

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**SZILIKA-ZSELATIN HIBRID AEROGÉLEK ELŐÁLLÍTÁSA
ÉS ALKALMAZÁSA GYÓGYSZERHORDOZÓKÉNT**

Veres Péter

Témavezető: Dr. Lázár István



DEBRECENI EGYETEM

Kémia Doktori Iskola

Debrecen, 2018.

A tézisekben előforduló rövidítések magyarázata:

TMOS	tetrametil-ortoszilikát
C ₁₆ -TMOS	hexadecil-trimetoxi-szilán
Ph-TMOS	fenil-trimetoxi-szilán
HMDS	hexametil-diszilazán
TRF	triflusal
IBU	ibuprofén
KET	ketoprofén
PBS	phosphate-buffered saline – foszfát pufferelt fiziológiás oldat: pH = 7,4; 0,14 mol dm ⁻³ NaCl; 2,70 mmol dm ⁻³ KCl; 0,01 mol dm ⁻³ PO ₄ ³⁻
PGSE	pulsed gradient spin echo
sc.	szuperkritikus
SEM	pásztázó elektronmikroszkópia
m/m%	tömegszázalék

BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

Az aerogélek rendkívül kis sűrűségű, nyitott mezopórusos szerkezetű, nagy fajlagos felülettel rendelkező szilárd anyagok. Számos alapanyagból készülhetnek és általánosan igaz, hogy könnyen funkcionálizálhatóak. Kiváló, és a szerkezet változtatásával hangolható adszorptív tulajdonságokkal rendelkeznek. Az 1990-es évek közepén a kutatók figyelme az aerogélek gyógyászatban történő felhasználására irányult. Kezdetben szervetlen-oxid alapú aerogéleket kívántak gyógyszerhordozóként alkalmazni. Szuperkritikus szén-dioxidban oldott modellvegyületekkel és hatóanyagokkal impregnálták a géleket, majd vizsgálták ezen anyagok kioldódását fiziológiás körülmények között. Ezek a kutatások rámutattak arra, hogy az aerogélek szerkezetének módosításával, illetve a váz polaritásának változtatásával mind a hatóanyagok felvétele, mind a leadása hangolható.¹

Mivel a szervetlen-oxid, elsősorban szilícium-dioxid alapú aerogélek vizsgálata során fény derült néhány nemkívánatos mellékhatásra, például a nazális adagolás esetén fellépő szilikózisra, a kutatások a biodegradábilis aerogélek előállítása és tanulmányozása felé fordultak. Számos fehérje, illetve poliszacharid alapú aerogél szintézisét és karakterizálását végezték el. Ezekkel már megvalósítható olyan dozírozás is, amit csak biodegradábilis anyagból felépülő hordozók tesznek lehetővé, így az aerogél alapú gyógyszerhordozók kutatása új lendületet kapott.

Doktori munkám során célul tűztük ki olyan hibrid aerogélek szintézisét, melyek vázát összekapcsolódó szervetlen-oxid és fehérje részek alkotják. Ezek az anyagok viszonylag könnyen előállíthatók szol-gél technikával és a kész aerogélek ötvözik a két vázalkotó előnyös tulajdonságait. Célunk volt hexadecil-, fenil-, és trimetil-szilil csoportokkal módosított hibrid aerogélek létrehozása is. Az előállított aerogélek különböző szerkezetvizsgálati módszerekkel történő karakterizálása lehetőséget ad a funkcionizálás okozta változások felderítésére. Az előzőekben előállított és jellemzett aerogéleket különböző modell hatóanyagokkal impregnáltuk szuperkritikus szén-dioxidban. Célunk volt a hibrid aerogélek szorpciós sajátságainak felderítése, többek között az impregnált mintákban lerakódott szilárd hatóanyag mennyiségének, morfológiájának, valamint a kioldódás módjának és kinetikájának a vizsgálatával. Mivel a hidrofil aerogélekből minden esetben rendkívül gyorsan történt meg a hatóanyag kioldódása, egy új, nagy időbeli felbontású

¹ Z. Ulker, C. Erkey *J. Controlled Release*, 177 (2014), 51–63.

kioldódás-vizsgálati módszert kellett kifejlesztenünk. Az ezzel a módszerrel kapott leadási görbék az eddig publikáltaknál jóval több információt hordoznak, valamint jobban reprodukálhatók, így alkalmasabbak a kioldódás mechanizmusának pontos meghatározására. A klasszikus szerkezetvizsgáló módszerekkel nyert adatokat mágneses magrezonancia spektroszkópiával (NMR-rel) kapott diffúziós, illetve porozimetriás és relaxációs mérésekkel kívántuk kiegészíteni. Annak érdekében, hogy megértsük a zselatin hatását a kialakuló gyógyszerhordozó mátrix tulajdonságaira, a kapott kísérleti eredményeket a széles körben tanulmányozott szilika aerogélek hasonló tulajdonságaival hasonlítottuk össze. A szerkezetvizsgálati és a kioldódási kísérletek eredményét együttesen értékelve tettünk javaslatot a hibrid gélvázból történő hatóanyag-leadás mechanizmusára, valamint a gél összetételének a kioldódásra gyakorolt hatására.

ALKALMAZOTT MÓDSZEREK ÉS KÉSZÜLÉKEK

Szilika és szilika-zselatin hibrid aerogélek szintézise

A szilika aerogél (Sil) előállításához egy általánosan használt ammónium-karbonát katalizált szol-gél eljárást használtunk.² A szolt két oldat (TMOS metanolos oldata és ammónium-karbonát vizes oldata) elegyítésével kaptuk. A reakcióelegyet egy műanyag öntőformába töltöttük, ahol a gélesedés 5 – 10 perc alatt végbement. 24 óra elteltével a géleket egy perforált alumínium tartóba helyeztük, majd metanollal töltöttük fel ezeket. Ezt követően történt meg a többlépéses oldószercsere, amely során a metanolt három 24 órás lépésben acetontra, majd a régi acetont még két további alkalommal friss oldószerre cseréltük, annak érdekében, hogy a gélesedés elhúzódó folyamat során keletkező vizet és metanolt teljes mértékben eltávolítsuk a pórusokból. Aerogélekhez szuperkritikus szén-dioxidban történő szárítással jutottunk, 80 °C hőmérsékleten és 14 MPa nyomáson. A szilika-zselatin hibrid gélváz (H3 – H30) szintézisét egy módosított szol-gél technikával hajtottuk végre. Az eljárás során a TMOS-t tartalmazó reakcióelegyhez zselatint mint társ-vázképzőt adtunk kb. 35 – 40 °C hőmérsékletű vizes oldat formájában. A gélesedés során a szilika és zselatin váz hibridje alakult ki. A szintézis további lépései a szilika aerogélek előállítása során általánosan használt sémát követték.

Hibrid aerogélek impregnálása

Az aerogél mátrixok impregnálását³ szuperkritikus szén-dioxidban végeztük. Az örölt aerogél mintákat, illetve a mikrokristályos hatóanyagot külön-külön szűrőpapírba csomagolva egy mágneses keverőmaggal együtt egy 100 cm³-es nyomásálló tartályba helyeztük. A tartály 45 °C-ra történő melegítését követően egy hűtött fejjel szerelt pumpa segítségével annyi szén-dioxidot juttattunk bele, amíg a nyomás el nem érte az előre beállított 12 MPa (TRF), illetve 20 MPa (IBU, KET) értéket. A hőmérséklet és a nyomás állandó értéken tartása mellett 6 órán keresztül 100 rpm sebességgel kevertettük a szuperkritikus oldatot, majd 0,2 – 0,3 MPa/perc sebességgel csökkentettük a nyomást a légköri nyomás eléréséig.

² I. Lázár, I. Fábián, *Gels.* 2 (2016) 26.

³ Az IUPAC definíciójának kiterjesztéseként az aerogélek szuperkritikus oldatokkal történő telítését, majd az oldószer (sc. CO₂) eltávolítását is impregnálásnak tekintjük. A dolgozatban ezt a szóhasználatot követjük. *IUPAC – Gold Book Version 2.3.3* 2014.02.24.

Szerkezeti vizsgálatok

A különböző aerogél minták zselatintartalmát termogravimetriával határoztuk meg (PerkinElmer TGA 7). A mintákról Hitachi S-4300 készülékkel készítettünk pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) felvételeket. Az aerogélek fajlagos felületét és pórusméret eloszlását N_2 adszorpció/deszorpció porozimetriával jellemeztük (Micromeritics ASAP 2000, Quantachrome Nova 2200e). Az impregnálás sikerességét FT-IR technikával bizonyítottuk (PerkinElmer Spectrum One). Az adszorbeált hatóanyag morfológiáját röntgendiffrakciós mérésekkel (Rigaku Rotaflex RU-200 B) és differenciális pásztázó kalorimetriával állapítottuk meg (Mettler Toledo 822e/400).

Adszorbeált hatóanyag mennyiségének meghatározása

A megkötött hatóanyag mennyiségét szonikálás segítette metanolos kioldás után határoztuk meg fordított fázisú nagynyomású folyadékkromatográfiával (RP-HPLC). A mérésekhez Agilent 1100 sorozatba tartozó készüléket (G1311 pumpa, G1379A gázmentesítő, G1392A automata mintaadagoló, G1315B diódasoros spektrofotométer detektor) használtunk. Az elválasztás Phenomenex Synergy Hydro-RP C18 (150 mm $\times$ 4,6 mm, 4 μ m) kolonnán történt. Az injektált mintatérfogot 10 μ l, az áramlási sebesség 1 cm^3 /perc volt. Az izokratikus elúcióhoz triflusal esetén 1 V/V%-os hangyasavoldat és HPLC minőségű metanol 2:8 elegyét, illetve ketoprofén és ibuprofén esetén az előbbieket 1:9 térfogatarányú elegyét használtuk. A TRF, KET és IBU hatóanyagokat rendre 280, 254 és 220 nm hullámhosszakon detektáltuk.

Hatóanyag-kioldódás vizsgálatok

A hatóanyag-leadást két módszerrel vizsgáltuk. A kis mennyiségű rendelkezésre álló minta miatt először egy csökkentett térfogatú batch módszert alkalmaztunk. 5 – 7 mg impregnált aerogélhez 25 cm^3 előmelegített kioldóközeget adtunk (pH = 2,0 HCl oldat, illetve pH = 7,4 PBS), majd $37,0 \pm 0,5$ °C hőmérsékleten, 60 rpm keverési sebesség mellett megadott időközönként 250 μ l tiszta oldatot (0,5 és 180 perc között 13 minta) vettünk ki egy 0,25 μ m visszatartási határértékű membránszűrővel szerelt fecskendővel. A kivett oldatot friss kioldóközeggel pótolunk. A hígulásból adódó koncentráció-változást a kiértékelés során korrigáltuk. Az adott időpillanatig kioldódott hatóanyag mennyiségét a fentebb ismertetett RP-HPLC módszerrel határoztuk meg.

Az aerogélekből történő hatóanyag-leadás kezdeti szakasza kifejezetten gyors folyamat, aminek a vizsgálata a fenti batch módszerrel nem valósítható meg kellő pontossággal. Így egy gyors CCD detektorral (Avantes) ellátott spektrofotométerben, on-line

detektálást alkalmazva is végeztünk kioldódás vizsgálatokat.⁴ Egy száraz fotometriás küvettába 0,01 mg pontossággal 0,30 – 1,90 mg közötti tömegű impregnált aerogélt mértünk be. Az impregnált mintát tartalmazó küvettát $37,0 \pm 0,1$ °C-ra melegítettük elő, elhelyeztünk benne egy 2×8 mm-es PTFE keverőmagot, elindítottuk a detektálást, majd $2,00 \text{ cm}^3$ előmelegített kioldóközeget mértünk bele. Az abszorbancia változását 200 – 800 nm között követtük minimum 1000 s-on keresztül, 1 s időfelbontással. Az aerogél szuszpenzió fényszórását a Liu és Zhu⁵ által publikált két hullámhosszas korrekciót alkalmazva vettük figyelembe.

NMR krio-porozimetriás és diffúziometriás mérések

Az NMR vizsgálatokhoz száraz, örölt aerogélt töltöttünk üveg, vagy teflon NMR csőbe, majd a vizsgálatokhoz szükséges minőségű és mennyiségű folyadékot (ultraszűrt vizet, vagy ciklohexánt) adtunk a mintákhoz. Az ^1H -NMR spin-ekho és PGSE méréseket egy Bruker Avance II 400 NMR spektrométerben hajtottuk végre. Az eredményeket MestreNova 8.1 szoftverrel értékeltük ki.

Az NMR diffúziometriás mérések kivitelezéséhez a Cohen és munkatársai által kidolgozott módszert használtuk.⁶ Stimulált spin-ekho impulzusszekvenciát alkalmaztunk, amibe bipoláris gradienst (BIPLD) építettünk be az örvényáram csökkentése érdekében. A mérésekhez 16 és 150 ms közötti megfigyelési időt (Δ) és 1,6 és 4,0 ms közötti gradiens impulzus hosszt (δ) használtunk. Az impulzus-gradiens erősségét (G) 64 lépésben növeltük 0 Gauss/cm-ről 50 Gauss/cm értékre. A primer adatokat az alábbi egyenlet felhasználásával értékeltük ki.

$$I = I_0 \exp \left\{ -D_{\text{obs}} \gamma^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3} \right) \delta^2 G^2 \right\} \quad (1)$$

Az effektív diffúziós állandó (D_{obs}) értékét a mért ekho intenzitás (I) G^2 függvényében történő exponenciális illesztésével számítottuk ki. A diffúziós állandót (D) D_2O vízben történő diffúziójára történő kalibráció segítségével határoztuk meg.

NMR krio-porozimetriás mérések során a pórusméret-eloszlás meghatározásához azt a jelenséget használjuk ki, hogy a pórusokban található folyadék olvadás- és fagyáspontja

⁴ J. Kalmár et al. *RSC Adv.*, 5 (2015), 107237–107246.

⁵ H. Liu, J.Y. Zhu, X.S. Chai *Langmuir*, 27 (2011), 272-278.; Q.Q. Wang, J.Y. Zhu, C.G. Hunt, H.Y. Zhan *Biotechnol. Bioeng.*, 109 (2012), 1965-1975.

⁶ Y. Cohen, L. Avram, L. Frish *Angew. Chem. Int. Ed.*, 44 (2005), 520–554.

csökken a tömbfázisához képest.⁷ A pórusméret és a bezárt folyadék olvadás- és fagyáspont csökkenése között a Gibbs-Thomson egyenlet teremt kapcsolatot:

$$\Delta T_m = T_m - T_0 = -\frac{n_m K_c}{r_p} \quad (2a)$$

$$\Delta T_f = T_f - T_0 = -\frac{n_f K_c}{r_p} \quad (2b)$$

A (2a) egyenletben szereplő ΔT_m a tömbfázis (T_0) és a pórusokban elhelyezkedő folyadék (T_m) olvadáspontjának különbsége. K_c a közegre jellemző állandó, n_m a pórusok alakját leíró geometriai tényező és r_p az átlagos pórus sugár. A (2b) egyenletben található jelölések a fagyásra vonatkozó megfelelői a fentebb tárgyaltaknak. ΔT_m , ΔT_f , valamint n_m és n_f értékei különbözőek, mivel a pórusokban elhelyezkedő folyadék olvadása és fagyása általánosan jellemző termodinamikai hiszterézist mutat. Az NMR krio-porozimetriás kísérletek során a folyadék halmazállapotú fázis mennyiségét mérjük a hőmérséklet függvényében. A folyadék jelintenzitását a hőmérséklet függvényében ábrázolva hiszterézis görbéket kapunk. Ezeknek az inflexiós pontja megadja a bezárt folyadék olvadás- és fagyáspontját.

A mérésekhez az aerogél szuszpenziókat -15 °C-ra hűtöttük Teflon NMR csövekben. Az NMR mérőfejet ugyancsak erre a hőmérsékletre termosztáltuk. A hőmérsékletskála kalibrálására metanolt és etilén-glikolt használtunk. A hőmérséklet stabilizálódása után spin-ekho szekvencia alkalmazásával regisztráltuk az ¹H-NMR spektrumokat. Az ekho időt 1,5 ms-nak, a 90°-os impulzus hosszát 10,2 μs-nak választottuk. A mintákat 0,2 °C-os lépésekben melegítettük fel +4 °C-ra (víz) és +11 °C-ra (ciklohexán), majd ugyancsak 0,2 °C-onként hűtöttük vissza -15 °C-ra egy Bruker BSCU-05 programozható hűtőegységgel. A legtöbb kísérlet során a mintát nem olvasztottuk ki teljes mértékben a következő fagyasztási ciklus kezdete előtt azért, hogy elkerüljük a túlhűlést.

⁷ O.V. Petrov, I. Furó *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, 54 (2009), 97–122.

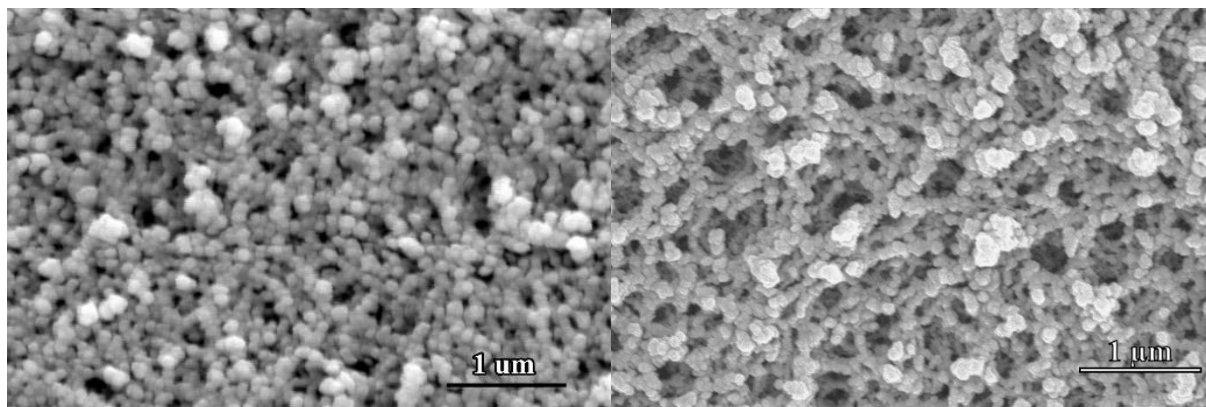
ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Elsőként szintetizáltunk, funkcionalizáltunk és karakterizáltunk különböző összetételű szilika-zselatin hibrid aerogéleket.

1.1 Kidolgoztunk egy olyan szol-gél módszert, amely lehetővé tette szilika-zselatin hibrid aerogélek monolit formában történő szintézisét.

A szilika gél előállítására szolgáló szol-gél módszer során zselatint mint társ-vázképzőt adtunk a kiindulási reakcióelegyhez. Így egy olyan rendszert hoztunk létre, amelyben a szilika váz kialakulása és a zselatin gélesedése egyidejűleg zajlik le. Ez a szintézisút amellet, hogy lehetőséget biztosít egy homogén, hibrid gélváz kialakítására, nem követeli meg az aerogélek előállítása során alkalmazott általános eljárás módosítását.

A hibrid aerogélekről készült SEM felvételek (1. ábra) alátámasztják azt, hogy homogén, hibrid gélváz alakult ki. A módszer felbontóképességének határáig nem látható semmilyen, az aerogélekre jellemző, globuláris szerkezettől eltérő inhomogenitás, ami arra utalna, hogy nem hibrid, hanem kompozit struktúra jött volna létre.

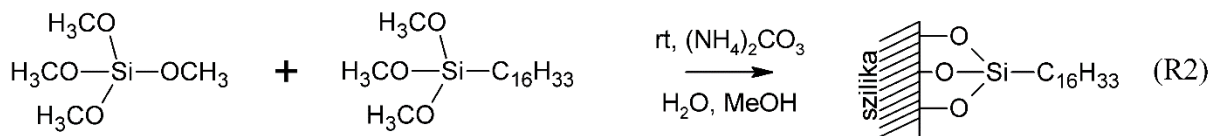
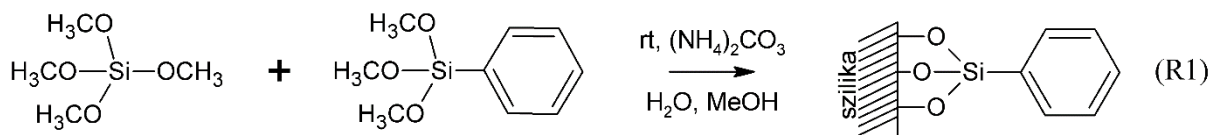


1. ábra Szilika (bal) és szilika-zselatin (jobb) aerogélek reprezentatív pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) képei

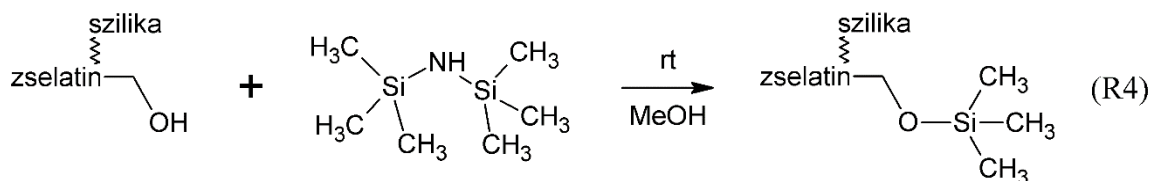
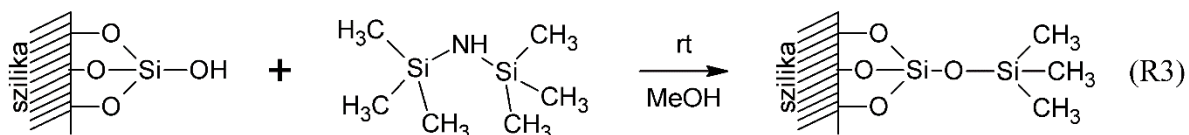
1.2 Felületmódosítási eljárások alkalmazásával különböző hidrofób funkciókat tartalmazó szilika-zselatin hibrid aerogéleket állítottunk elő.

A hibrid aerogélek felületén hexadecil- és fenil- csoportokat alakítottunk ki (H₃C₁₆10 – H₃C₁₆30; H₃Ph10 – H₃Ph30). Ezeket megfelelően módosított szilán reagensek (C₁₆-TMOS és Ph-TMOS) felhasználásával vittük be a rendszerbe. A szol-gél eljárás során használt TMOS térfogatát csökkentettük úgy, hogy az oldatban a fenti szilán reagensek aránya

egy előre meghatározott érték legyen. Ezzel a módszerrel kizárólag a szilika váz funkcionálisására került sor ((R1) és (R2) reakcióegyenletek).



A trimetil-szilil csoportokat az oldószercsere első, metanolos lépése során kapcsoltuk a gélfelülethez HMDS felhasználásával (H3_sil – H30_sil). Ebben a lépésben mind a szilika ((R3) reakcióegyenlet), mind a zselatin váz módosítása ((R4) reakcióegyenlet) megtörtént.



1.3 Meghatároztuk a hibrid aerogélek zselatintartalmát, illetve a funkciós csoportok mennyiségét a felület-módosított gélekben. Igazoltuk, hogy az újonnan szintetizált aerogélek nyitott mezopórusos szerkezetűek. Megmutattuk, hogy az összetétel jelentősen befolyásolja a gélek szerkezetét és felületi tulajdonságait.

A termogravimetriás mérések értékelése során, a 300 és 500 °C közötti tömegcsökkenésből megállapítottuk, hogy a hibrid aerogélek zselatintartalma 3,6 és 24 m/m% (H3 – H30) között változik. A felület-módosítás eredményeként az aerogélek fenil-, hexadecil-, illetve trimetil-szilil csoport tartalma rendre 4,2 – 9,2; 2,1 – 5,8; illetve 5 – 6,5 m/m% között alakul. Amint az az 1. táblázatban is látható, az aerogélek nagy fajlagos felületűek (a_s), ami az összetétel függvényében változik. Ahogyan azt a C konstans csökkenő értéke is mutatja, a szililezés hatására a gélfelszín hidrofíl karaktere hidrofóbra változik.

1. táblázat A hibrid aerogélek m/m%-os összetétele, fajlagos felülete, illetve C konstansa (*számított érték)

Minta	Zselatin (m/m%)	(CH ₃) ₃ (m/m%)	Ph (m/m%)	C ₁₆ (m/m%)	a _s (m ² g ⁻¹)	C konstans
Sil	-	-	-	-	863	93
H3	3,7	-	-	-	644	105
H10	11	-	-	-	627	102
H20	18	-	-	-	415	87
H30	24	-	-	-	285	81
H3_sil	3,6	6,0	-	-	636	21
H10_sil	11 *	6,0*	-	-	596	23
H20_sil	19	5,0	-	-	509	27
H30_sil	24	6,5	-	-	504	24
H3_Ph10	5,0	-	4,2	-	860	54
H3_Ph20	3,8	-	7,6	-	724	56
H3_Ph30	4,0	-	9,2	-	790	56
H3_C ₁₆ 10	4,0*	-	-	2,1	638	86
H3_C ₁₆ 20	4,0*	-	-	4,0	736	75
H3_C ₁₆ 30	4,0*	-	-	5,8	711	73

2. Bizonyítottuk, hogy az 1. tézispontban bemutatott hibrid aerogélek alkalmasak különböző gyógyszerhatóanyagok szuperkritikus CO₂-ból történő megkötésére és a felület jellegétől függő sebességű leadására.

2.1 Sikeresen impregnáltuk az 1. tézispontban előállított aerogéleket 3 hatóanyaggal (triflusal, ibuprofén, ketoprofén).

Szuperkritikus közegben végzett adszorpciós kísérletekkel igazoltuk, hogy a normál, illetve a felületmódosított szilika-zselatin aerogélek képesek nagy mennyiségben megkötni különböző hatóanyagokat. A tiszta hatóanyagok, a kiindulási, illetve az impregnált aerogélek infravörös (IR) spektrumait összevetve minden esetben bizonyítottuk az impregnálás eredményességét.

2.2 Röntgendiffrakciós (XRD) és differenciális pásztázó kalorimetriás (DSC) mérésekkel igazoltuk, hogy mindegyik hatóanyag amorf állapotban kötődött meg a hordozóban.

A mikrokristályos hatóanyagok, valamint az impregnált aerogélek XRD spektrumait összehasonlítva megállapítottuk, hogy az impregnált aerogélek esetén nem jelennek meg az előbbiekre jellemző csúcsok. További bizonyíték a hatóanyagok amorf jellegére, hogy az impregnált aerogélek DSC görbéin nem láthatóak a kristályok olvadására jellemző, 80–120°C között jelentkező endoterm csúcsok. A DSC kísérletek bizonyítják azt is, hogy a hidrofил mátrix 300 °C hőmérsékletig képes megóvni a felvett hatóanyagot a termikus degradációtól. A fenti jelenségek a hidrofил hordozó felületén található –OH és –NH₂ csoportok jelenlétéhez

köthetők. Ezek hidrogénkötések kialakításával kedveznek az amorf formában történő adszorpciónak, illetve növelik a termikus stabilitást.

2.3 Megmutattuk, hogy a hibrid aerogélek összetétele és felületi tulajdonságai befolyásolják a felvett hatóanyag mennyiségét.

Az egységnyi felületre vonatkoztatott felvett hatóanyag mennyiségét az összetétel függvényében vizsgálva megállapítottuk, hogy a nem módosított hibrid aerogélek esetén a zselatintartalom növelésével mindhárom megkötött hatóanyag mennyisége növekszik (2. táblázat). A felületi módosítások minden esetben csökkentették a felvett hatóanyag mennyiségét. A hexadecil-módosítás a triflusal, míg a fenil-módosítás az ibuprofén felvételére hat hátrányosan, míg a másik két hatóanyaghoz való affinitást nem változtatja számottevően.

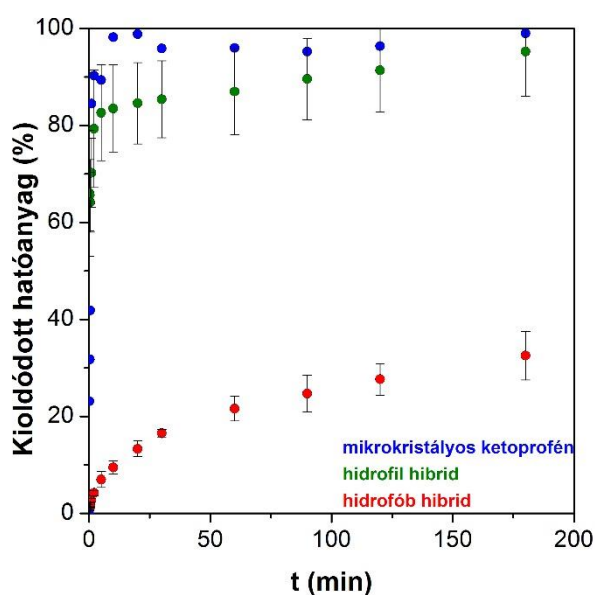
A hordozó egységnyi tömegére vonatkoztatott felvett hatóanyag mennyiségét vizsgálva megállapítottuk, hogy az előbbi tendenciák csak a funkcionizált aerogélek esetén jelentkeznek. Ez azzal magyarázható, hogy a nem módosított hibrid aerogélek esetén a zselatintartalom növekedésével olyan mértékben csökken a fajlagos felület, ami képes ellensúlyozni a zselatin beépülésének pozitív hatását. A funkcionizált aerogélek esetében a fajlagos felület csökkenése kisebb, így a korábban megállapított tendenciák itt jelentkeznek.

2. táblázat A hibrid aerogélek összetétele és az általuk megkötött hatóanyag mennyisége (*számított érték)

Minta	Zselatin (m/m%)	(CH ₃) ₃ (m/m%)	Triflusal (m/m%)	Ibuprofén (m/m%)	Ketoprofén (m/m)	Triflusal (μmol m ⁻²)	Ibuprofén (μmol m ⁻²)	Ketoprofén (μmol m ⁻²)
H3	3,7	-	29	24	14	2,56	2,38	0,99
H10	11	-	25	23	14	2,14	2,31	1,02
H20	18	-	29	22	15	3,97	3,29	1,67
H30	24	-	29	19	11	5,78	3,99	1,71
H3_sil	3,6	6,1	18	15	7	1,39	1,35	0,47
H10_sil	11*	6,0*	22	14	7,7	1,91	1,32	0,55
H20_sil	19	5,0	25	16	9,1	2,64	1,81	0,77
H30_sil	24	6,5	26	15	8,4	2,81	1,7	0,72
Ph (m/m%)								
H3_Ph10	5,0	4,2	27	23	18	1,73	1,68	1,00
H3_Ph20	3,8	7,6	29	19	13	2,27	1,57	0,81
H3_Ph30	4,0	9,2	27	18	9,1	1,89	1,35	0,50
C₁₆ (m/m%)								
H3_C ₁₆ 10	4,0*	2,1	24	27	11	1,99	2,81	0,76
H3_C ₁₆ 20	4,0*	4,0	21	25	7,2	1,46	2,20	0,41
H3_C ₁₆ 30	4,0*	5,8	19	25	11	1,33	2,27	0,68

2.4 Bizonyítottuk, hogy az aerogél felület nedvesíthetősége hatással van a hatóanyag-kioldódás sebességére, így lehetőség nyílik azonnali, illetve elnyújtott leadási profil kialakítására.

Mindhárom hatóanyag esetén elmondható, hogy a hidrofil mátrixból történő hatóanyag-leadás rendkívül gyors, amely annak köszönhető, hogy a kioldó közeg gyorsan nedvesíti a gélvázat, amely így gyorsan degradálódik. A hatóanyag nagy felületen érintkezik a folyadékkal, ezért a megkötött mennyiség nagy része az első 10–20 percben oldatba kerül. A hidrofób mátrix esetén a váz nedvesedése nagyon lassan következik be, így a leadás is lassul (2. ábra).



2. ábra Ketoprofén kioldódása különböző hidrofobicitású hibrid aerogélekből, illetve a mikrokristályos forma oldódása. pH=7,40 PBS; $37,0 \pm 0,5$ °C; 60 rpm.

3. Kioldódás-vizsgálatok, valamint NMR diffúziós és krio-porozimetriás mérések segítségével javaslatot tettünk a 3,7 m/m% zselatint tartalmazó hibrid aerogél mátrixból történő hatóanyag-leadás mechanizmusára.

3.1 Kidolgoztunk egy másodperces időfelbontású kioldódás-vizsgáló módszert.

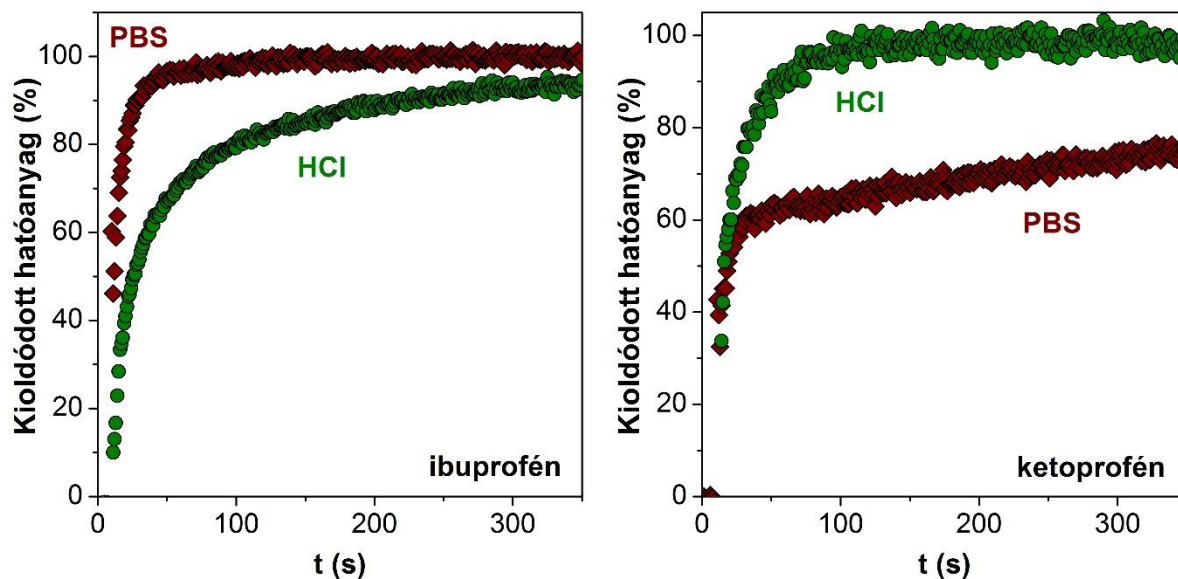
Kísérletileg bizonyítottuk, hogy a módszer reprodukálhatóan alkalmazható akár 0,30 – 1,90 mg tömegű impregnált aerogélból kiindulva hatóanyag-kioldódás görbék felvételére. Az 1 s-os időbeli felbontóképesség lehetővé teszi olyan jó minőségű kinetikai görbék felvételét, amelyek alkalmasak nagy pontosságú görbealak-analízisre.

3.2 Lézer diffrakciós, NMR krio-porozimetria és NMR PGSE diffúziós mérésekkel jellemeztük a 3,7 m/m% zselatint tartalmazó hibrid aerogél viselkedését különböző oldószerekben.

Lézer diffrakciós mérésekre támaszkodva megállapítottuk, hogy a szilika-zselatin aerogél vízben kisebb szemcsékre ($d = 10 - 30 \mu\text{m}$) esik szét, mint a tisztán szilika aerogél. A kialakuló szuszpenzió részecskeméret eloszlása is szűkebb. Az NMR krio-porozimetriás mérések rámutattak arra, hogy a szilika aerogélekkel szemben, amelyek vizes közegben megtartják eredeti porózus szerkezetüket, a szilika-zselatin hibrid vízzel érintkezve deformálódik, hidrogél szerűen duzzad. Ez a deformáció ciklohexánban nem következik be. NMR relaxometria segítségével be tudtuk bizonyítani egy erősen koordinálódott hidrát-réteg jelenlétét a pórusok falán. Az NMR diffúziós eredmények arra engednek következtetni, hogy a gélváz hidratációja és deformációja ellenére a részecskék jól átjárhatóak maradnak a víz számára.

3.3 A kioldódási profilok elemzésével, a hidratáció során a gélvázban bekövetkező változások figyelembe vételével jellemeztük a hibrid aerogélekből történő hatóanyag-leadás mechanizmusát.

A 3.1 és 3.2 tézispontban kapott kinetikai és szerkezeti információkat összegezve a szilika-zselatin aerogélekből a következő feltételezett mechanizmus szerint történik meg a hatóanyag kioldódása. Az ibuprofén gyors deszorpciója és kioldódása PBS-ben a szilika-zselatin mátrix hidratációjával magyarázható. A gyors leadásnak a deformálódó és esetlegesen kinyíló pórusszerkezet is kedvezhet. HCl oldatban ($\text{pH} = 2,0$) az ibuprofén-leadás lassabb. Mivel a gélmátrix eróziójának mértéke és sebessége nem változik különböző kioldóközegек esetén, a fenti jelenség a protonált molekula és a mátrix között fellépő erősebb kölcsönhatásból fakadhat. Ketoprofén esetén a kioldódás kezdetben kb. ugyanolyan sebességgel zajlik HCl-ben, mint PBS-ben. Azonban PBS-ben jelentkezik egy második elnyúló, lassú szakasz. Amint már említettük, a gélmátrix eróziójának sebessége és mértéke gyakorlatilag független a kioldóközegtől, így valószínűsíthető, hogy itt a gélváz hidratációra bekövetkező duzzadása relatíve gyorsabb, mint a ketoprofén deszorpciója, ami elnyújtott leadást eredményez (3. ábra).

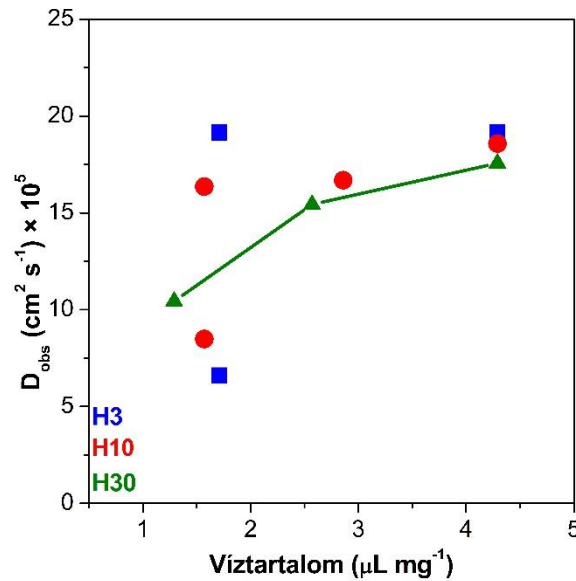


3. ábra Reprezentatív hatóanyag-leadás görbék 3,7 m/m% zselatint tartalmazó szilika-zselatin hibrid aerogélből. pH = 7,4 PBS; pH = 2,0; $37,0 \pm 0,1$ °C; 300 rpm

4. Kísérletileg bizonyítottuk, hogy növekvő zselatintartalom esetén a hatóanyag-leadás sebességének csökkenését az egyre inkább duzzadó gélszerkezeten át történő gátolt diffúzió limitáló hatása okozza.

4.1 NMR diffúziós és krio-porozimetriás mérések segítségével bizonyítottuk, hogy a zselatintartalom mértéke befolyásolja a hibrid aerogélek hidratációs tulajdonságait.

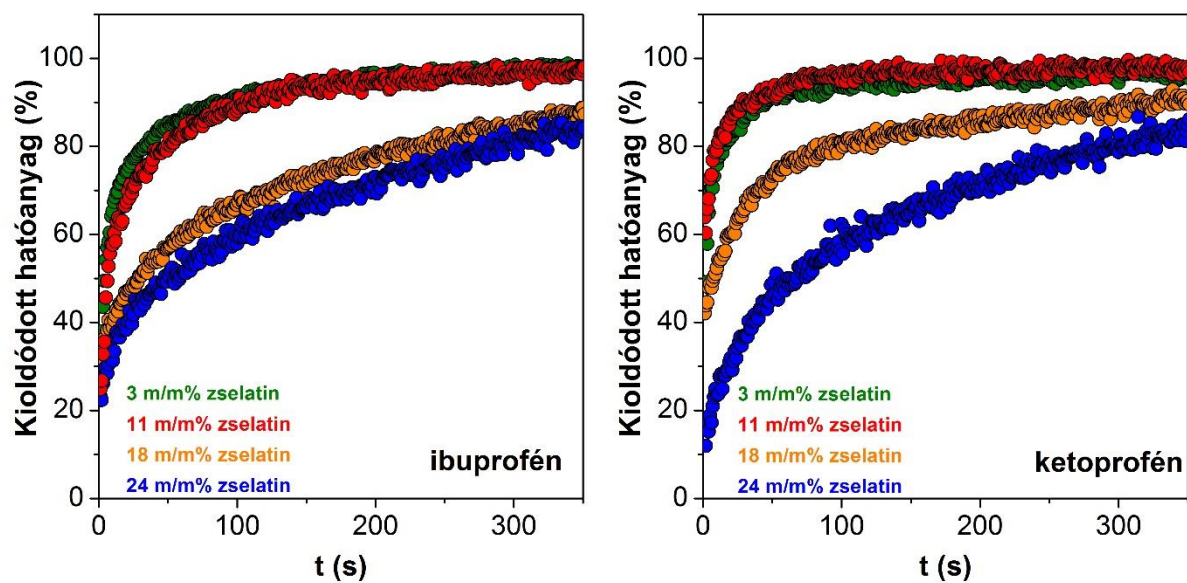
Különböző zselatintartalmú gélek esetén, növekvő víztartalom mellett meghatároztuk a víz öndiffúziójára jellemző diffúziós állandókat (D). A 3,7 m/m% zselatint tartalmazó aerogél esetén kicsi víztartalom esetén két diffúziós domén, egy gátolt, lassú és egy szabad, gyorsabb domén jellemző. Ahogyan a 4. ábrán látható, a víztartalom növekedésével a lassabb diffúziós domén eltűnik és D a szabad víz diffúziós értékéhez közelít. Kis víztartalom esetén a zselatintartalom növekedésével a lassabb domén jelenléte egyre kifejezettebb. Ez azzal magyarázható, hogy a nagy zselatintartalmú aerogélek egyre inkább hidrogélre jellemző viselkedést mutatnak, jelentős elsődleges hidratációs szférával. A diffúziós kísérletek alapján egyértelműen elmondható, hogy míg kicsi zselatintartalom mellett kevés víz esetén még jól elkülönül a kötött hidrárburokra jellemző és a szabadabb, pórusokban történő diffúzió, addig nagy zselatintartalom mellett csak a primer hidratációra jellemző erősen gátolt diffúzió mérhető. Ez összhangban van a kioldódás-vizsgálatok során tapasztaltakkal, miszerint nagy zselatintartalom esetén a hatóanyag kioldódását a mátrixból történő gátolt diffúzió limitálja (ld. 4.2 pont).



4. ábra Különböző zselatintartalmú hibrid aerogélek esetén mért víz öndiffúziós együtthatók (D) a gélek víztartalmának függvényében.

4.2 Megállapítottuk, hogy növekvő zselatintartalom mellett a kioldódás sebességét a hatóanyag a mátrixból az oldatba történő gátolt diffúzió limitálja.

A kioldódási görbék alakjának változása a zselatintartalom növekedésével (5. ábra) arra utal, hogy a hatóanyag-leadás mechanizmusa is nagy valószínűséggel változik. Ennek bizonyítása érdekében több, általánosan használt kioldódás-moddellel illesztettük a görbéket. Kis zselatintartalom (3,7 – 11 m/m%) esetén a görbék a Hopfenberg-moddellel voltak a legjobban illeszthetőek, amely erózió kontrollálta kioldódási mechanizmusra jellemző. Ezzel szemben a 18 és 24 m/m% zselatint tartalmazó aerogélek esetén a Peppas-model bizonyult megfelelőnek, amely egy a mátrixból az oldat irányába történő gátolt diffúzió által limitált hatóanyag-leadást feltételez.



5. **ábra** Reprezentatív hatóanyag-leadás görbék különböző zselatintartalmú szilika-zselatin hibrid aerogélekből. pH = 2,0 HCl; $37,0 \pm 0,1$ °C; 300 rpm.

AZ EREDMÉNYEK HASZNOSÍTÁSI LEHETŐSÉGEI

Napjaink orvosbiológiai kutatásainak jelentős része célozza új, irányított gyógyszer-hatóanyag-leadású rendszerek kialakítását, amelyekkel a napjainkban alkalmazott terápiás készítmények bizonyos tulajdonságai tovább javíthatóak. Az aerogélek egy igen ígéretes családját képezik a jelenleg kutatott gyógyszerhordozó mátrixoknak nagy fajlagos felületük, változatos anyagi minőségük, illetve hangolható felületi-kémiai tulajdonságaik miatt. Mindazonáltal a kutatások még mindig kezdeti stádiumban vannak, így az újonnan publikált eredmények fényében egyre újabb igények és lehetőségek fogalmazódnak meg ezzel az anyagcsaláddal szemben. Míg az ezredforduló környékén a szervetlen-oxid alapú aerogélekre irányult a figyelem, manapság már a hibrid, illetve biológiai makromolekula alapú aerogélek képezik a kutatások frontvonalát. Mind a mátrixok előállítására, mind szorpciós tulajdonságaik vizsgálatára, különös tekintettel a hatóanyag-leadás mechanizmusának felderítésére nagy energiát fektetnek a tudósok.

Doktori kutatómunkám eredményeként sikerült egy olyan szintézismódszert kidolgozni, amellyel egyszerűen lehet előállítani szilika-zselatin hibrid aerogéleket, amelyek a két anyagcsoport előnyös tulajdonságait egyesítve jelentős potenciált biztosítanak szabályozott hatóanyag-leadású hordozóként történő alkalmazásukhoz. Az általunk fejlesztett kis mintaigényű, másodperces időbeli felbontású kioldódás vizsgáló módszer által nyújtott hatóanyag-leadási görbék az eddig használt technikákkal szemben jóval több információt hordoznak, így messzemenően alkalmasabbak a terápiás szer kioldódási mechanizmusának tanulmányozására. Emellett a módszer felhasználható más típusú aerogélek vizsgálata során is. A kapott információkkal az eddigieknél mélyebb betekintést nyertünk a felhasználás során lejátszódó folyamatokba, ezzel is segítve a jövőbeni fejlesztéseket.

TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. Péter Veres, Mónika Kéri, István Bányai, István Lázár, István Fábián, Concepción Domingo, József Kalmár

Mechanism of drug release from silica-gelatin aerogel - Relationship between matrix structure and release kinetics

Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, **2017**, 152, 229-237.

IF: 3,887

2. Péter Veres, Ana M. López-Periago, István Lázár, Javier Saurina, Concepción Domingo
Hybrid aerogel preparations as drug delivery matrices for low water-solubility drugs

International Journal of Pharmaceutics, **2015**, 496, 360-370.

IF: 3,649

Az értekezés témaköréhez kapcsolódó előadások

1. Veres Péter, Kéri Mónika, Fábián István, Lázár István, Kalmár József

„Szilika-zselatin hibrid aerogélek előállítása és alkalmazása gyógyszerhordozóként”

XXIII. Nemzetközi Vegyészkonferencia, Déva, Románia, 2017.10.25-28.

2. Kalmár József, Veres Péter, Kéri Mónika, Lázár István, Bányai István, Fábián István

„Zselatin-szilika aerogélek pórusszerkezete és szorpciós tulajdonságai” MTA Kolloidkémiai Munkabizottság 2016. június 2-3-i ülése, Velence, Magyarország 2016.06.2-3.

3. Veres Péter, Ana M. López-Periago, István Lázár, Javier Saurina, Concepción Domingo

„Zselatin-szilika hibrid aerogélek mint potenciális gyógyszerhordozók” MTA Kolloidkémiai Munkabizottság 2016. június 2-3-i ülése, Velence, Magyarország, 2016.06.2-3.

4. Veres P., A. M. López-Periago, Lázár I., P. López-Aranguren, J. Fraile, J. Saurina, C.

Domingo, "Hibrid aerogél gyógyszerhordozók fejlesztése", Szuperkritikus oldószerek analitikai és műveleti alkalmazása konferencia, Budapest, Magyarország, 2015.05.21.

5. Veres Péter, Lázár István, "Biodegradábilis kollagén-szilika aerogél hibridek szintézise és tulajdonságai", XXXVI. Kémiai Előadói Napok, Szeged, Magyarország, 2013.10.28-30.

Az értekezés témájából készült poszterek

1. Péter Veres, Mónika Kéri, István Bányai, István Lázár, István Fábián, József Kalmár,

„Silica, silica-gelatin hybrid and alginate aerogels as drug delivery systems – Relationship

between structure and function”, 5th International Conference on Multifunctional, Hybrid and Nanomaterials, Lisszabon, Portugália, 2017.03.06-10.

2. Peter Veres, Ana M. López-Periago, István Lázár, Javier Saurina, Concepción Domingo, „*Hybrid gelatin-silica aerogels as drug delivery matrices for low water-solubility drugs*”, 3rd International Conference on Bioinspired and Biobased Chemistry and Materials, Nizza, Franciaország, 2016.10.16-19.

Az értekezés témájához nem kapcsolódó közlemények

1. Péter Veres, Dániel Sebők, Imre Dékány, Pavel Gurikov, Irina Smirnova, István Fábián, József Kalmár

A redox strategy to tailor the release properties of Fe(III)-alginate aerogels for oral drug delivery

Carbohydrate Polymers, **2018**, (közlésre elfogadva)

IF: 4,811

2. Péter Veres, Gábor Király, Gábor Nagy, István Lázár, István Fábián, József Kalmár
Biocompatible silica-gelatin hybrid aerogels covalently labeled with fluorescein

Journal of Non-Crystalline Solids, **2017**, 473, 17-25

IF: 2,124

2. Dr. Lázár István, Kuttar Andrea, Győri Enikő, Veres Péter, Dr. Fábián István, Manó Sándor, Dr. Hegedüs Csaba

Fogászatban alkalmazható aerogél alapú bioaktív anyagok előállítása és sajátosságai

Fogorvosi Szemle, **2015**, 108/1, 3-8.

3. Veres Péter

Szilika aerogélek

Hatvani István Szakkollégium - „A mi tendenciánk..” Szakkollégiumi tanulmányok 2.

Debrecen, **2013**, 201-208. (ISSN: 2063-6059)

4. Veres Péter, Ditrói Tamás, Bogdándi Virág, Búzás Eszter Bíborka, Bihari Zsolt

Hegyközkovácsi felszín alatti vizeinek hidrokémiai vizsgálata

Hatvani István Szakkollégium - Bihari Hegyköz, 1.

Debrecen-Nagyvárad, **2013**, 126-145. (ISBN: 978-963-473-632-5)

Az értekezés témájához nem kapcsolódó posztterek

1. Veres Péter, Pavel Gurikov, Irina Smirnova, Lázár István, "*Hibrid aerogél mikrorészecskék gyógyszerhordozóként történő felhasználási lehetőségei*"; "*Alginát alapú aerogélek gyógyszerhordozóként történő felhasználási lehetőségei*", MKE 2. Nemzeti Konferencia, Hajdúszoboszló, Magyarország, 2015.08.31.-09.02.
2. Veres Péter, Lázár István, "*Synthesis and Adsorption Properties of Collagen-Silica Aerogel Hybrids*", 13th International Symposium and Summer School on Bioanalysis, Debrecen, Magyarország, 2013.06.27-07.07.



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/41/2018.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Veres Péter
Neptun kód: ZZR2LN
Doktori Iskola: Kémiai Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10051016

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

1. **Veres, P.**, Kéri, M., Bányai, I., Lázár, I., Fábián, I., Domingo, C., Kalmár, J.: Mechanism of drug release from silica-gelatin aerogel-relationship between matrix structure and release kinetics. *Colloid Surf. B-Biointerfaces*. 152, 229-237, 2017. ISSN: 0927-7765.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.01.019>
IF: 3.887 (2016)
2. **Veres, P.**, López-Periago, A. M., Lázár, I., Saurina, J., Domingo, C.: Hybrid aerogel preparations as drug delivery matrices for low water-solubility drugs. *Int. J. Pharm.* 496 (2), 360-370, 2015. ISSN: 0378-5173.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.10.045>
IF: 3.994





**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

További közlemények

Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

3. Lázár, I., Kuttor, A., Győri, E., **Veres, P.**, Fábán, I., Manó, S., Hegedűs, C.: Fogászatban alkalmazható aerogél alapú bioaktív anyagok előállítása és sajátosságai.
Fogorv. Szle. 108 (1), 3-8, 2014. ISSN: 0015-5314.

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

4. **Veres, P.**, Sebők, D., Dékány, I., Gurikov, P., Smirnova, I., Fábán, I., Kalmár, J.: A redox strategy to tailor the release properties of Fe(III)-alginate aerogels for oral drug delivery.
Carbohydr. Polym. 188, 159-167, 2018. ISSN: 0144-8617.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.01.098>
IF: 4.811 (2016)
5. **Veres, P.**, Király, G., Szemán-Nagy, G., Lázár, I., Fábán, I., Kalmár, J.: Biocompatible silica-gelatin hybrid aerogels covalently labeled with fluorescein.
J. Non-Cryst. Solids. 473, 17-25, 2017. ISSN: 0022-3093.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2017.07.016>
IF: 2.124 (2016)

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 14,816

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
7,881**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudásmetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2018.02.16.

