



Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszerésztudományi Kar
Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet

Ph. D. értekezés tézisei

**HATÓANYAG-HORDOZÓ KÖLCSÖNHATÁSOK VIZSGÁLATA ÉS
FELSZABADULÁSI KINETIKA MODELLEZÉSE KÖZVETLENÜL PRÉSELT
GYÓGYSZERHORDOZÓ MÁTRIXOKBAN**

Benkő Ernő Máté
Gyógyszerész

Témavezetők:

Dr. Sovány Tamás
Prof. Dr. Csóka Ildikó

Szeged
2022

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola
Gyógyszertechnológia Ph. D. program
Programvezető: Prof. Dr. Csóka Ildikó, intézetvezető,
Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet
Témavezetők: Dr. Sovány Tamás
Prof. Dr. Csóka Ildikó

Benkő Ernő Máté

**HATÓANYAG-HORDOZÓ KÖLCSÖNHATÁSOK VIZSGÁLATA ÉS
FELSZABADULÁSI KINETIKA MODELLEZÉSE KÖZVETLENÜL PRÉSELT
GYÓGYSZERHORDOZÓ MÁTRIXOKBAN**

Szigorlati Bizottság:

Elnök: *Prof. Dr. Révész Piroska*, MTA doktor, Szegedi Tudományegyetem,
Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti
Intézet

Tagok: *Prof. Dr. Bácskay Ildikó*, PhD, Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi
Kar, Gyógyszertechnológiai Tanszék

Dr. Aigner Zoltán, PhD, Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi
Kar, Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet

Bírálati Bizottság:

Elnök: *Prof. Dr. Zupkó István*, MTA doktor, Szegedi Tudományegyetem,
Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet

Opponensek: *Prof. Dr. Bácskay Ildikó*, PhD, Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi
Kar, Gyógyszertechnológiai Tanszék

Prof. Dr. Zelkó Romána, MTA doktor, Semmelweis Egyetem,
Gyógyszerésztudományi Kar, Egyetemi Gyógyszertár, Gyógyszerügyi
Szervezési Intézet

Tagok: *Dr. Szakonyi Gerda*, PhD; Szegedi Tudományegyetem,
Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszeranalitikai Intézet

Dr. Hunyadi Attila, PhD, Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi
Kar, Farmakognóziái Intézet

1 BEVEZETÉS

A különböző krónikus betegségek kezelésében igen nagy jelentőséggel bírnak az egyes betegek egyedi különbségei, melyek a gyógyszeres terápia hatékonyságát is jelentősen befolyásolják. Társbetegségek, genetikai különbségek, számtalan különböző életesemény mind-mind befolyással lehetnek egyes fiziológiai jellemzőkre, mint pl. felszívódási, kiürülési paraméterek, gyógyszerhatóanyagok hatékonysága, illetve ezekből adódóan egyes terápiák hatékonysága. Ezeket a problémákat hidalhatja át az egyedi gyógyszerelés megvalósítása. A tabletták mind a mai napig a leggyakrabban használt gyógyszerformák közé tartoznak a gyógyszerpiacon. Korunk egyik legnagyobb kihívása, az egyedi gyógyszerelési igényeknek megfelelő pontosan szabályozott hatóanyagleadással rendelkező gyógyszerhordozó rendszerek létrehozása.

A szabályozott hatóanyagleadás különösen fontos a krónikus betegségek hosszú távú terápiajában, amikor is a stabil, állandó plazmaszint biztosítása kulcsfontosságú a kezelés sikerességéhez. A gyógyszerek hosszú időn keresztül történő többszöri alkalmazásánál kulcskérdés a beteggyüttműködés, ez azonban problémás lehet pl. pszichiátriai vagy neurodegeneratív kórképeknél, vagy amikor a kezelési intervallumok rendkívül hosszúak, például csontritkulás kezelésével kapcsolatban. Az implantálható gyógyszerhordozó rendszerek akár több hónapra képesek szabályozott hatóanyag leadást biztosítani, ami ilyen esetekben kimondottan előnyös lehet, különösen, ha a hatóanyag rossz biohasznosulással rendelkezik – mint pl. a csontritkulás ellen alkalmazott biszfoszfonátok esetében.

A jelen munka biszfoszfonátok hordozásra szolgáló biológiailag lebomló és nem-lebomló implantálható mátrixtabletták kioldódási mechanizmusának és hatóanyag leadási kinetikájának jobb megértését célozza, egy új megközelítés, a ható- és segédanyagok közötti kölcsönhatások felhasználását személyre szabott hatóanyagleadással rendelkező nyújtott hatóanyagleadású mátrixok fejlesztése érdekében.

A Quality by Design (QbD) alapelveinek alkalmazása napjainkban nélkülözhetetlen egy alkalmazott termékfejlesztés során, melynek számos eleme – mint a kísérlettervezés (DoE), vagy mesterséges neurális hálózatok (ANN) – jól alkalmazhatók alap kutatások esetében is. A jelen munkában ezt a két módszert alkalmaztuk a ható- és segédanyagok közötti kölcsönhatások kritikus minőségi jellemzőkre (CQA) - mint pl. az implantálható mátrixtabletták keresztmetszeti törési szilárdsága, porozitás és hatóanyag leadási sebessége - gyakorolt hatásainak felderítésére. Ennek megfelelően több, kémiaiilag hasonló szerkezetű de savi erősségben eltérő hatóanyagot dolgoztunk fel egy vegyes 2 és 3 szintű teljes faktoriális

kísérletterv alapján. A hidrogénkötéseken alapuló szilárd fázisú hatóanyag-polimer kölcsönhatások jelenlétét FT-IR vizsgálatokkal igazoltuk, míg ezen kölcsönhatások hatóanyag liberációra gyakorolt hatását egy mesterséges neurális hálózat segítségével modelleztük.

2 CÉLKITŰZÉSEK

2.1 Elsődleges célkitűzés

A jelen kutatás elsődleges célja egy rizedronát hordozására alkalmas, közvetlen préseléssel előállított polimer alapú implantálható gyógyszerhordozó rendszer fejlesztése volt, biológiailag lebomló (kitozán) és nem-lebomló (PVC) polimerek tulajdonságainak, mint pl. mechanikai jellemzők, kioldódási mechanizmus és kinetika, összehasonlítása által. A megkívánt QTTP paraméterek között szerepel a megfelelő törési szilárdság, a legalább 3, de inkább 6 hónapig tartó elnyújtott hatóanyag felszabadulás, számottevő kezdeti gyors liberáció nélkül. A mátrixképző segédanyag biológiailag lebomló természete előnyben részesített.

2.2 Másodlagos kutatási célok

Az elsődleges célok megvalósítása során kémiai kölcsönhatások in situ történő kialakulását tapasztaltuk, amely szükségessé tette az eredeti kockázatelemzés eredményeinek felülvizsgálatát, és a jelenség a jobb megértését és magyarázatát, mely a kutatásunk másodlagos célkitűzése lett. Ennek megfelelően a módosított kutatási cél azon hipotézis igazolása, mely szerint a hatóanyag és hordozó közötti kölcsönhatások erőssége összefüggésben áll a hatóanyagok savi erősségével. Az idő közben gyűjtött adatok pedig hozzásegítenek a személyre szabott hatóanyag-leadás eléréséhez implantálható gyógyszerhordozó rendszerek vonatkozásában, melyek egyre nagyobb figyelmet kapnak a hatóanyagok plazmakoncentrációjának hosszú távú, egyenletes biztosításában krónikus betegségben szenvedő pácienseknél. Az alapkutatás során a QbD megközelítést alkalmaztuk, ennél fogva számos különböző savi erősségű, de hasonló kémiai szerkezetű hatóanyagot és több mátrix képző polimert használtunk fel.

A jelen disszertáció legfőbb pontjai:

1. Különböző polimerek alkalmazhatóságának összehasonlítása szilárd mátrix rendszerek fejlesztésének céljából –a hatóanyag felszabadulási sebesség és mechanizmus elemzése és összehasonlítása.
2. Azon hipotézis igazolása mely szerint a hatóanyag-segédanyag kölcsönhatások erőssége előre becsülhető a hatóanyagok savi erőssége alapján.

3. Ezekből következik a jelen munka azon célkitűzése is, mely különféle, a mátrixokból történő hatóanyag-felszabadulás általános előrejelzésére alkalmas modellezési lehetőség hatékonyságának összehasonlítását célozza. Ezzel kapcsolatban hipotézisünk, hogy a kinetikai paramétereken alapuló modellezés egyszerűbb hálózati struktúrával és gyorsabb sebességgel képes a becslési folyamatok elvégzésére.

3 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1 Anyagok

A kísérletek során rizedronát nátriumot (RiS), aceklofenákot (Ace), diklofenák nátriumot (DiS) és paracetamolt (PAR) alkalmaztunk, mint hatóanyagot, mátrix képző segédanyagként polivinil-klorid (MW: 60-150) (PVC), valamint a biológiailag lebomló kitozán (MW: 400-600 kDa, átlag viszkozitás: 1000 cP, deacetilezési fok: 80%) (Chit), Eudragit EPO (EE) és Eudragit L100-55 (EL) kerültek felhasználásra (1. Táblázat).

1. Táblázat. Kiindulási alapanyagok fizikai-kémiai jellemzői

	RIS	PAR	DiS	ACE	EE	EL	PVC	CHIT
Vízoldé- konyság	10,4 mg/ml	14g/l	15,9 mg/l	Not soluble	<10 µg/ml (> pH 5)	< 0,03 mg/ml (> pH 6)	<10 µg/ml	Nem oldódik
logP	-0,75	0,34	3,10	4,16	-	-	-	-
pKa	0,68	9,46	4,00	3,44	-	-	-	-
H ⁺ akceptor	3	3	3	4	3/n*	3/n*	-	változó
H ⁺ donor	3	1	1	2	1/n*	1/n*	-	változó
Forgásra képes kötések	8	3	3	5	-	-	-	2

*x/n: vonatkozik a H⁺ akceptor/donor csoportok számára egy monomerben

** ChemAxon által becsült érték. Forrás: <https://foodb.ca/compounds/FDB019541> (elérhető: 2020.06.22.)

3.2 Módszerek

3.2.1 Preformulációs vizsgálatok

A biszfoszfonát hordozó rendszer fejlesztése során preformulációs vizsgálatokat végeztünk a RiS, Chit, PVC anyagokon.

Az anyagok folyási sajátságainak (folyási idő, lejtőszög, halomsűrűség) meghatározásához Pharmatest PTG-1 (Pharmatest GmbH, Németország) berendezést alkalmaztunk.

Az alapanyagok és porkeverékek plaszticitását egy számítógéphez kapcsolt, mindkét bélyegzőn nyúlásmérő bélyeggel, és elmozdulás mérő jeladóval (Micropulse, BTL5-A11-M0050-P-532, Balluff, Németország) felszerelt Korsch EK0 excenteres tablettázógéppel (E. Korsch Machinenfabrik, Berlin, Németország) határoztuk meg.

Az anyagok felületi szabadenergiájának és nedvesedési sajátságainak meghatározásához egy DataPhysics OCA 20 (DataPhysics Instruments GmbH, Fielderstadt, Németország) optikai peremszög mérő rendszert használtunk, ülcsepp módszer alkalmazásával. A 13 mm átmérőjű tablettákra vizet és dijódmetánt cseppentettünk. A tabletták egy Specac típusú hidraulikus présberendezéssel (Specac Inc, Orpington, Egyesült Királyság) készültek 4 tonna présnyomás alkalmazásával.

3.2.2 Tabletta készítés

A tabletták készítése faktoriális kísérlettervezés alapján történt. Az eredmények értékeléséhez Statistica for Windows v12 software csomagot (Statsoft Inc., Tulsa, OK, Egyesült Államok) használtuk.

3.2.2.1 Biszfoszfonát hordozó mátrixok

A biszfoszfonát hordozó mátrixok egy vegyes 2 és 3 szintű teljes faktoriális kísérletterv alapján készültek. Az általános QTTP magas – lehetőleg 40% feletti – hatóanyagtartalom, mely később lehetővé teszi az eszköz méretének csökkentését, megfelelő mechanikai szilárdság (legalább 50 N, de az optimális tartomány 80-120 N) amely biztosítja a megfelelő alkalmazhatóságot a beültetés során, valamint legalább 3 hónapon át tartó elnyújtott hatóanyag-felszabadulást biztosít, jelentős kezdeti gyors kioldódás nélkül (kevesebb mint 10% hatóanyag szabadul fel az első 24 órában). A kísérlettervben a polimerek (biológiailag lebomló/nem-lebomló) tulajdonságainak hatása 2 szintű kvalitatív, a hatóanyag mennyisége (10% vagy 40%)

2 szintű kvantitatív, és az alkalmazott préserő (1, 3, 5 tonna, ami sorban megfelel 58, 174 és 290 MPa présnyomásnak) 3 szintű kvantitatív paraméterként szerepelt (2. Táblázat).

2. Táblázat: Biszfoszfonát hordozó mátrixok összetételei

Anyagok	Biolebomló		Nem-biolebomló	
	CA-1 (%)	CA-2 (%)	CA-3 (%)	CA-4 (%)
RIS	10	40	10	40
PVC	-	-	89	59
CHIT	89	59	-	-
Ca-sztearát	1	1	1	1

3.2.2.2 A kémiai kölcsönhatások szerepének vizsgálatára szolgáló mátrixok

A kémiai kölcsönhatások vizsgálatára szolgáló mátrixok előállítása szintén egy vegyes 2 és 3 szintű teljes faktoriális kísérletterv alapján történt, ahol a segédanyagok tulajdonságai 2 szintű, a hatóanyagok savi erőssége, a segédanyagok tömegaránya, valamint az alkalmazott préserő 3 szintű paraméterként szerepelt.

A porkeverék készítése egy 1,5L-es Paul Schatz működési elvű (Inversina, BioEngineering, Wald, Svájc) keverővel készült, majd a tablettázás egy felműszerezett Kilian SP 300 hidraulikus prés (IMA Kilian GmbH & Co., KG, Cologne, Németország) segítségével történt. A tablettázás 2,9, 8,7 és 14,4 kN préserő (mely sorban 75, 225 és 375 MPa présnyomásnak felel meg) alkalmazásával történt.

3.2.3 Fizikai tulajdonságok

A tabletták fizikai jellemzéséhez egy Kraemer UTS (Kraemer Elektronik GmbH, Németország) tablettavizsgáló berendezést használtunk. A porozitás kiszámítása a mátrixok fizikai paramétereinek, illetve valódi sűrűségének ismeretén alapultak, mely utóbbit egy hélium gázpiknométerrel (AccuPyc 1330, Micromeritics, Norcross, GA, Egyesült Államok) mértünk meg.

3.2.4 Fizikai-kémiai jellemzés

A kölcsönhatások specifikus azonosításához és jellemzéséhez FT-IR vizsgálatokat végeztünk. Ehhez ZeSe HATR feltétet használtunk 4 cm^{-1} felbontással, 128 letapogatással és a víz és szén-dioxid okozta zaj korrekciójával.

3.2.5 Kioldódási vizsgálatok

A hatóanyag mátrixokból történő felszabadulásának tanulmányozására egy speciális módszert alkalmaztunk. A tablettákat 50 ml pH 7,4-es foszfáttal pufferolt sóoldatot tartalmazó Erlenmeyer lombikba helyeztük. Az oldószer zárt körű folyamatos áramoltatását egy Alitea-XV (Alitea, Svédország) perisztaltikus pumpával biztosítottuk. A kioldó közeget időközönként megújítottuk, fenntartva ezzel az időfüggő koncentráció-grádiens.

A kölcsönhatások vizsgálatára szolgáló mátrixok esetében csak 24 órás vizsgálatot végeztünk, a legfontosabb kinetikai paraméterek megállapítása céljából és csupán néhány, egyedileg kiválasztott mintán végeztünk egyhetes kioldódási teszteket. Minden mintából három párhuzamos mérés készült, a kvantitatív analízishez egy ThermoGenesys UV-spektrométert alkalmaztunk.

3.2.6 Kísérlettervezés és Mesterséges Neurális Hálózatok

A kísérlettervezéshez (DoE) és a mesterséges neurális hálózatokon (ANN) alapuló modellezéshez a Statistica v.13.5.0.17 (Tibco Software Inc., Palo Alto, CA, Egyesült Államok) programcsomagot használtunk. A présnyomás (x_1), a segédanyagok mennyisége (x_2), a felhasznált ható- (x_3), és segédanyagok (x_4) független faktorként, míg a törési szilárdság (y_1), porozitás (y_2), és felszabadulási arány (y_3) optimalizációs paraméterként szerepelt a vizsgálatok során.

A jelen munka egyik célkitűzése a különféle modellezési lehetőségeket összehasonlítása volt, a kioldódási eredmények általános modellezésével kapcsolatos hatékonyságuk alapján. A kinetikai paramétereken alapuló megközelítés során a felszabadulási sebessége és a görbe alakparamétere voltak a modellezés kimeneti elemei, míg a pontról pontra történő modellezésnél Galata és mtsai alapján a különböző időpillanatokban kioldódott hatóanyag mennyiségét használtuk 7 mérési pont alkalmazásával. Ezzel kapcsolatban hipotézisünk, hogy a kinetika alapú megközelítés egyszerűbb hálózati struktúrával és gyorsabb sebességgel képesek a becslési folyamatok elvégzésére.

Minden esetben előre csatolt, többrétegű perceptron hálózatokat fejlesztettünk a Statistica program Automated Neural Networks moduljának segítségével, többszöri indításos módszert alkalmazásával minden hálózati struktúra esetén 10 000 hálózatot generálva. A tanulási folyamatot akkor állítottuk meg amikor a négyzetes hiba érték (RMSE) elérte a minimumot. Majd a legjobb 5 hálózatot tartottuk meg minden futtatásból.

4 EREDMÉNYEK ÉS DISZKUSSZIÓ

4.1 Biszfoszfónát hordozó mátrixok

4.1.1 Preformulációs vizsgálatok

A porreológiai vizsgálatok eredménye megmutatta, hogy a mikronizált RiS nem rendelkezik értékelhető folyási sajátságokkal. A CHIT lemezkéi pedig szintén igen rossz folyási sajátsággal, valamint nagyon alacsony halomsűrűséggel, felületi szabadenergiával és polaritással rendelkeznek. A PVC közepes folyási sajátsággal és halomsűrűséggel bír, emellett kiváló az anyag rendeződési profilja.

Az anyagok plaszticitása (plasztikus/elasztikus sajátságok) negatív összefüggést mutat az alkalmazott préserővel szemben.

Az eredmények alapján a PVC plasztikusan deformálódik, viszont ennek mértéke nagymértékben függ az alkalmazott préserőtől. A CHIT és RiS nagyobb elaszticitással rendelkezik, viszont a deformáció mértéke kevésbé függ az alkalmazott préserőtől.

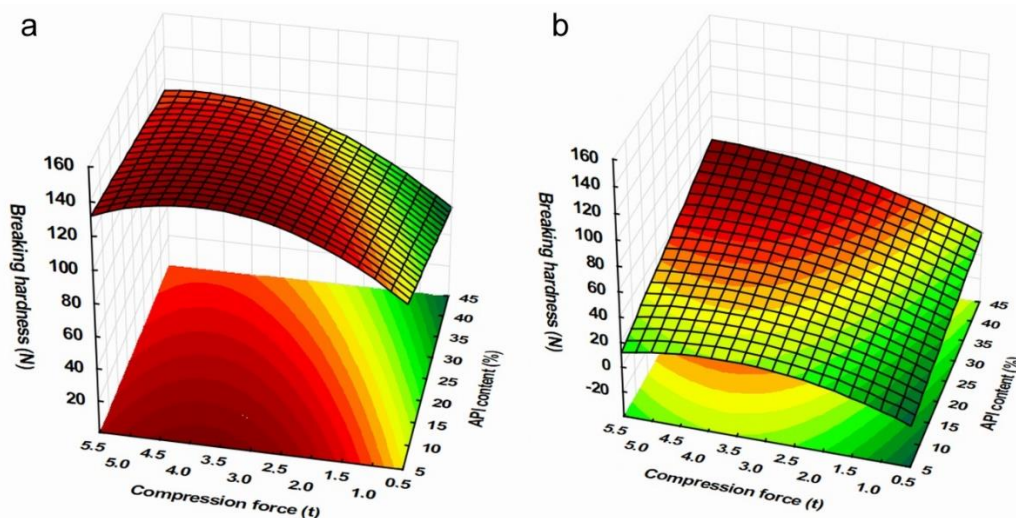
4.1.2 Fizikai tulajdonságok

A RiS tartalmú mátrixok keresztmetszeti törési szilárdsága, mint CQA, a legjobban illeszkedő modell válaszfelvéne a következő egyenlettel írható le (1. Egyenlet):

$$y=70,71+42,37x_1+14,76x_3+5,57x_3^2-12,72x_1x_2+2,56x_1x_3+3,52x_2x_3 \quad (1)$$

A szignifikáns faktorokat félkövér betűtípussal jelöltük. A Négyzetes közép (MS) maradékérték 38,93 az R^2 érték 0,9935 és az $adjR^2$ érték pedig 0,9867, tehát a modell kiválóan illeszkedett az adatokra. A paraméter vonatkozásában az elfogadhatósági tartomány 50 N minimumtól indul, az optimális tartomány 80-120 N között értelmezendő.

Látható továbbá, hogy a tabletták szilárdsága nagyrészt a mátrix képző segédanyag tulajdonságaitól függ, a hatóanyag mennyiségének hatása ez esetben elhanyagolható.



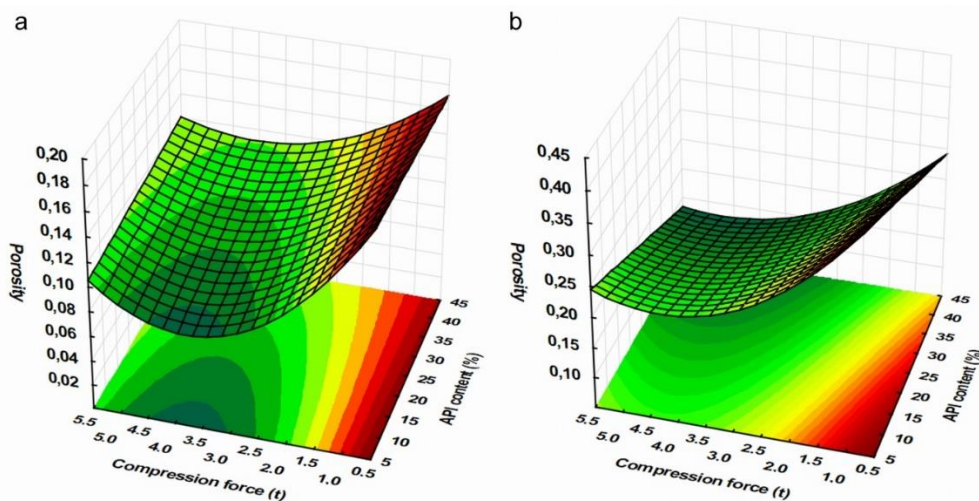
1. ábra. RiS tartalmú PVC (a) és Chit (b) tabletták törési szilárdsága

A tabletták porozitásában bekövetkező változásokat a 2. egyenlettel lehet jellemezni.

$$y=0,175-0,057x_1-0,016x_2-0,047x_3-0,019x_3^2+0,023x_1x_2+0,021 x_1x_3 \quad (2)$$

Az MS maradék érték itt 0,0002 az $R^2=0,9856$ és az $\text{adj}R^2=0,9682$.

A törési szilárdsággal szemben a porozításra szignifikáns befolyása van a hatóanyag tartalomnak, különösképp a CHIT tartalmú tabletták esetében. A csökkenő porozitás azonban nincs szignifikáns hatással CHIT tartalmú mátrixokból történő felszabadulásra. (2. ábra)

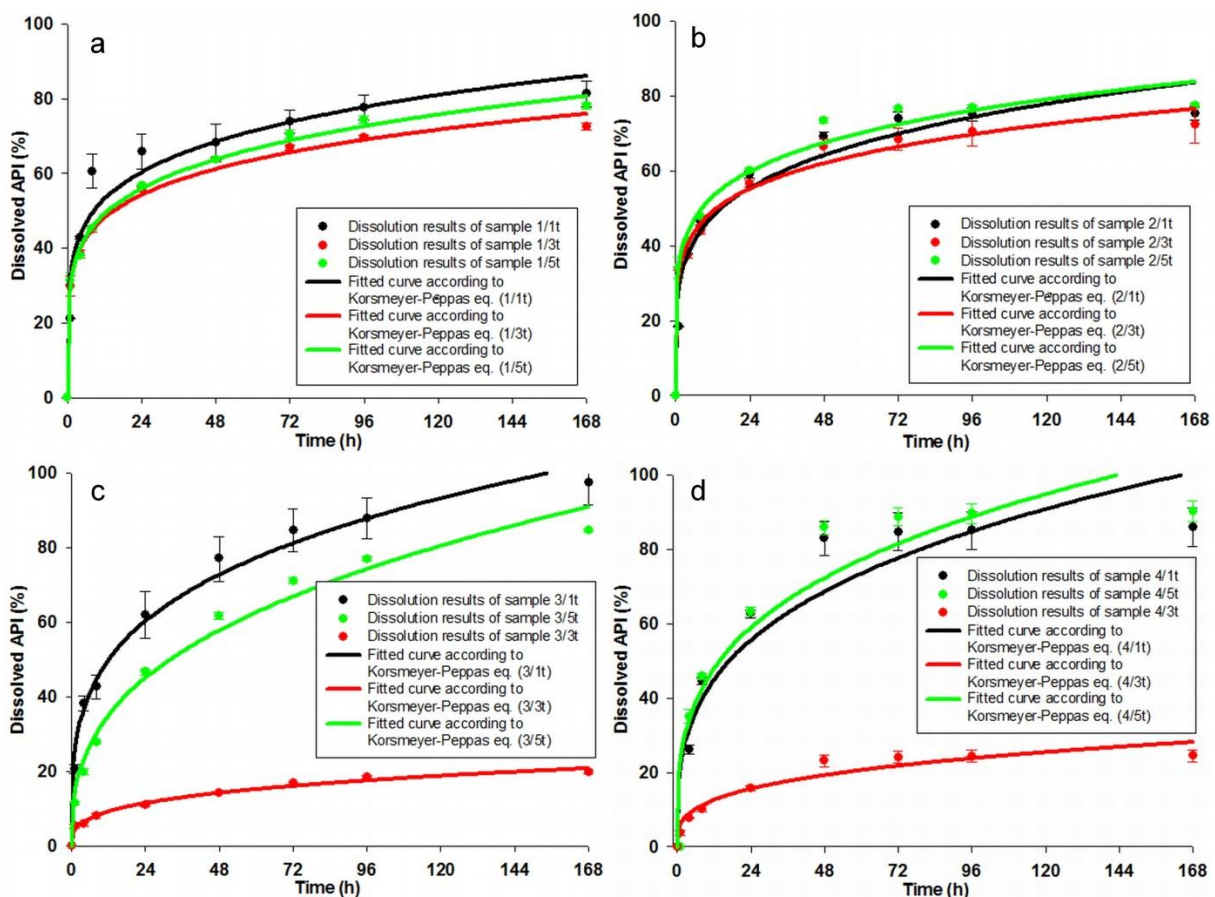


2. ábra. RIS tartalmú PVC (a) és Chit (b) tabletták porozitás értékei

4.1.3 Kioldódási vizsgálatok

Az előző fejezetben említett elhanyagolható változások a kitozán mátrix teljes dezintegrációjának köszönhetőek az első 24 óra során, mely jelentős kezdeti gyors kioldódást

eredményez (3. ábra). Ezzel együtt a gyors dezintegráció nem jelentette a kioldódási folyamat befejeződését. A kezdeti gyors felszabadulás után egy időben elhúzódó hatóanyag liberáció tapasztalható, még a kioldó közeg teljes megújítása után is, mely arra utal, hogy a hatóanyag csapdába esik a kitozán pelyhekben, valószínűleg egy erős kölcsönhatás kialakulásának következtében. Mindezek fényében a kitozán alapú mátrixok nem minősíthetők megfelelőnek a kitűzött felszabadulási profil elérésének vonatkozásában.



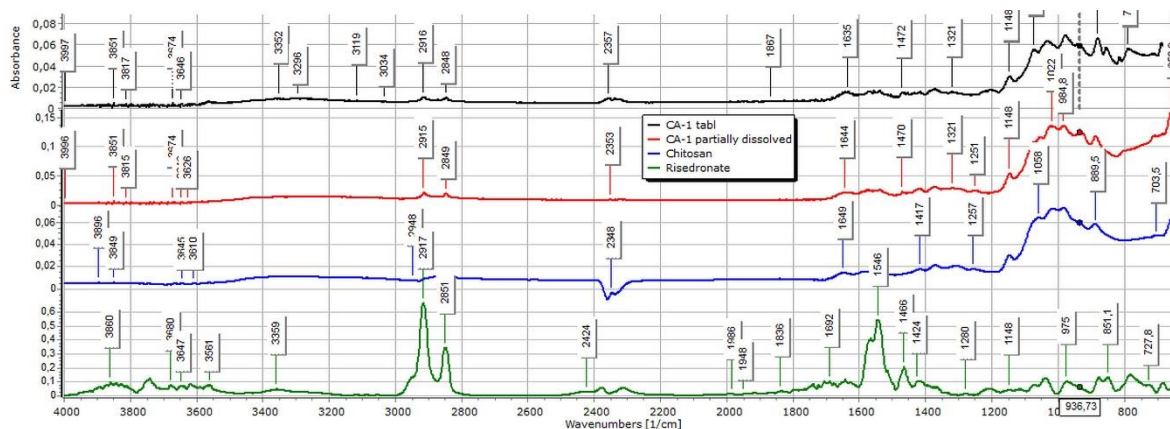
3. ábra. Hatóanyag kioldódási görbék – CA-1 (a), CA-2 (b), CA-3 (c) és CA-4 (d) minták

4.1.4 A hatóanyag-hordozó kölcsönhatások vizsgálata

A kölcsönhatások mechanizmusának feltárása érdekében teszteltük a nedves közeg befolyásoló hatását is. Kioldóközégbe helyezve egy tablettát, megvártuk amíg a dezintegrációs folyamat végbemegy, majd a megmaradt pelyheket leszűrtük és megszáritottuk.

Az FT-IR vizsgálatok eredményein (4. ábra) látható, hogy a hatóanyag-hordozó közti kölcsönhatások már szilárd állapotban is megtalálhatóak. Az 1549 cm^{-1} -nél lévő jellegzetes csúcs, kettős csúcsra vált szét 1540 és 1558 cm^{-1} -nél. Valamint az 1567 cm^{-1} -nél található csúcs részlegesen balra tolódva 1575 cm^{-1} -nél jelentkezik. Mindezek jól mutatják a polimer és hatóanyag között kialakuló különböző erősségű kapcsolatokat. Ezzel egyidejűleg a CHIT 1302

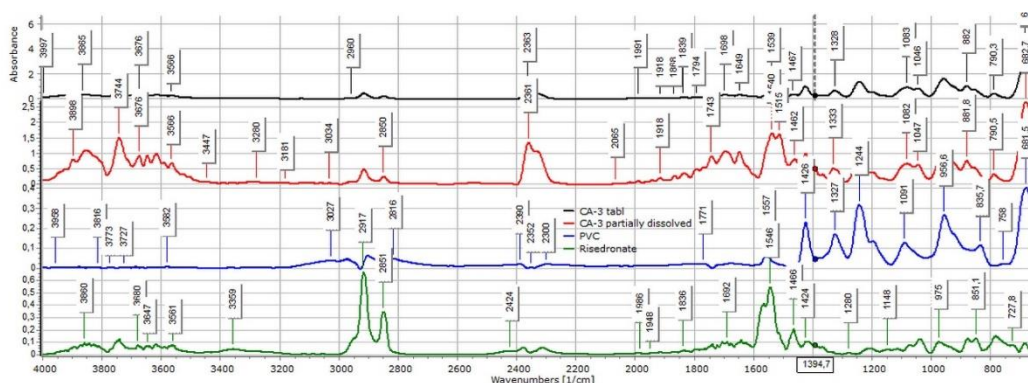
cm⁻¹-nél található csúcsa balra tolódás következtében 1321 cm⁻¹-nél mutatkozik, ami jelzi, hogy a kitozán amino csoportja is részt vesz a kölcsönhatásban. Ezek alapján kijelenthető, hogy a kölcsönhatások H kötésen és nem pedig polielektrolit komplex képződésén alapulnak.



4. ábra. CA-1 minta FT-IR spektruma (CA-1 száraz tabletta (fekete), CA-1 tabletta 8 óra oldódás majd szárítás után (piros), Chit (kék) és RiS (zöld))

A H kölcsönhatások jelenlétét NIR vizsgálatokkal is igazoltuk.

A PVC tartalmú minták esetében a várakozásainkkal ellentétben jelentős változások láthatóak a részlegesen oldódott minta FT-IR spektrumán (5. ábra).



5. ábra. CA-3 minta FT-IR spektruma (CA-3 száraz tabletta (fekete), CA-3 tabletta 8 óra oldódás majd szárítás után (piros), Chit (kék) és RiS (zöld))

4.1.5 Rövid diszkusszió

Az eredmények igazolják, hogy mind a PVC mind pedig a CHIT alapú mátrix rendszerek alkalmasak biszfoszfónát típusú hatóanyagok hosszútávú adagolására. A H kötések váratlan, in-situ történő megjelenése kiemelt fontosságú, ugyanis ez a jelenség biztosíthatja a hatóanyag elhúzódo felszabadulását, valamint új utat nyithat a személyre szabott hatóanyagleadási profil elérésében. Mindazonáltal a PVC alapú rendszerek jobbra megfeleltek

az előre meghatározott QTTP-nek – a 3 tonna préselő alkalmazásával készült mátrixok a 80-120 N törési szilárdságú optimum tartományon belül helyezkedtek el, illetve a kioldódási kinetika alapján több mint egy éves hatóanyag liberáció is elérhető.

4.2 A kémiai kölcsönhatások vizsgálatára szolgáló mátrixok

4.2.1 Fizikai tulajdonságok

Azt, hogy a különböző összetételek vonatkozásában a préselési nyomás (x_1), a segédanyag mennyisége (x_2), a hatóanyag- (x_3) és a segédanyagok minősége (x_4) milyen hatással bír a készítmény szilárdságra (y_1) és porozításra (y_2), a 3-as és 4-es egyenletek írják le. A szignifikáns faktorokat és faktor kölcsönhatásokat félkövér betűtípussal jelöltük.

$$y_1 = 110,11 + \mathbf{47,02x_1} + \mathbf{9,46x_1^2} + \mathbf{19,31x_2} - \mathbf{10,04x_3} - \mathbf{29,78x_4} + 2,45x_1x_2 + 2,45x_1^2x_2 + 2,29x_1^2x_2^2 - \mathbf{6,31x_1x_3} - \mathbf{4,29x_1^2x_3} + \mathbf{4,96x_1x_3^2} - \mathbf{3,62x_1^2x_3^2} - 3,32x_2x_3^2 - \mathbf{11,48x_2x_4} - 2,24x_2^2x_4 - 2,33x_3x_4 + \mathbf{6,83x_3^2x_4} \quad (3)$$

$$R^2 = 0,9743 \text{ adj}, R^2 = 0,9599 \text{ MS Res} = 123,02$$

$$y_2 = 0,133 - \mathbf{0,053x_1} - \mathbf{0,023x_1^2} - \mathbf{0,046x_3} + \mathbf{0,018x_4} + \mathbf{0,024x_1x_2} - \mathbf{0,019x_1x_2^2} + 0,012x_1^2x_3 + 0,011x_1^2x_3^2 - 0,014x_1x_4 - \mathbf{0,033x_2x_3} - 0,009x_2x_3^2 + 0,010x_2^2x_3^2 - 0,009x_2x_4 + \mathbf{0,016x_2^2x_4} \quad (4)$$

$$R^2 = 0,7627 \text{ adj}, R^2 = 0,6775 \text{ MS Res} = 0,0023$$

A rendszerek porozitása jól leírható logaritmikus összefüggést mutatott a törési szilárdsággal – a nyomás növekedése szilárdabb mátrixokat és kisebb porozitású tablettákat eredményezett.

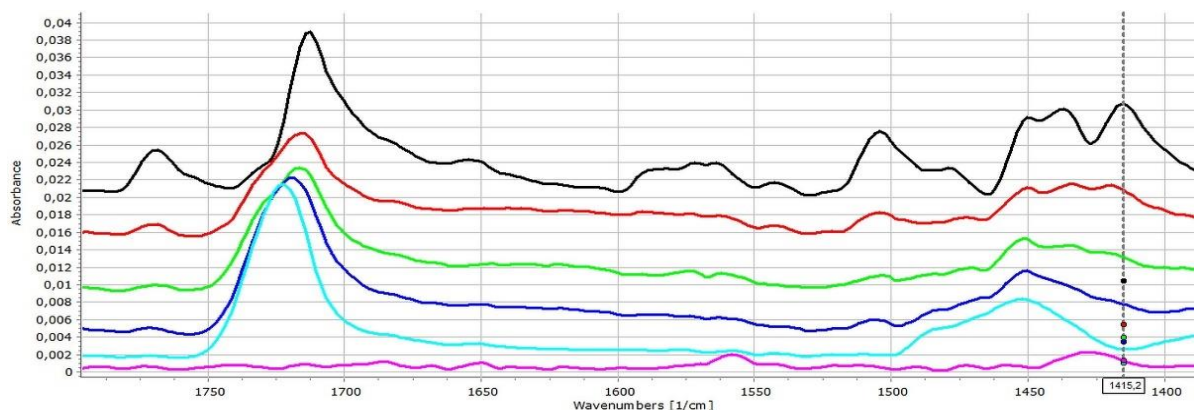
Az eredmények mutatják, hogy EE polimerből nagyobb törési szilárdságú és kisebb porozitású tabletták készíthetők, mint EL polimer alkalmazásával. Továbbá a több metakrilát kopolimert és kevesebb PVC-t tartalmazó rendszerek mutatkoztak a legszilárdabb rendszereknek.

4.2.2 Hatóanyag-hordozó kölcsönhatások vizsgálata

Az elsődleges hipotézisünknek megfelelően, a vizsgált hatóanyagok tapasztalt kölcsönhatási potenciálja az ACE>DiS>>PAR sorrend szerint csökkent, továbbá minden

esetben az EE polimerrel tapasztalunk erősebb kölcsönhatásokat. Ezen eredmények alapvetően megerősítik a feltevésünk.

A 6. ábra az ACE-PVC-EE összetételű rendszerek IR spektrumát mutatja be, melyen jól láthatóak a hatóanyag-hordozó kölcsönhatások jellemző jelei.



6. ábra. FT-IR spektrum ($1400\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ szakasz) - ACE (fekete); ACE-PVC:EE 75:25 (piros); ACE-PVC:EE 50:50 (zöld); ACE-PVC:EE 25:75 (mélykék); EE (világos kék) és PVC (lila) minták, multi kurzor jelzi a csúcsetolódások helyét.

A várakozásoknak megfelelően az ACE gyengébb kölcsönhatást létesített a savas karakterisztikájú EL segédanyaggal.

A tablettákat ez alkalommal is egy kevés 7,4-es pH-jú PBS oldatba mártottuk a teljes hidratálásig, majd FT-IR-rel vizsgáltuk. Az intermolekuláris kölcsönhatások erőssége növekedett a vízfelvétel hatására.

A várakozásoknak megfelelően a DiS tartalmú mátrixok préselés után kevesebb változást mutattak a spektrumaikban, legfőképp a hatóanyag gyengébb sűrűsége miatt, viszont a rendszer nagyobb porozitása is egy lehetséges magyarázat az előbb említett jelenségre.

A PAR tartalmú rendszerek esetében nem tapasztaltunk kölcsönhatások létrejöttére utaló egyértelmű jeleket. Azonban a tabletták kioldó közegbe mártása után láthatóvá vált több csúcsetolódás, melyek arra engednek következtetni, hogy a polimer tercier-amin csoportjában bekövetkezhet változás.

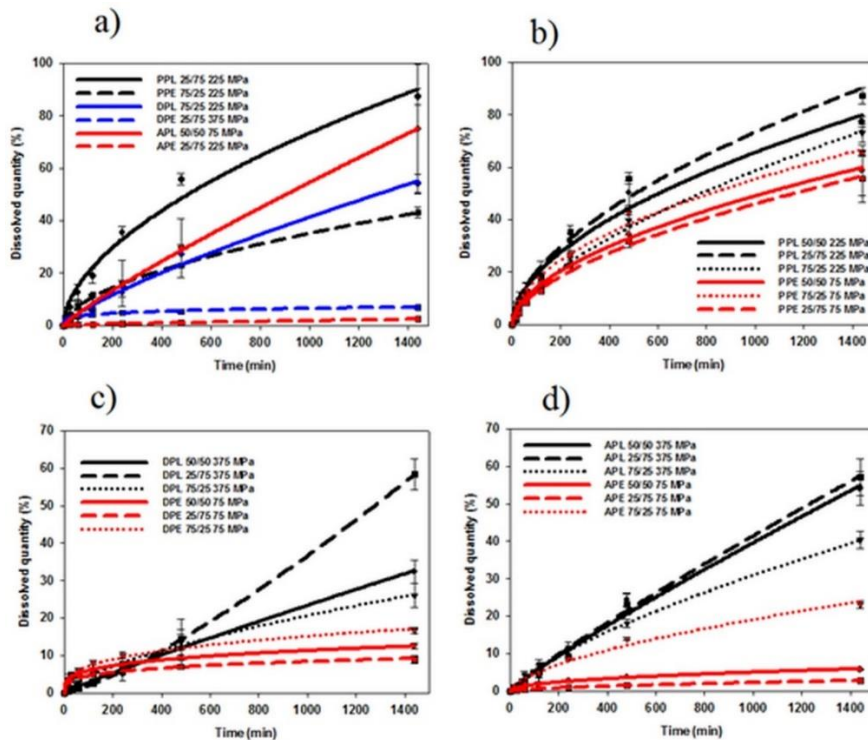
4.2.3 Kioldódási és kinetikai vizsgálatok

A statisztikai elemzés eredménye (5. egyenlet) azt mutatja, hogy a hatóanyag felszabadulásának (y_3) legjelentősebb befolyásoló tényezői a rendszer fizikai-kémiai sajátosságai voltak, azon belül is a hatóanyag sűrűsége (x_3), valamint az alkalmazott présnyomás (x_1).

$$y_3 = 0,937 - 0,380x_1 - 0,284x_1^2 - 0,804x_3 + 0,185x_4 - 0,242x_1x_2^2 + 0,403x_1x_3 + 0,116x_1x_3^2 + 0,289x_1^2x_3 - 0,208x_1x_4 - 0,181x_1^2x_4 - 0,241x_2x_3 - 0,135x_2x_3^2 + 0,197x_2x_4 + 0,116x_2^2x_4 - 0,440x_3x_4 - 0,427x_3^2x_4 \quad (5)$$

$$R^2 = 0,7669 \text{ adj } R^2 = 0,6661 \text{ MS Res} = 0,5176$$

Annak érdekében, hogy minimalizáljuk a mechanikai különbségeket, közel azonos porozitású ($0,13 \pm 0,02$) mátrixok kioldódási profiljait hasonlítottuk össze (7a. ábra). Az eredmények megfeleltek a várakozásnak, az EE alapú összetételeknél minden esetben jelentősen lassabb kioldódást tapasztaltunk.



7. ábra. Különböző nem-biolebomló mátrixok 24 órás hatóanyag leadása: ható-, és segédanyagok tulajdonságainak hatása (a), valamint összetétel és alkalmazott présnyomás hatása PAR (b), DiS (c) és ACE (d) tartalom esetében

4.2.4 ANN modellezés

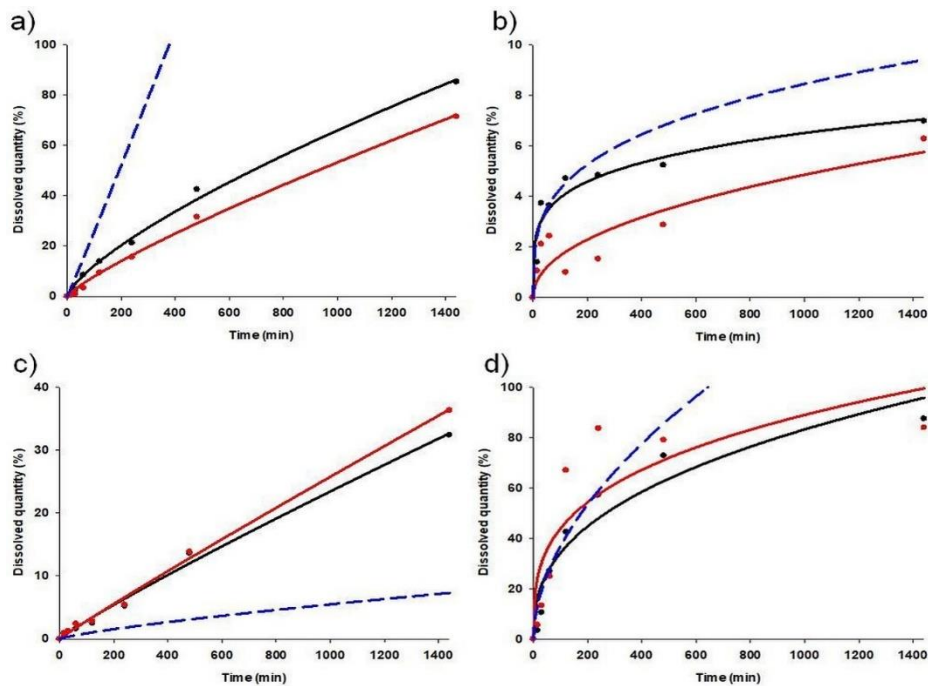
Az előbb részletezett eredmények alapján kijelenthető, hogy a meghatározott QTTP elérhető a kiválasztott összetételekkel, azonban a hatóanyag-felszabadulás további finomhangolása ennél pontosabb becsléseket igényel. A korábbi kísérletterv eredményeinek ellenőrzésére mesterséges neurális hálózati modelleket készítettünk, valamint összehasonlítottuk a kinetikai alapú és a pontról pontra történő modellezés hatékonyságát a kioldódási adatok vonatkozásában.

Az eredményekből látható, hogy a pontról pontra történő modellezés összességében szignifikánsan ($p < 0,05$) jobb teljesítményt mutatott, mint a kinetikai paraméter alapú modellek (sorban $0,92 \pm 0,02$ és $0,87 \pm 0,03$). A tabletták textúrájának leírására megfelelően alkalmas folyamatos bemeneti paraméterek (szilárdság, porozitás) alkalmazása mindkét modell esetében a legjobb becslést eredményezte, annak ellenére, hogy a textúra paraméterek az általános érzékenység vizsgálatok során relatíve alacsony fontossággal szerepeltek.

Az általános érzékenységi vizsgálatok eredménye, melyek az egyes bemeneti paraméterek relatív fontosságát mutatják a becslés kimenetelének vonatkozásában, részben egyezést mutatott a kísérleti tervünk eredményével. A legnagyobb befolyásoló hatással az egyes hatóanyagok oldékonysága rendelkezik, viszont a segédanyagok pKa értéke és a kölcsönhatások erősségét jelző különféle csúcsetolódások hasonló fontossággal bírnak, mint a présnyomás, a tabletták textúrája vagy a segédanyag mennyisége.

A legjobb kinetikai paramétereket felhasználó modell 9 bemeneti, 7 rejtett és 2 kimeneti neuronnal rendelkezett, a rejtett neuronok logisztikus, míg a kimeneti neuronok exponenciális aktivációs függvényel működtek (tanítási tökéletesség: 0,9103, validálási hiba: 0,0760). A legjobb pontról pontra típusú modellezésen alapuló hálózat szerkezete 9 bemeneti, 16 rejtett és 7 kimeneti neuronból állt, a rejtett neuronok exponenciális, a kimeneti neuronok pedig logisztikus aktivációval működtek (tanítási tökéletesség: 0,9286, validálási hiba: 83,06). A 8. ábra mutatja a becsült kioldódási görbéket a legjobb és legrosszabbul becsült esetekben.

Jól látható, hogy a pontról-pontra történő modellezés jóval egyenletesebb pontossággal rendelkezik, különösen azokban az esetekben, ahol a kioldódás közel lineáris (7 a, c ábra). Más esetekben a legjellemzőbb eltérések a 2, 4 és 8 órás adatpontokban vannak. Mindazonáltal a jósolt eredmények közelebb voltak a valósakhoz, mint a kinetikai paramétereken alapuló modellek esetében.



8. ábra. Megfigyelt és becült felszabadulási profilok a 43-as (a), 36-os (b) 24-es (c) és 7-es (d) esetekben. Fekete pontok: megfigyelt adatpontok, fekete vonal: megfigyelt adatokra illesztett modell, piros pontok: becült adat pontok, piros vonal: becült adatpontokra illesztett modell, kék vonal: becült modell

4.2.5 Rövid diszkusszió

Az FT-IR vizsgálatok segítségével bizonyítottuk, hogy közvetlen préseléssel előállított, szilárd fázisú mátrixokban is létrejöhetnek kémiai kölcsönhatások. Eredményeink azt is mutatják, hogy ezen kölcsönhatások nem minden esetben vannak jelen, viszont meglétük esetén a kioldódás során számolhatunk további, erősebb, in-situ kialakuló kölcsönhatások megjelenésére. Ezek leginkább H kölcsönhatások, de polielektrolit komplexek kialakulását sem zárhatjuk ki. A hatóanyagok oldékonyságának befolyásoló hatását és a mátrixok porozitását minimalizálva bebizonyítottuk, hogy a kémiai kölcsönhatások számottevő befolyással rendelkeznek a hatóanyag felszabadulása fölött. Ezen kölcsönhatások visszatartják a hatóanyagot a mátrix rendszerben, így segítik csökkenteni a kezdeti, gyors liberációt mellyel hozzájárulnak a meghatározott QTTP-ben foglaltak (legalább 50 N törési szilárdság és legalább 3 hónapon át tartó, elnyújtott hatóanyag-felszabadulás, kevesebb mint 10% kioldódással az első 24 órában) eléréséhez. A jelen munka hozzájárul az egyes anyagok fizikai-kémiai sajátosságai és hatóanyag felszabadulási folyamatok közötti összefüggések értelmezéséhez, ezáltal elősegíti a gyógyszerforma-tervezés fejlődését.

5 KÖVETKEZTETÉSEK ÉS GYAKORLATI JELENTŐSÉG

A jelen disszertáció egy implantálható gyógyszerhordozó rendszerek fejlesztésével kapcsolatos átfogó munkát mutat be. A nyilvánvaló előny ellenére, miszerint teljesen felszívódik a szervezetben, a biológiailag lebomló kitozán a kezdeti gyors hatóanyag felszabadulás és gyors dezintegráció miatt nem felelt meg a QTTP-ben lefektetett követelményeinknek. Ezzel szemben a nem biolebomló PVC alapú mátrix rendszerek alkalmasnak bizonyultak hosszú távú biszfoszfónát leadásra. Habár a kezdeti gyors felszabadulás további optimalizációra szorul, az in-situ megjelenő H kölcsönhatások hasznosítása elősegítheti a személyre szabott hatóanyag leadás további fejlesztését.

Ezen kölcsönhatások jelentőségének megértéséhez egy szisztematikus kutatást terveztünk. Létrehoztunk egy kísérleti tervet, melyben több modell hatóanyagot és mátrix képző segédanyagot is használtunk. Összességében eredményeink igazolták, hogy már szilárd fázisban is létrejöhetnek a ható- és segédanyagok között különféle kölcsönhatások. A szilárd fázisú gyenge H-kölcsönhatások pedig tovább erősödnek a kioldódási folyamat során, befolyásolva ezzel a hatóanyag-felszabadulási sajátságokat, vagy akár polielektrolit komplexek képződését is elősegíthetik. Hipotézisünk alapján a vizsgált hatóanyagok interakciós potenciálja előre megbecsülhető, és az ACE>DiS>>PAR sorrend szerint mutatott csökkenő erősséget. Ezen kívül erősebb kölcsönhatásokat tapasztaltunk EE alkalmazása során, mint EL esetben, megjegyezve, hogy a hatóanyagleadás sebessége elsődlegesen a mátrix fizikai sajátságaitól függ, és a kölcsönhatások csak másodlagos szerepet játszanak. A kémiai kölcsönhatások alkalmazása lehetővé tette a kezdeti gyors felszabadulás mértékének csökkentését, ezzel segítve a célzott QTTP elérését.

Szintén bizonyítást nyert, hogy a mesterséges neurális hálózatok jó kiegészítő módszert jelentenek az egyes faktoroknak a vizsgált folyamatokra gyakorolt hatásának vizsgálata során. Viszont a felvetésünk, hogy a kinetika-alapú modellezés alkalmazása, mely gyorsabb tanulási folyamatot és egyszerűsített hálózati struktúrát tesz lehetővé gyorsabb és sokkal pontosabb modellezést tesz lehetővé nem nyert bizonyítást. Éppen ellenkezőleg, a pontról pontra típusú modell bizonyult pontosabbnak, különösképp azokban az esetekben, amikor a hatóanyag felszabadulás közel lineáris volt.

Mindazonáltal, számos előnyös tulajdonságuk miatt a mesterséges neurális hálózatokon alapuló gyógyszerhordozó rendszer fejlesztés hamarosan az egyedi gyógyszerelés alapvető pillére lehet, mely megoldást kínálhat a különféle krónikus betegségekben szenvedő betegek között mutatkozó különbségek figyelembevételére.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ TUDOMÁNYOS TEVÉKENYSÉG

Közlemények listája

- I. T. Sovány, A. Csüllög, **E. Benkő**, G. Regdon, and K. Pintye-Hódi, ‘Comparison of the properties of implantable matrices prepared from degradable and non-degradable polymers for bisphosphonate delivery’, *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 533, no. 2, pp. 364-372, Nov. 2017, doi: 10.1016/j.ijpharm.2017.07.023.

Q1 IF.: 4.09 (2017)

- II. **E. Benkő**, I.G. Ilič, K. Kristó, G. Regdon Jr., I. Csóka, K. Pintye-Hódi, S. Srčič, T. Sovány. ‘Predicting Drug Release Rate of Implantable Matrices and Better Understanding of the Underlying Mechanisms through Experimental Design and Artificial Neural Network-Based Modelling’, *Pharmaceutics*, vol. 14, no. 2, pp. 228, Jan. 2022, doi: 10.3390/pharmaceutics14020228.

Q1 IF.: 6.29 (2021)

Konferencia előadások listája

Szóbeli előadások

- I. **Benkő Ernő**, Hatóanyag – polimer interakciók vizsgálata szilárd mátrix rendszerekben, XIII. Clauder Ottó Emlékverseny, 2018 November 22-23, Budapest, Magyarország
- II. **Benkő Ernő**, Tablettákon belüli ható- és segédanyag kölcsönhatások vizsgálata, SZTE Orvos- és Gyógyszerésztudományi Doktori Iskolák II. PhD szimpóziuma, 2018 November 30, Szeged, Magyarország
- III. **Ernő Benkő**, Tamás Sovány, Ildikó Csóka, API – excipient interactions in non-biodegradable solid matrix systems, I. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science, 2019 Január 31, Szeged, Magyarország
- IV. **Ernő Benkő**, Tamás Sovány, Ildikó Csóka, API – excipient interactions in solid matrix systems, II. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science, 2020 Január 23-24, Szeged, Magyarország
- V. **Ernő Benkő**, Tamás Sovány, Ildikó Csóka, API – excipient interaction and compressibility studies in solid matrix systems, Medical Conference for Ph.D. Students

and Experts of Clinical Scienceses, 2020 Október 17, Online konferencia, Magyarország

- VI. **Ernő Benkő**, Ilija German-Ilič, Géza Regdon Jr., Ildikó Csóka, Klára Pintye-Hódi, Stane Srčič, Tamás Sovány, Investigation of drug-matrix interaction in directly compressed matrices, III. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science, 2012 Január 20-22, Szeged, Magyarország,

Poszter bemutatók

- VII. **Ernő Máté Benkő**, Géza Regdon jr., Tamás Sovány, API - excipient interaction studies in solid matrix systems, 12th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology and Regulatory Affairs, 2018 Szeptember 20-22, Szeged, Magyarország
- VIII. **Benkő Ernő Máté**, Ilija German-Ilič, ifj. Regdon Géza, Stane Srčič, Sovány Tamás, Mátrixtablettákon belüli fizikai kémiai kölcsönhatások hatóanyag-felszabadulásra gyakorolt befolyásának vizsgálata; Gyógyszertechnológiai és Ipari Gyógyszerészeti Konferencia 2019, 2019 Szeptember 26-28, Siófok, Magyarország