mintában lévő légbuborék zárványok nem befolyásolják a részecskék kilökődését. A nyomást csökkentve tehát egyre magasabb ablációs hozamot és egyre nagyobb kinetikus energiájú részecskéket érhetünk el.

Korábbi tanulmányok megmutatták, hogy a kialakult plazmafelhő hossza (amely a degradált részecskék nagy részét és az ionokat tartalmazza) 10^{-10} mbar nyomásokon 0,1-1 cm-es tartományba, míg 10^{-2} - 10^{-4} mbar esetén 2-15 cm-es tartományba esik.[102–104] Ez összhangban áll azzal a megfigyeléssel, hogy a 10^{-10} mbar kamranyomás mellett készült minták esetén a plazma és az őt követő anyagfelhő nem éri el a szubsztrátot. A nagyobb méretű részecskék kinetikus energiájuk révén képesek eljutni a KBr felszínére, így azon nem egy összefüggő bevonat, hanem kristályos szerkezetű anyagot tartalmazó szigetek jelennek meg (28. ábra). Alacsonyabb nyomásokon (10^{-2} - 10^{-4} mbar) ellenben a nyomás csökkenésével az anyagfelhő egyre nagyobb része éri el a szubsztrátot és akár degradált ibuprofén részecskék is átkerülhetnek a szubsztrátra, mint azt a Raman spektroszkópiai vizsgálatok is jelezték 10^{-4} mbar esetén (26. ábra (a)). Az állapotváltozások nyomásfüggésének feltárása érdekében megvizsgáltam a kapcsolatot a becsapódási sebességek és az olvadáshoz szükséges energiák között. Az ibuprofén olvadáshőjét alapul véve ($\Delta H=105,4\text{ J/g}$) kiszámítható, hogy mekkora az a minimum becsapódási sebesség ($v_{\min}=460\text{ m/s}$), amely szükséges a részecskék megolvadásához. Mivel nem ismerjük e sebességek pontos értékét az egyes nyomásokon, ezért azt feltételezhetjük, hogy ezt a sebességet a szilárd és folyékony halmazállapotú részecskék 10^{-1} és 10^{-2} mbar között érik el, ahol a réteg összetételének változása bekövetkezik. Ez nagyságrendileg összeegyeztethető a korábban említett tanulmány eredményeivel ($p=1\text{ bar}$; $v\sim 400\text{ m/s}$).[100] A magasabb nyomásokon, ahol mindkét szilárd


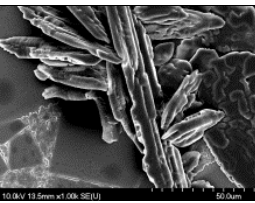
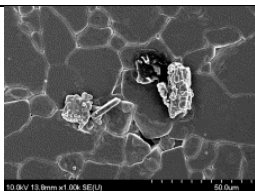
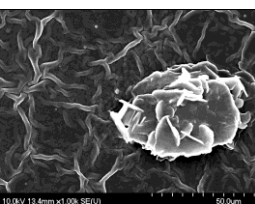
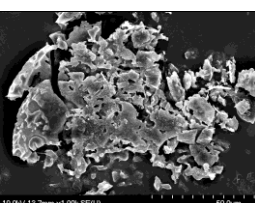
fázist megfigyelhettük a legtöbb részecske a karakterisztikus értéknél ($v=460$ m/s) kisebb sebességgel csapódott be (22. ábra). Ezzel szemben az alacsonyabb nyomásokon a részecskék túlnyomó többségének sebessége feltehetőleg magasabb volt az olvadás eléréséhez szükséges értéknél és becsapódás során azonnal elvesztette kristályos állapotát. A becsapódás utáni pillanatokban, a KBr viszonylag jó hővezetésének köszönhetően ($k=4,8$ Wm⁻¹K⁻¹), a részecskék nagyon gyorsan lehűltek, ami az amorf fázis létrejöttét eredményezte a 10^{-2} - 10^{-4} mbar tartományon. Korábbi vizsgálatok során más szerves anyagoknál már figyeltek meg hasonló jelenségeket.[37,105] Ezen felül további nukleációs hatások mehetnek végbe a céltárgy és a szubsztrát között megtett úton a kamranyomástól függően. Magasabb kamranyomások mellett ugyanis a szubsztrát felé repülő részecskék több gázcseppel ütköznek, visszaverődnek, visszaszóródnak, ami a minta gáz vagy folyékony halmazállapotú részeinek a sűrűsödését okozza. Ekkor repülés közben túltelített állapot alakulhat ki, mely a kilökődött anyag fokozott kondenzációját okozhatja.[106,107]

A fenti megállapítások a következőképpen összegezhetőek. Impulzuslézeres besugárzás során a környező nyomás több szempontból is befolyásolja a minták összetételét. Egyrészt vákuumkörnyezetben a porózus mintából kilépő, nagyobb méretű, érintetlen részecskék könnyedén eljuthatnak a mintával szemben elhelyezett szubsztrátra, mivel a préselés alatt a porózus mintába kerülő légbuborékok elősegítik ezek kilökődését. Ez lehetségessé teszi a kémiai érintetlen részecskék depozícióját, szemben az UV lézernyalábbal atmoszférikus nyomáson végzett kísérletekkel. Másrészt a kamranyomás csökkentésével nagyobb kinetikus energiájú részecskék lépnek ki és a közegellenállási erő is csökken. Így a becsapódás során az ablátum fázisátalakulásokon megy keresztül a repülési sebesség függvényében. Harmadrészt a közepes szabad úthossz hangolásával, azaz a kamranyomás gondos megválasztásával elérhető, hogy az abláció segítségével keletkező roncsolódott, ionizált részek kiszűrhetőek legyenek. Femtoszekundumos impulzusok alkalmazása során a fotomechanikai effektusok minimálisnak tekinthetőek, ezért ezek nem alkalmasak érintetlen ibuprofén molekulák depozíciójára.

5.3.5 Összefoglalás és konklúzió

A kísérleti eredményeim egyszerűbb átláthatósága érdekében létrehoztam a 3. táblázatot. Itt az egyes kísérleti paraméterek mellett ismertetem az elkészített minták tulajdonságait. Atmoszférikus nyomáson csak teljesen degradált részecskéket sikerült előállítanom. Ugyanez elmondható a femtoszekundumos impulzusokkal létrehozott mintákra

is. Egyedül csökkentett kamranyomásoknál és nanoszekundumos impulzusok segítségével sikerült kevert vagy amorf állapotú ibuprofén rétegeket előállítani a kamrában uralkodó nyomás értékeinek függvényében. A kísérleti paraméterek gondos megválasztásával tehát a PLD egy újszerű megközelítést nyújt a gyógyszer technológia számára, amely a hatóanyagok oldódási tulajdonságainak javítását szolgálhatja.

KrF excimer lézer, $\lambda=248$ nm, $F=3$ J/cm ²				
Impulzus- idő	Nyomás	FTIR (kémiai összetétel)	Kristályosság	SEM kép
ns	1 bar	Degradált Ibuprofén	x	x
ns	10 mbar	Ibuprofén	kristályos és amorf	
ns	10 ⁻¹ mbar	Ibuprofén	kristályos és amorf	
ns	10 ⁻² mbar	Ibuprofén	amorf	
ns	10 ⁻³ mbar	Ibuprofén	amorf	
ns	10 ⁻⁴ mbar	Ibuprofén	amorf	
fs	10 ⁻¹ mbar	Degradált Ibuprofén	x	x
fs	10 ⁻⁴ mbar	Degradált Ibuprofén	x	x

3. táblázat: PLD módszerrel előállított ibuprofén rétegek különböző kísérleti paraméterek mellett.

5.4 Mágneses gyógyszer-nanokompozit részecskék előállítása PLA módszerrel

A mai modern gyógyszer-technológiai fejlesztésekben mágneses gyógyszer-nanokompozitok alkalmazásával molekuláris szinten nyílik lehetőség diagnosztizálni és kezelni korábban nehezen gyógyítható betegségeket. Irányított gyógyszer-szállítással a hatóanyagok felhalmozhatóak az emberi test kívánt területein, ezáltal nagyságrendekkel növelhető azok hatásfoka és csökkenthetőek káros mellékhatásai. Ez új utakat nyit a terápiás alkalmazások lehetőségeiben, ezért napjainkban ezek kutatására kiemelt figyelmet és erőforrásokat szentelnek. Céлом volt, hogy elsőként hozzak létre mágneses gyógyszer-nanokompozit részecskéket impulzuslézeres abláció segítségével. Ezen felül a létrehozott kompozit részecskék fizikai és kémiai tulajdonságainak átfogó tanulmányozása is szükségessé vált, melyek befolyásolják azok alkalmazhatóságát.

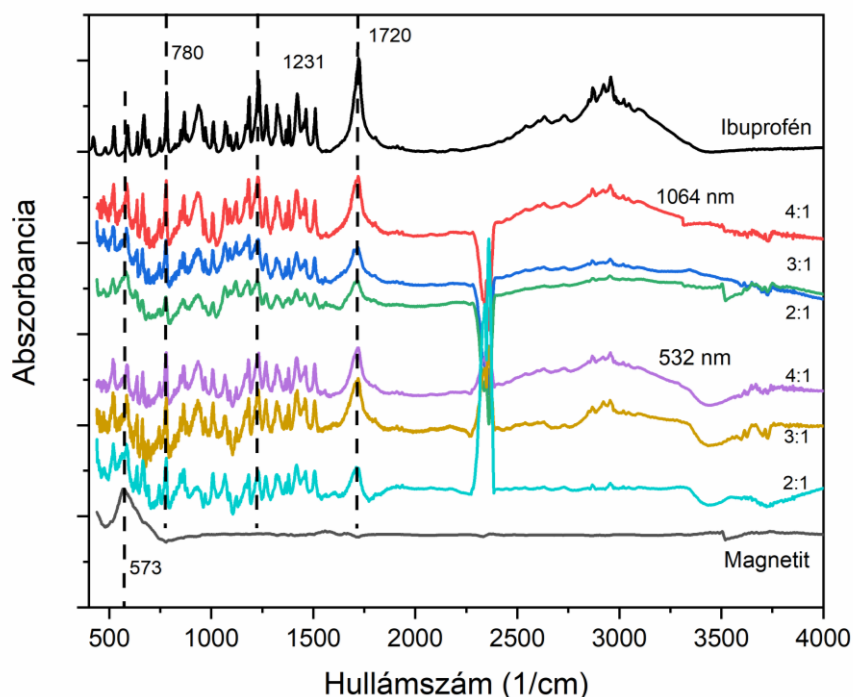
5.4.1 A nanokompozitok létrehozása impulzuslézeres besugárzással

A nanokompozitok keltéséhez az 5.1 fejezetben ismertetett kísérleti elrendezést (9. ábra) építettem meg, azzal a különbséggel, hogy céltárgyaként tiszta ibuprofén és magnetit nano-por keverékéből összepréselt tablettákat alkalmaztam különböző tömegarányokban (4:1; 3:1; 2:1). A tabletták itt is 175 MPa nyomáson hidraulikus présrel készültek. A korábbi kísérleteim tapasztalataiból kiindulva, a PLA megvalósításához egy Nd:YAG lézer első és második felharmonikusát (Quantel, FWHM=6 ns, $\lambda = 532$ nm/1064 nm, $f=10$ Hz) alkalmaztam a tabletták besugárzására, melyek energiasűrűségét mindkét hullámhosszon, fix 9 Jcm^{-2} -n tartottam. A kísérleti elrendezés többi paramétere megegyezett a korábban ismertetett paraméterekkel

5.4.2 A keltett többkomponensű részecskék spektroszkópiai vizsgálata

a) Az FTIR spektroszkópia eredményei

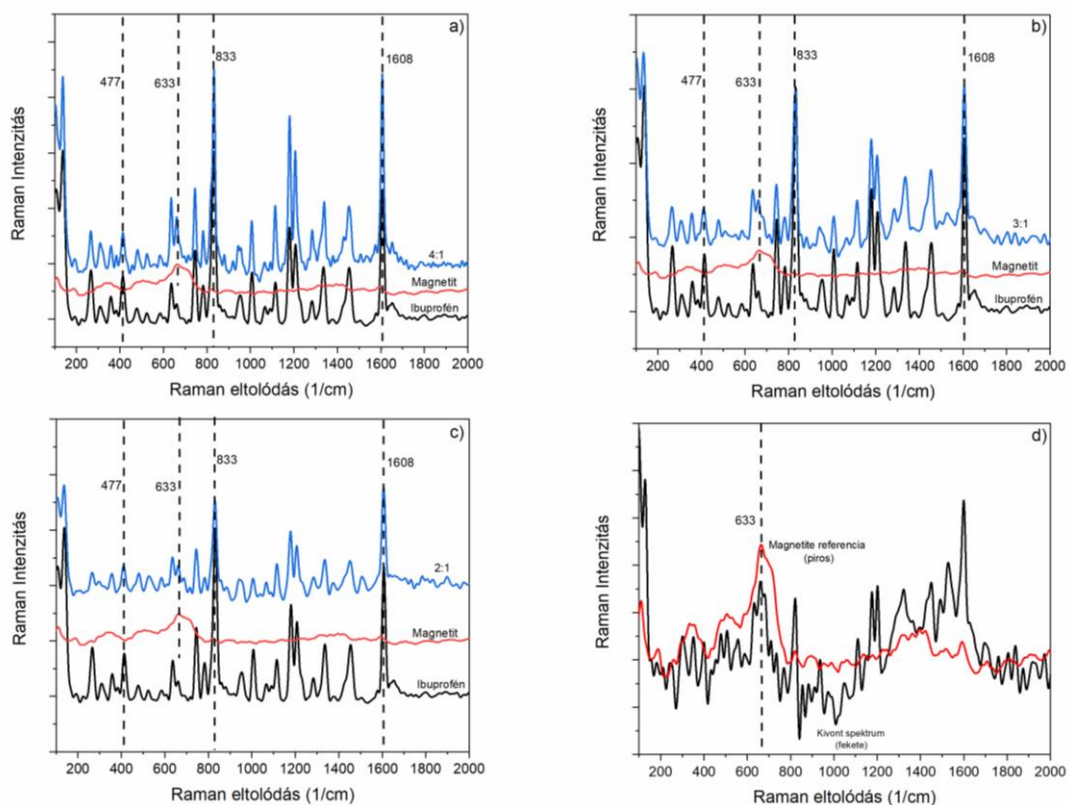
A szűrőn összegyűjtött részecskéket 150 mg KBr porral összekeverve, pasztilla formájában helyeztem el az FTIR spektroszkópba, hasonlóan a korábbi mérésekhez. A minták FTIR spektrumait figyelhetjük meg a 29. ábrán a különböző keverési arányok és hullámhosszak esetén. Feltüntettem az ibuprofén (1720 cm^{-1} (H-kötött C=O); 1231 cm^{-1} (H-kötött C-OH); 780 cm^{-1} (C=O))[93] és a magnetit nano-por (573 cm^{-1})[108] karakterisztikus csúcsait, melyek alapján látható, hogy a minták minden esetben kémiailag érintetlen ibuprofén és magnetit részecskéket tartalmaznak.



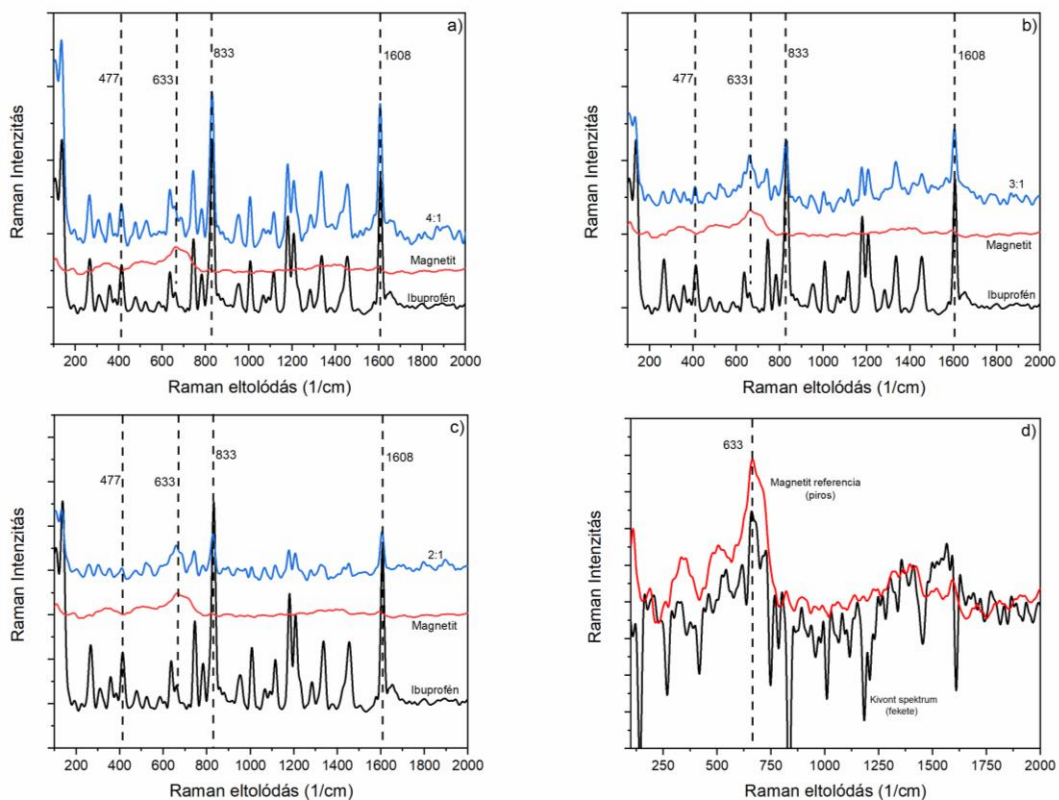
29. ábra: PLA módszerrel létrehozott ibuprofén-magnetit részecskék FTIR spektrumai.

b) Raman spektroszkópia eredményei

A mintákról a már jól bevált metódus szerint Raman spektrumokat is felvettünk a részletesebb vizsgálat érdekében. Ez igazi kihívást jelentett, mivel a gerjesztő lézernyaláb optimális hullámhossza és teljesítménye igencsak eltért a két összetevő esetén. Így nagyon körültekintően kellett eljárni, hogy a mérés alatt a két komponens közül egyik se roncsolódjon a lézernyaláb okozta hőhatások miatt,[109] hiszen ez teljesen ellehetetlenítette volna az értékelhető mérések elvégzését. A PLA során készített minták Raman spektrumai láthatóak a 30. ($\lambda=532$ nm) és 31. ábrán ($\lambda=1064$ nm). Minden mintán 9-10 db spektrumot vettünk fel, melyek jó közelítéssel identikusak voltak. Az ibuprofén karakterisztikus Raman csúcsai (477 , 833 és 1608 cm^{-1})[93] egyértelműen megjelennek minden mintában. A magnetit jelenlétének kimutatása ellenben a nyers spektrumok alapján igen problémásnak bizonyult, hiszen a fent említett okok miatt csak minimális teljesítmény mellett dolgozhattunk, ami lecsökkentette a kinyerhető Raman jelek erősségét. A magnetit egyetlen lényeges Raman csúcsa (633 cm^{-1}) egy nagyságrenddel kisebb intenzitású, mint az ibuprofén azonos hullámhossz tartományon elhelyezkedő, átfedésben lévő csúcsai. Annak érdekében, hogy kimutathatóvá tegyük a magnetit csúcsát, minden spektrum esetén kivontuk az ibuprofén referencia spektrumot a mintáinkból (30-31. ábra (d)). Ehhez az ibuprofén 833 cm^{-1} -es csúcsára normáltam a mintáról készült spektrumokat. A kivonás után minden egyes kísérleti paraméterrel készített mintánkban megtaláltuk a magnetit 633 cm^{-1} -es csúcsát.



30. ábra: 532 nm-es lézernyalábbal készült minták Raman spektrumai a) 4:1; b) 3:1; c) 2:1 keverési arány mellett. A d) ábra a minták magnetit jelenlétét hivatott mutatni.



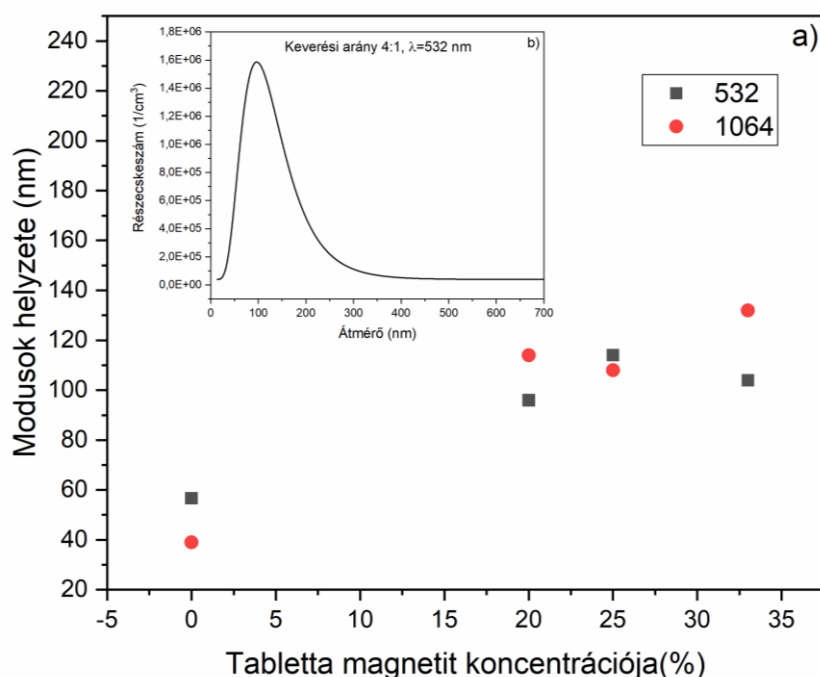
31. ábra: 1064 nm-es lézernyalábbal készült minták Raman spektrumai a) 4:1; b) 3:1; c) 2:1 keverési arány mellett. A d) ábra a minták magnetit jelenlétét hivatott mutatni.

5.4.3 A részecskék méreteloszlásának és morfológiájának vizsgálata

a) A méreteloszlási mérések eredményei

A gyógyszer-kompozitok optimális felhasználhatóságának egyik fokmérője a mikrométer alatti átlagos átmérő. Ennek igazolására SMPS mérőműszerrel vizsgáltuk a keltett keverék részecskéink méreteloszlását a 10 – 800 nm-ig terjedő mérettartományban. A lézerimpulzusok ismétlési frekvenciáját a lehető legkisebb értékre kellett állítani ($f=0,2$ Hz) annak érdekében, hogy a kialakított mágneses részecskék sokasága ne tömítse el a műszer belépő nyílását. Ez bizonyos fokú bizonytalanságot okozott a mérésekben, hiszen az SMSP által mért statisztikai sokaság nagysága jelentősen lecsökkent.

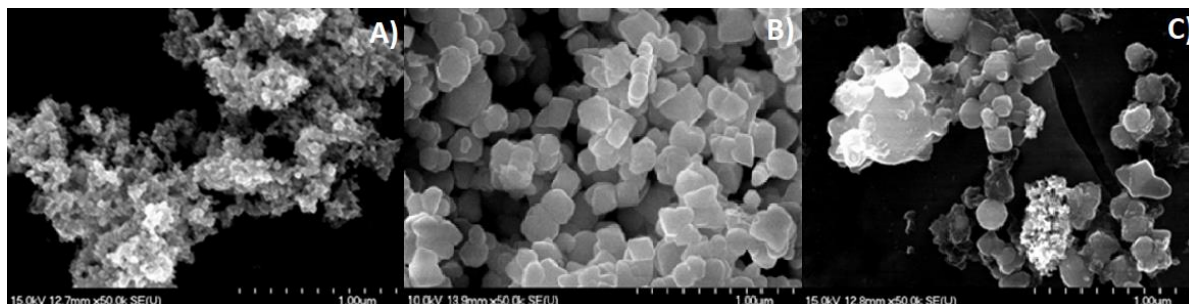
A 32. ábrán a különböző keverék arányú céltárgyakból PLA módszerrel létrehozott részecskék modulusai láthatóak 532 és 1064 nm ablációs hullámhosszak esetén. Ezen kívül az ábra a bal felső sarkában egy tipikus méreteloszlási görbét is feltüntettem. A mérési pontokra minden esetben lognormál eloszlási függvényt illesztettem (32. ábra (b)). Az ábrán a korábbi mérések során készített tiszta ibuprofén minta ablációs végtermékeinek az eredményeit is megjelenítettem az összehasonlíthatóság érdekében. A modulusok értéke 90 és 140 nm között helyezkedett el a PLA-nak alávetett keverék tabletták esetén, míg tiszta ibuprofénnel korábban 40-60 nm közötti modulusokat mértünk ugyanezen az energiasűrűségeen (9 Jcm^{-2}). Szükséges megjegyezmem, hogy itt is érvényes az a megállapítás, miszerint az SMPS műszer gázáramlási sebességének 0,3 l/perc értéke befolyásolja az elszállítható részecskék méretét.



32. ábra: Keltett részecskék méreteloszlásainak modulusai az egyes kísérleti paraméterek függvényében.

b) Morfológia vizsgálatok (SEM) eredményei

Abban az esetben, amikor a két különböző anyag kompozitot alkot, akkor annak morfológiájában is várhatunk valamilyen változást. Ennek vizsgálata érdekében SEM felvételeket készítettünk (33. ábra) a keverék (c), valamint a tiszta ablált ibuprofén részecskékről (a) és magáról a kereskedelemben kapható magnetit nano-porról (b) is.



33. ábra: SEM felvételek 50 ezres nagyításban a PLA módszerrel létrehozott a) tiszta ibuprofén részecskékről; b) kereskedelemben kapható magnetit nano-porról és c) a létrehozott kompozitokról 3:1-es keverési arány esetén.

A kompozit minta ibuprofén és magnetit részei morfológiailag jól azonosíthatóak és láthatólag ezek jelentős része összekapcsolódott. Megfigyelhetjük a felvételeken, hogy bizonyos részecskék nagyobb átmérővel rendelkeznek, mint azt a méreteloszlás mérések mutatták. Ez egyrészt a részecskék szűrőre gyűjtésénél alkalmazott magasabb áramlási sebesség értékének köszönhető (2 liter/perc), másrészt a részecskéknek lehetősége van utólagosan is aggregálódni a szűrőn.

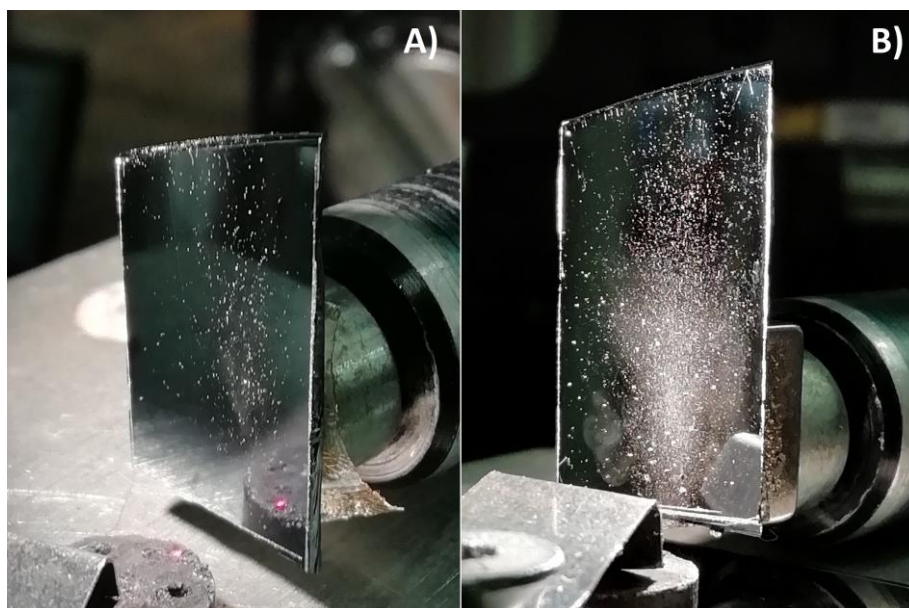
5.4.4 Kísérletek és vizsgálatok a keltett részecskékkel külső mágneses tér jelenlétében

Annak érdekében, hogy bizonyosságot nyerjünk az előállított részecskék mágnesezhetőségéről és arról, hogy ezek valóban összekapcsolódott állapotban vannak, külső mágneses teret alkalmaztunk többféle kísérleti elrendezésben. Kezdetben pumpa-próba összeállítással (8. ábra) gyorsfényképezést végeztünk az anyag-eltávozási folyamatokról mágneses tér hiányában és annak jelenlétében is. Majd a felhasznált Nd mágnes segítségével szilícium (Si) lapra összegyűjtött részecskéket spektroszkópiai vizsgálatoknak vetettük alá. Ezután olyan méreteloszlási vizsgálatokat végeztünk, melyeknél az áramlási térben alkalmaztunk mágneses eltérítéseket.

a) Gyorsfényképezés eredményei

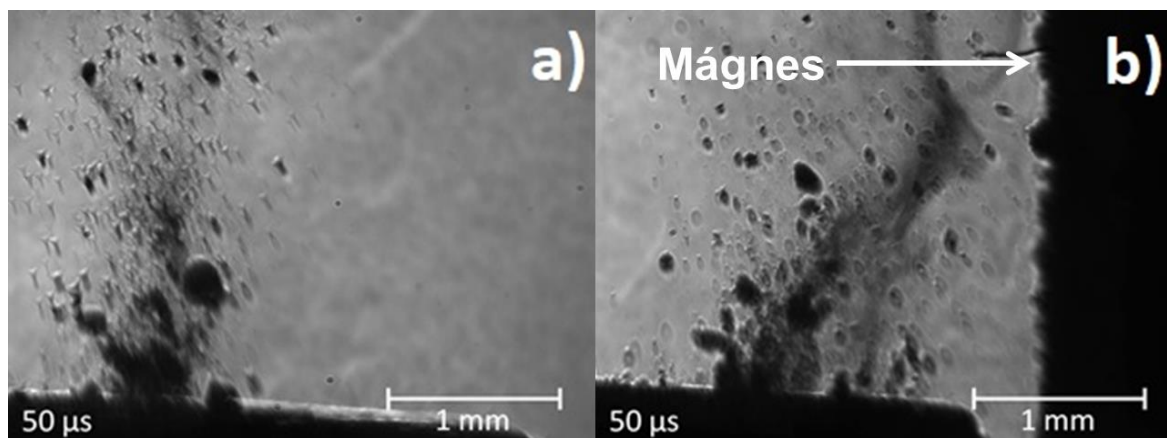
A 34. ábrán figyelhetjük meg, hogy a lézeres abláció során keletkező részecskék közül mekkora mennyiség rakódott le, a plazmafelhő terjedési irányával párhuzamosan elhelyezett

Si lapra, abban az esetben, amikor a lap mögé helyezünk egy mágneset (34. (b)) és amikor nem (34. (a)). A képekből tisztán látszik, hogy mágnes alkalmazásával sokkal több részecske gyűjthető össze a mágneses tér eltérítő hatásának következtében.

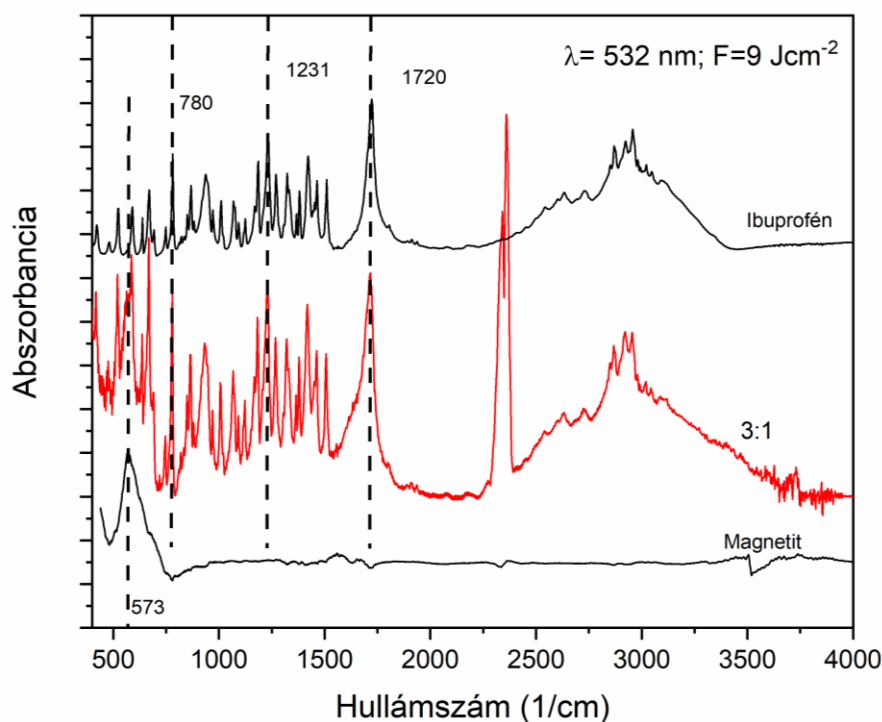


34. ábra: PLA segítségével keltett, Si lapra lerakódott részecskék a) mágneses tér hiányában és b) jelenlétében.

A 35. ábrán a gyorsfényképezéssel készített felvételeket mutatom be ugyanebben az elrendezésben. Mágneses tér hiányában a részecskék a felület normálisának irányában lépnek ki (35. (a)) és ebbe az irányba haladnak tovább. Mágneset alkalmazva azonban (35. (b)), a részecskék útvonalai jelentősen módosulnak és eltérülnek a tér irányába. A mágneses eltérítő erő jóval dominánsabb a kisebb átmérőjű részecskék esetén. A nagyobb méretű részecskék többségét ezzel a módszerrel sem tudtuk összegyűjteni, mivel ezek súlyuknál fogva nem jutottak el a Si lapig és visszahullottak a mintatartóra.



35. ábra: Gyorsfényképezéssel készült felvételek az abláció során kilökődő ibuprofén-magnetit részecskékről a) mágneses tér nélkül és b) mágneses tér alkalmazásával.



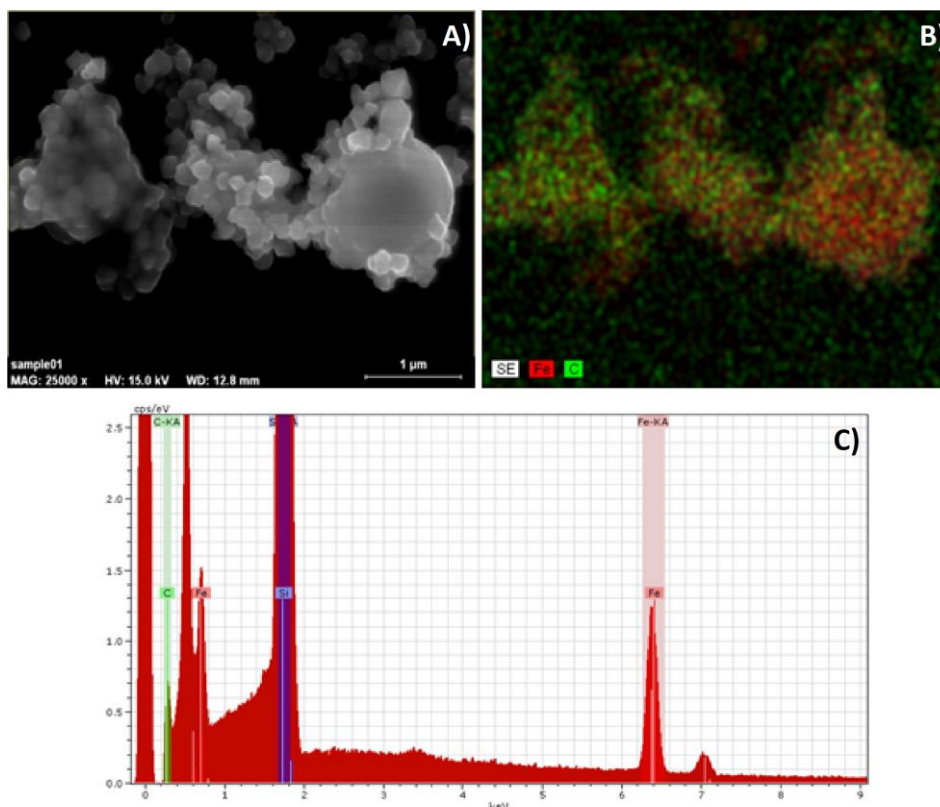
36. ábra: Mágneses térben eltérített részecskék FTIR spektruma 532 nm-es abláló lézernyaláb és 3:1-es keverési arányú tabletta esetén.

b) Mágnesesen eltérített részecskék FTIR spektroszkópiai vizsgálata

Az eltérített részecskék spektroszkópiai vizsgálata, a részecskék összekapcsolódott voltának bizonyítására elengedhetetlen. A 36. ábrán látható a mágnesesen eltérített részecskék FTIR spektruma, amelyen a korábbi karakterisztikus csúcsokat szintén feltüntettem (ibuprofén (1720 cm^{-1} (H-kötött C=O); 1231 cm^{-1} (H-kötött C-OH); 780 cm^{-1} (C=O)), magnetit nano-por (573 cm^{-1}). Csupán a 3:1-es keverési arányú tablettából ablált részecskék spektrumát vizsgáltam, mivel a korábbi méréseknél nem tapasztaltunk lényegi eltéréseket a végtermékekben. A spektrumból jól látszik, hogy a mágneses mezőben eltérülő részecskék jelentős mértékben tartalmaznak ibuprofént, amely a részecskék kompozit jellegére ad bizonyítékot számunkra.

c) SEM és EDX vizsgálatok

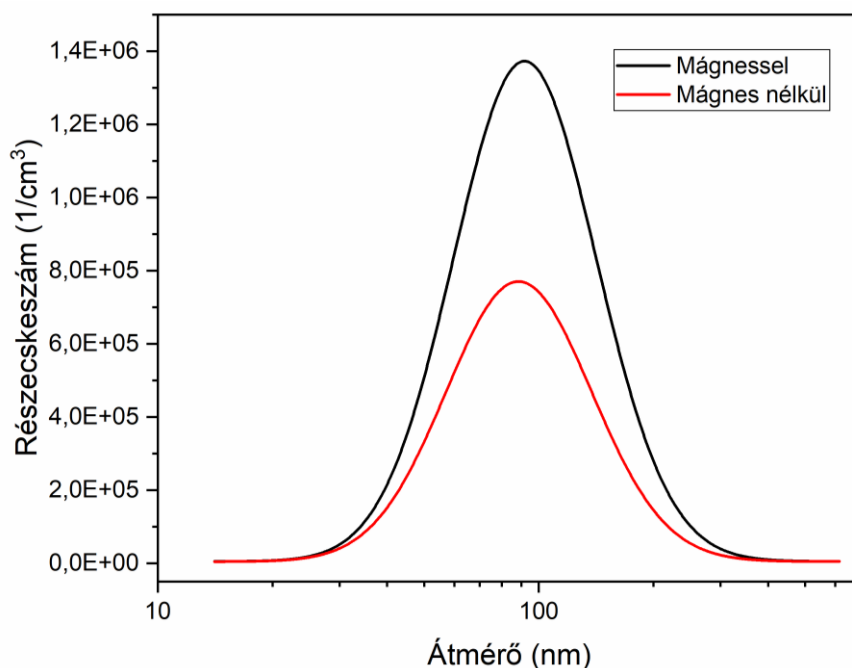
A 37. ábrán a Si lapra mágneses tér segítségével leválasztott részecskékről készült SEM felvétel (a), EDX elem-térkép (b) és a feltüntetett területről felvett EDX spektrum (c) látható. Az EDX méréseken megfigyelhető átfedésben lévő szén (C, zöld) és vas (Fe, piros) tartalom szintén azt igazolja, hogy a részecskék kompozitokat alkotnak.



37. ábra: A) SEM felvételek a Si lapra felvitt mágneses térben eltérített részecskékről. B) EDX elem térkép és C) EDX spektrum felvételek ugyanerről a területről.

d) Méreteloszlás mérések mágneses tér jelenlétében

A mágneses tér jelenlétében végzett méreteloszlási méréseket a 9. ábrának megfelelő kísérleti elrendezésben végeztem el. Az SMPS mérőműszer és az Y kamra közötti gázáramban egy elágazást hoztunk létre, melynek egyik ága a mérőműszerbe, másik ága egy vákuumpumpán keresztül a szabad levegőbe nyílt. Mindkét ágba azonos (0,3 l/perc) áramlási sebességet tartottunk fent az eredmények összehasonlíthatóságának érdekében. A korábbi kísérletekben is használt Nd mágnes segítségével olyan eltérítő teret hoztam létre az áramlási térben, amely a vastartalmú részecskéket a mérőműszer felé nyíló ágba irányította. Referenciaként természetesen mágnes nélkül is megismételtük a méréseket. Az így eltérített részecskék méreteloszlása látható a 38. ábrán. Az SMPS-el történő mérések során kényszerűen alkalmazott kis ismétlési frekvencia miatt az ablációs hozamban létrejövő bizonytalanságok elkerülése érdekében számos mérést végeztünk, melyeknek az átlagát tüntettem fel. Az ábrán megfigyelhetjük, hogy bár a részecskék méreteloszlása nem, vagy csak nagyon kis mértékben tolódik el a referencia értéktől (piros görbe), az ablációs hozam jelentősen megnövekszik mágneses tér alkalmazása mellett.



38. ábra: Részecske méreteloszlások 532 nm-es abláló lézernyaláb esetén a gázáramban alkalmazott mágneses tér jelenlétében (fekete) és annak hiányában (piros).

5.4.5 Diszkusszió

Mint azt a korábbi fejezetekben kifejtettem, PLA során két különböző mechanizmust különíthetünk el. Elsőként a lézernyaláb fototermális hatása miatt magas hőmérsékletek alakulnak ki a besugárzott felületi rétegben a céltárgy fizikai tulajdonságainak függvényében. Ezután a kirobbanó anyagmennyiség okozta visszaható erők következtében kialakult fotomechanikai effektusok, melyek porózus anyagok esetén igen jelentősek lehetnek mechanikai roncsolást, aprítást végeznek. Ennek köszönhetjük a kémiaiilag érintetlen részecskék kilökődését a besugárzott mintákból. Jelen esetben a helyzetet tovább bonyolítja, hogy egyszerre két komponens van jelen a besugárzott térfogatban és a belőlük préselt tabletták porozitása miatt, az ablációhoz felhasználható képletek (1. és 2. képlet) itt is egy közelítő felső becslést szolgáltatnak. A magnetit nanorészecskék jelenléte a mintában jelentősen megnöveli a céltárgy optikai abszorpcióját, ami magasabb hőmérsékletek kialakulásához vezet, viszont jóval vékonyabb rétegben. A kétkomponensű céltárgyunk lézeres ablációjának folyamata hasonlít a MAPLE módszerhez, amelyben általában egy gyengén abszorbeáló, sérülékeny szerves anyagot a megmunkálás során egy olyan közegbe helyeznek, mely a besugárzó lézernyaláb energiájának nagy részét elnyeli, elpárolog és elősegíti a szerves anyagok ép állapotú kilökődését a mintából.[110]

Az ablációs mechanizmus feltérképezéséhez a korábban alkalmazott módosított Beer-Lambert törvényt (1. egyenlet) használtam fel, mellyel kiszámítottam a hőmérsékletváltozást és a behatolási mélységeket a keverék tablettákban. A számítások során az ibuprofén és a magnetit tömbi anyagra vonatkozó fizikai adatait vettem alapul. Nanométeres tartomány alsó felében (1-50 nm) a fizikai tulajdonságok értékei (mint a sűrűség, fajhő, stb.) merőben megváltozhatnak, azonban a mintában lévő részecskék méretéből kiindulva (magnetit: 50-100 nm; ibuprofén: 10-15 μm) ezek az értékek jó közelítéssel megegyeznek az irodalomban közölt adatokkal. Az ibuprofén abszorpciója az általunk használt lézernyalábok esetén viszonylag kicsi ($\alpha=0,2-0,3 \text{ } \mu\text{m}^{-1}$), ami kisebb felületi hőmérsékleteket ($T_{\text{max}} \sim 10^4 \text{ K}$) és nagyobb behatolási mélységeket eredményez ($d=\alpha^{-1}=3-5 \text{ } \mu\text{m}$). Ehhez képest a magnetit optikai abszorpciója két nagyságrenddel nagyobb ($\alpha=10-20 \text{ } \mu\text{m}^{-1}$) mindkét alkalmazott hullámhosszon[111], ami magasabb hőmérsékleteket ($T_{\text{max}} \sim 10^5 \text{ K}$) és konzekvensen kisebb behatolási mélységeket ($d=50-100 \text{ nm}$) jelent. Korábbi számításaimnál az egykomponensű tiszta hatóanyagok esetén a hővezetést elhanyagoltam. (Egyrészt az irodalmi adatok hiánya miatt, másrészt a szerves anyagok általában kis hővezető képességgel ($\lambda < 0,1 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$) rendelkeznek.) A magnetit hővezetési együtthatója, azonban már elegendően nagy ahhoz ($\lambda = 3,5 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$), hogy szükséges legyen számításba venni, még akkor is, ha porózus céltárgyról beszélhetünk. A hővezetés hatásának becsléséhez a szokásos lineáris hővezetési egyenletet alkalmaztam (3. egyenlet):

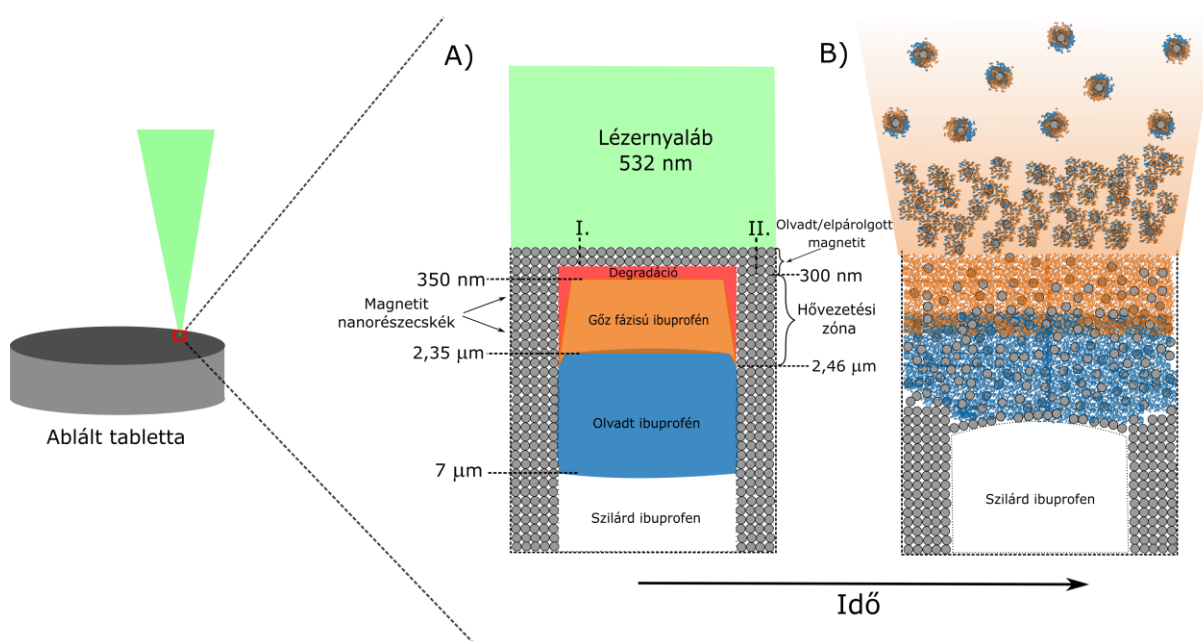
$$\frac{dQ}{dt} = -\lambda * A * \frac{dT}{dx}, \quad (3)$$

ahol dQ/dt a hő áram sebessége, A a hő áram hatáskeresztmetszete, λ a hővezetési tényező és dT/dx a hőmérséklet gradiens. Hőforrásként (dQ) mindig az elnyelő magnetit rétegben betáplált hőmennyiséget vettem. A dt karakterisztikus időnek pedig egységesen 1 μs -ot adtam meg, mivel a gyorsfényképezéses méréseink szerint ez volt az az időtartam, amely szükséges volt a részecskék létrejöttéhez. Ezzel ugyan csak egy felső, nagyságrendbeli becslést tudtam adni, de a számítások szemléltetés szempontjából mégis relevánsak.

A lézerimpulzusnak a céltárgy felületére történő beérkezésekor különböző eseteket kell meggondolnunk attól függően, hogy a keverék tablettá melyik komponensét éri először a fotonok, mivel a komponensek eltérő méretéből adódóan a minták térbeli homogenitása korlátozott. Egyik eset, amikor a lézernyaláb a viszonylag nagy átmérőjű (10-15 μm) ibuprofén részecskéket éri először, ami a nyaláb energiájának nagy részét elnyeli és a velük

érintkező magnetit részecskéket jó közelítéssel érintetlenül hagyja. Itt a fő mechanizmust a fotomechanikai effektusok indukálják, melyek a részecskék aprítását végzik, hasonlóan az 5.2 fejezetben tárgyaltak alapján. Ettől elkülönülő esetnek kell vennünk, amikor a magnetit részecskék (melyek mérete (50-100 nm) közelítőleg megegyezik a behatolási mélységgel) borítják be a nagyobb ibuprofén kristályokat és a lézernyaláb ezekkel érintkezik elsőként. Ekkor az abláció végkimenetele attól függ, hogy a magnetit részecskék milyen vastagságban fedik az ibuprofén kristályokat. Az általunk a keverék tablettákon kialakított ablációs gödrökről készített SEM képekből azt figyeltük meg, hogy sok esetben a mikrométeres nagyságú ibuprofén részecskék felszínét egy-két rétegnyi magnetit nanorészecske fedi. Ezért a számításaimban, kezdetben 200 nm vastag magnetit réteget feltételeztem, mely az ibuprofén részecskék felett helyezkedik el (39. ábra). Ekkor ebben a mélységben ($x=200$ nm), a lézernyaláb abszorpciójának (1. egyenlet) hatására, a kialakult hőmérsékletemelkedés nagysága $\sim 9 \cdot 10^3$ K. A magnetit rétegen áthaladó lézernyaláb energiasűrűsége ehhez képest elenyésző hőmérsékletemelkedést okoz az ibuprofén részecskén történő elnyelődéskor ($\Delta T=206$ K), amely nem éri el a hatóanyag bomlási hőmérsékletét. Az ibuprofén felszínén kialakult hőmérséklet azonban, hővezetés folytán mégis módosíthatja a részecskék állapotát. Felső becslésként $\lambda=0,1 \text{ Wm}^{-2}\text{K}^{-1}$ hővezetési együtthatót rendeltem az ibuprofén kristályokhoz. Ezzel az értékkel, a számításaim szerint a magnetit réteg alatt található mikrométeres részecske felső 150 nm-e kémiai roncsolódik ($T_{\text{bom.ibu}}=250$ °C) (350 nm-re a céltárgy felszínétől). Az alsóbb rétegek a hővezetés és az optikai abszorpció együttes eredményeképpen pedig 2,35 μm ($T_{\text{forr.ibu}}=157$ °C) mélységig gőz fázisba és ez alatt 7 μm -ig olvadt állapotba kerülnek ($T_{\text{olv.ibu}}=75$ °C) (39. ábra (A/I)). Ekkor a robbanásszerű anyageltávozás során a magnetit szilárd halmazállapotú nanométeres részecskéin (melyeknek olvadási pontja ennél jóval magasabb $T_{\text{olv.magn}}=1597$ C°), az olvadt és gőz fázisú ibuprofén molekulák kondenzálódhatnak (39. ábra (B)), ahogy azt a SEM felvételeken is megfigyelhettük (33. ábra). Ezen kívül azt az eshetőséget is figyelembe kell venni, amikor a felső kijelölt (200 nm) réteg alatt további magnetit részecskék helyezkednek el (39. ábra (A/II)). Ekkor a felső 300 nm írható le optikai abszorpciós modellel, ugyanis ez az a mélység ameddig a részecskék elpárolognak vagy megolvadnak. E szint alatt a szilárd magnetit hővezetése ($\lambda=3,5 \text{ Wm}^{-2}\text{K}^{-1}$) a szignifikánsabb, amely további hőmérsékletnövekedést eredményez a mintában és oldalirányban melegíti tovább az ibuprofén részecskéket. A számításaim alapján a hőmérséklet 2,46 μm -es mélységig emelkedik 250 C°-ig ($T_{\text{bom.ibu}}$), ami további kémiai bomlást okoz a minta belsejében. Vagyis a magnetit nanorészecskék még tovább fűtik a mintákat (39. ábra (A)). Ismét meg kell jegyeznem, hogy ezek a kalkulációk

tömbi anyagra érvényesek. A mintáink porózus jellege miatt a kialakult hőmérsékletek és folyamatok kevésbé drasztikusak és a számításaim csupán egy felső becslést adnak, mégis jól szemléltetik a kompozitok kialakulásának mechanizmusát. A SEM és EDX vizsgálatok tapasztalatai továbbá azt mutatták, hogy különálló magnetit és ibuprofén részecskék is keletkeznek. A 39. ábrán látható folyamatok azt sugallják, hogy a kompozitok mag-héj elrendezésben alakulnak ki, azonban szintén a SEM vizsgálatok eredményeiből tudjuk, hogy az összekapcsolódott részecskék többféle morfológiában is megjelennek, mint például a mátrix-diszperz, inverz mag-héj és Janus-struktúrák.[36]



39. ábra: A) Lézerrel besugárzott ibuprofén-magnetit keverék tabletta elméleti elrendezése és B) a kompozit nanorészecskék kialakulása a PLA során keletkező robbanásakor.

5.4.6 Összefoglalás

Sikeresen állítottam elő elsőként ibuprofén-magnetit nanokompozitokat PLA módszer segítségével. A keltett részecskék elszállított része 100-150 nm átlagos átmérővel rendelkezett a keverési arány és az alkalmazott hullámhossz függvényében. Amint azonban a gyorsfényképezési mérésekből is látszik (35. ábra) a kilöködött részecskék mérettartománya igen széles. A nagyobb és nehezebb részecskék a kamra aljába hullnak vissza vagy leülepednek, mielőtt elérnék a membrán szűrőt vagy az SMPS mérőműszer bejáratát. Az FTIR és Raman spektroszkópiai vizsgálatok, valamint a méreteloszlás mérések kimutatták, hogy a keletkezett (és membrán szűrőig eljutott) részecskék kémiaiailag érintetlen nanorészecskéket tartalmaztak mindkét komponens esetén. Az érintetlen kisméretű ibuprofén részecskék jelenléte erős fotomechanikai effektusokra utal. Nem találtam egyértelmű

összefüggést a részecskék méreteloszlása és az alkalmazott hullámhossz vagy a különböző keverési arányok között (32. ábra). Ez, ahogy a korábbi kísérletek esetén is, feltételezhetően a mintáink porózus voltának tulajdonítható. A SEM vizsgálatok kimutatták, hogy a tiszta magnetit nanorészecskék, a PLA-val készített tiszta ibuprofén részecskék morfológiailag jól megkülönböztethetők (33. ábra) és a kevert mintákról készült felvételek összekapcsolódott részecskéket jeleznek. A részecskék kompozit jellegének további megállapítására külső mágneses térben végzett kísérleteket is végzetünk. Ezek mindegyike olyan eredményeket szolgáltatott, melyek bizonyították a részecskék összekapcsolódását. Az egyszerű modellszámításaimból arra következtethetünk, hogy a magas abszorpciós koefficienssel rendelkező magnetit olvadt és gőzfázisú ibuprofén részecskéket eredményez, és a kompozit részecskék egy része a két anyag együttes kondenzációjának eredményeként jön létre.

A PLA tehát egy egyszerű, egyéb kémiai anyagoktól mentes, környezetkímélő módszert biztosít olyan kompozit nanorészecskék előállítására, melyek mágneses részecskéket és gyógyszerhatóanyagokat tartalmaznak. Az eljárás ezért érdemes további gyógyszerfejlesztésben releváns vizsgálatok lefolytatására, különösen az irányított hatóanyagokhoz kapcsolódó alkalmazások terén.

5.5 PLA módszerrel, gáz környezetben előállított csökkentett méretű NSAID hatóanyagok oldékonyságának, oldódási sebességének és citotoxicitásának vizsgálata.

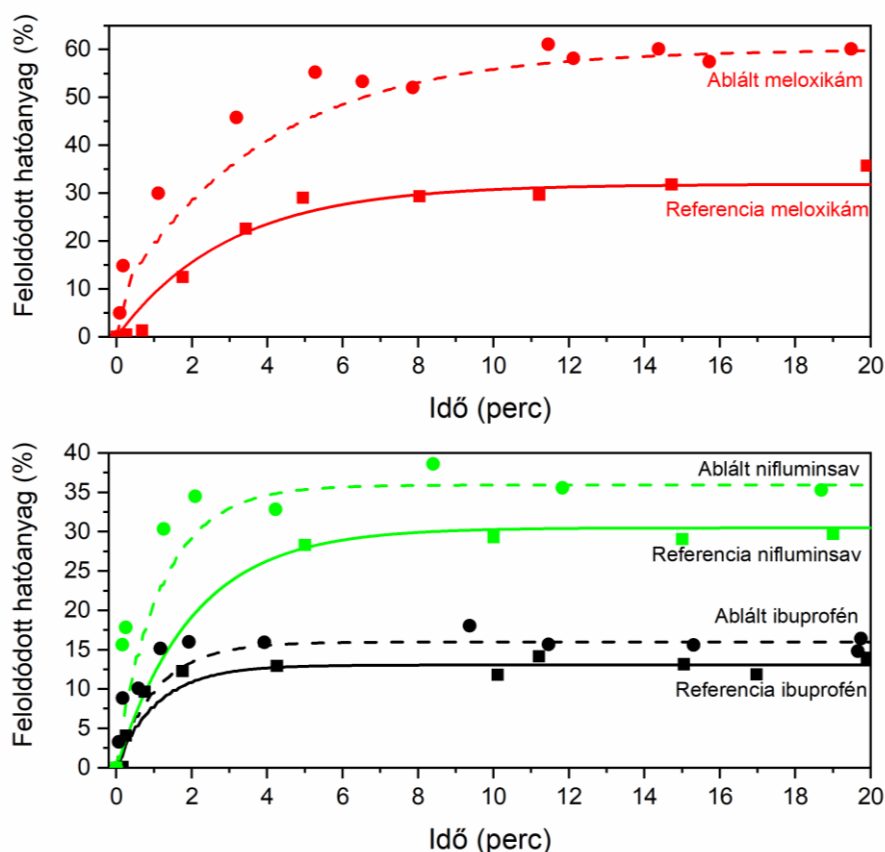
Ahhoz, hogy az általam létrehozott részecskék tényleges gyógyszeripari/gyógyászati alkalmazhatósága megfontolásra kerüljön, elengedhetlenné vált további gyógyszer technológiai preformulációs vizsgálatok végzése, melyek előre vetítik az ablált hatóanyagok élő szervezeten belüli viselkedését (pl. gasztrointesztinális és pulmonális alkalmazhatóságát). A fejezetben feltüntetett méréseket a kutatási projektben közreműködő Szegedi Tudományegyetem Gyógyszer technológiai és Gyógyszer felügyeleti Intézetének munkatársai végezték. A vizsgálatokat az általam ablációval keltett és Millipore szűrőn felfogott részecskéken végezték el mindhárom hatóanyag esetében. Így információt kaphattunk arról is, hogy mi lesz a részecskék sorsa, amikor az ablációs folyamatot követően összegyűjtjük őket (pl. aggregáció majd de-aggregáció). Minden esetben csak 532 nm-es lézernyalábokkal hoztam létre a mintákat, mivel a két korábban sikeresen alkalmazott hullámhossz között az ablációs termékekben nem tudtunk kimutatni kémiai eltérést, miközben az ablációs hozamok nagyságrendekkel nagyobbak bizonyultak ezen a hullámhosszon.

5.5.1 Oldódási vizsgálatok

Elsőként a létrehozott és összegyűjtött részecskék kioldódási tulajdonságait vizsgálták, hiszen a kísérletek fő célja a hatóanyagok e sajátságának fokozása volt. Minden minta esetén pH=7,4 értékű közegben mérték a minták és a referencia hatóanyagok oldódási sebességét és oldékonyságát. A kioldó közeg (foszfát puffer) pH-ja a tüdő és a bél pH értékét is jól megközelíti, ezáltal releváns képet kaphatunk az orális illetve pulmonális beviteli módok esetén fellépő, hatóanyag felszabadulási mechanizmusról.[112]

A kioldódási vizsgálatokat AvaSpec-2048L szonda és AvaLight DH-S-BAL spektrofotométer (Avantes, Apeldoorn, The Netherlands) segítségével, folyamatos mágneses kevertetés mellett (100 rpm) valós idejű méréssel végezték. Az alkalmazott kioldó közeg 10 ml foszfát puffer volt, melybe hatóanyagtól függően 4-30 mg közötti mennyiséget helyeztek. Meghatározták, hogy a 0-20 percig terjedő intervallumban a bejuttatott hatóanyag mennyiség hány százaléka oldódik fel az adott pH-jú közegben. A feloldott hatóanyag mennyiségét kalibrációs görbékkel és a valós idejű szondázás során felvett abszorpciós görbék meredekségéből határozták meg. Az eredmények a 40. ábrán láthatóak, ahol a mért adatokra exponenciális görbéket illesztettem. Itt megfigyelhetjük, hogy bizonyos mértékben a

telítési görbe meredeksége, tehát az oldódási sebesség minden hatóanyag esetében növekedett. Az ablált ibuprofén és nifluminsav oldódási sebessége jól láthatóan emelkedett a referenciához képest, valamint rövidtávon a telítési értékekben mindkét esetben jó közelítéssel 33%-os növekedést láthatunk. A legszembetűnőbb eredményt azonban a meloxikámnál figyelhetjük meg, ahol a részecskék oldódásának sebessége jelentősen nőtt az ablált minta esetén, valamint ennek telítési értéke kétszerese a kiindulási hatóanyaghoz tartozó értéknek.



40. ábra: Az oldódási sebességek mérése a feloldott hatóanyag vizsgálatával 20 perces időtartam alatt, ibuprofén (fekete), nifluminsav (zöld) és meloxikám (piros) hatóanyagok ablált és referencia mintáin.

Ugyanezen kísérletsorozatban a minták oldékonyságát (azaz az egységnyi térfogatban maximálisan feloldható mennyiséget) is megvizsgálták. Az oldhatósági vizsgálatot szobahőmérsékleten (22°C-on.), 24 órán át, 10 ml foszfát pufferben végezték és AvaSpec-2048L szonda és AvaLight DH-S-BAL spektrofotométer (Avantes, Apeldoorn, The Netherlands) segítségével határozták meg az abszorbanciát. 0,45 μm pórusátmérőjű szűrőn szűrték, majd szükséges hígítás után megmérték az abszorbanciát ($\lambda_{\text{ibu}}=224\text{ nm}$; $\lambda_{\text{nif}}=286\text{ nm}$; $\lambda_{\text{mel}}=362\text{ nm}$), amelyből meghatározták a hatóanyag koncentrációját. Az eredményeket az 4. táblázatban tüntettem fel. Itt érdekes módon az ibuprofén oldékonysága enyhén csökkent, a nifluminsavé minimális mértékben nőtt. Ismét az ablált meloxikám részecskék adták a legjobb

eredményeket, amelynél az adott térfogatban maximálisan feloldható mennyiség megduplázódott, ami kimagasló eredménynek számít.

	Ref MEL	Abi MEL	Ref IBU	Abi IBU	Ref NIF	Abi NIF
mg/mL	0,226	0,440	0,332	0,276	0,859	0,885

4. táblázat: Az ablált részecskék oldékonyságainak adatai, összehasonlítva a kiindulási anyagok értékeivel 24 óras oldódás után.

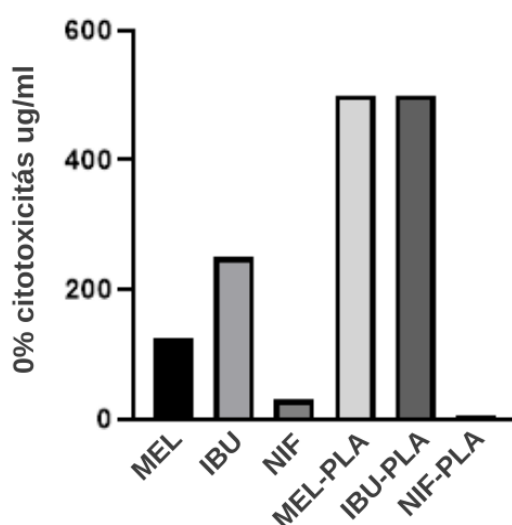
Az oldódási tulajdonságokban lévő változások hatóanyagokként eltérő tendenciát mutatnak. Ezért feltehetőleg a szűrőkön végbemenő utólagos aggregáció hatásai a felelősek, melyeket a SEM felvételeinken is megfigyelhettünk. Az aggregáció során a különböző hatóanyagok részecskéi eltérő mértékben kapcsolódhattak újra egymáshoz, ami az oldódási tulajdonságokban is eltérő változásokat okoz, mivel ez által romlik a felület/térfogat arány. A hatóanyag szemcseméretének csökkentése megnövekedett fajlagos felületet eredményez, amelynek köszönhetően a hatóanyag felszabadulás mértéke fokozódik, ám ez nem vezet feltétlenül az oldhatósági érték megváltozásához. Látható, hogy az oldódási vizsgálatok eredményei ibuprofén esetén például nem feleltek meg az előzetes elvárásoknak, azonban a részecskeméret csökkentésével már lehetőség adódik a pulmonális gyógyszerbeviteli alkalmazásokra, ahol a feloldódás gyorsasága miatt a bélrendszeri felszívódáshoz képest, az eredeti mennyiség körülbelül 1/10-e szükséges az azonos hatás kiváltásához.

5.5.2 A citotoxicitás vizsgálata

A tényleges gyógyászati alkalmazhatóság megállapítására a lézeres ablációval előállított részecskék toxicitását kellett elsősorban megvizsgálni, hogy megbizonyosodhassunk arról, hogy ezek az anyagok alkalmasak-e további ellenőrző kísérletek elvégzésére. Ezen túlmenően pedig a hatóanyagok gyulladáscsökkentő hatásának összehasonlításával állapíthatjuk meg, hogy milyen mértékben sikerült javítani ezen anyagok gyógyító képességét.

A toxicitási méréseket, A549 jelű sejtekből előállított tenyészetten végezték el. Ezek a sejtek a tüdő alveoláris epithél sejtvonalat modellezik, melyeken keresztül a pulmonális gyógyszerek felszívódása zajlik és ahol egy lépésben bekerülhet a hatóanyag a véráramba. A vizsgálatokat citotoxicitási méréseknek nevezik, melyekben a sejtek mitokondriális aktivitását mérik, amely egyértelműen jelzi a sejtek életképességét különböző behatások esetén. A citotoxicitás mérése során azt a legnagyobb koncentrációt adják meg (µg/ml), amely még nem

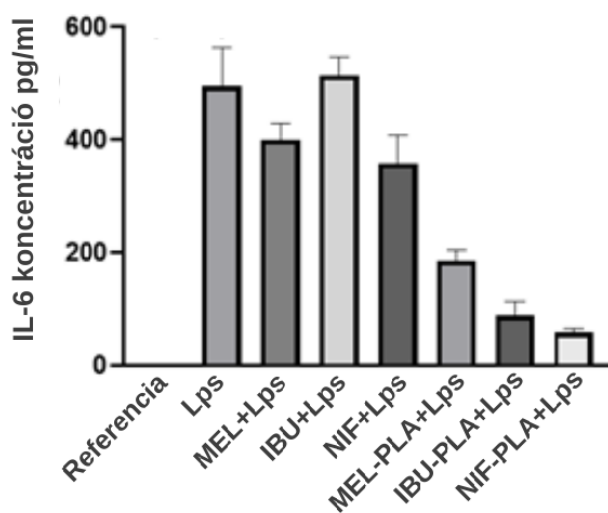
okoz toxikus jelenségeket a sejtekben.[113] A mintáinkon és a referencia anyagokon elvégzett vizsgálatok eredménye a 41. ábrán látható. Itt egyértelműen látszik, hogy az ablált meloxicámból négyszer (125 µg/ml helyett, 500 µg/ml), ibuprofénből kétszer akkora koncentráció szükséges (250 µg/ml helyett, 500 µg/ml) a toxikus hatás eléréséhez, mint a kiindulási, azaz a referencia anyagok esetén. Ez jelentős előrelépésnek és igen ritka jelenségnek számít a gyógyszerfejlesztési eljárásoknál. Nifluminsav esetén az ablált minta ugyan gyorsabban elérte a toxicitási küszöböt (6,046 µg/ml), mint az eredeti gyógyszerformula (31,25 µg/ml), azonban a későbbi gyulladáscsökkentő hatás mérésének fényében ez koránt sem jelent kritikus értéket.



41. ábra: A PLA módszerrel keltett gyógyszerhatóanyagok citotoxicitási mérésének eredményei. A megjelölt értékek megmutatják nekünk, hogy azt a maximális koncentrációt, amely még nem okoz toxikus jelenségeket a vizsgált sejt kultúrán.

A gyulladáscsökkentő hatást, többek között az ún. IL-6 citokin molekula mennyiségéből lehetséges meghatározni. Ennek koncentrációja jelzi, hogy az adott sejt milyen mértékben van gyulladt állapotban. Tehát a kezelés után minél kisebb ennek koncentrációja, annál eredményesebb hatást vált ki az adott hatóanyag. Az A549 sejtben a gyulladást egy lipopoliszacharid (LPS) nevű anyaggal indukálják, majd a lézerrel kezelt mintákkal és referencia anyagaikkal csökkentik ennek hatását.[114] Az IL-6 koncentrációt 24 órás kezelés után határozzák meg, melynek eredményeit a 42. ábrán tüntetem fel. Megfigyelhetjük, hogy kezeletlen sejtek esetén nincs mérhető IL-6 koncentráció a tüdőt jellemző sejtenyészetben, míg tisztán LPS hozzáadásával 495 pg/ml IL-6 citokin molekula termelődött. A referencia gyógyszerhatóanyagok esetén láthatjuk, hogy szignifikánsan nem változtatták meg a gyulladásért felelős molekula mennyiségét a sejtekben. A referencia ibuprofén hibahatáron belül nem hozott létre változást, míg a meloxicám és a nifluminsav 80

és 72%-ra csökkentette az IL-6 koncentrációját. Az egyes hatóanyagok esetén mindig az előző kísérletben megállapított citotoxicitási határmennyiséget alkalmazták. Figyelemreméltó gyulladáscsökkentő hatást figyelhetünk meg a lézerrel kezelt hatóanyagoknál. Az ablált meloxicám a gyulladás mértékét 46%-ra, az ablált ibuprofén 22%-ra, míg a kezelt nifluminsav részecskék 11%-ra csökkentették. Ebből azt is megállapíthatjuk, hogy bár a nifluminsavból sokkal kevesebb anyagot használhatunk fel, hogy elkerüljük a toxikus hatásokat, ez a kis mennyiség mégis sokkal eredményesebb gyulladáscsökkentő hatást vált ki a vizsgált sejtekben.



42. ábra: A sejt gyulladásának mértékét jelző IL-6 citokin molekula koncentrációja a különbözőkezelések esetén.

5.5.3 Összefoglalás

Az általam lézeres ablációval keltett gyógyszerészecskék oldódási tulajdonságainak és citotoxicitásának mérései előremutató eredményekkel zárultak.

Az oldódási vizsgálatoknál a mintákat 7,4-es pH-jú oldatban vizsgálták a Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézetének munkatársai, ami jellemzi az mind a pulmonális és per os gyógyszerbeviteli folyamatok során fellépő hatóanyag-felszabadulást. Mindhárom hatóanyag oldódási sebességében növekedést fedezhettünk fel a kiindulási anyagokhoz képest, ami a szemcseméret csökkenéséből adódó fajlagos felület növekedésével magyarázható. 24 órás oldódási vizsgálat után az anyagok oldhatóságának meghatározásakor ibuprofénél enyhe csökkenést, míg nifluminsavnál enyhe növekedést figyelhettünk meg. Meloxicám esetében az oldhatósági érték a kétszeresére növekedett, ami a hatóanyag preformulálása során újabb lehetőségeket biztosíthat. A per os gyógyszerbevitel

céljából formulálható összetétel esetében így feltételezhető a dózis csökkentése ugyanazon hatás kiváltásához, ezáltal a mellékhatás profil is mérsékelhető.

Ezen túlmenően a tüdősejtvonalon végzett citotoxicitási mérések megerősítették, hogy az általam előállított részecskék alkalmasak akár légzőszervrendszeren keresztüli gyógyszerbevitelre is, ugyanis az alveolust modellező A549 sejtek jól reagáltak az ablált gyógyszerhatóanyagokra. A pulmonális gyógyszerbevitel során a per os hatóanyag dózis 1/10-ed része alkalmazható a szükség hatás kiváltásához. Ez a tény illetve az ablált részecskék kedvező fizikai-kémiai sajátosságai előrevetítik egy hatékony nem-szteroid gyulladásgátló hatású, inhalációs összetétel tervezését is. Kimagasló eredménynek számít, hogy az ablált ibuprofén és meloxikám részecskékből, a kiindulási anyagokhoz képest kétszer annyi anyagmennyiség használható fel a toxikus hatás eléréséig. Az ablált nifluminsav ugyan toxikusabbnak bizonyult az eredeti formulánál, de ez szerencsére nem szab gátat az alkalmazhatóságának, hiszen a belőle alkalmazható mennyiség is nagyobb gyulladáscsökkentő hatást eredményez, mint a referencia anyag. A maximális alkalmazható gyógyszer mennyiségekkel, ezen felül a minták gyulladáscsökkentő hatását is vizsgálták, ahol szintén mindhárom lézeresen méretredukált hatóanyag kimagasló hatékonyságú.

A kezelt hatóanyagokban vizsgálatai során tapasztalt kedvező eredményeket segédanyag alkalmazása nélkül sikerült elérni, így például alapanyaggyártásnál is alkalmazhatóvá válhat az ablációs protokoll a gyógyszeriparban. Valamint az így kezelt hatóanyagok szupergenerikumok előállítására is alkalmasak lehetnek. A szupergenerikumok definíció szerint lejárt szabadalmi jogú, generikus hatóanyagok hozzáadott gyógyszer technológiai értéket hordozó új formulációi, esetleg különleges gyógyszer szállító rendszerrel ellátott termékei. A módosítások a készítmény biológiai hasznosulásának, kezelhetőségének, valamint a beteg terápiás együttműködésének javítását szolgálják (pl. kisebb dózissal nagyobb biológiai hasznosulás detektálható az originális készítményhez képest).

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Disszertációmban különböző, a hétköznapi gyakorlatban is alkalmazott gyógyszerhatóanyagok egyes kritikus fontosságú tulajdonságainak lézeres besugárzással történő javítási lehetőségeit vizsgáltam. Munkám során széleskörű kísérleti vizsgálatokat folytattam, hogy felmérjem, hogy az alkalmazott hatóanyagok hogyan reagálnak a különböző lézer- és egyéb kísérleti paraméterekre. Megvizsgáltam, hogy lézeres ablációs módszerekkel kezelt hatóanyag részecskék megőrizték-e eredeti kémiai szerkezetüket, és meghatároztam azok fontosabb fizikai paramétereit (részecske átmérő, kristályosság, morfológia), melyek a potenciális alkalmazások esetén kulcsszerepet játszhatnak. Minden kísérletem során tanulmányoztam és empirikus megfontolásokkal alátámasztottam a keltett részecskék kialakulásának mechanizmusát. Az eredményeimet tematikusan összegezve az alábbi tézispontokban gyűjtöttem össze:

6.1 Tézispontok

T1. Nem-szteroid alapú gyulladáscsökkentő szerek (NSAID) részecskeméret csökkentése impulzuslézeres ablációval (PLA).

A legtöbb nem-szteroid alapú gyulladáscsökkentő szer vízben igen nehezen oldódik. Ez viszonylag nagy mennyiségű hatóanyag bevitelt igényel az emberi szervezetbe a szükséges gyógyhatás elérése érdekében, ami az esetleges mellékhatások révén hozzájárulhat a kiválasztó és emésztési szervrendszereink károsításához. Részecskeméret csökkentéssel bizonyos mértékig lehetőségünk van növelni a hatóanyagok oldódási tulajdonságait és új gyógyszerbeviteli alkalmazásokat megfontolni. Ezáltal csökkenteni tudjuk a szükséges anyagmennyiséget és a hatóanyagok káros mellékhatását.

T1/A. Megmutattam, hogy impulzuslézeres abláció alkalmazásával sikeresen elvégezhető vízben nehezen oldódó, NSAID (ibuprofén, nifluminsav és meloxicam) gyógyszerhatóanyagok több nagyságrendbeli részecskeméret csökkentése. Különböző hullámhosszúságú (532 nm; 1064 nm) ns-os impulzusidejű (6 ns @ 532/1064 nm) lézernyalábok segítségével nano- és szubmikrométeres gyógyszerhatóanyag részecskéket állítottam elő normál nyomáson, gáz környezetben. A keletkezett részecskék megnövekedett felület/térfogat arányának következtében javítani tudtam a hatóanyagok oldódási sebességét (6.2 fejezet).

T1/B. Infravörös (FTIR) és Raman spektroszkópiai vizsgálatok segítségével megmutattam, hogy az alkalmazott látható (532 nm) és infravörös (1064 nm) hullámhosszú

lézimpulzusokkal, az eredeti gyógyszerhatóanyagokkal kémiai megegyező részecskék hozhatók létre. Kimutattam, hogy az ultraibolya lézernyalábbal végzett részecskékeltések kémiai degradált hatóanyagokat eredményeztek. A létrehozott részecskék kémiai összetétele független volt az alkalmazott impulzusok energiasűrűségétől a vizsgált tartományokban ($1,5-15 \text{ Jcm}^{-2}$).

T1/C. Széles mérettartományon (10 nm-10 μm) végzett méreteloszlási vizsgálatok azt mutatták, hogy a keltett és az új alkalmazások szempontjából releváns részecskék átlagos mérete a kiindulási hatóanyagtól és az alkalmazott lézernyaláb hullámhosszától függ és döntően a szubmikrométeres tartományba esik. [S1] [S8]

T2. A keltett gyógyszerhatóanyag-részecskék kialakulási mechanizmusának meghatározása az ablációs folyamatok vizsgálata alapján.

Lézeres abláció során az ablációs termékek általában a besugárzott térfogatból származnak. Tekintve a kísérleteimben használt energiasűrűségek nagyságát és a céltárgyaim anyagi minőségét, ez az állítás a mi esetünkben megkérdőjelezhetőnek tűnt, ezért szükségesnek véltem a keltett részecskék eredetének mélyreható vizsgálatát.

T2/A. Megmutattam, hogy az általam létrehozott (előző tézispontban említett) részecskék, melyek a kiindulási anyagokkal kémiai megegyeznek, a lézeres abláció mechanizmusának másodrendű, fotomechanikai folyamataiból származnak.

T2/B. Ellipszometriai vizsgálatok segítségével meghatároztuk a gyógyszerhatóanyag tabletták optikai abszorpcióját. Ennek ismeretében hőmérsékletszámításokat végeztem az abszorpciós térfogatokban. Eredményeim megmutatták, hogy a vizsgált abszorpciós térfogatban kialakult hőmérsékletek minden esetben meghaladják a gyógyszerhatóanyagok bomlási hőmérsékletét. Tehát a kapott részecskék nem származhatnak az abláció elsődleges folyamataiból.

T2/C. Egy pumpa-próba elrendezést építettem az ablációs folyamatok időbeli feltérképezése érdekében. A felvételekkel meghatároztam a felületről kiinduló lökéshullámok sebességét, mellyel megbecsülhettem az általuk a felületre visszaható nyomásokat (80-350 atm). A számítások jelentős fotomechanikai hatásokról adtak tanúbizonyságot, amelyek felelősek a részecskék felaprózásáért. [S1] [S8]

T3. Amorf és kevert fázisú ibuprofén gyógyszerhatóanyag-vékonyréteg előállítása impulzuslézeres rétegleválasztással (PLD).

Az amorfizáció a részecskeméret csökkentés mellett az egyik leghatásosabb módja az anyagok oldódási tulajdonságainak javítására. Bizonyos gyógyszerhatóanyagok esetén az amorf fázis előállítása csak igen bonyolult eljárásokkal lehetséges. Lézeres besugárzás alkalmazásával viszont lehetőségünk adódhat ilyen fázisú gyógyszerhatóanyagok viszonylag egyszerű előállítására.

T3/A. Amorf és kevert fázisú ibuprofén vékonyrétegeket hoztam létre impulzuslézeres leválasztással UV lézernyaláb segítségével. Kísérleteim során különböző kamranyomásokat ($1\text{ bar}-10^{-4}\text{ mbar}$) és különböző impulzusidejű lézernyalábokat ($18\text{ ns}/500\text{ fs @ }248\text{ nm}$) alkalmaztam, mely paraméterek befolyásolták a vékonyréteg fázisának összetételét.

T3/B. Infravörös (FTIR) és Raman spektroszkópiával meghatároztam az épített vékonyrétegek kémiai összetételét és kémiai homogenitását. A femtoszekundumos impulzusokkal generált vékonyrétegek anyaga degradálódott, ahogyan az atmoszférikus nyomáson létrehozottaké is. Nanoszekundumos impulzusokkal magas kamranyomások mellett (10^{-1} mbar) sikeresen hoztam létre kevert (kristályos és amorf) fázisú ibuprofén vékonyréteget, míg alacsonyabb nyomásokon ($10^{-2}-10^{-4}\text{ mbar}$) tisztán amorf állapotú vékonyrétegek születtek.

T3/C. Pásztázó elektronmikroszkóppal, valamint differenciális pásztázó kalorimetriás (DSC) vizsgálatokkal igazoltam az általam létrehozott vékonyrétegek kristályossági állapotát. Ezen mérések eredményei azonosságot mutattak az előző bekezdésben leírt megfigyelésekkel. [S2] [S7]

T4. Mágneses gyógyszer-nanokompozit részecske előállítása impulzuslézeres ablációval (PLA).

Mágneses gyógyszer-nanokompozit részecskék segítségével, molekuláris szinten képesek diagnosztizálni és kezelni különböző betegségeket. Irányított gyógyszer szállítással a hatóanyagok lokális felhalmozódása érhető el az emberi testben, amely növeli a hatékonyságukat a kívánt területen.

T4/A. Elsőként alkalmaztam impulzus lézeres ablációt mágneses gyógyszer-nanokompozit részecskék előállítására. Kísérleteimben kevert ibuprofén-magnetit ($5\text{ }\mu\text{m @ ibuprofén}; 50\text{ nm @ magnetit}$) tablettákat használtam, melyekből Nd:YAG lézer

impulzusok (532 és 1064 nm) segítségével sikeresen állítottam elő mágneses ibuprofén-magnetit nanorészecskéket.

T4/B. Spektroszkópiai (FTIR, Raman, EDX) vizsgálatokkal megállapítottam, hogy a generált részecskék a kiindulási anyagokkal kémiaiilag megegyező ibuprofén és magnetit részecskéket tartalmaznak.

T4/C. Részecske-méreteloszlás (SMPS) méréssel meghatároztam, hogy a kompozit részecskék egy része nanométeres mérettartományba esik. Továbbá, hogy a keverési arányok, valamint az alkalmazott lézer-hullámhosszak nincsenek szignifikáns hatással a generált részecskék méretére a vizsgált kísérleti paraméterek mellett.

T4/D. Külső mágneses tér jelenlétében az előző bekezdésben leírt kísérleteket megismételtem, valamint időfelbontásos vizsgálatokat végeztem és bebizonyítottam, hogy a különböző anyagi minőségű részecskék valóban összekapcsolódhatnak a lézeres abláció során. [S3]

6.2 Kiegészítő pont a tézisekhez

A soron következő pont ugyan nem tartozik a dolgozatom tézispontjai közé, mivel az itt említett mérések elvégzésében nem vettem részt. Ettől függetlenül elengedhetetlen szerepet játszanak disszertációm teljessé tételében, ugyanis e vizsgálatok igazolják az általam létrehozott gyógyszerformulák kritikus tulajdonságaiban bekövetkezett javulást a referencia anyagokéhoz képest. A méréseket a Szegedi Tudományegyetem Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézetének munkatársai végezték.

6.2.1. PLA-val készített NSAID gyógyszerhatóanyagok oldódási tulajdonságainak és citotoxicitásának vizsgálata

A lézeres ablációs eljárással létrehozott gyógyszerhatóanyag részecskék orvosi alkalmazhatóságának vizsgálata során, olyan gyógyszer technológiai mérésekre is szükség van, melyek információt adnak az új formulációk oldódási és toxicitási tulajdonságairól.

1/A. Mindhárom alkalmazott hatóanyagnál, a bél és a tüdő 7,4-es pH értékével megegyező savasságú oldatban vizsgálták az ablált és a kiindulási anyagok oldódási sebességét és oldhatóságát. Az általam létrehozott részecskék minden esetben magasabb oldódási sebességet mutattak a kiindulási anyagoknál. Az oldhatóság ibuprofén és nifluminsav esetén nem változott számottevően, míg meloxicám hatóanyagnál a kiindulási érték kétszeresére növekedett.

1/B. Az általam létrehozott részecskéken végzett citotoxicitási méréseket a tüdő légútiagocskáinak sejtfalát modellező A-549 jelű sejteken végezték. A vizsgálatok kimutatták, hogy a lézeres ablációval kiváltott részecskék alkalmasak pulmonális gyógyszerbevitelre. Az ablált ibuprofén és meloxicám hatóanyagok fele akkora toxicitást mutattak, mint a referencia anyagok, ami igen kiemelkedő eredménynek számít, míg nifluminsav esetében a kezelt hatóanyag az eredeténél valamivel toxikusabbá vált. A minták gyulladáscsökkentő hatása is tanulmányozásra került, ahol azt az eredményt kaptuk, hogy az új formulák mindegyike hatékonyabban csökkentette a gyulladás mértékét, mint a kereskedelemben kapható tiszta hatóanyagok.

7. SUMMARY

In my thesis, I investigated the applicability of laser irradiation for the development of a new type of pharmaceutical formulation process. I conducted extensive experimental studies to see how the active ingredients respond to the adjustment of laser parameters and other experimental conditions. I have inspected whether the chemical composition and/or any physical parameters (particle diameter, crystallinity, morphology) of the drug change during laser ablation, as these are key properties for its future therapeutic use. I interpreted the experimental results based on theoretical considerations, and summarize my findings thematically in the following thesis points:

7.1 Thesis points

T1. Particle size reduction/nanonization of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) by pulsed laser ablation (PLA).

Most NSAIDs have very low solubility in water. Therefore, to achieve the desired therapeutic effect, a relatively high intake of the drug is required, often leading to gastrointestinal complications. By reducing the particle size, the dissolution rate of the active substances can be increased, thus the amount of substance needed can be reduced and adverse side effects can be avoided.

T1/A. I have shown that pulsed laser ablation can be successfully applied to reduce the particle size of poorly water-soluble drugs (*e.g.*, ibuprofen, niflumic acid and meloxicam) by several orders of magnitude. Using laser beams of different wavelengths (532 nm; 1064 nm) and nanosecond pulse durations (6 ns for $\lambda=532/1064$ nm), nano- and submicrometer-sized drug particles could be prepared. Due to the increased surface-to-volume ratio of the resulting particles, the dissolution rate of the drugs has improved.

T1/B. Using FTIR and Raman spectroscopy, I have shown that the chemical composition of the particles ablated by VIS and IR laser pulses is identical to that of the original active ingredients. I have also shown that ablation with ultraviolet laser beam results in chemically degraded drug particles on normal ambient pressure. The chemical composition of the particles produced was independent of the energy density of the pulses in the investigated range (1.5-15 Jcm⁻²).

T1/C. By particle size distribution studies over a wide size range (10 nm-10 μ m), I have shown that the average size of the generated particles falls in the submicrometer regime depending on the specific drug and the wavelength of the applied laser beam. [S1] [S8]

T2. Investigation of the drug particle formation mechanism during the ablation process.

Considering the relatively high energy density of laser pulses and the sensitivity (*e.g.* thermal stability) of drug substances at the same time, it is a legitimate question to ask, what the ablation mechanism could be, by which the particle size is reduced without any chemical damage. Therefore, I have studied the laser ablation process in detail.

T2/A. I have shown that the ejection of chemically intact drug particles is caused by secondary (photomechanical) processes during the ablation.

T2/B. Ellipsometric studies were performed to determine the optical absorption of the drug tablets. Based on these data, temperature calculations were performed within the absorption volumes. My results showed that the temperature in the absorption volume was higher than the decomposition temperature of the active pharmaceutical ingredient in all cases. Thus, the chemically non-degraded particles cannot originate from the primary processes of ablation.

T2/C. To monitor the ablation processes over time, a typical pump-and-probe setup was built. Using the recordings, I determined the velocity of the shock wave propagating outwards from the excited area and then, based on this, I calculated the recoil pressure exerted on the surface by the shock wave. The calculations revealed a significant recoil pressure (80-350 atm), indicating strong photomechanical effects responsible for the fracturing of the particles. [S1] [S8]

T3. Preparation of amorphous and mixed (partly amorphous/partly crystalline) phase ibuprofen thin films by pulsed laser deposition (PLD).

In addition to particle size reduction, amorphization is a well-known technique to increase the solubility and thus bioavailability of poorly soluble drugs. However, the production of amorphous phase often requires very complex procedures. Laser irradiation offers a relatively simple crystal engineering method for the production of amorphous phases of active pharmaceutical ingredients.

T3/A. Amorphous and mixed phase ibuprofen thin films were prepared by PLD using a UV laser beam ($\lambda=248$ nm). I varied the pulse durations of laser beams (18 ns /500 fs) and the pressure applied in the experimental chamber (1 bar- 10^{-4} mbar).

T3/B. Infrared (FTIR) and Raman spectroscopy were used to determine the chemical composition and chemical homogeneity of the thin films. The material of the film produced with femtosecond pulses degraded, as did the one produced at atmospheric pressure.

Using nanosecond laser pulses, ibuprofen thin films with mixed (crystalline and amorphous) aggregates were successfully produced at high chamber pressures ($10\text{-}10^{-1}$ mbar), while purely amorphous films were produced at lower pressures ($10^{-2}\text{-}10^{-4}$ mbar).

T3/C. The crystallinity of the layers was studied by Scanning electron microscopy (SEM), and differential scanning calorimetry (DSC). The results verified our observations described in the previous paragraph (*i.e.*, the FTIR and Raman spectroscopy results were confirmed). [S2] [S7]

T4. Production of magnetic drug nanocomposite particles by PLA.

Magnetic drug nanocomposites can provide multifunctional theranostic platforms and allow for a combination of diagnostics, monitoring and therapeutics. Using magnetic nanocomposites for targeted delivery and controlled release of drugs, better treatment efficiency and less side effects can be achieved.

T4/A. I was the first to apply PLA to produce drug loaded magnetic nanocomposite particles. Using target tablets composed of commercially available ibuprofen (particle size $\sim 5\text{ }\mu\text{m}$) and magnetite nanoparticles (particle size $\sim 50\text{ nm}$), and applying Nd:YAG laser beams (532 and 1064 nm), I successfully produced magnetic ibuprofen-magnetite composite nanoparticles.

T4/B. Spectroscopic (FTIR, Raman, SEM-EDX) studies has shown, that the ablated particles contain both magnetite NPs and ibuprofen in its original chemical form (*i.e.*, without any chemical degradation).

T4/C. Particle size distributions obtained by SMPS revealed that some of the composite particles fall in the nanometer size range. It has also been found that the ibuprofen:magnetite ratio of the target and the wavelength of the laser have no significant effect on the size of the particles produced under the selected experimental conditions.

T4/D. The experiments described in the previous paragraphs (T4/A-C) were repeated in the presence of an external magnetic field. Fast photography studies demonstrated that the two ingredients (magnetite and ibuprofen) definitely merge during PLA, and composite particles are formed. [S3]

7.2 Additional point for thesis

Although the next chapter does not belong to the thesis points of the dissertation, it plays an essential role in the completion of it. The studies presented here confirm the

improved critical properties of PLA-derived drug formulations compared to the reference materials.

7.2.1. Investigation of the dissolution properties and bioavailability of NSAIDs prepared by PLA method

Investigating the medical applicability of drug particles created by laser ablation, there is also a need for pharmaceutical technology measurements to provide information on the dissolution and toxicity properties of the new formulations. These measurements were carried out at the Institute of Pharmaceutical Technology and Pharmacovigilance of the University of Szeged.

1/A. For all three drugs used, the dissolution rate and solubility of the ablated and reference materials were studied in aqueous solution at pH 7.4 which is the typical pH of the gut and lungs. In all cases, the ablated particles showed higher dissolution rates than the starting materials. The solubility did not change significantly for ibuprofen and niflumic acid, while for meloxicam it doubled compared to the original value.

1/B. The cytotoxicity measurements of the new formulations were performed on A549 cells modelling the alveolar wall of the lungs. Studies have shown that particles induced by laser ablation are suitable for pulmonary drug delivery. The ablated ibuprofen and meloxicam showed half the toxicity of the reference substances, which is an outstanding result, while in the case of niflumic acid the ablated substance was slightly more toxic than the original. The anti-inflammatory effect of the samples was also studied, where we found that all of the new formulations were more effective in reducing inflammation than commercially available pure active ingredients.

8. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK LISTÁJA

8.1. A tézispontokhoz kapcsolódó referált nemzetközi szakfolyóiratokban megjelent tudományos cikkek listája

[S1]: Gera T, Nagy E, Smausz T, Budai J, Ajtai T, Kun-Szabó F, Homik Z, Kopniczky J, Bozóki Z, Szabó-Révész P, Ambrus R and Hopp B 2020 Application of pulsed laser ablation (PLA) for the size reduction of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) *Sci. Rep.* 10 15806

[S2]: Gera T, Smausz T, Kopniczky J, Galbács G, Ambrus R, Szabó-Révész P and Hopp B 2019 Production of ibuprofen in crystalline and amorphous forms by Pulsed Laser Deposition (PLD) *Appl. Surf. Sci.* **493** 359–67

[S3]: Gera T, Smausz T, Ajtai T, Kurilla B, Homik Z, Kopniczky J, Bozóki Z, Szabó-Révész P, Ambrus R and Hopp B 2021 Production of ibuprofen-magnetite nanocomposites by pulsed laser ablation *J. Phys. D: Appl. Phys.* **54** 395401

8.2 Nemzetközi szakfolyóiratokban megjelent további publikációk listája

[S4]: Ludasi K, Jójárt-Laczkovich O, Sovány T, Hopp B, Smausz T, Andrásik A, Gera T, Kovács Z and Regdon jr G 2021 Anti-counterfeiting protection, personalized medicines – Development of 2D identification methods using laser technology *Int. J. Pharm.* **605** 120793

[S5]: Smausz T, Kondász B, Gera T, Ajtai T, Utry N, Pintér M, Kiss-Albert G, Budai J, Bozóki Z, Szabó G and Hopp B 2017 Determination of UV–visible–NIR absorption coefficient of graphite bulk using direct and indirect methods *Appl. Phys. A* **123** 633

[S6]: Hopp B, Smausz T, Lentner M, Kopniczky J, Tápai C, Gera T, Csizmadia T, Ehrhardt M, Lorenz P and Zimmer K 2017 Stability investigation of laser darkened metal surfaces *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.* 123

8.3 Konferencia előadások és posztterek

[S7] Gera T, Smausz T, Kopniczky J, Ambrus R, Szabo-Revesz P and Hopp B 2019 Production and Characterization of Ibuprofen Particle Layer Generated by Pulsed Laser Deposition (PLD) *2019 Conference on Lasers and Electro-Optics Europe & European Quantum Electronics Conference (CLEO/Europe-EQEC)* vol Part F140- (IEEE) pp 1–1

[S8] Gera T, Smausz T, Kopniczky J, Galbács G, Ambrus R, Szabó-Révész P and Hopp B 2021 Size reduction of drug particles by Pulsed laser ablation technique ed P Földi and I Magashegyi (Szeged: Szegedi Tudományegyetem Természettudományi és Informatikai Kar Fizikai Intézet) pp 59–64

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Elsősorban szeretnék köszönetet mondani és hálámat kifejezni témavezetőmnek, *Prof. Dr. Hopp Bélának*, hogy hallgató koromtól kezdve, folyamatos támogatásával segítette kutatói pályámat. Útmutatásával, emberségével és kellő szigorával mindig a megfelelő mederbe terelte munkámat. Köszönettel tartozom azért, hogy mindig új ötleteket adott kutatásaimhoz, emellett támogatta a saját ötleteimet is és hagyta, hogy „saját bőrömön” tapasztaljam meg azok következményeit.

Szeretném hálámat kinyilvánítani *Dr. Smausz Kolombán Tamásnak*, akihez mindig nyugodt szívvel fordulhattam segítségért. Pótolhatatlan szakmai és műszaki tudása nagymértékben elősegítette kísérleteim sikerességét.

Köszönöm *Dr. Kopniczky Judit* segítőkész munkáját az elektronmikroszkópos felvételek elkészítése, valamint a publikációk fordításának ellenőrzése során.

Köszönetet szeretnék mondani doktorandusz társaimnak *Kondász Bencének*, *Nagy Eszternek* és *Homik Zsoltnak* a kísérletekben történő közreműködésükért, valamint az emberséges és baráti munkahelyi légkörért.

Köszönettel tartozom a Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet munkatársainak, elsősorban *Dr. Ambrus Ritának* és *Prof. Szabóné Dr. Révész Piroskának*, a gyógyszer technológia területén nyújtott útmutatásukért és hogy biztosították a kutatáshoz szükséges hatóanyagokat, valamint a vizsgálatokhoz szükséges eszközöket.

Köszönettel tartozom az MTA SZTE Fotoakusztikus Kutatócsoport munkatársainak, *Dr. Ajtai Tibornak*, *Dr. Kurilla Boldizsárnak*, *Kun-Szabó Fruzsínának* és *Hodovány Szabolcsnak* a részecskék méreteloszlási vizsgálataiban történő részvételükért és a kutatócsoport vezetőjének *Prof. Dr. Bozóki Zoltánnak*, hogy biztosította a mérésekhez szükséges eszközöket.

Köszönöm *Dr. Budai Juditnak*, hogy segítséget nyújtott az ellipszometriai mérések elvégzéséhez és *Dr. Kohut Attilának* a mágneses nanokompzitok mintavételezésénél nyújtott segítségéért.

Köszönetet szeretnék mondani az Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék vezetőségének és munkatársainak, hogy biztosították a kutatásaimhoz szükséges erőforrásokat és eszközöket, valamint a megteremtett kellemes és nyugodt munkahelyi légkörért.

Végezetül, de nem utolsó sorban mérhetetlen hálával tartozom *Szüleimnek*, *Családtagjaimnak*, *Páromnak* és *Barátaimnak* hogy olyan biztos lelki háttérrel nyújtottak és nyújtanak ma is, amelynél többet egy ember nem kívánhat.

IRODALOMJEGYZÉK

- [1] Dhobale A V and Dhembre G 2018 Solubility enhancement techniques-a review *Indo Am. J. Pharm. Sci.* **05** 2798–810
- [2] Wu K, Su D, Liu J, Saha R and Wang J-P 2019 Magnetic nanoparticles in nanomedicine: a review of recent advances *Nanotechnology* **30** 502003
- [3] Morales J O, Watts A B and Mcconville J T 2012 *Mechanical Particle-Size Reduction Techniques*
- [4] Sud S and Kamath A 2013 Methods of Size Reduction and Factors Affecting Size Reduction in Pharmaceuticals *Int. Res. J. Pharm.* **4** 57–64
- [5] Merisko-Liversidge E M and Liversidge G G 2008 Drug Nanoparticles: Formulating Poorly Water-Soluble Compounds *Toxicol. Pathol.* **36** 43–8
- [6] Möschwitzer J and Development E P 2010 Nanotechnology: Pharmaceutical Development Process 54–9
- [7] Loh Z H, Samanta A K and Sia Heng P W 2015 Overview of milling techniques for improving the solubility of poorly water-soluble drugs *Asian J. Pharm. Sci.* **10** 255–74
- [8] de Villiers M M 1995 Influence of cohesive properties of micronized drug powders on particle size analysis *J. Pharm. Biomed. Anal.* **13** 191–8
- [9] Broseghini M, Gelisio L, D’Incau M, Azanza Ricardo C L, Pugno N M and Scardi P 2016 Modeling of the planetary ball-milling process: The case study of ceramic powders *J. Eur. Ceram. Soc.* **36** 2205–12
- [10] Midoux N, Hošek P, Pailleres L and Authelin J . 1999 Micronization of pharmaceutical substances in a spiral jet mill *Powder Technol.* **104** 113–20
- [11] Godet-Morand L, Chamayou A and Dodds J 2002 Talc grinding in an opposed air jet mill: start-up, product quality and production rate optimization *Powder Technol.* **128** 306–13
- [12] Anon 2008 Ostwald ripening *IUPAC Compendium of Chemical Terminology* vol 1801 (Research Triangle Park, NC: IUPAC) p 4348
- [13] Atiemo-Obeng V A and Calabrese R V. 2004 Rotor–Stator Mixing Devices *Handbook of Industrial Mixing* (Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.) pp 479–505
- [14] Merisko-Liversidge E and Liversidge G G 2011 Nanosizing for oral and parenteral drug delivery: A perspective on formulating poorly-water soluble compounds using wet media milling technology *Adv. Drug Deliv. Rev.* **63** 427–40
- [15] KECK C and MULLER R 2006 Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenisation *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **62** 3–16
- [16] Salazar J, Müller R H and Möschwitzer J P 2014 Combinative Particle Size Reduction Technologies for the Production of Drug Nanocrystals *J. Pharm.* **2014** 1–14
- [17] Bartos C, Szabó-Révész P, Bartos C, Katona G, Jójárt-Laczkovich O and Ambrus R 2016 The Effect of an Optimized Wet Milling Technology on the Crystallinity, Morphology and Dissolution Properties of Micro- and Nanonized Meloxicam *Molecules* **21**
- [18] Ambrus R, Radacsi N, Szunyogh T, van der Heijden A E D M, ter Horst J H and Szabó-Révész P 2013 Analysis of submicron-sized niflumic acid crystals prepared by electrospray crystallization *J. Pharm. Biomed. Anal.* **76** 1–7
- [19] Avinash D, Mrudula B, Milind W, Vanashri N and Ravindranath S 2019 A review on Nanocomposite Drug Delivery **9** 529–36
- [20] Ashfold M N R, Claeysens F, Fuge G M and Henley S J 2004 Pulsed laser ablation and deposition of thin films 23–31
- [21] M. Steen W and Mazumder J 2010 *Laser Material Processing*
- [22] Lin J 2016 Progress of medical lasers : Fundamentals and applications **2** 36–41

- [23] Eason R 2006 *Pulsed Laser Deposition of Thin Films* ed R Eason (Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.)
- [24] RAO M C 2013 Pulsed Laser Deposition — Ablation Mechanism and Applications *Int. J. Mod. Phys. Conf. Ser.* **22** 355–60
- [25] Ovsianikov A, Yoo J and Mironov V 2016 *3D Printing and Biofabrication* ed A Ovsianikov, J Yoo and V Mironov (Cham: Springer International Publishing)
- [26] Mihailescu, I. N. and Caricato A P 2018 *Pulsed Laser Ablation, Advances and Applications in Nanoparticles and Nanostructuring Thin films* (Dordrecht: Springer Netherlands)
- [27] Hoffman J 2015 The effect of recoil pressure in the ablation of polycrystalline graphite by a nanosecond laser pulse *J. Phys. D. Appl. Phys.* **48**
- [28] Freiwald D A and Axford R A 1975 Approximate spherical blast theory including source mass *J. Appl. Phys.* **46** 1171–4
- [29] Hopp B, Nagy E, Peták F, Smausz T, Kopniczky J, Tápai C, Budai J, Papp I Z, Kukovecz Á, Ambrus R and Szabó-Révész P 2018 Production of meloxicam suspension using pulsed laser ablation in liquid (PLAL) technique *J. Phys. D. Appl. Phys.* **51** 165401
- [30] Hoffman J 2015 The effect of recoil pressure in the ablation of polycrystalline graphite by a nanosecond laser pulse *J. Phys. D. Appl. Phys.* **48** 235201
- [31] Ortaç B, Şimşek E U and Kurşungöz C 2017 Nanoparticles, Nanocrystals, and Nanocomposites Produced with Pulsed Laser Ablation and Their Applications *Laser Ablation - From Fundamentals to Applications* (InTech)
- [32] Singh A, Salminen T, Honkanen M, Nikkanen J-P, Vuorinen T, Kari R, Vihinen J and Levänen E 2020 Carbon coated TiO₂ nanoparticles prepared by pulsed laser ablation in liquid, gaseous and supercritical CO₂ *Nanotechnology* **31** 085602
- [33] Wu W, Wu Z, Yu T, Jiang C and Kim W-S 2015 Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications *Sci. Technol. Adv. Mater.* **16** 023501
- [34] Gawande M B, Goswami A, Asefa T, Guo H, Biradar A V., Peng D L, Zboril R and Varma R S 2015 Core-shell nanoparticles: synthesis and applications in catalysis and electrocatalysis *Chem. Soc. Rev.* **44** 7540–90
- [35] Chiozzi V and Rossi F 2020 Inorganic–organic core/shell nanoparticles: progress and applications *Nanoscale Adv.* **2** 5090–105
- [36] Zhu N, Ji H, Yu P, Niu J, Farooq M, Akram M, Udego I, Li H and Niu X 2018 Surface Modification of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles *Nanomaterials* **8** 810
- [37] Borrajo J P, Serra J, Liste S, González P, Chiussi S, León B and Pérez-Amor M 2005 Pulsed laser deposition of hydroxylapatite thin films on biomorphic silicon carbide ceramics *Appl. Surf. Sci.* **248** 355–9
- [38] Dawson K J, Kearns K L, Yu L, Steffen W and Ediger M D 2009 Physical vapor deposition as a route to hidden amorphous states *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106** 15164–70
- [39] Hauer M R 2004 *Research Collection*
- [40] Babu S K S, Moni D J, Padickala P J, Azariah J C R and Rajesh S 2019 Fabrication and Characterization of PLD Deposited Crystalline ZnO as Channel and Amorphous ZnO as Gate Dielectric of the Thin Film FET *Proc. 4th Int. Conf. Devices, Circuits Syst. ICDCS 2018* 301–4
- [41] Nicolás S M de, Muñoz D, Ozanne A S, Nguyen N and Ribeyron P J 2011 Optimisation of doped amorphous silicon layers applied to heterojunction solar cells *Energy Procedia* **8** 226–31
- [42] Onoue S, Yamada S and Chan K 2014 Nanodrugs: pharmacokinetics and safety *Int. J.*

- [43] Mehta M, Mueller and Nave 2013 From inhaler to lung: clinical implications of the formulations of ciclesonide and other inhaled corticosteroids *Int. J. Gen. Med.* **6** 99
- [44] Kastner M A 1993 Artificial Atoms *Phys. Today* **46** 24–31
- [45] Khare A, Wills A W, Ammerman L M, Norris D J and Aydil E S 2011 Size control and quantum confinement in Cu₂ZnSnS₄ nanocrystals *Chem. Commun.* **47** 11721–3
- [46] Pelaz B, Alexiou C, Alvarez-Puebla R A, Alves F, Andrews A M, Ashraf S and Balogh L P 2017 Diverse Applications of Nanomedicine *ACS Nano* **11** 2313–81
- [47] Damodharan J 2021 Nanomaterials in medicine – An overview *Mater. Today Proc.* **37** 383–5
- [48] Sosnovik D E, Nahrendorf M and Weissleder R 2008 Magnetic nanoparticles for MR imaging: agents, techniques and cardiovascular applications *Basic Res. Cardiol.* **103** 122–30
- [49] AM A-D and AAH A-M 2018 SF Journal of Nanochemistry and Nanotechnology The Effect of Ag Nanoparticles of Varying Morphology on *SF J Nanochem Nanotechnol* **1** (1)
- [50] Ganapathe L S, Mohamed M A, Mohamad Yunus R and Berhanuddin D D 2020 Magnetite (Fe₃O₄) Nanoparticles in Biomedical Application: From Synthesis to Surface Functionalisation *Magnetochemistry* **6** 68
- [51] Huang J, Li Y, Orza A, Lu Q, Guo P, Wang L, Yang L and Mao H 2016 Magnetic Nanoparticle Facilitated Drug Delivery for Cancer Therapy with Targeted and Image-Guided Approaches *Adv. Funct. Mater.* **26** 3818–36
- [52] Oh J K and Park J M 2011 Iron oxide-based superparamagnetic polymeric nanomaterials: Design, preparation, and biomedical application *Prog. Polym. Sci.* **36** 168–89
- [53] Arruebo M, Fernández-Pacheco R, Ibarra M R and Santamaría J 2007 Magnetic nanoparticles for drug delivery The potential of magnetic NPs stems from the intrinsic properties of their magnetic cores combined with their drug loading capability and the biochemical properties that can be bestowed on them by means of a suitab **2** 22–32
- [54] Reiss G and Hütten A 2016 *Magnetic nanoparticles*
- [55] Bandyopadhyay A, Das T and Yeasmin S 2015 *Nanoparticles in Lung Cancer Therapy - Recent Trends* vol 2021 (New Delhi: Springer India)
- [56] World Health Organization World Health Organization model list of essential medicines: 21st list 2019
- [57] ClinCalc The Top 300 of 2021
- [58] Miguel-Álvarez M, Santos-Lozano A, Sanchis-Gomar F, Fiuza-Luces C, Pareja-Galeano H, Garatachea N and Lucia A 2015 Non-steroidal anti-inflammatory drugs as a treatment for Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of treatment effect *Drugs Aging* **32** 139–47
- [59] Anon Ibuprofen. The American Society of Health-System Pharmacists
- [60] Anon National Center for Biotechnology Information (2021). PubChem Compound Summary for CID 3672, Ibuprofen
- [61] Anon National Center for Biotechnology Information (2021). PubChem Compound Summary for CID 4488, Niflumic acid.
- [62] Pharmacompass Niflumic Acid
- [63] MIMS Niflumic Acid
- [64] Ansejo Baudax Bio Announces FDA Approval of ANJESO™ for the Management of Moderate to Severe Pain
- [65] Tumanov N A, Myz S A, Shakhtshneider T P and Boldyreva E V. 2012 Are meloxicam dimers really the structure-forming units in the 'meloxicam-carboxylic

- acid' co-crystals family? Relation between crystal structures and dissolution behaviour *CrystEngComm* **14** 305–13
- [66] Noble S and Balfour J A 1996 Meloxicam *Drugs* **51** 424–30
- [67] 2021 N C for B I PubChem Compound Summary for CID 54677470, Meloxicam
- [68] Maher B A and Taylor R M 1988 Formation of ultrafine-grained magnetite in soils *Nature* **336** 368–70
- [69] Cornell and Schwertmann 1996 The Iron Oxides pp 28–30
- [70] Tombácz E, Szekeres M, Illés E, Jedlovsky-Hajdú A, Tóth Y. I, Nesztor D and Szabó T 2019 Szuperparamágneses vas-oxid nanorészecskék (SPIONs)teranosztikai célú fejlesztése *Magy. Kémiai Folyóirat* **125** 35–42
- [71] Wallyn, Anton and Vandamme 2019 Synthesis, Principles, and Properties of Magnetite Nanoparticles for In Vivo Imaging Applications—A Review *Pharmaceutics* **11** 601
- [72] Anon National Center for Biotechnology Information (2021). PubChem Compound Summary for CID 4488, Magnetite
- [73] Griffiths P and de Hasseth J A 2007 *Fourier Transform Infrared Spectrometry* (Wiley-Blackwell)
- [74] Kukura P, McCamant D W and Mathies R A 2007 Femtosecond Stimulated Raman Spectroscopy *Annu. Rev. Phys. Chem.* **58** 461–88
- [75] Gill P, Moghadam T T and Ranjbar B 2010 Differential Scanning Calorimetry Techniques: Applications in Biology and Nanoscience
- [76] Centre for Atmospheric Science Scanning Mobility Particle Sizer (SMPS)
- [77] Scarlett B 2002 Optical Particle Counting *Particle Characterization: Light Scattering Methods* (Dordrecht: Kluwer Academic Publishers) pp 182–222
- [78] Laczkó J and Varga S 1979 *Pásztázó (scanning) elektronmikroszkópos vizsgálómódszerek* ed C György (Budapest: Medicina)
- [79] Goldstein J I, Newbury D E, Michael J R, Ritchie N W M, Scott J H J and Joy D C 2017 *Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis*
- [80] Brian. S C 2001 No Title *Angew. Chemie Int. Ed.* **40** 9823
- [81] Romani L F A, Yoshida M I, Gomes E C L, Machado R R, Rodrigues F F, Coelho M M, Oliveira M A, Freitas-Marques M B, San Gil R A S and Mussel W N 2018 Physicochemical characterization, the Hirshfeld surface, and biological evaluation of two meloxicam compounding pharmacy samples *J. Pharm. Anal.* **8** 103–8
- [82] Baranov D A, Vysotskaya S O, Zarochentseva E P, Lisachenko D A, Nosova D A and Tsyganenko A A 2019 Spectral studies of niflumic acid aggregation in dissolved, solid and adsorbed states *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **222** 1–7
- [83] Kacso I, Rus L, Pop M, Borodi G and Bratu I 2012 Structural characterization of ambazone salt with niflumic acid *Spectroscopy* **27** 49–58
- [84] Shakhtshneider T P, Myz S A, Dyakonova M A, Boldyrev V V., Boldyreva E V., Nizovskii A I, Kalinkin A V. and Kumar R 2011 Mechanochemical preparation of organic-inorganic hybrid materials of drugs with inorganic oxides *Acta Phys. Pol. A* **120** 272–8
- [85] Nidhi K, Indrajeet S, Khushboo M, Gauri K and Sen D J 2011 Hydrotropy: A promising tool for solubility enhancement: A review *Int. J. Drug Dev. Res.* **3** 26–33
- [86] Lestari W W, Arvinawati M, Martien R and Kusumaningsih T 2018 Green and facile synthesis of MOF and nano MOF containing zinc(II) and benzen 1,3,5-tri carboxylate and its study in ibuprofen slow-release *Mater. Chem. Phys.* **204** 141–6
- [87] Gera T, Nagy E, Smausz T, Budai J, Ajtai T, Kun-Szabó F, Homik Z, Kopniczky J, Bozóki Z, Szabó-Révész P, Ambrus R and Hopp B 2020 Application of pulsed laser ablation (PLA) for the size reduction of non-steroidal anti-inflammatory drugs

- (NSAIDs) *Sci. Rep.* **10** 15806
- [88] Lee D-W and Cheng M-D 2006 Particle Generation by Ultraviolet-Laser Ablation during Surface Decontamination *J. Air Waste Manage. Assoc.* **56** 1591–8
 - [89] Jaemyoung Lee, Becker M F, Brock J R, Keto J W and Walser R M 1996 Permalloy nanoparticles generated by laser ablation *IEEE Trans. Magn.* **32** 4484–6
 - [90] Izatt J A, Albagli D, Britton M, Jubas J M, Itzkan I and Feld M S 1991 Wavelength dependence of pulsed laser ablation of calcified tissue *Lasers Surg. Med.* **11** 238–49
 - [91] Schmidt H, Ihlemann J, Wolff-Rottke B, Luther K and Troe J 1998 Ultraviolet laser ablation of polymers: spot size, pulse duration, and plume attenuation effects explained *J. Appl. Phys.* **83** 5458–68
 - [92] Sola D and Peña J 2013 Study of the Wavelength Dependence in Laser Ablation of Advanced Ceramics and Glass-Ceramic Materials in the Nanosecond Range *Materials (Basel)*. **6** 5302–13
 - [93] Vueba M L, Pina M E and Batista de Carvalho L A E 2008 Conformational Stability of Ibuprofen: Assessed by DFT Calculations and Optical Vibrational Spectroscopy *J. Pharm. Sci.* **97** 845–59
 - [94] Brás A R, Merino E G, Neves P D, Fonseca I M, Dionísio M, Schönhals A and Correia N T 2011 Amorphous ibuprofen confined in nanostructured silica materials: A dynamical approach *J. Phys. Chem. C* **115** 4616–23
 - [95] Brás A R, Noronha J P, Antunes A M M, Cardoso M M, Schönhals A, Affouard F, Dionísio M and Correia N T 2008 Molecular Motions in Amorphous Ibuprofen As Studied by Broadband Dielectric Spectroscopy *J. Phys. Chem. B* **112** 11087–99
 - [96] Suttiruengwong S, Pivsa-Art S and Chareonpanich M 2018 Hydrophilic and hydrophobic mesoporous silica derived from rice husk ash as a potential drug carrier *Materials (Basel)*. **11**
 - [97] Ganeshan V and Ethiraj T 2015 Preparation and characterization of crystals of prulifloxacin *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **7** 307–10
 - [98] Rasenack N and Müller B W 2002 Ibuprofen crystals with optimized properties *Int. J. Pharm.* **245** 9–24
 - [99] Hamad A H 2016 Effects of Different Laser Pulse Regimes (Nanosecond, Picosecond and Femtosecond) on the Ablation of Materials for Production of Nanoparticles in Liquid Solution *High Energy and Short Pulse Lasers* vol i (InTech) p 305
 - [100] Hauer M R 2004 *Laser ablation of polymers studied by time resolved methods* (ETH Zürich)
 - [101] Xu C, Wicklein S, Sambri A, Amoroso S, Moors M and Dittmann R 2014 Impact of the interplay between nonstoichiometry and kinetic energy of the plume species on the growth mode of SrTiO₃ thin films *J. Phys. D: Appl. Phys.* **47** 034009
 - [102] George S, Kumar A, Singh R K and Nampoori V P N 2010 Effect of ambient gas on the expansion dynamics of plasma plume formed by laser blow off of thin film *Appl. Phys. A* **98** 901–8
 - [103] Farid N, Harilal S S, Ding H and Hassanein A 2014 Emission features and expansion dynamics of nanosecond laser ablation plumes at different ambient pressures *J. Appl. Phys.* **115** 033107
 - [104] Ojeda-G-P A, Schneider C W, Lippert T and Wokaun A 2016 Pressure and temperature dependence of the laser-induced plasma plume dynamics *J. Appl. Phys.* **120** 225301
 - [105] SINGH R, QIAN F, NAGABUSHNAM V, DAMODARAN R and MOUDGIL B 1994 Excimer laser deposition of hydroxyapatite thin films *Biomaterials* **15** 522–8
 - [106] Itina T E and Voloshko A 2013 Nanoparticle formation by laser ablation in air and by spark discharges at atmospheric pressure *Appl. Phys. B* **113** 473–8

- [107] Tveryanovich Y S, Manshina A A and Tverjanovich A S 2012 Production of nanodispersed materials and thin films by laser ablation techniques in liquid and in vacuum *Russ. Chem. Rev.* **81** 1091–116
- [108] Raz M, Moztarzadeh F, Hamedani A A, Ashuri M and Tahriri M 2011 Controlled Synthesis, Characterization and Magnetic Properties of Magnetite (Fe_3O_4) Nanoparticles without Surfactant under N_2 Gas at Room Temperature *Key Eng. Mater.* **493–494** 746–51
- [109] Shebanova O N and Lazor P 2003 Raman study of magnetite (Fe_3O_4): laser-induced thermal effects and oxidation *J. Raman Spectrosc.* **34** 845–52
- [110] Caricato A P and Luches A 2011 Applications of the matrix-assisted pulsed laser evaporation method for the deposition of organic, biological and nanoparticle thin films: a review *Appl. Phys. A* **105** 565–82
- [111] Schlegel A, Alvarado S F and Wachter P 1979 Optical properties of magnetite (Fe_3O_4) *J. Phys. C Solid State Phys.* **12** 1157–64
- [112] Uhljar L É, Kan S Y, Radacsi N, Koutsos V, Szabó-Révész P and Ambrus R 2021 In Vitro Drug Release, Permeability, and Structural Test of Ciprofloxacin-Loaded Nanofibers *Pharmaceutics* **13** 556
- [113] Vuong N Q, Breznan D, Goegan P, O'Brien J S, Williams A, Karthikeyan S, Kumarathasan P and Vincent R 2017 In vitro toxicoproteomic analysis of A549 human lung epithelial cells exposed to urban air particulate matter and its water-soluble and insoluble fractions *Part. Fibre Toxicol.* **14** 39
- [114] Crestani B, Cornillet P, Dehoux M, Rolland C, Guenounou M and Aubier M 1994 Alveolar type II epithelial cells produce interleukin-6 in vitro and in vivo. Regulation by alveolar macrophage secretory products. *J. Clin. Invest.* **94** 731–40

HIBAJEGYZÉK

Oldal/Sor	Hiba	Javítás
15/12	részecskéinek csökkentésében	részecskéinek méretcsökkentésében
16/21	fotokémiai	fototermális
18/17	polimerekkel	polimereknél
20/24	2. ábra	3. ábra
27/30	PLA módszer segítségével	PLA módszert alkalmazva
32/4	szokás	szokásos
35/13	szélessége csúcs-hőmérsékletei	szélessége és csúcshőmérsékletei
48/20	részecskék	részecskéknek
57/30	vékonyréteg	vékonyréteget
62/15	végzetem	végeztem
64/17	feltüntettem	feltüntettem.
72/12	ábra a bal felső sarkában	ábra bal felső sarkában
86/12	ami jellemzi az	ami jellemzi
90/31	impulzus lézeres	impulzuslézeres
91/1	impulzusok	impulzusainak