

feczko_273_24

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

**GYÓGYSZERMOLEKULÁK ÉS FÁZISVÁLTÓ HŐTÁROLÓ
ANYAGOK MIKROKAPSZULÁZÁSA POLIMEREKKEL**

Feczko Tivadar

HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Anyag- és Környezatkémiai Intézet

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar

**HUN
REN**



Veszprém

2025

feczko_273_24

„Ma még csak tükörben, homályosan látunk, akkor majd színről színre. Most még csak töredékes a tudásom, akkor majd úgy ismerem mindent, ahogy most engem ismernek.”

Szent Pál, 1Kor 13,12

TARTALOMJEGYZÉK

Az értekezés alapját képező közlemények (K1-K22).....	7
Az értekezés témaköréhez kapcsolódó egyéb közlemények (EK1-16).....	9
Rövidítések jegyzéke.....	11
ELŐSZÓ.....	13
BEVEZETÉS.....	14
I. GYÓGYSZERMOLEKULÁK MIKROKAPSZULÁZÁSA	17
I.1. Gyógyszermolekulák mikrokapszulázásának bevezetése és célkitűzései	17
I.2. Irodalmi áttekintés a gyógyszerhordozó polimer nano- és mikrorészecskékre	19
I.2.1. Gyógyszermolekulák mikrokapszulázása biokompatibilis polimerekkel.....	19
I.2.2. Fehérje és peptid típusú hatóanyagok és mikrokapszulázási előzményeik	21
I.2.2.1. Interferon-alfa.....	21
I.2.2.2. Interferon-béta	22
I.2.2.3. Idegnövekedési faktor	22
I.2.2.4. Kemoterapeutikumok mikrokapszulázása	23
I.2.3. Porlasztva szárítás során alkalmazott hatóanyagok.....	24
I.2.4. Polimer hordozó vegyületek.....	25
I.2.5. Alkalmazott mikrokapszulázási eljárások	26
I.2.5.1. Nanoprecipitáció.....	26
I.2.5.2. Emulzió - oldószer elpárologtatás módszerei.....	26
I.2.5.3. Porlasztva szárítás	27
I.3. Gyógyszerhordozó nano- és mikrorészecskék előállítási és vizsgálati módszerei az alkalmazott anyagokkal	28
I.3.1. Gyógyszerhordozó nanorészecskék előállítási módszerei.....	28
I.3.1.1. Fehérje hatóanyagok mikrokapszulázása	28
I.3.1.2. Teranosztikus HSA nanorészecskék előállítása és felületmódosítása	28
I.3.1.3. Szorafenibet tartalmazó polimer nanorészecskék előállítása	30
I.3.1.4. Porlasztva szárítás	30
I.3.2. Gd-komplex rögzítése és analízise	30
I.3.3. Gyógyszerhordozó nano- és mikrorészecskék fiziko-kémiai vizsgálata	31
I.3.4. A hatóanyagok kapszulázási hatékonyságának, hatóanyag-tartalmának és hozamának meghatározása	32
I.3.5. Hatóanyag-leadási kinetika és farmakokinetika vizsgálata	33
I.3.6. Nanorészecskék sejtek által történő felvételének, citotoxicitásának és bioaktivitásának vizsgálata.....	33
I.3.7. Nazális porok in vitro felszabadulási és áteresztőképességi vizsgálata.....	34
I.3.8. Ex vivo Raman-mikroszkópos vizsgálatok oleogélekből.....	34
I.3.9. In vivo tranziens középső agyi artéria elzáródás modell.....	35

feczko_273_24

I.3.10.	Egyéb in vivo vizsgálatok	35
I.3.11.	Statisztikai elemzés	35
I.4.	Gyógyszerhordozó polimer nano- és mikrorészecskék eredményei és következtetések..	36
I.4.1.	Fehérje típusú gyógyszerhatóanyagok mikrokapszulázása biokompatibilis polimerekkel	36
I.4.1.1.	HSA modell hatóanyagot és vas-oxid nanorészecskéket tartalmazó PLGA nanoteranosztikumok [K1-3].....	36
I.4.1.2.	Interferon típusú hatóanyagok nyújtott hatóanyag-leadása biokompatibilis polimer nanorészecskékkel [K4,5]	40
I.4.1.3.	Idegnevekedési faktort (NGF) és vas-oxid nanorészecskéket tartalmazó nanoteranosztikum [K6].....	45
I.4.2.	Szorafenib mikrokapszulázása biokompatibilis polimerekkel	49
I.4.2.1.	Szorafenib mikrokapszulázása polivinil-alkohol polimerrel [K7]	49
I.4.2.2.	Szorafenib kemoterapeutikumot és Gd-DTPA MRI kontrasztanyagot tartalmazó PLGA és PEG-PLGA alapú nanoteranosztikumok [K8].....	51
I.4.3.	Biokompatibilis polimer részecskék előállítása porlasztva szárítással.....	57
I.4.3.1.	Metronidazol hatóanyag formulálása porlasztva szárítással [K9].....	57
I.4.3.2.	Metronidazol tartalmú nanoszuszpenzió porlasztva szárítása [K10]	59
I.4.3.3.	Levocetirizin-dihidroklorid porlasztva szárítása [K11,12]	61
I.4.3.4.	Valsartant tartalmazó polimer nanorészecskék porlasztva szárítása orális alkalmazásra [K13]	66
I.5.	A gyógyszerhordozó polimer mikro- és nanorészecskék gyakorlati aspektusai	70
II.	FÁZISVÁLTÓ HŐTÁROLÓ ANYAGOK MIKROKAPSZULÁZÁSA.....	71
II.1.	Fázisváltó hőtároló anyagok mikrokapszulázásának bevezetése és célkitűzései	71
II.2.	Irodalmi áttekintés a fázisváltó hőtároló anyagokra.....	73
II.2.1.	Fázisváltó hőtároló anyagok mikrokapszulázása	74
II.2.2.	Mikrokapszulázott fázisváltó anyagok irodalmi vizsgálati módszerei és alkalmazásai	77
II.3.	Fázisváltó hőtároló mikrokapszulák előállítási és vizsgálati módszerei az alkalmazott anyagokkal	78
II.3.1.	Kalcium-alginát-PCM mag-héj mikrokapszulák előállítása emulzifikálás, ionos keresztkötés és hőkezelés eljárásokkal.....	78
II.3.2.	Szintetikus polimer - PCM mikrokapszulák előállítása emulzió - oldószer elpárologtatás és szuszpenziós polimerizáció módszerével.....	79
II.3.3.	PCM-et tartalmazó mikrorészecskék fiziko-kémiai vizsgálata	79
II.3.4.	PCM-et tartalmazó mikrorészecskék termikus és stabilitási vizsgálatai	80
II.3.5.	Ezüst-tartalom és minőség meghatározása ICP-MS és XPS módszerekkel.....	81
II.3.6.	Antibakteriális és gombaölő hatás vizsgálatai.....	81
II.4.	Eredmények és következtetések fázisváltó hőtároló mikrokapszulákkal.....	83
II.4.1.	Kalcium-alginát héjú, mag-héj szerkezetű hőtároló kapszulák	83

feczko_273_24

II.4.1.1.	Kalcium-alginát-paraffin kapszulák [K14-16]	83
II.4.1.2.	Kókuszolaj PCM-et tartalmazó kalcium-alginát kapszulák [K16].....	87
II.4.1.3.	Ezüst nanorészecskékkel funkcionizált kalcium-alginát-kókuszolaj kapszulák [K17]	89
II.4.1.4.	Kalcium-alginát-oktil-laurát kapszulák hűtési felhasználásra [K18]	93
II.4.2.	Szerves fázisváltó hőtároló anyagokat tartalmazó szintetikus polimer mikrorészecskék	97
II.4.2.1.	Etil-cellulóz-n-hexadekán hőtároló mikrokapszulák emulzió - oldószer elpárologtatás módszerével [K19].....	97
II.4.2.2.	Szilika nanorészecskékkel borított pórusos polietilén-dimetakrilát és poli(glicidil-metakrilát-etilén-dimetakrilát) polimer hordozó mikrorészecskék [K20,21].....	100
II.4.2.3.	Poli(metil-metakrilát) mikrokapszulák méretnövelt előállítása szuszpenziós polimerizációval [K22]	103
II.5.	A fázisváltó hőtároló mikrokapszulák gyakorlati aspektusai	106
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS		110
Hivatkozások		112

Az értekezés alapját képező közlemények (K1-K22)

K1- Shubhra, Q.T.H.*, Kardos, A.F., **Feczko, T.**, Mackova, H., Horák, D., Tóth, J., Dósa, G., Gyenis, J. Co-encapsulation of human serum albumin and superparamagnetic iron oxide in PLGA nanoparticles: Part I. Effect of process variables on the mean size. *J. Microencaps.*, 31 (2014) 147-155.

IF: 1,585; Q2; Hiv: 8

K2- Shubhra, Q.T.H.*, **Feczko, T.**, Kardos, A.F., Mackova, H., Horák, D., Tóth, J., Dósa, G., Gyenis, J. Co-encapsulation of human serum albumin and superparamagnetic iron oxide in *PLGA nanoparticles: Part II. . Effect of process variables on protein model drug encapsulation efficiency. *J. Microencaps.*, 31 (2014) 156-165.

IF: 1,585; Q2; Hiv: 12

K3- Shubhra, Q.T.H.*, Tóth, J., Gyenis, J., **Feczko, T.** Surface Modification of HSA Containing Magnetic PLGA Nanoparticles by Poloxamer to Decrease Plasma Protein Adsorption. *Colloids Surf. B*, 122 (2014) 529-536.

IF: 4,152; Q1; Hiv: 41

K4- **Feczko, T.***, Fodor-Kardos, A., Sivakumaran, M., Shubhra, Q.T.H. In vitro IFN- α release from IFN- α - and pegylated IFN- α -loaded poly(lactic-co-glycolic acid) and pegylated poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles. *Nanomedicine*, 11 (2016) 2029-2034.

IF: 4,727; Q1; Hiv: 22

K5- Fodor-Kardos, A., Kiss Á.F., Monostory, K., **Feczko, T.***: Sustained in vitro interferon-beta release and in vivo toxicity of PLGA and PEG-PLGA nanoparticles *RSC Adv.*, 10 (2020) 15893.

IF: 3,361; Q1; Hiv: 28

K6- **Feczko, T.**, Piiper, A., Ansar, S., Blixt, F.W., Ashtikar, M., Schiffmann, S., Ulshöfer, T., Parnham, M., Lellouche, J.P., Harel, Y., Israel, L.L., Wacker, M.G.* Stimulating brain recovery after stroke using theranostic albumin nanocarriers loaded with nerve growth factor in combination therapy. *J. Control. Release*, 293 (2019) 63-72.

IF: 7,727; D1; Hiv: 27

K7- **Feczko, T.**, Merza, G., Babos, Gy., Varga, B., Gyetvai, E., Trif, L., Kovács, E., Tuba*, R. Preparation of cubic-shaped sorafenib-loaded nanocomposite using well-defined poly(vinyl alcohol alt-propenylene) copolymer. *Int. J. Pharm.*, 562 (2019) 333–341.

IF: 4,845; D1; Hiv: 4

K8- **Feczko, T.***, Piiper, A., Pleli, T., Schmithals, C., Denk, D., Hehlhans, S., Rödel, F., Vogl, T.J., Wacker, M.G. Theranostic sorafenib-loaded polymeric nanocarriers manufactured by enhanced gadolinium conjugation techniques. *Pharmaceutics* 11 (2019) 489.

IF: 4,421; Q1; Hiv: 13

K9- Miranko, M., Trif, L., Tóth, J.*, **Feczko, T.** Nanostructured micronized solid dispersion of crystalline-amorphous metronidazole embedded in amorphous polymer matrix prepared by nano spray drying. *Adv. Powder Techn.*, 32 (2021) 2621-2633.

IF: 4,969; Q1; Hiv: 8

K10- Mirankó, M.; Megyesi, M.; Miskolczy, Z.; Tóth, J.; **Feczko, T.***; Biczók, L.* Encapsulation of Metronidazole in Biocompatible Macrocycles and Structural Characterization of Its Nano Spray-Dried Nanostructured Composite. *Molecules* 26 (2021) 7335.

IF: 4,927; Q1; Hiv: 4

K11- Mirankó, M.; Tóth, J.; Bartos, C.; Ambrus, R.; **Feczko, T.*** Nano-Spray-Dried Levocetirizine Dihydrochloride with Mucoadhesive Carriers and Cyclodextrins for Nasal Administration. *Pharmaceutics*, 15 (2023) 317.

IF: 4,9; Q1; Hiv: 7

K12- Mirankó, M.; Tóth, J.; Fodor-Kardos, A.; Móricz, K.; Szenes-Nagy, A.B.; Gácsi, A.; Spaits, T.; Gyenis, J.; **Feczko, T.*** Topical Formulation of Nano Spray-Dried Levocetirizine Dihydrochloride against Allergic Edema. *Pharmaceutics* 14 (2022) 2577.

IF: 5,4; Q1; Hiv: 2

K13- Hajba-Horváth, E., Biró, E., Mirankó, M., Fodor-Kardos, A., Trif, L., **Feczko, T.*** Preparation and in vitro characterization of valsartan-loaded ethyl cellulose and poly(methyl methacrylate) nanoparticles. *RSC Adv.*, 10 (2020) 43915.

IF: 3,361; Q1; Hiv: 11

K14- **Feczko, T.**; Fodorné, Kardos A.; Gyenis, J.; Németh, B.; Szemesné, Németh Á.; Tóth, J. Kongruens fázisváltást biztosító hőtároló mikrokapszulák, eljárás előállításukra és alkalmazásuk 2300796, Benyújtás éve (szabadalom): 2014, Ügyszám: P1400593, Benyújtás országa: Magyarország.

K15- Németh, B., Németh, Á.S., Tóth, J., Fodor-Kardos, A., Gyenis, J., **Feczko, T.*** Consolidated microcapsules with double alginate shell containing paraffin for latent heat storage. *Sol. Energy Mater. Sol. Cells*, 143 (2015) 397–405.

IF: 4,732 D1; Hiv: 29

K16- Németh, B., Németh, S.Á., Ujhidy, A., Tóth, J., Trif, L., Gyenis, J., **Feczko, T.*** Fully bio-originated latent heat storing calcium alginate microcapsules with high coconut oil loading. *Solar Energy*, 170 (2018) 405-414.

IF: 4,674; Q1; Hiv: 36

K17- Németh, B., Németh, Á.S., Ujhidy, A., Tóth, J., Trif, L., Jankovics, H., Kriszt, B., Dobolyi, C., May, Z., Gyenis, J., **Feczko, T.***: Antimicrobial functionalization of Ca alginate-coconut oil latent heat storing microcapsules by Ag nanoparticles. *Int. J. Energy Res.*, 44 (2020).

IF: 5,164; Q2; Hiv: 8

K18- Hajba-Horvath, E; Nemeth, B; Trif, L; May, Z; Jakab, M; Fodor-Kardos, A; **Feczko, T.*** Low temperature energy storage by bio-originated calcium alginate-octyl laurate microcapsules. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 147 (2022) 13151–13160.

IF: 4,4; Q1; Hiv: 5

K19- **Feczko, T.***, Kardos A. F., Németh, B., Trif, L., Gyenis, J. Microencapsulation of n-hexadecane phase change material by ethyl cellulose polymer. *Polym. Bull.*, 71 (2014) 3289-3304.

IF: 1,438; Q2; Hiv: 29

K20- Feczko, T.*, Trif, L., Horak, D. Latent heat storage by silica-coated polymer beads containing organic phase change materials. *Solar Energy*, 132 (2016) 405-414.

IF: 4,018; Q1; Hiv: 41

K21- Feczko, T.*, Trif, L., Németh, B., Horak, D. Silica-coated poly(glycidyl methacrylate-ethylene dimethacrylate) beads containing organic phase change materials. *Thermochimica Acta*, 641 (2016) 24-28.

IF: 2,236; Q2; Hiv: 13

K22- Németh, B., Ujhidy, A., Tóth, J., Gyenis, J., Feczko T.*: Testing of microencapsulated phase-change heat storage in experimental model houses under winter weather conditions. *Build. Environ.*, 204 (2021) 108119.

IF: 7,093; D1; Hiv: 23

Az értekezés témaköréhez kapcsolódó egyéb közlemények (EK1-16)

EK1- Feczko, T.*, Tóth, J., Gyenis, J. Comparison of the preparation of PLGA-BSA nano- and microparticles by PVA, poloxamer and PVP. *Colloid Surf. A*, 319 (2008) 188-195.

IF: 1,926; Q2; Hiv: 78

EK2- Feczko, T., Tóth, J., Dósa, G., Gyenis, J.* Influence of process conditions on the mean size of PLGA nanoparticles. *Chem. Eng. Proc.*, 50 (2011) 846-853.

IF: 1,924; Q1; Hiv: 68

EK3- Feczko, T., Tóth, J., Dósa, G., Gyenis, J.* Optimisation of protein encapsulation in PLGA nanoparticles. *Chem. Eng. Proc.*, 50 (2011) 757-765.

IF: 1,924; Q1; Hiv: 103

EK4- Shubhra, Q.T.H., Mackova, H., Horák, D., Kardos, A.F., Tóth, J., Gyenis, J, Feczko. T. Encapsulation of human serum albumin in submicrometer magnetic poly(lactide-co-glycolide) particles as a model system for targeted drug delivery. *e-Polymers* (2013) 029.

IF: 0,33; Q3; Hiv: 4

EK5- Shubhra, Q.T.H.*; Tóth, J. ; Gyenis, J. ; Feczko, T. Poloxamers for Surface Modification of Hydrophobic Drug Carriers and Their Effects on Drug Delivery, *Polymer Rev.*, 54 (2014) 112-138.

IF: 6,156; D1; Hiv: 67

EK6- Kántor, I., Aparaschivei, D., Todea, A., Biró, E.*, Babos, G., Szerényi, D., Kakasi, B., Péter, F.*, Şişu, E., **Feczko, T.** Biocatalytic synthesis of poly[ε-caprolactone-co-(12-hydroxystearate)] copolymer for sorafenib nanoformulation useful in drug delivery, *Catalysis Today*, 366 (2021) 202-211.

IF: 6,562; Q1; Hiv: 3

EK7- Benea, IC; Kántor, I; Todea, A; Pellis, A Bîtcan, I ; Nagy, L; Kéki, S; Dreava*, DM; Péter, F, Feczko, T. Biocatalytic synthesis of new polyesteramides from ε-caprolactam and hydroxy acids: Structural characterization, biodegradability, and suitability as drug nanocarriers. *React. Funct. Polym.*, 191 (2023) 105702.

IF: 4,5; Q1; Hiv: 2

EK8- Babos, G., Biró, E., Meiczinger, M., **Feczko T.*** Dual drug delivery of sorafenib and doxorubicin from PLGA and PEG-PLGA polymeric nanoparticles. *Polymers*, 10 (2018) 895.

IF: 3,164; Q1; Hiv: 71

EK9- Babos, G., Rydz, J., Kawalec, M., Klim, M., Fodor-Kardos, A., Trif, L., **Feczko, T.*** Poly(3-Hydroxybutyrate)-Based Nanoparticles for Sorafenib and Doxorubicin Anticancer Drug Delivery. *Int. J. Mol. Sci.*, 21 (2020) 7312.

IF: 5,924; Q1; Hiv: 42

EK10- Kántor, I.; Dreavă, D.; Todea, A.*; Péter, F.; May, Z.; Biró, E.; Babos, G.; **Feczko, T.*** Co-Entrapment of Sorafenib and Cisplatin Drugs and iRGD Tumour Homing Peptide by Poly[ϵ -caprolactone-co-(12-hydroxystearate)] Copolymer. *Biomedicines*, 10 (2022) 43.

IF: 4,7; Q1; Hiv: 2

EK11- Păușescu, I.; Kántor, I.; Babos, G.; May, Z.; Fodor-Kardos, A.; Miskolczy, Z.; Biczók, L.; Péter, F.; Medeleanu, M.*; **Feczko, T.*** Halochromic Behavior and Anticancer Effect of New Synthetic Anthocyanidins Complexed with β -Cyclodextrin Derivatives. *Int. J. Mol. Sci.*, 23 (2022) 8103.

IF: 5,6; Q1; Hiv: 2

EK12- Hajba-Horváth, E.; Fodor-Kardos, A.; Shah, N.; Wacker, M.G.; **Feczko, T.*** Sustainable Stabilizer-Free Nanoparticle Formulations of Valsartan Using Eudragit® RLPO. *Int. J. Mol. Sci.*, 22 (2021) 13069.

IF: 6,208; Q1; Hiv: 4

EK13- Fodor-Kardos, A.*; Tóth, J., Trif, L., Gyenis, J., **Feczko, T.** Preparation of spherical agglomerates from potash Alum. *RSC Adv.*, 6 (2016) 5466-5473.

IF: 3,108; Q1; Hiv: 7

EK14- Németh, B., Ujhidy, A., Tóth, J., Trif, L., **Feczko, T.***, Rauch, R. Gelation elimination in eco-friendly preparation of double-layered calcium alginate-coconut oil latent heat energy storing microcapsules. *Mater. Chem. Phys.*, 293 (2023) 126889.

IF: 4,3; Q1; Hiv: 5

EK15- Németh, B.; Ujhidy, A.; Tóth, J.; Ferencz, M.; Kurdi, R.; Gyenis, J.; **Feczko, T.*** Power consumption of model houses with and without PCM plaster lining using different heating methods. *Energy Build.*, 284 (2023) 112845.

IF: 6,6; D1; Hiv: 6

EK16- Ferencz, M.; Németh, B.; Gyenis, J.; **Feczko, T.*** Statistical evaluation of PCM plaster lining impact on indoor temperature fluctuation due to variability of outdoor temperature and solar radiation along a whole spring season. *J. Build. Eng.*, 99 (2025). 111626.

IF: 6,7; D1; Hiv: -

*levező szerző

Rövidítések jegyzéke

APEG-PLGA	utólag pegilált poli(tejsav-glikolsav)
Apo	apolipoprotein
BBB	vér-agy gát
BSA	marha szérum albumin
CANM	ammónium-cérium(IV)-nitráttal stabilizált vas-oxid nanorészecskék
DCM	diklór-metán
DLS	dinamikus fényszórás/foton korrelációs spektroszkópia
DSC	differentiális pásztázó kalorimetria
DTPA	dietilén-triamin-pentaecetsav
EC	etil-cellulóz
EDC	1-etil-3-(3-dimetil-aminopropil)-karbodiimid
FDA	Egyesült Államok Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hivatala
FTIR	Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia
HCC	hepatocelluláris karcinóma
H-IFN	humán interferon
HLB	hidrofil-lipofil egyensúly
HPMC	hidroxipropil-metilcellulóz
HSA	humán szérum albumin
ICP-MS	induktív csatolású plazmához kapcsolt tömegspektrométer
ICP-OES	induktív csatolású plazma optikai emissziós spektroszkópia módszer
IFN- α	interferon-alfa
IFN- β	interferon-béta
IUPAC	Nemzetközi Elméleti és Alkalmazott Kémiai Szövetség
LC	levocetirizin-dihidroklorid
L-V	folyadék-folyadék határfelület
L-V	folyadék-gőz határfelület
MRI	mágneses rezonancia képalkotás
MTT	3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólium-bromid
MTZ	metronidazol
NGF	idegnövekedési faktor
n-hexadekán	HD
NHS	N-hidroxiszukcinimid
o/v	olaj-a-vízben
P(GMA-EDMA)	poli(glicidil-metakrilát-etilén-dimetakrilát)
PCM	fázisváltó hőtároló anyag
PdI	polidiszperzitás index
PEDMA	polietilén-dimetakrilát
PEG	polietilén-glikol
PLGA	poli(tejsav-glikolsav)
PEG-PLGA	poli(tejsav-glikolsav)-polietilén-glikol kopolimer
PMAA	polimetakrilsav Na-sója
PMMA	poli(metil-metakrilát)

feczko_273_24

PVA	polivinil-alkohol
PVP	polivinil-pirrolidon
R-IFN	patkány interferon
SEM-EDX	pásztázó elektronmikroszkóp-energia-diszperzív röntgen-analizátorral
SL	szilárd-folyadék határfelület
SOR	szorafenib
SQUID	szupravezető kvantum interferencia magnetométer
SV	szilárd (polimer film)-gőz határfelület
TEM	transzmissziós elektronmikroszkóp
TG	termogravimetria
USPIO	egyedi domén méretű szuperparamágneses vas-oxid
v/o/v	víz-az-olajban-a-vízben
XPS	röntgen fotoelektron spektroszkópia
XRD	röntgendiffrakció
Z _{avg}	intenzitás szerinti átlag szemcseméretet

ELŐSZÓ

A Pannon Egyetemen (PE, akkori nevén Veszprémi Egyetem) Prof. Gyenis János és Prof. Szépvölgyi János professzorok 2004-ben megalapították a Funkcionális Nanorészecskék Kutatócsoportot, melyben a PE Műszaki Kémiai Kutatóintézet (MÜKKI) és az MTA Kémiai Kutatóközpont (mai nevén: HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont) Anyag- és Környezetkémiai Intézetének (HUN-REN TTK AKI) közös csoportja kezdte meg a működését. 2005-ben frissen végzett PhD-ként kerültem a csoporthoz. Az első jelentős kutatási témánk a korábbi AKI-s és MÜKKI-s kapcsolatok eredményeként a Trigon Biotechnológiai Zrt.-vel és a Szegedi Tudományegyetem Gyógyszertechnológiai Intézetével közös interferon-alfa (IFN- α) mikrokapszulázása és szabályozott hatóanyag leadása volt egy GVOP projekt keretében (2004-2007). A gyógyszerhatóanyagok szabályozott felszabadulásának polimer nano- és mikrorészecskékkel való biztosítása azóta is az egyik fő kutatási területünk. Vegyészként és mérnökként mindig is különösen érdekelt a részecskerendszerek előállításának, a kémiai és fizikai tulajdonságaiknak a befolyásolása és optimalizálása.

2012-ben Prof. Gyenis János és Dr. Tóth Judit a csoport kutatási profiljának bővítését javasolták, felismerve, hogy a fázisváltó hőtároló anyagok (PCM) a hőenergia tárolásának ígéretes eszközei. Magyarországon a PCM-ek kutatásával nem sokan foglalkoznak, azok mikrokapszulázási vizsgálatait pedig tudomásom szerint először a mi csoportunk honosította meg. Egy TÁMOP projekt PCM-ek mikrokapszulázásának alapkutatási eredményeivel felvértezve 2016-ban a Thermofoam Kft.-nél a K+F versenyképességi és kiválósági együttműködések (GINOP) programban az általunk javasolt és léptéknövelt eljárásra alapulva PCM mikrokapszulázó üzem épült. PCM kutatására fordított Bolyai ösztöndíjamat félbeszakítva, 2016-2017-ben a Humboldt Alapítvány tapasztalt kutatói ösztöndíjával a frankfurti Goethe Egyetemen Prof. Albrecht Piiper kutatóorvossal és Dr. Matthias G. Wacker kutató gyógyszerésszel megtapasztaltam, hogy milyen gyümölcsöző, amikor egy vegyészről eltérő szemszögből tekintenek a nanoanyagokra, ahol az együttműködés során *in vitro* sejtbiológiai technikákat is elsajátíthattam.

Időközben 2016-ban az EGIS Gyógyszergyár Zrt.-vel a csoportom támogatást nyert szintén a GINOP programban, melyben a HUN-REN TTK AKI 6 kutatócsoportja a szakmai vezetésem mellett vett részt. A feladatunk 4 különböző felhasználási területen alkalmazott gyógyszerhatóanyag nanoformulálása, illetve biohasznosulásának a javítása volt. A gyógyszerhatóanyagok mikrokapszulázása témakörében elsősorban felfedező kutatást végeztünk, a legfontosabb eredményeinket publikáltuk.

Az elmúlt két évtized során az alapkutatási eredményeink egy részét sikerült az alkalmazott kutatásban is hasznosítani, mindamelllett a megjelent közleményeink a szakirodalomban megfelelő visszhangot váltanak ki. Habár a mikrokapszulázás számos más területén is jelentek meg folyóirat cikkeim, a gyógyszerhatóanyagok és a fázisváltó hőtároló anyagok mikrokapszulázása témákban tettem szert megfelelő jártasságra, ami lehetővé tette számomra az értekezésben ismertetett új tudományos eredmények elérését.

BEVEZETÉS

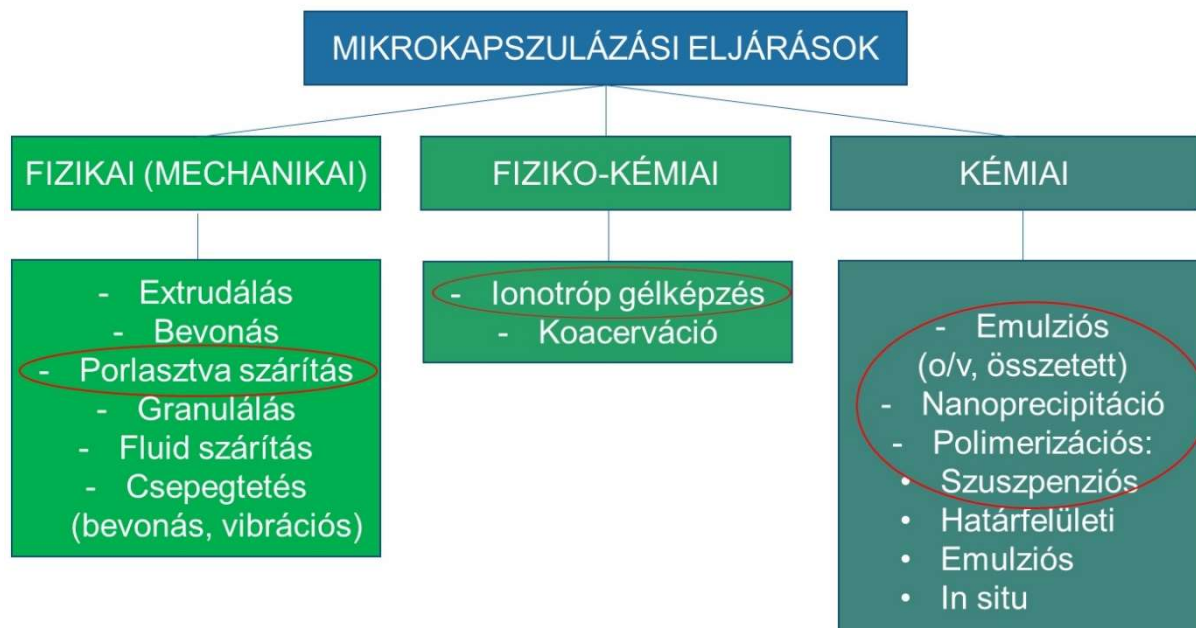
A mikrokapszulázást szilárd, folyékony vagy gáznemű anyagok kis részecskékké alakításaként definiálhatjuk hordozó és/vagy segédanyagok alkalmazásával vagy azok nélkül. A mikrokapszulázás célja lehet a mikrokapszulázandó anyag védelme, a környezettől való elkülönítése és számos alkalmazás esetében az aktív vegyület késleltetett, szabályozott és/vagy célzott felszabadítása a kapszulázó anyag szerkezete, fizikai és/vagy kémiai átalakulása vagy külső hatás (pH, hő, mechanikai hatás) révén [1]. Amíg a mikrokapszulázás néhány évtizede elsősorban a 1-1000 μm mérettartományú szemcsék létrehozásával és vizsgálatával foglalkozott, az utóbbi időben a technológiai fejlődés következtében és az elérhető előnyök érdekében a szubmikron méretű szemcsék is az érdeklődés középpontjába kerültek. Megjegyzem még, hogy a nanoméretű részecskék előállítása kapcsán a nanokapszulázás fogalma is szűkebb körben elterjedt, azonban mivel a mikrokapszulázás széles körben elfogadott definíciója a nanorészecskék és mikrorészecskék előállítását is magában foglalja, ezért a dolgozatomban a nanokapszulázás kifejezést szándékosan nem használom.

A mikrokapszulázás előnyeit számos iparágban élvezik. Az **1. ábrán** feltüntetett iparterületek közül a bordó színnel jelölt témákhoz kapcsolódó kutatásokkal is foglalkoztam az elmúlt két évtized során. Mindazonáltal az egészségiparhoz kapcsolódó gyógyszerhatóanyagok formulálásában és a látens hő tárolására szolgáló fázisváltó anyagok mikrokapszulázásában alaposabb jártasságra tettem szert.



1. ábra: A mikrokapszulázást hasznosító iparágak.

A mikrokapszulázási eljárások fizikai, fiziko-kémiai és kémiai eljárások szerint csoportosíthatjuk (**2. ábra**), ugyanakkor ezek egymástól nem mindig választhatók el élesen, hiszen példának okáért egy fizikai eljárás során is felléphetnek kémiai reakciók, melyek a kialakuló részecskerendszer tulajdonságait nagymértékben meghatározzák. Jelen dolgozatban a **2. ábrán** bekarikázott eljárásokkal behatóan foglalkoztam. Az ábrán bemutatott eljárások túlnyomó része mind a gyógyszerhatóanyagok, mind a fázisváltó anyagok mikrokapszulázására alkalmazható. Az általunk vizsgált módszerek között is előfordul olyan, amit mind a két területen alkalmaztunk.



2. ábra: Mikrokapuzulázási eljárások csoportosítása.

A mikrokapuzulázás eredményeképpen létrejövő részecskék elvart tulajdonságai természetsszerűleg alkalmazásfüggők. A gyógyszer technológiában, az illatanyagok, növényvédőszerék vagy műtrágyák mikrokapuzulázása esetében általában a szabályozott hatóanyag-leadás a cél, míg pl. a festékek öngyógyító mikrokapuzulái esetében az aktív komponens mechanikai behatásra azonnal bekövetkező felszabadítása a kívánatos. A fázisváltó hőtároló anyagok esetében ezzel szemben a tökéletesen záró és a külső hatásoknak leginkább ellenálló héj tekinthető ideálisnak. Számos területen hasznosíthatók az aktív komponens különböző külső hatásokra (pl. hőmérséklet, pH, mechanikai) felszabadító mikro- és nanorészecskék.

A mikrokapuzulázás során létrejövő részecskéket mag-héj, többmagvú vagy matrix szerkezettel jellemezhetjük [1]. Az első esetben az aktív komponens egy magban különül el, melyet egy pórusos vagy jól záró héj vesz körül a felhasználás függvényében. A többmagvú részecskék esetében a hatóanyag több kisebb szemcséje elszórtan helyezkedik el a kapuzulázó anyagban diszpergálva. A matrix szerkezet a hatóanyag és a kapuzulázó vegyületek többékevésbé homogén fizikai keverékét jelenti. A matrix szerkezet definíciójába azonban az is belefér, hogy az adott előállítási módszerek esetében, ha a részecskéképzés során pl. diffúzió útján az aktív anyag a részecskékből a folytonos fázis felé vándorol, a végeredmény egy koncentráció gradiens lesz a kapuzulák felülete felé, ahol fel is dúsulhat a vegyület, és a felületen adszorpcióval kötött kapuzulázandó anyag a teljes mikrokapuzulázott vegyület 50 %-át is meghaladhatja. Ez bizonyos alkalmazásokban akár előnyös is lehet, mivel a felületen adszorbeált frakció könnyen lemosható, és ezzel egy kívánt koncentrációszint elérhető, amit annak fogyása esetén a lassabban kioldódó, a mátrixban diszpergált aktív anyag egy nyújtott/szabályozott felszabadítás során pótolhat.

Etimológiai érdekességként megemlítem, hogy mivel a mikrokapuzulázás eljárásába a szakirodalom szerint beleértendő mind a 3 előbb említett részecskecsoprot, ezért a nem mag-

héj szerkezetű részecskéket is gyakran – véleményem szerint helyesen – mikro/nanokapszuláknak aposztrofálják. Ezzel kapcsolatban azonban nincs teljes egyetértés a kutatói társadalomban, és előfordul, hogy ezt a nevezéktant a bírálók kifogásolják a tudományos művekben.

A kapszulázó vegyületek lehetnek biológiai eredetűek vagy szintetikusak, és mindkettő csoportban vannak biológiailag lebontható és nem biodegradábilis vegyületek. A biológiai eredetű anyagok mellett gyakori érv a kisebb környezeti hatásuk, míg a szintetikus polimerek előállítása általában kétségtelenül kisebb költségű és könnyebben reprodukálható. A költséghatékonyságot szem előtt tartva a kapszulázó anyagok és a mikrokapszulák előállításának energiaigénye is kiemelt szempont. Szerves, szervetlen illetve mind a két csoportból legalább egy-egy elemet vagy vegyületet tartalmazó ún. hibrid mikrokapszulázó anyagokat is előszeretettel alkalmaznak az adott célnak megfelelően. A részecskerendszerek tartósságának igényét nem könnyű összeegyeztetni az egyre inkább előtérbe kerülő környezetvédelmi szempontokkal, melyek szerint a használatuk utáni negatív környezeti hatásuk, a keletkező hulladék és (mikro)műanyag szennyeződés elkerülendő.

A dolgozatomban vizsgált két alkalmazási terület bár egymástól merőben eltérő céllal állít elő mikro- és nanorészecskéket, azonban számos közös jellegzetesség köti azokat össze. Egyfelől mindkét esetben az általunk alkalmazott előállítási módszerek között szerepeltek az emulzió - oldószer elpárologtatás különböző módszerei. Másrészt mind a gyógyszerhatóanyagok, mind a fázisváltó hőtároló anyagok kapszulázó anyagaként nagyjából szintetikus polimereket alkalmaztunk. Kiemelem még, hogy az előbb említett közös vonásokhoz kapcsolódóan az előállított részecskerendszerek fiziko-kémiai vizsgálatai is kapcsot jelentenek a két szakterület között, hiszen a méretet, morfológiát, összetételt és a termikus tulajdonságokat általában ugyanazokkal a technikákkal elemeztük a felhasználási céltól függetlenül.

I. GYÓGYSZERMOLEKULÁK MIKROKAPSZULÁZÁSA

I.1. Gyógyszermolekulák mikrokapszulázásának bevezetése és célkitűzései

Biológiailag lebontható és biokompatibilis polimerekkel elsősorban egyszerű vagy összetett emulzió - oldószer elpárologtatás (kisebb részben nanoprecipitáció) módszerével parenterális alkalmazásra egyfelől fehérje típusú hatóanyagokat, másfelől kemoterapeutikumot tartalmazó nanorészecskéket állítottunk elő. Időrendben visszatekintve a kezdetektől a szakirodalomból jól ismert, az Egyesült Államok Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hivatala (FDA) által elfogadott és hasonló célra gyakran alkalmazott mikrokapszulázó anyagok, a poli(tejsav-glikolsav) (PLGA) kopolimerek vizsgálata képezte kutatásaink elsődleges tárgyát. Később ezek mellett a tudományos együttműködő partnereink által szintetizált, új típusú hordozó polimerek alkalmazhatóságát is tanulmányoztuk.

A porlasztva szárítás sokrétűen felhasználható eljárás gyógyszermolekulák különböző por alakú formulációinak előállítására, melyek alkalmasak stabil formában eltartható, megfelelő kioldódási profillal rendelkező szilárd vagy félszilárd beviteli formák kialakítására. A porlasztva szárítás alkalmazásával oldatokból vagy szuszpenziókból állítottunk elő mikrokapszulázott termékeket. A metronidazol oldatból történő porlasztva szárítása esetében a cél az volt, hogy megismerjük a műveleti paraméterek és az összetétel-változók hatását a porlasztva szárítással előállított szubmikron vagy mikrométer mérettartományú metronidazol-polimer szilárd diszperziók szerkezetére. A porlasztva szárítást metronidazol nanoszuszpenziójának stabilizálására is alkalmaztuk. A levocetirizin-dihidroklorid antihisztamin hatóanyaggal végzett kísérletek során a jelenleg forgalomban lévő orális (tabletta és csepp) formák helyett nazális és dermális alkalmazásra szánt termékek előállítását tűztük ki célul a dózis és a mellékhatások csökkentése érdekében. Valsartan vérnyomáscsökkentő hatóanyagból polimer hordozókkal létrehozott nanoszuszpenzióból porlasztva szárítással orálisan alkalmazható jól kezelhető porformátumot hoztunk létre.

A szemrevételezésen túl, ahol a nyilvánvalóan sikertelen (pl. hatalmas aggregátumokat tartalmazó) mintákat azonnal ki lehet szűrni, a szemcseméret eloszlás meghatározására a nanorészecskék esetében a foton korrelációs spektroszkópiát, míg a mikrorészecskék esetében a lézer diffrakció elvén alapuló vizsgálatot alkalmaztuk. Az említett módszereken túl, a méret és a morfológia képalkotó vizsgálatára alkalmas elektronmikroszkópos technikákat is segítségül hívtuk. Nanoszemcséknél a zéta potenciál elemzés az esetleges elektrosztatikus stabilizálásról ad információt. A hatóanyag-tartalom meghatározása esetünkben UV-vis spektrofotometria, illetve HPLC technikákkal történt, ami a méret követelményekkel együtt már leszűkítette a további vizsgálatoknak alávetendő minták számát. A részecskeméretet tekintve a nanorészecskék esetében a <220 nm mérettartományba eső részecskék szűréssel sterilizálhatók és a parenterális alkalmazásra a leginkább megfelelőek (lásd még I.2. fejezet). A szakirodalomban is leginkább elterjedt polidiszperzitás index (PDI) <0,2 értékével jellemezhető részecskéket tekintettük monodiszperz méreteloszlásúnak.

A magas kapszulázási hatékonyság és hatóanyag-tartalom szintén peremfeltételként fogalmazódott meg, melyeknek a célértéke nagyban függött a hatóanyag anyagi értékétől is. Példának okáért amíg a nagy költségű hatóanyagok, mint pl. az interferonok vagy az

idegnövekedési faktor esetén a 90% feletti kapszulázási hatékonyságot tekintettük elfogadhatónak, addig egy olcsó hatóanyagnál, mint pl. a metronidazol, a kapszulázási hatékonyság másodlagos jelentőségű, amennyiben a mikrokapszulázással olyan járulékos előnyöket biztosítunk, ami a gyógyszer biohasznosulását és/vagy hatékonyságát többszörösére növeli. Természetesen az olcsóbb hatóanyagok esetén is törekedtünk a lehető legnagyobb kapszulázási hatékonyság elérésére, hiszen egy gyógyszerformulálási eljárás esetén gondolni kell arra is, hogy a folyamat során a melléktermék veszélyes hulladék lesz. Az előállított részecskékben a lehető legnagyobb hatóanyag-tartalom elérése szintén a céljaink között szerepelt, ugyanis a biokompatibilis hordozóanyagok használatának dacára, főképp a kemoterapeutikum hordozó rendszereinkhez tervezett parenterális beviteli úton, egy későbbi termékfejlesztési fázisban nyilvánvalóan (elsősorban toxicitási) problémát okozhat a túl nagy mennyiségű ballasztanyag alkalmazása.

Az említett tesztekben legjobb tulajdonságokkal bíró részecskék hatóanyag-felszabadítását *in vitro* vizsgálatokban követtük. A porlasztva szárítás technikájával létrehozott hatóanyag-hordozó mikrorészecskék szerkezetét rendszerint differenciál pásztázó kalorimetriával és röntgen diffrakcióval is kutattuk. Kémiai laboratóriumainkban és az intézeteinkben elérhető technikákon túl egyes előállított rendszereinket az együttműködő partnereink segítségével *ex vivo* és/vagy *in vivo* állatkísérletekben is teszteltük.

I.2. Irodalmi áttekintés a gyógyszerhordozó polimer nano- és mikrorészecskékre

I.2.1. Gyógyszermolekulák mikrokapszulázása biokompatibilis polimerekkel

A nanomedicina a gyógyszeripar egyik kiemelkedően fejlődő ága, amely nanoméretű anyagok egészségügyi- és orvosi alkalmazásaiként definiálható. Ennek egyik fontos területe a szabályozott és célzott hatóanyag-leadás, mely lehetőséget kínál kifinomult célzási stratégiák és a multifunkcionalitás megvalósítására [2]. Az értékes terápiás szerek felhasználásának hatékonysága jelentősen növelhető olyan termékek kifejlesztésével, melyeknek alkalmazása során a megfelelő hatóanyag a szervezetben a szükséges koncentrációban és ideig fejt ki hatását ideális esetben a célzott helyen. A szabályozott hatóanyag-leadás megvalósítása esetén a hatóanyag dózist és annak gyakoriságát jelentősen lehetne csökkenteni, ami a mellékhatások és a toxicitás mérséklése mellett a betegek kényelemérzetét, mindezek eredményeként az életminőségét is javítaná. A polimer nanorészecskék a nagy fajlagos felületű szabályozott hatóanyag-leadásra alkalmas szerkezetek egyik csoportja. Megjegyzendő, hogy bár a nanorészecskék kifejezés eredeti kolloidikai definíció szerint 100 nm-nél kisebb szemcséket jelöl, a mikrokapszulázás területén széles körben elfogadottan használják az 1 µm-nél kisebb mérettartományba eső részecskék elnevezésére. Bár a Nemzetközi Elméleti és Alkalmazott Kémiai Szövetség (IUPAC) definíciója is az 1–100 nm méretet jelöli meg elsődlegesen, azonban a nanorészecskék definíciójára vonatkozó 3. megjegyzés 500 nm-ig terjeszti ki a halmaz felső határát [3], abban az esetben, ha a nanomérettel járó tulajdonságok megjelennek az említett méretű anyagok esetében is. Emellett megjegyzem, hogy az általunk előállított polimer nanorészecskék dinamikus fényszórás módszerével mért hidrodinamikai átmérője rendre számottevően nagyobbak bizonyult, mint az elektronmikroszkóppal tapasztalt méret. Utóbbi alapján a legtöbb általunk előállított gyógyszerhordozó rendszer esetében (leszámítva a porlasztva szárítással létrehozott mikrorészecskéket) megállapítható, hogy a szemcsék több mint 50%-a 100 nm-nél kisebb átmérőjű, ezért ezek esetében helyesnek tartottam a nanorészecske elnevezést.

A biokompatibilis és biológiailag lebontható polimerek fő előnyös tulajdonságai a változatos előállítási és funkcionálizálási lehetőségek, a szerkezet és a fiziko-kémiai tulajdonságok nagymértékű változtathatósága, a biokompatibilitás és a hatóanyag-védő funkció. A polimerek önmagukban vagy a hozzájuk kötődő csoportok révén is elláthatnak célzó szerepet. A biológiailag lebontható polimerek a szervezeten belül a természetes metabolizmus során nem toxikus alkotókra bomlanak le, esetleg minimális mellékhatást okoznak [4]. A polimer nanorészecskékhez a hatóanyagot fizikai adszorpcióval vagy kémiai kovalens kötéssel lehet rögzíteni, továbbá az a hordozó polimerrel molekuláris keveréket alkothat.

A polimer nanorészecskékkel szemben támasztott legfontosabb követelmények a megfelelő részecskeméret, a kívánt felületi tulajdonságok, mint a töltés, hidrofíl-hidrofób karakter és a felszíni funkciók csoportok. Ezek a tulajdonságok kiemelt szerepet játszanak a hatóanyagok kapszulázási hatékonyságában és azok megfelelő sebességű leadásában, bár az utóbbi esetén az élő szervezet sajátosságai legalább ilyen meghatározóak. A polimer nanorészecskék alkalmazása bármelyik beviteli úton keresztül hasznos lehet, kiemelt szerepet játszanak azonban a parenterális hatóanyag-adagolási módszerek. Ezek esetében a

részecskeméret kulcsfontosságú, ugyanis 10 nm alatt a vese [5], míg 300 nm fölött a retikuloendoteliális rendszer [6] hamar eltávolítja a részecskéket a véráramból. A megfelelő részecskék képesek a véráramban ülepedés és gátképzés nélkül eljutni a célszervhez, illetve behatolni a szövetekbe.

A nyújtott hatóanyag-leadás mechanizmusa lehet egyszerű diffúziós gátlás adszorpción keresztül, egyensúlyi szabályozott kioldódás, vagy a hordozó mátrix szabályozott kémiai vagy biológiai bomlása [7]. A polimer nanorészecskék jellemzően három lépcsős hatóanyag kioldódási profillal jellemezhetők: kezdeti gyors kioldódás (angol kifejezéssel 'burst'), ezt követően a polimer degradáció, majd a végső szakaszban lassú diffúziós leadás következik be. Az ezt jól leíró Korsmeyer-Peppas kinetikai modellt [8] Lucero-Acuna és mtsai [9] fejlesztették tovább.

A polimer nanorészecskékkel történő célzott hatóanyag-leadás történhet passzív vagy aktív módon. A passzív célzásnak elsősorban a rákos szövetek esetén van jelentősége, melyekben a fokozott vaszkularizáció és a vastagabb hajszálérfalak miatt a nanorészecskék felvétele nagyobb lehet, bár ennek a mechanizmusnak (szakirodalmi elnevezése: fokozott permeabilitás és retenciós hatás) a hatékonyságát bizonyos esetekben megkérdőjelezzik [10]. Az aktív célzás során olyan molekulákat, pl. ligandumokat, antitesteket vagy sejtek penetrációját fokozó peptideket kapcsolnak a nanorészecskékhez, melyek a célsejtek felszíni receptoraival vagy egyéb felületi molekuláival kapcsolatba lépve szelektíven képesek a nanorészecskék célba juttatására. Egyes polimerek a környezeti paraméterek, mint pl. pH, hőmérséklet, kémiai ágensek, ionerősség, mechanikai stressz, elektromágneses sugárzás és elektromos tér hatására érzékenyek, így alkalmazásuk szabályozható vagy célzott hatóanyag-leadást tesz lehetővé [11].

Az utóbbi két évtizedben a különböző mikrokapszulázási eljárásokat széles körben vizsgálták a szabályozott és célzott hatóanyag-leadású nanoszerkezetek, ezek között a polimer nanorészecskék előállítására. A legismertebb előállítási eljárások az emulziós technikák, nanoprecipitáció, koacerváció/fázisszeparáció, antiszolvens precipitáció, polimerizáció, porlasztva szárítás, nanoörlés, elektrosztatikus szálhúzás és fagyasztva granulálás. Az emulziós és nanoprecipitációs eljárások esetén kulcsfontosságú szerepe van az emulgeátoroknak. A sztérikus stabilizálás (vagy polimer stabilizálás) nem elektrolit érzékeny és a polimer nanorészecskéknél gyakran alkalmazzák, amennyiben azok elektrosztatikusan nem stabilizálhatók. A nanorészecskék felületére adszorbeálódott polimer réteg diffúziós gátat alkot a részecskék aggregálásával szemben [12]. Polimer nanorészecskék esetében a sztérikus stabilizálás egyik elterjedt módja a polietilén-glikol (PEG) alkalmazása. Amint a nanorészecskék a véráramba kerülnek, a vérszérum fehérjéi hamar adszorbeálódnak a hidrofób polimer nanorészecskék felületén. Ezt a folyamatot opszonizációnak hívjuk, melynek eredményeképp a retikuloendoteliális rendszer makrofágjai az idegen anyagot gyorsan felismerik és eltávolítják. Hidrofil molekulák, mint a PEG vagy a poloxamerek (PEG és polipropilén-oxid kopolimerei) a nanorészecskék felületéhez kapcsolva hatékonyan gátolják a fehérje adszorpciót és így megnövelik a vérben a tartózkodási időt.

1.2.2. Fehérje és peptid típusú hatóanyagok és mikrokapszulázási előzményeik

1.2.2.1. Interferon-alfa

A fehérje alapú terápiás szerek jelentős szerepet játszanak a világméretű problémát jelentő betegségek, mint pl. a rák vagy vírusfertőzések leküzdésében. Számos fehérje típusú hatóanyag nagy értékű, továbbá a külső környezeti hatásokra nagyon érzékeny vegyület. Az emberi interferonok a citokinek csoportjába tartozó, az immunrendszer által kiválasztott védő fehérjék, melyek antivirális, antitumor és immunstimuláló hatással rendelkeznek. Az IFN- α vírusos megbetegedések kezelésében játszott aktív szerepét széleskörűen bizonyították [13]. Az interferon vírus infekció és rákos sejtburjánzás ellen alapvető sejtvédő mechanizmusokat aktivál, melyek által nélkülözhetetlenül fontos védelmet biztosít az állati és emberi szervezetben. Kiterjedt klinikai vizsgálatok is megerősítették az IFN- α hatékonyságát különböző vírusos megbetegedések és immun rendellenességek esetén [14], sőt mi több az interferon készítmények alkalmazása bizonyult a leghatékonyabb gyógymódnak a hepatitisz egyes fajtáinak legyőzésében a 2000-es évek elejéig [15].

Az interferon kúrában általában genetikailag módosított baktériumokkal vagy élesztősejtekkel termeltetett rekombináns IFN- α -t alkalmaznak, mivel sokkal könnyebben és olcsóbban állítható elő, mint a természetes emberi IFN- α . Mivel a rekombináns interferon szerkezete eltér a természetesétől, az emberi szervezetben antitest képződést vált ki, és ezen okból kifolyólag a terápia 15-20%-ban kudarcot vall. Továbbá számos mellékhatás jelentkezik az interferon nem specifikus hatásai következtében, mint pl. magas láz, hajhullás, fáradékonyság és immunválasz, melyek minden injekció után felerősödve jelentkeznek [16]. A természetes interferont emberi vérből nyerik ki egy fehérjekeverék formájában, melyben az interferon stabilitásának hatékonyabb megőrzése érdekében egyéb plazmafehérjék - túlnyomórészt humán szérum albumin (HSA) - is jelen vannak. Ez volt az elsődleges oka annak, hogy a vizsgálatainkban az interferon mikrokapszulázása esetén HSA-t, illetve az ahhoz nagyon hasonló szerkezetű marha szérum albumint (BSA) választottuk modellanyagként.

A fehérjék és peptidek mikrokapszulázása szempontjából kiemelt jelentőségű, hogy azok általában vízben kiválóan oldódó molekulák. A dolgozatomban vizsgálat tárgyát képező vegyületekre ez minden esetben igaz volt. Vízben nem oldható polimerekkel a mikrokapszulázásukra az összetett emulzió – oldószer elpárologtatás/diffúzió módszerei a leggyakrabban alkalmazott eljárások. Emellett szóba jöhető technikák a pórusos hordozóra való adszorpció vagy a szintén nagy fajlagos felületű részecskékhez való kovalens kötés. IFN- α mikrokapszulázásával korábban már számos csoport foglalkozott. Egyik eredeti, legtöbbet hivatkozott mű ebben a vonatkozásban Sanchez és mtsai munkája [17], akik a fehérjét poloxamer és HSA jelenlétében összetett emulziós módszerrel mikrokapszulázták, emellett másik interferon hordozó rendszerként PLGA-poloxamer mikrorészecskéket olaj-az-olajban oldószer extrakciós módszerrel állítottak elő. Egy másik megközelítésben az összetett emulziós eljárással létrehozott IFN- α -t tartalmazó kationos PLGA nanorészecskék felületére célzó ágensként hepatitis B felületi antigént adszorbeáltak [18]. A PLGA-n kívül polikaprolakton mikrorészecskéket [19], lipid-bázisú nanoszerkezeteket [20] és lipiddel borított aquaszómákat [21] is vizsgáltak humán IFN- α szabályozott hatóanyag-felszabadítása céljából.

1.2.2.2. *Interferon-béta*

A szklerózis multiplex krónikus, a központi idegrendszer autoimmun betegsége, mely környezeti patogénnel sújtott genetikailag hajlamos egyéneknél fordulhat elő [22]. Az FDA által engedélyezett terápiás szerek közül 4 féle kezelés interferon-béta (IFN- β) alapú, a szklerózis multiplex remissziós formájában hatékony, viszonylag enyhe mellékhatásai miatt hosszabb távon is adható. Az IFN- β jótékony hatásának pontos mechanizmusa nem teljesen ismert, de elsősorban az immunmoduláló képességével hozzák összefüggésbe. Az immuntoleranciáról szupresszor és szabályozó T-sejtek gondoskodnak. A szklerózis multiplexben szenvedő betegek szervezete nem vagy kevés gyulladáscsökkentő citokint választ ki. Ezért az egyik alapvető stratégia a gyulladással járó betegségek (mint a szklerózis multiplex) kezelésére az egyensúly eltolása a gyulladáscsökkentő citokinek (pl. IFN- β) felé [23].

Az interferonok terápiás hatékonysága meglehetősen alacsony, ugyanis a kívülről bejuttatott interferont a szervezet immunrendszere hamar idegen anyagként azonosítja, és gyorsan eltávolítja a véráramból. Annak érdekében, hogy az aktív hatóanyag a terápiás hatását kifejtsen, gyakori és erős dózisú bevitel szükséges [24]. A szakirodalomban szklerózis multiplex kezelésére szabályozott hatóanyag-leadású készítmények fejlesztésével foglalkozó munkák nagyon kis számban lelhetők fel. Cappellano és munkatársai [25] PLGA polimer és mielin oligodendrocita glikoprotein autoantigénjével (MOG35-55), illetve rekombináns interleukin-10 citokin hatóanyagokkal képeztek készített hatóanyag-leadású szubmikronos részecskéket. Ez a munka megmutatta, hogy a PLGA alapú szubkután reverz vakcinázás hatékony lehet autoimmun betegségek kezelésében.

IFN- β multiplex szklerózis kezelése céljából alkalmazott szabályozott hatóanyag-leadású készítményt Kondiah és munkatársai [26] fejlesztettek, akik trimetil-kitozán, polietilén-glikoldimetakrilát és metakrilsav szabad gyökös szuszpenziós polimerizációjával állítottak elő pH-érzékeny mikrorészecskéket IFN- β szájon át történő bevitelére. Az IFN- β szabályozott hatóanyag-leadását bemutató csekély számú művek közül a legígéretesebb eredményeket egy közelmúltban megjelent publikációban közölték [27]. Az IFN- β -t kitozán-szulfobutiléter- β -ciklodextrinből készült nanorészecskébe foglalták, és intranazális úton egér tesztállatokban vizsgálták a hatását. Biodisztribúciós vizsgálatban a nanorészecskék inhalálása után rövid időn belül magas koncentrációt értek el az agyban, továbbá a klinikai tünetek jelentős javulását detektálták szemben a hatástalannak talált szabad IFN- β -val.

1.2.2.3. *Idegnövekedési faktor*

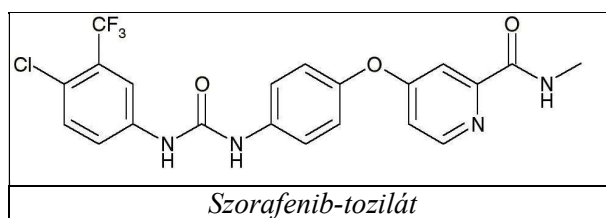
Az idegnövekedési faktor (NGF) a legfontosabb neuropeptid a neuronok növekedésének és differenciálódásának szabályozásában. Napjainkban világszinten a sztrók az elhalálozások hozzávetőleg 9%-áért felelős [28]. A neurotróf vegyületek, köztük a NGF az agykárosodások kezelésében igazoltan hatékonyak, és nagy szerepet játszanak az iszkémiás sztrók után a sejtek túlélésében [29]. A sztrók-kezelésben rejlő hatalmas potenciál legnagyobb gátja az, hogy a mesterségesen bejuttatott NGF nem képes a vér-agy gáton (BBB) átjutni, azaz a terápiás alkalmazása idegsebészeti beavatkozás függvénye. A BBB-t agyi endoteliális sejtek alkotják, melyek transzport fehérjék polarizált expresszióján keresztül jól célozhatók pl. transzferrin,

inzulin vagy apolipoprotein (Apo) célzó molekulákkal. Poli-butyl-cianoakrilát nanorészecskék felületét poliszorbát 80 felületaktív anyaggal módosítva az NGF-et Alzheimer-kór állati modelljében nagy hatékonysággal a központi idegrendszerbe juttatták [30]. A poliszorbát 80 ebben az esetben a vérben található ApoA1, ApoB és ApoE adszorpciója révén képes a nanorészecskéket a BBB-n átjuttatni. Szintén Kreuter és mtsai *in vivo* vizsgálatokkal is igazolták, hogy az ApoE-konjugált HSA nanorészecskék felvétele aktív endocitózissal történik az alacsony sűrűségű lipoprotein receptoron keresztül [31].

1.2.2.4. Kemoterapeutikumok mikrokapszulázása

A rákos megbetegedések kezelése az orvostudomány számára nagy kihívást jelent. A kemoterápiában alkalmazott citosztatikumok nem szelektív sejtmérgek, így az egészséges sejtek pusztítása révén fellépő mellékhatásaik jelentősek. A szabályozott és célzott hatóanyag-leadás ezeknél az anyagoknál kiemelt jelentőséggel bír.

A hepatocelluláris karcinóma (HCC) a globális halálozási statisztikákban a rákos megbetegedések között a 3. helyen szerepel [32]. A szorafenib-tozilát (a továbbiakban szorafenib, **3. ábra**) az egyetlen olyan hatóanyag, amely az előrehaladott HCC esetén képes meghosszabbítani a betegek életét. Ugyanakkor a hatóanyag nagyon erős toxicitása súlyos mellékhatásokhoz vezethet. A Biofarmáciai Osztályozási Rendszer (Biopharmaceutical Classification System) a szorafenibet a II. osztályba sorolja, ami nagy permeabilitást, csekély vízdoldhatóságot és következésképpen alacsony biológiai hozzáférhetőséget (8,4%) jelent, így az alkalmazott dózisa nagyon magas [33]. Az oldhatóság és az orális gyógyszerek kioldódási sebessége kritikus mértékben befolyásolják a biológiai hozzáférhetőségüket. Számos tanulmányban szervesen nanorészecskékhez kötve, szolvát burokból, nanokomplexekben, sóformákban, nanokristályokban vagy liposzómákban növelik az oldhatóságát és biológiai hozzáférhetőségét [34]. Az elhanyagolható mértékű vízdoldhatósága kedvez a vízben oldhatatlan polimer hordozóanyagokkal történő mikrokapszulázásának emulziós vagy nanoprecipitációs módszerrel, ugyanis az affinitás lényegesen erősebb a hidrofób karakterű polimerekhez, mint a vizes fázishoz, még ha az a hatóanyag oldhatóságát növelő emulgeátort is tartalmaz. A szorafenib számos alapvető oldószer közül a ketonokban bizonyult a legjobban oldhatónak [35]. Analitikai szempontból fontos még, hogy UV-ban van elnyelése, etanolban 268 nm abszorbancia maximummal.



3. ábra: A szorafenib szerkezete.

A polimer nanorészecskék alkalmasak lehetnek a kemoterapeutikumok biológiai hasznosulásának növelésére, a késleltetett hatóanyag-leadásra és célzó szerepet is kaphatnak. A polimer nanorészecskék egyik gyakori hátrányos tulajdonsága az alacsony hatóanyag-tartalom. Például olaj-a-vízben (o/v) emulzió - oldószer elpárologtatás módszerével 1,4% (m/m) szorafenib-tartalmat értek el PLGA kapszulázó polimerrel [36]. Poli-tejsav-polietilén-

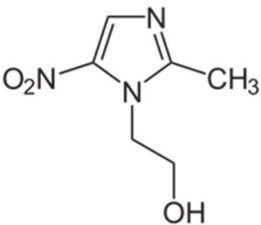
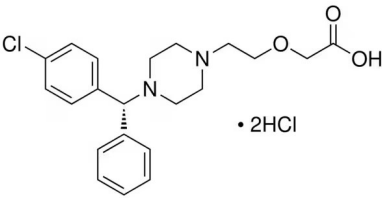
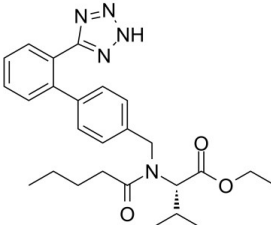
glikol-poli-L-lizin-dietilén-triamin-pentaecetsav és a pH-érzékeny poli-L-hisztidin-polietilén-glikol-biotin polimerek együttes használatával 2,4% (m/m) szorafenib mikrokapszulázása vált lehetővé [37]. Nanoprecipitáció-dialízis módszerrel dextrans és PLGA blokk kopolimerével az előbbieknél nagyobb mennyiségű, 5,3% (m/m) szorafenibet mikrokapszuláltak [38].

A teranosztikus nanoanyagok egyszerre terápiás és diagnosztikus funkciót képesek betölteni. Számos mágneses rezonancia (MRI) kontrasztanyagot alkalmaznak, mint például a vas-oxidok vagy a gadolínium gyorsan ürülő, nem toxikus vegyületeit. A diagnosztizálás során hátrányt jelent a szervezeten belüli rövid felezési idő, továbbá a gyenge specificitás a célzott szövethez. A polimer nanorészecskék ezeknek a nehézségeknek a kiküszöbölésére alkalmasak lehetnek. Dietilén-triamin-pentaecetsav gadolíniummal alkotott komplexével (Gd-DTPA) konjugált HSA nanorészecskék látványosan megnövelték az MRI kontrasztot a tumorban a szabad kontrasztanyaghoz képest *in vivo* állatkísérletekben [39].

Az egyedi domén méretű szuperparamágneses vas-oxid (USPIO) nanorészecskéket számos orvoslási területen – pl. bioszenzor fejlesztés, mágneses rezonancia vizsgálat, bioszeparáció, hipertermia, gyógyszer-leadás és célzott diagnosztika, illetve terápia – lehet alkalmazni [40]. A nanohordozók biológiai eloszlásának nyomonkövetése a klinikai transzlációjuk egyik legfontosabb követelménye. Az USPIO nanorészecskék a mágneses rezonancia képalkotás (MRI) egyik alkalmazható kontrasztanyag csoportja. USPIO nanorészecskéket HSA-ból kicsapással előállított nanorészecskékkel mikrokapszuláltak és bizonyították biokompatibilis karakterüket *in vivo* kísérletekben is [41] [42]. Ezekben a kísérletekben ammónium-cérium(IV)-nitráttal stabilizált USPIO nanorészecskéket alkalmaztak, melyeket Lellouche és mtsai állítottak elő először [43] és használták azokat szabályozott hatóanyag-leadásra [44] [45].

I.2.3. Porlasztva szárítás során alkalmazott hatóanyagok

A metronidazol (2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)etanol) egy széles hatásspektrumú baktericid, mely gyulladáshoz vezető tünetekkel járó betegségek, mint pl. a rosacea ellen használt gyógyszer (**4. ábra**). Jelenleg tabletták, infúzió és kúp formájában is forgalomban lévő anyag. A metronidazol stabil kristályos formában létezik [46], melynek oldata porlasztva szárítással részlegesen amorf terméket eredményezhet [47]. Vízben mérsékelten oldódik (9,2 mg/ml 25 °C-on) [48], így vízoldható polimerekkel híg oldat formájában jól porlasztható. Hagyományos porlasztva szárítással a metronidazol formulálását már számos munkában alkalmazták különböző expozíciós utakra [47] [49].

		
<i>Metronidazol</i>	<i>Levocetirizin-dihidroklorid</i>	<i>Valsartan</i>

4. ábra: A porlasztva szárítással formulált hatóanyagok szerkezete.

A cetirizin-dihidroklorid, (2-[2-[4-[(4-klórfenil)-fenilmetil]piperazin-1-il]etoxi]ecetsav;dihidroklorid) második generációs antihisztamin, a szénanátha és irritatív anyagok (pl. poratka) allergiás tüneteinek enyhítésére használják. A cetirizin kémiaiilag egy királis központot tartalmaz, a gyógyszerként elterjedt formája a levocetirizin (R-(-) cetirizin) (**4. ábra**) és a dextrocetirizin (S-(+) cetirizin) racém keveréke [50]. A racém cetirizin R-enantiomerje a farmakológiailag aktív enantiomer (levocetirizin) [51]. A cetirizin a pH függvényében különböző ionizált állapotban fordul elő, amelyek közül a semleges/ikerionos forma a leginkább lipofil [52]. Az orális antihisztaminokat (tabletta, cseppek) gyakran használják az allergiás tünetek csökkentésére [53]. Az orális bevitelhez kapcsolódó kellemetlen tünetek, pl. gyomorégés, gázok szájon át történő távozása, ízérzékelés változása- vagy vesztese, illetve emésztési zavarok elkerülésének alternatív útjai a nazális vagy topikális készítmények. Vízdoldhatósága kiváló [54], ezért vizes oldatból vízdoldható polimer hordozó anyag jelenlétében jól porlasztva szárítható.

A valsartan (**4. ábra**) vérnyomáscsökkentő gyógyszer, melyet elsősorban szájon át alkalmaznak, bár transzdermális adagolása is ismert [55]. Hidrofób molekula alacsony vízdoldhatósággal, melynek felszívódása a vékonybélben és a vastagbélben történik. A lipofil hatóanyagok felszívódása a gasztrointesztinális traktusban gyenge, így a biológiai hozzáférhetőségük sem kellő mértékű. A kényelmi szempontok miatt mégis a szájon át bevehető tabletták terjedtek el. Mikrokapszulázása vízdoldhatatlan polimerekkel folyadék fázisú rendszerekben néhány publikációban megjelenik [56], azonban az általunk alkalmazott polimerekkel ezt korábban nem vizsgálták, és a mikrokapszulázott nanoszuszpenziójának porlasztva szárítása is újdonság erejével bír.

1.2.4. Polimer hordozó vegyületek

A hatóanyagok mikrokapszulázását számos természetes és még több szintetikus polimerrel vizsgálták a szakirodalomban. A legelterjedtebb természetes eredetű kapszulázó polimerek a zselatin, a HSA, a kitozán, az alginát és a keményítő. A természetes polimerek előnye, hogy amennyiben a szervezetben is előfordulnak, nagyobb eséllyel biokompatibilisek, továbbá biológiailag lebontható anyagok. A mesterséges polimerek esetében viszont a különböző gyártási sarzsok hasonló kémiai összetétele jobban garantálható. A legelterjedtebben kutatott anyagok ebben a csoportban a poli-tejsav (PLA), a PLGA és a PLGA-polietilén-glikol kopolimer (PEG-PLGA). Az említett mesterségesen előállított vegyületek kiemelt vizsgálatának egyik fontos oka az, hogy az FDA engedélyezte a használatukat a kereskedelmi forgalomban, ami jelentős előnyt nyújthat a termékfejlesztés folyamatában.

Az etil-cellulóz (EC) [57] és a poli(metil-metakrilát) (PMMA) [58] ígéretes szintetikus gyógyszerhordozó anyagok szájon át történő alkalmazásra. A HSA a legnagyobb mennyiségű vérplazma fehérje, melyet elsőszeretettel alkalmaznak különböző terápiás szerek, úgy, mint miRNS plazmid [59], kinázok [60] és kemoterapeutikumok [61] hordozó anyagaként.

1.2.5. Alkalmazott mikrokapszulázási eljárások

1.2.5.1. Nanoprecipitáció

Nanorészecskék előállításának könnyen méretnövelhető előállítási módszere a nanoprecipitáció [62]. Az eljárás során a hatóanyagot és a kapszulázó vegyületet jó oldószerükben (pl. vízzel jól elegyedő szerves oldószerben, mint acetone, tetrahidrofurán) oldják fel, és az emulgeátort tartalmazó antiszolvenshez (pl. vizes fázishoz) adják megfelelő homogenizálás mellett. A hatóanyag és a hordozó anyag vízben nem oldódik, így amint a víz aránya a szerves oldószerhez képest oly mértékben megnő, hogy az oldott anyagok oldhatóságát meghaladja, akkor azok kicsapódnak. A nanoprecipitáció akkor tekinthető sikeresnek, ha a létrejövő precipitátumokban a hordozóanyag és a hatóanyag együttesen alkot szemcséket, és nem elkülönülten válik ki.

A deszolvatáció olyan nanoprecipitációs eljárás, mely során a hordozó és hatóanyagok oldószere a víz, melyeket vízzel jól elegyedő szerves oldószerekkel csapnak ki. Fehérjék (pl. HSA és fehérje típusú hatóanyagok) kicsapását vizes oldatukból etanol adagolással lehet kiváltani nanorészecskék létrehozása céljából. A nanorészecskék stabilizálására utólagos kereszt kötést szoktak alkalmazni, pl. glutáraldehid kereszt kötő alkalmazásával [63].

1.2.5.2. Emulzió - oldószer elpárologtatás módszerei

Az emulzió - oldószer elpárologtatás az egyik leggyakrabban alkalmazott módszer gyógyszerhordozó polimer nano- és mikrorészecskék előállítására. Az o/v emulzió - oldószer elpárologtatás technikáját elsősorban hidrofób hatóanyagok mikrokapszulázására használják. Első lépésben a hordozó polimert és a hatóanyagot közös oldószerükkel (vagy oldószer elegyükkal) feloldják, és a keletkező szerves oldatot (olaj fázis) a többnyire emulgeátort is tartalmazó vizes fázisban emulgeálják, majd a szerves oldószer(ek)e)t a stabil emulzióból elpárologtatják a polimer és a hatóanyag kontrollált kicsapódását okozva. A létrejövő részecskék méretét leginkább a stabilizátor koncentrációja és típusa, a polimer és a hatóanyag koncentrációja és a homogenizálás energiája befolyásolja. Szubmikronos részecskeméret ultrahang alkalmazásával vagy egyéb nagy energiájú homogenizálás segítségével érhető el [64].

Hidrofil hatóanyagok, például peptidek, fehérjék és antigének mikrokapszulázásához víz-az-olajban-a-vízben (v/o/v) összetett emulziós technikát lehet alkalmazni [65]. Az eljárás során a polimert szerves oldószerben oldják (olaj fázis), majd kisebb térfogatú vizes fázist (belső vizes fázis) adnak hozzá. A belső vizes fázis tartalmazhatja a hidrofil hatóanyagot. A két fázis homogenizálásával v/o elsődleges emulziót hoznak létre. Ezt az emulziót ezután emulgeálószer tartalmazó nagyobb mennyiségű vizes oldathoz (külső vizes fázis) adják, és újbóli homogenizálással v/o/v emulzió keletkezik. Az oldószert légköri vagy csökkentett nyomáson párologtatással távolítják el. A létrejövő nanorészecskék tulajdonságait a kapszulázó polimer, a hatóanyag és az alkalmazott stabilizátor koncentrációja, valamint a szerves és a külső vizes fázis térfogataránya befolyásolják elsősorban [66].

1.2.5.3. Porlasztva szárítás

A porlasztva szárítási eljárást számos iparágban alkalmazzák a folyadék fázisból szilárd fázisú por termékek létrehozására. A gyógyszeriparban oldatból vagy szuszpenzióból szilárd gyógyszerformulációk készítésére használják. Gyógyszerhatóanyagok és adalékok felhasználásával amorf diszperziók és a hatóanyagot nanokristályos formában tartalmazó kompozitok is előállíthatók [67]. A Büchi Labortechnik AG Nano Spray Dryer B-90 készüléke a hagyományos porlasztó fúvóka helyett piezoelektromos eszköz segítségével ultrahanggal rezegtetett perforált rozsdamentes acél membránon keresztül porlasztja a folyadékot, ezáltal <1 µm méretű szemcsék létrehozására is alkalmas szemben a hagyományos porlasztó szárító készülékkel, mellyel jellemzően >5 µm szemcsék állíthatók elő illetve gyűjthetők össze. Fontos fejlesztés, hogy a hagyományos ciklonnal rossz hatásfokkal begyűjthető <5 µm részecskéket a Nano Spray Dryer B-90 elektrosztatikus kollektora az anód köpeny felületén jó hatékonysággal képes leválasztani [68]. A formulálás során alkalmazott anyagok legfontosabb változói az oldószer és adalékok típusa, a hatóanyag és az adalékok oldhatósága, az oldatok összetétele és koncentrációja, melyek meghatározzák a porlasztandó oldat viszkozitását. A részecskeméret, morfológia, oldószer maradék, szilárd állapot (kristályos és amorf fázis), kapszulázási hatékonyság és a hozam ezekkel a paraméterekkel szabályozható [69]. A szárított termék szerkezete, a stabilitása és a biológiai aktivitása a folyamat körülményeinek és a formulálási változóknak a függvényében változik [70]. A porlasztva szárítási folyamat (szárító gáz tulajdonságai, adagolási sebesség, fúvóka típus) és formulálási paraméterek (segédanyagok, koncentrációviszonyok, viszkozitás, felületi feszültség), továbbá az összetevők megszilárdulási tulajdonságai határozzák meg, hogy a termék amorf, kristályos vagy szilárd diszperzió formáját ölti [71].

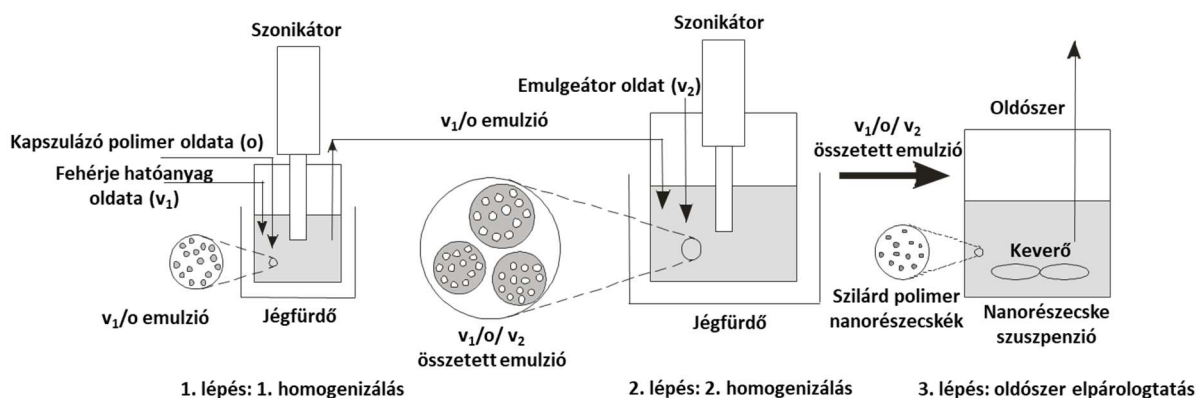
I.3. Gyógyszerhordozó nano- és mikrorészecskék előállítási és vizsgálati módszerei az alkalmazott anyagokkal

A következő kísérleti részben az előállítási és vizsgálati módszerek leírására vállalkoztam, ugyanis minden egyes előállított részecske rendszer esetében változtak az előállítási körülmények, és a pontos receptek megadása rendkívüli módon megnövelné az értekezés terjedelmét, ezért azokhoz hivatkozást nyújtok. A kísérletek leírásánál szándékosan egyes szám első személyt használok azokban az esetekben, amikor azokat egymagam végeztem. Egyéb esetekben többes szám első személyben írom le, illetve megjelölöm, amennyiben valamelyik hazai vagy külföldi partnerünk együttműködés keretében hajtotta végre azokat.

I.3.1. Gyógyszerhordozó nanorészecskék előállítási módszerei

I.3.1.1. Fehérje hatóanyagok mikrokapszulázása

BSA és HSA modell fehérjék, továbbá IFN- α és IFN- β mikrokapszulázására összetett emulzió – oldószer elpárologtatás módszerét alkalmaztuk (5. ábra) [K1-K5]. A fehérjét vízben feloldva a belső vizes fázis (v_1) jött létre. A vizes oldatot a PLGA (Resomer® RG 752H, Resomer® RG 502H, Resomer® RG 504H, Resomer® RG 0254) vagy PEG-PLGA (Resomer® RGP 5050, Resomer® RGP 50106) kapszulázó polimer szerves oldatához adva szonikálással víz-az-olajban (v_1/o) emulzió jön létre. A keletkező emulziót a magas hidrofílipofil egyensúlyi értékű (HLB) polivinil-alkohol (PVA, $M_w = 30000\text{--}70000$ g/mol, hidrolízis arány: 87–90%) emulgeátort tartalmazó külső vizes fázishoz (v_2) adtuk és ismét szonikálással homogenizáltuk. Az így keletkező összetett emulzióból (víz-az-olajban-a-vízben) az oldószert (vagy oldószer elegyet) szobahőmérsékleten 1 bar nyomáson mágneses kevertetés mellett párologtattuk el.



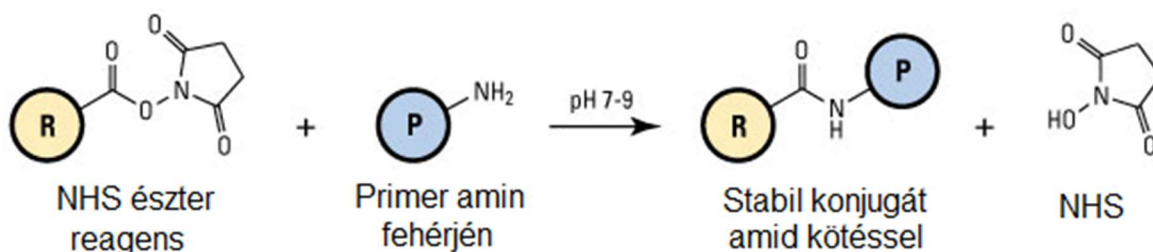
5. ábra: Az összetett emulzió - oldószer elpárologtatás módszerének folyamatábrája.

I.3.1.2. Teranosztikus HSA nanorészecskék előállítása és felületmódosítása

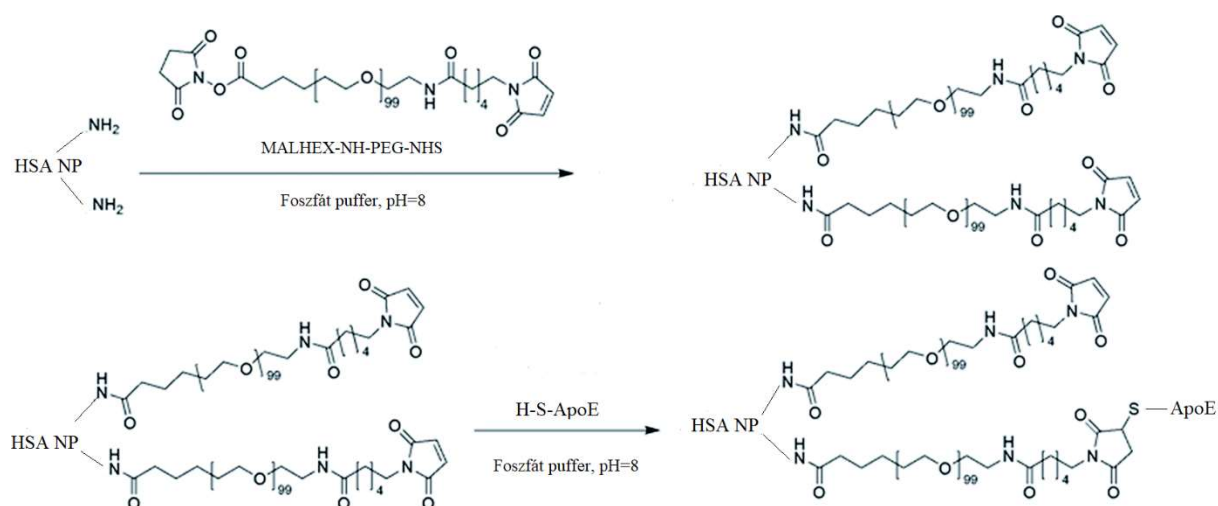
Az NGF hatóanyagot és az ammónium-cérium(IV)-nitráttal stabilizált vas-oxid (CANM) USPIO MRI diagnosztikumot [43] is tartalmazó HSA nanorészecskéket etanollal vizes oldatból deszolvatációval állítottam elő, és a fehérjék aminos csoportjait glutaraldehyddel

keresztkötöttem [K6]. A BBB-n történő penetráció elősegítése érdekében a létrehozott nanorészecskék felületét bifunkciós keresztkötő α -maleimidohexánsav- ω -NHS PEG reagenssel módosítottam az ApoE3 fehérje kapcsolásával. A keresztkötő az N-hidroxiszukcinimid (NHS) észter felőli végén kötődik a fehérje amino csoportjához (6. ábra). Az ApoE3-at Traut reagenssel (2-iminotiolán) tioláltam, és a tiolált ApoE3-at méretkizárásos kromatográfiával tisztítottam. A szulfhidril-reaktív nanorészecskéket a bifunkciós reagens maleimid csoportjához kötöttem (7. ábra) [31]. A köztes és a végső tisztítási lépések is dialízissel történtek, mivel centrifugálással történő elválasztás során az aktivált nanorészecskék nehezen vagy nem diszpergálható aggregátumokat képeztek.

Az *in vitro* kísérletekhez a teranosztikus HSA nanohordozót ATTO-647N fluoreszcens festékkel jelöltem, ami szintén az NHS csoportján keresztül (6. ábra) kapcsolható a fehérje amino csoportjához. Kontrol PEG-gel borított HSA nanorészecskéket szukcinimid-propionsav PEG (mPEGSPA-5000) reagenssel állítottam elő az NHS esetében leírt reakciómechanizmus szerint (6. ábra), ugyanis az említett reagens NHS-sel funkcionizált PEG.



6. ábra: N-hidroxiszukcinimid észter kapcsolása fehérjéhez.



7. ábra: ApoE3 kapcsolása HSA nanorészecskék felületéhez bifunkciós keresztkötő α -maleimidohexánsav- ω -NHS-PEG reagenssel.

I.3.1.3. Szorafenibet tartalmazó polimer nanorészecskék előállítása

Vak (hatóanyagot nem tartalmazó), illetve szorafenibet tartalmazó nanorészecskéket nanoprecipitációval állítottunk elő [K7, K8]. A hordozó polimert és a hatóanyagot vízzel elegyedő szerves oldószerben (aceton, etil-alkohol) oldottuk fel, és a létrehozott szerves fázishoz emulgeátor (poliszorbát 80, poloxamer: Pluronic F68, oktil-fenoxi-polietoxi-etanol: Triton X-100, polimetakrilsav Na-sója [PMAA, $M_w = 9500$]) vizes oldatát adtuk hozzá. A szerves oldószert szobahőmérsékleten 1 bar nyomáson mágneses kevertetés során elpárologtattuk.

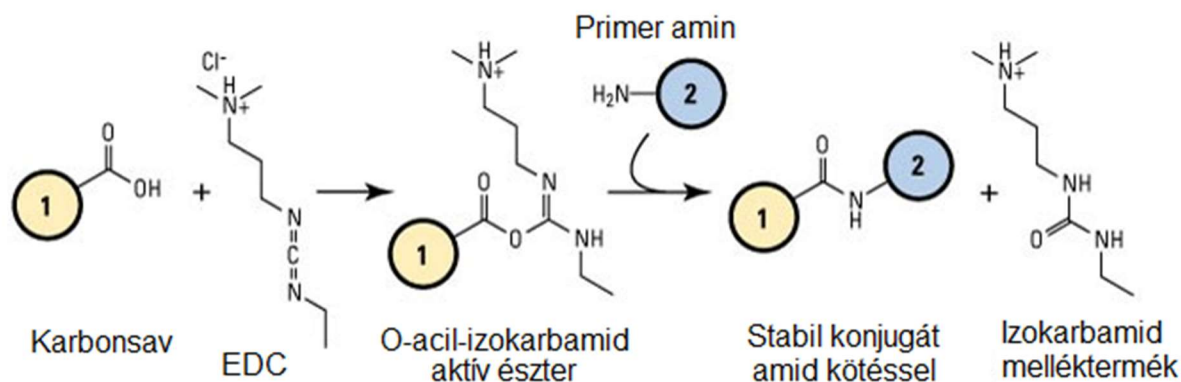
Szorafenib mikrokapszulázására o/v emulzió – oldószer elpárologtatás módszerét is alkalmaztuk [K7, K8]. Ez esetben a hatóanyagot acetonban oldottuk és elegyítettük a diklórmetánban (DCM) feloldott kapszulázó polimerrel. Az így képződő szerves fázist hozzáadtuk az emulgeátort tartalmazó vizes fázishoz és ultrahanggal homogenizáltuk. A szerves oldószereket szobahőmérsékleten 1 bar nyomáson mágneses kevertetés mellett elpárologtattuk.

I.3.1.4. Porlasztva szárítás

A Büchi B-90 porlasztva szárítójával (Büchi Labortechnik AG, Svájc) rendszerint a 7 μm -es perforációjú membrán porlasztófejet alkalmaztuk 30-45% porlasztási aránnyal [K9-K13]. A szuszpenzióból szárított metronidazol és a nazális és dermális alkalmazásra szánt LC tartalmú minták szárítógáz bemeneti hőmérséklete 100 °C, az áramlási sebesség 90 l/perc, a recirkulációs szivattyú teljesítménye 60%. A porlasztva szárító készülék kis viszkozitású oldatokat képes szárítani, ezért a szárított oldat jellemzően 1% (m/m) hatóanyagot és 1% (m/m) adalékanyagot (hidroxipropil-metilcellulóz [HPMC, Methocel E5], polivinil-pirrolidon [PVP, $M_w = 40000$ g/mol], PVA [$M_w = 30000$ – 70000 g/mol, hidrolízis arány: 87–90%]) tartalmazott.

I.3.2. Gd-komplex rögzítése és analízise

Nanoteranosztikum előállítása érdekében az MRI kontraszt anyag Gd-DTPA immobilizálása céljából, a PLGA (Resomer® RG 752H) és PEG-PLGA (Resomer® RGP d5055) nanorészecskék felületéhez HSA-t, majd az amino csoportok felületi koncentrációjának növelése érdekében polietilén-imint rögzítettem EDC-vel történő aktiválás után (**8. ábra**). A reakcióban az EDC a módosítandó karbonsavcsoportokkal aktív O-acil-izokarbamid intermediert képez, amely nukleofil támadás hatására a HSA-n vagy polietilén-iminen jelen lévő primer aminocsoportokról könnyen kiszorítható. A karbonsavhoz kapcsolandó primer amin amidkötést képez a karboxilcsoportokkal, és egy EDC-melléktermék szabadul fel oldható karbamid-származékként. Ezáltal a nanorészecskék felületét primer amino-csoportokkal láttam el, melyekhez a szintén EDC-vel aktivált Gd-DTPA komplex karboxil-csoportjai azok EDC-vel végrehajtott aktiválása után kovalens kötéssel kötődtek (**8. ábra**). Az aktivált nanorészecskéket dialízissel tisztítottam a felesleges reagenstől, mivel centrifugálás alkalmazása esetén jelentős aggregációt tapasztaltam.



8. ábra: Amid kötés létrehozása EDC keresztkötő ágenssel.

A Gd (és Fe) koncentrációt induktív csatolású plazmához csatolt tömegspektrométer (ICP-OES) módszerrel (Spectro Genesis, Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Németország) Dr. May Zoltán (HUN-REN TTK AKI) határozta meg a nanorészecskékben. A Gd *in vitro* MRI-t Magnevist® kontrasztanyaggal végzett kalibráció után 3.0-T scanner (Siemens Magnetom Trio, Siemens Medical Solutions, Erlangen, Németország) készüléssel a Frankfurt University Hospital, Department of Radiotherapy and Oncology (Frankfurt am Main, Németország) laboratóriumában Prof. Franz Rödel csoportjában végezték.

1.3.3. Gyógyszerhordozó nano- és mikrorészecskék fiziko-kémiai vizsgálata

A nanorészecskéket mindegyik előállítási módszer esetén (ultra)centrifugálással ülepítettük és MilliQ vízzel mostuk, és a további vizsgálatoktól függően MilliQ vízben vagy PBS pufferben szuszpendáltuk és tároltuk.

A keletkező nanorészecskék méreteloszlását dinamikus fényszórás/foton korrelációs spektroszkópia (DLS) elvén működő Zetasizer ZS (Malvern Instruments, Malvern, Malvern, UK) készüléssel határoztuk meg. Fontos megjegyezni, hogy a DLS módszerrel hidrodinamikai átmérőt mérünk, ami tapasztalataink szerint polimer nanorészecskék esetében az elektronmikroszkóppal mérhető száraz méretnek akár a kétszerese is lehet. A szemcseméret jellemzésére a térfogat szerinti ($D[4,3]$) és az intenzitás szerinti (Z_{avg}) átlag szemcseméretet, a PdI-t, illetve a térfogat és az intenzitás szerinti méreteloszlásokat használtam. Ugyanezzel a készülékkel vizsgáljuk az előállított részecskék felületi töltését jellemző zéta potenciált, melynek meghatározásához az eszköz a lézer doppler elektroforézis módszerét alkalmazza. A részecskék morfológiájának elemzése Philips XL30 ESEM és FEI Apreo S pásztázó elektronmikroszkópokkal (SEM), FEI Talos F200XG2 pásztázó-transzmissziós elektronmikroszkóppal, illetve FEI Morgagni 268D transzmissziós elektronmikroszkóppal (TEM) történt (mindegyik elektronmikroszkóp forgalmazója: Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA). A porlasztva szárítással előállított mikrorészecskék szemcseméret eloszlását a lézer diffrakció elvén működő Malvern Mastersizer 2000 műszerrel (Malvern Instruments, Malvern, Malvern, UK) határoztuk meg 0,1% (m/m) szójalecitint tartalmazó ciklohexánban SM diszperziós egységgel, 2000 rpm keverési sebességgel.

Termoanalitikai méréseket Setaram LabsysEvo termikus analizátorral (Setaram Instrumentation, Caluire-et-Cuire, Franciaország) végeztünk. Az eredményeket a Calisto

Processing (2.0 verzió, AKTS, Svájc) szoftverrel értékeltük ki. A röntgendiffrakciós (XRD) felvételeket Dr. Kristófné Dr. Makó Éva (Pannon Egyetem) Philips PW 3710 diffraktométerrel (Philips Analytical, Almelo, Hollandia) rögzítette. A készülék vezérlése és az adatgyűjtés a Philips X'Pert Data Collector szoftverrel történt. Az FTIR spektrumokat Varian Scimitar FTS2000 spektrométerrel (Varian Inc., Randolph, MA, USA) rögzítettük, amely folyékony nitrogénnel hűtött MCT detektorral és Pike GladiATR (gyémánt mikro-ATR elem) tartozékkal volt felszerelve.

A nanorészecskék tárolási stabilitását fagyasztva szárítás (Christ Epsilon 2–7 freeze dryer, Martin Christ GmbH, Osterode am Harz, Germany) után vizsgáltam. Lioprotektorként szacharózt, trehalóz-dihidrátot és mannitot alkalmaztam korábbi PLGA fagyasztva szárítási vizsgálatok és a saját tapasztalatainkat figyelembe véve [72]. 6 hónap elteltével a visszadiszpergált nanorészecskék méretét dinamikus fényszórás módszerével elemeztem Zetasizer ZS készülékkel (Malvern Instruments, Malvern, UK).

A teranosztikus nanorészecskék mágnesezettségét Dr. Bernd Wolf szupravezető kvantum interferencia magnetométerrel (SQUID, Quantum Design Inc., San Diego, USA) határozta meg a Goethe University Frankfurt, Department of Physics intézetben (Frankfurt am Main, Németország).

1.3.4. A hatóanyagok kapszulázási hatékonyságának, hatóanyag-tartalmának és hozamának meghatározása

A kapszulázási hatékonyság definíció szerint:

hatóanyag tömeg a nanorészecskékben (mg) / kiindulási hatóanyag tömeg (mg) x 100.

A modell kísérletekben mikrokapszulázott BSA és HSA kapszulázási hatékonyságának meghatározására a nagy érzékenységű mBCA módszert választottuk. A módszer lényege, hogy a Cu^{2+} ionok fehérjék jelenlétében lúgos közegben Cu^{+} ionokká redukálhatók, amelyek [2,2'-bikinolin]-4,4'-dikarbonsav reagenssel élénk lila színreakciót adnak (abszorbancia maximum: 562 nm). Az IFN- α és IFN- β tartalom meghatározását a nanorészecskékben, illetve a hatóanyag-leadási vizsgálatokban a kibocsátott interferon mennyiségének mérésére a specifikusan erre a fehérjére kidolgozott enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálattal végeztük. A módszer szilárd fázison lejátszódó színreakció, amit enzimmel kapcsolt antitest segítségével követtünk nyomon. Az abszorbanciát (max. 450 nm) többcsatornás fotométerrel mértük (Robonik Readwell Touch, Thane, India).

Meghatározott tömegű polimer nanorészecskét dimetil-szulfoxidban oldottunk fel és a szorafenib hatóanyag-tartalmát UV-vis spektrofotometriával (PG Instruments T80, Leicestershire, UK; Shimadzu UV-1800 spectrophotometer, Shimadzu, Kyoto, Japan; ATI Unicam UV4-100, Unicam Instruments Ltd., Cambridge, UK) mértük. Amennyiben a hordozó polimerek vagy egyéb felhasznált vegyszerek (pl. emulgeátorok) spektruma átlapolta a hatóanyagokéval, HPLC-vel (Young Lin YL 9100 HPLC, YL Instruments Co. Ltd., Gyeonggi-do, Korea) módszert fejlesztettünk a hatóanyag-koncentráció méréséhez.

A hatóanyag-tartalom (%) számítására használt képlet:

(hatóanyag tömeg a nanorészecskékben (mg) / keletkező nanorészecskék tömege (mg)) x 100

A gyógyszerhordozó nanorészecskék hozamát mikrogravimetriával analizáltuk azok centrifugálása, mosása és szárítása után.

1.3.5. Hatóanyag-leadási kinetika és farmakokinetika vizsgálata

A leadási kinetika méréséhez a nanorészecskék szuszpenziójából centrifugálással és MilliQ vízzel történő mosással eltávolítottuk a felületaktív anyagot, majd vérplazmában visszadiszpergáltuk azokat. A mintákat forgató (Bio RS-24 mini-Rotator, Biosan, Latvia) vagy rázó keverővel (Thermomixer, Eppendorf, Hamburg, Germany) kevertettük 37 °C-on Na-azid baktericid hozzáadása után, és meghatározott időszakonként mintát vettünk, melyet centrifugálással szeparáltunk, és a nanorészecskék feloldása után, illetve a felülúszóból UV-vis spektrofotometriával vagy HPLC-vel (Young Lin YL 9100 HPLC, YL Instruments Co. Ltd., Gyeonggi-do, Korea) mértük a hatóanyag-tartalmat. HPLC esetén gradiens elúciót alkalmaztunk, a mobil fázis tetrafluor-ecetsav 0,1%-os vizes oldatát és metanolt tartalmazott. Szorafenib esetében a tumor mikroköznyezetre jellemző savas közegben [73], ammónium-acetát pufferben (pH=5,5) is tanulmányoztuk a hatóanyag-felszabadulást.

Orális alkalmazásra létrehozott nanorészecskék (EC-valsartan és PMMA-valsartan) kioldódási vizsgálatára dialízis membrános módszert alkalmaztunk a gyomor (2 órán át) és a bél pH-ját (4 órán át) szimuláló közegben. A kioldódott valsartan hatóanyagot UV-vis spektrofotometriával (Shimadzu UV-1800, Shimadzu, Japan) elemeztük.

1.3.6. Nanorészecskék sejtek által történő felvételének, citotoxicitásának és bioaktivitásának vizsgálata

Először a frankfurti Goethe Egyetem Klinikumán (Frankfurt am Main, Németország) tanulmányoztam az előállított nanorészecskék ráksejtek által történő felvételét, illetve a citotoxicitásukat, majd hazatérésem után a Pannon Egyetem Műszaki Kémiai Kutatóintézet Transzlációs Glikomika Kutatólaboratóriummal együttműködésben is volt lehetőségem az elsajátított technikák alkalmazására. A sejtfelvétel nyomon követéséhez a nanorészecskéket fluoreszcens festékekkel jelöltük a cianin-5-amin kovalens rögzítésével a sejtek EDC-vel történő aktiválása után (**8. ábra**). A nanorészecskék aktivált karboxil-csoportjai a fluoreszcens festék amino-csoportjaival az EDC kapcsolási reakció során kovalens kötést létesítenek. A fluoreszcens festékekkel festett nanorészecskék szuszpenzióját PBS-ben hozzáadtuk az előzetesen felszaporított humán HCC (HepG2, illetve Huh7) vagy vastagbél karcinóma (HT-29, HCT116) sejtekhez. A sejteket eltávolítottuk a lemezről és a sejtek által fel nem vett nanorészecskéktől centrifugálással választottuk el, végül áramlási citometriával (Beckman Coulter, Cytoflex S) kiértékeljük, hogy a sejtek mekkora hányada vette fel a fluoreszcens festékekkel jelölt nanorészecskéket. A Cianin-5 festékekkel festett részecskék sejtfelvételének és intracelluláris lokalizációjának további vizsgálatára fluoreszcens mikroszkópot (AxioImager Z1 microscope and Axiovision 4.6 software, Carl Zeiss, Jena, Németország) használtunk. A sejtmembránt Alexa488 concanavalin A, míg a sejtmagot 4',6-diamidino-2-phenyl-indole festékekkel festettük.

Az előállított nanorészecskék citotoxicitását 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-yl)-2,5-difenil-tetrazólium-bromid (MTT) reagens alkalmazásával vizsgáltuk, amelyben a színreakció a

mitokondriális enzimek okozta sárga színű tetrazolium só csökkenésén alapul, mely során kék formazán termék keletkezik, ami arányos az élő sejtek számával, ugyanis az MTT redukció csak metabolikusan aktív sejtek jelenlétében játszódik le.

Az NGF bioaktivitását PC12 mellékvesevelő-daganat sejtek neurit növekedésének fázis-kontraszt mikroszkópos vizsgálatával követtem [74]. Az említett sejtek az aktív NGF hatására a neuronok nyúlványaihoz (neurit) hasonló képződményekkel képesek egymáshoz kapcsolódni.

NGF hatóanyagot tartalmazó HSA teranosztikus nanorészecskék transzport vizsgálata *in vitro* BBB modellen a Lund University, Department of Clinical Sciences (Lund, Svédország) laboratóriumában bEND3 sejtek kultiválása után ThinCerts lemezen történt.

Hepatocita sejteket a HUN-REN TTK, Molekuláris Élettudományi Intézet, Metabolikus Gyógyszer-kölcsönhatások Kutatócsoportban Dr. Monostory Katalin vezetésével tanulmányozták. A sejteket Wistar parkányokból kollagenáz perfúziós módszerrel izolálták. A cianin-5-tel jelölt nanorészecskék sejtek által történő felvételét meghatározott mintavételi időpontokban fluoreszcensen aktivált sejt számlálóval elemezték (Beckman Coulter, Cytoflex S). A hepatociták viabilitását tripán kék festődés módszerével vizsgálták.

1.3.7. Nazális porok in vitro felszabadulási és áteresztőképességi vizsgálata

A nazális porok felszabadulási vizsgálatát, valamint a penetrációs méréseket a Szegedi Tudományegyetem Gyógyszer technológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézetében végezték. A porlasztva szárított hatóanyag kioldódásának vizsgálatára módosított lapátos módszert (USP kioldó készülék, II-es típus; Pharma Test, Hainburg, Németország) használtak. Az LC-tartalom inline mérése egy AvaLight DH-S-BAL spektrofotométerhez (AVANTES, Hollandia) csatlakoztatott AvaSpec-2048L transzmissziós mérülős zondával (AVANTES, Hollandia) történt.

A szintetikus membránon keresztül történő LC-diffúzió értékelésére a módosított Side-Bi-SideTM (Crown Glass, USA) diffúziós tesztet alkalmazták. A cellulóz-észter membránt (pórusátmérő = 0,45 μm) használat előtt izopropil-mirisztátba mártották. A diffúzió mértéke a penetráció mértékével (PLC, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) arányos:

$$\text{PLC} = (A \text{ penetrált LC tömege } (\mu\text{g})) / (\text{Diffúziós felület } (\text{cm}^2))$$

A J fluxust ($\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{min})$) a kapott adatokból a következő egyenlet segítségével számítottuk ki:

$$J = \partial m / (A \partial t) \quad (3)$$

ahol m (μg) a t idő (min) alatt szállított LC kumulatív tömege, A (cm^2) pedig a membránfelület. A fluxust a donorkoncentrációra (C_d ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)) normalizáltuk a permeabilitási együttható (K_p (cm/min)) kiszámításához az alábbiak szerint:

$$K_p = J / C_d \quad (4)$$

1.3.8. Ex vivo Raman-mikroszkópos vizsgálatok oleogélekből

Az *ex vivo* kísérletekhez Dermofeel viscolid gélesítő por és Miglyol 812 olaj keverékéből készítettünk oleogélt, melybe porlasztva szárított hatóanyagot kevertünk, esetenként mentol penetrációfokozóval. A gélmintákban a végső hatóanyag-koncentrációt 5% (m/m)-ra állítottuk be. Az előállított gélek konfokális Raman-mikroszkópos vizsgálatai a

Szegedi Tudományegyetem Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézetében Dr. Csányi Erzsébet vezetésével történtek. Az *ex vivo* bőrpenetrációs vizsgálatokat hasi emberi bőrön végezték. A mikroszkópos metszetekhez Leica CM1950 típusú kriomikrotómot használtak. A hatóanyagok és az oleogélek Raman-spektrumának felvételére Thermo Scientific DXR Raman konfokális mikroszkóp (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA) szolgált.

1.3.9. In vivo tranziens középső agyi artéria elzáródás modell

Minden állatkísérletet az Európai Bizottság 2010/63/EU direktívájának iránymutatásai alapján végeztek. A hím Wistar patkányokat random 3 csoportba osztották: hordozóval kezelt, U0126 (MEK1/2 inhibitor) hatóanyaggal kezelt és NGF-et tartalmazó nanorészecskék + U0126 hatóanyaggal együttesen kezelt csoportba. Kísérleti sztrókot intraluminalis filament technikával idéztek elő. A kezelés után két héttel az infarktussal érintett terület nagyságát MRI-vel határozták meg 9.4 T típusú preklinikai MRI horizontális bór szkennelrel (Biospec Bruker, Billerica, MA, USA) a Lund University, Department of Clinical Sciences (Lund, Svédország) laboratóriumában Dr. Saema Ansar irányításával [29].

1.3.10. Egyéb in vivo vizsgálatok

Az IFN- β -t tartalmazó PLGA és PEG-PLGA nanorészecskék *in vivo* toxicitási kísérleteit a Toxi-Coop Zrt.-nél (Budapest) végezték. Az IFN- β hatóanyagot PBS oldatban (pozitív kontroll) és nanorészecskék szuszpenziójában a kísérletsorozat elején szubkután injektálták patkány kísérleti állatokba. A vak minták szuszpenziója a hatóanyagot tartalmazókkal azonos tömegű nanorészecskéket tartalmazott szintén PBS-ben. Meghatározott időpontokban mintát vettek, 2 hét után az állatok elaltatása után nekropszia, szövet- és szervvizsgálat történt.

A porlasztva szárított hatóanyagokat tartalmazó gélek *in vivo* vizsgálatát az EGIS Gyógyszergyár Zrt. laboratóriumában végezték a vonatkozó állatvédelmi szabályok betartásával. A porlasztva szárított dermális oleogél készítmények gyulladáscsökkentő hatását egerek krotonolaj által kiváltott ödémáján vizsgálták. Hím NMRI egereket (n=8/csoport) kezeltek a készítményekkel különböző mennyiségben (5, 10 vagy 20 μ l) a jobb fül belső oldalán. Pozitív kontrollként Fenistil gél (20 μ L, GSK Consumer Kft.) kezelést alkalmaztak, míg negatív kontrollként a kezelést csipesszel imitálták.

1.3.11. Statisztikai elemzés

A kísérleti adatok minimum három mérés átlag és szórás értékeit tartalmazzák. Az eredményeket középérték \pm standard deviációban fejeztük ki.

I.4. Gyógyszerhordozó polimer nano- és mikrorészecskék eredményei és következtetések

I.4.1. Fehérje típusú gyógyszerhatóanyagok mikrokapszulázása biokompatibilis polimerekkel

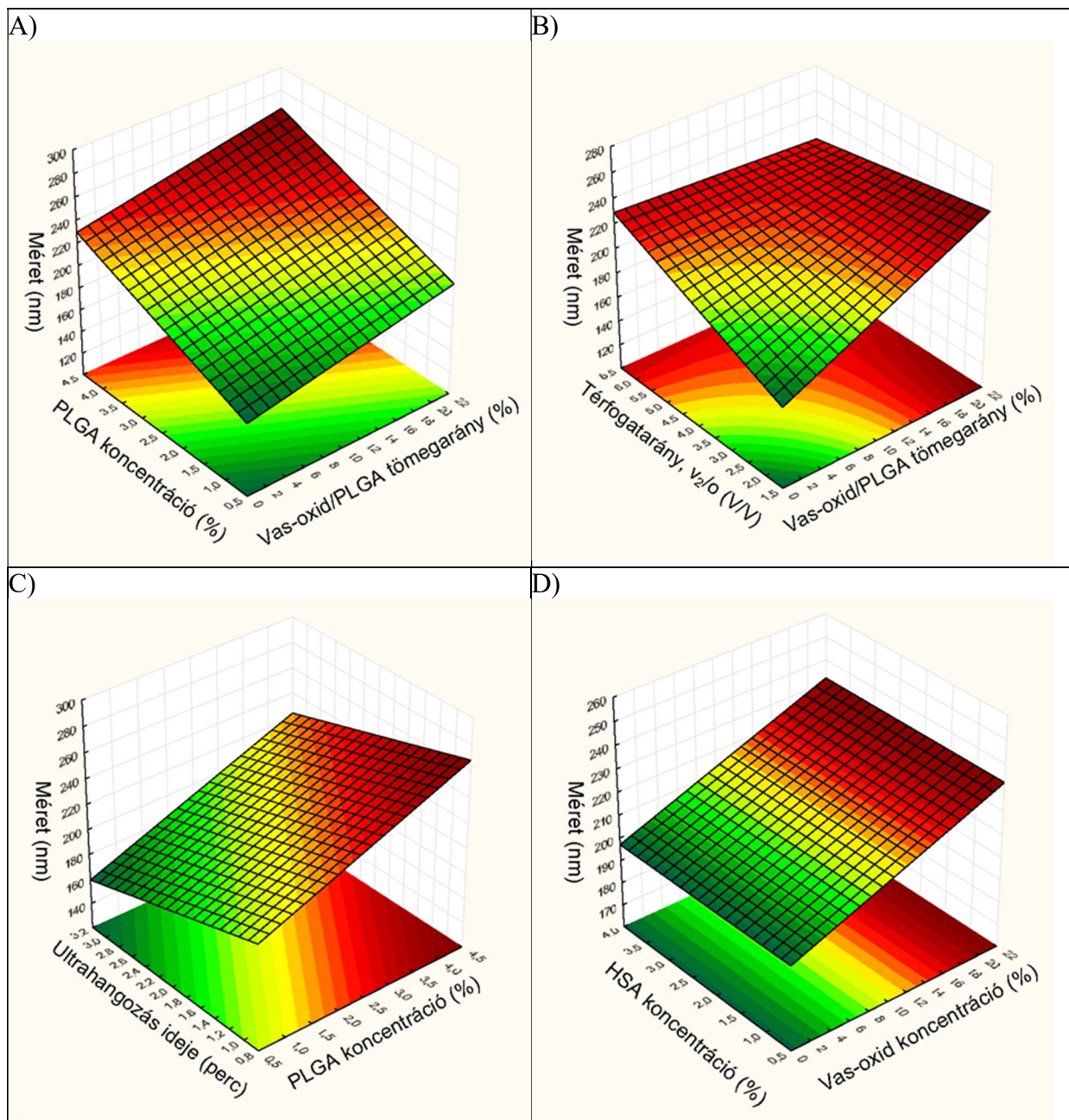
I.4.1.1. HSA modell hatóanyagot és vas-oxid nanorészecskéket tartalmazó PLGA nanoteranosztikumok [K1-3]

Mikrokapszulázási kutatásaim kezdetén BSA és HSA fehérje típusú modell hatóanyagok formulálását optimalizáltam [EK1-4]. A tapasztalatok felhasználásával nanoteranosztikum előállítását először HSA modell hatóanyag magnetit mágneses nanorészecskékkel együtt végrehajtott mikrokapszulázásával valósítottuk meg. Célunk olyan szűrővel sterilizálható ($<0,22 \mu\text{m}$), nem aggregálódó nanorészecskék előállítása volt, melyek fehérje kapszulázási hatékonysága az elérhető legmagasabb ($>90\%$), mivel a BSA-val és HSA-val értékes terápiás fehérje hatóanyagokat (pl. interferonok) modelleztünk, és a későbbiekben át is tértünk ez utóbbiak vizsgálatára. A teranosztikus nanorészecskéket összetett emulzió - oldószer elpárologtatás módszerével PLGA kapszulázó polimerrel hoztuk létre, 5 faktoros 3-szintű Box-Behnken kísérlettervezéssel és statisztikai analízissel optimalizáltuk a szemcseméretre és a hatóanyag kapszulázási hatékonyságára. A hatóanyag mellett kapszulázott vas-oxid nanorészecskéket Dr. Daniel Horák csoportjában az Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic partner intézményben szintetizálták FeCl_2 és FeCl_3 vegyületekből történő ammóniás koprecipitációval és olajsavas stabilizálással [75].

A polimer nanorészecskék szemcseméretét leginkább a kapszulázó polimer koncentrációja és a második emulgeálási lépés ideje befolyásolta. Ezeken kívül a mágneses nanorészecskék aránya a PLGA tömegéhez viszonyítva és a külső vizes és a szerves fázis térfogataránya is szignifikáns hatásúnak bizonyultak. A legkisebb mérethez alacsony PLGA koncentráció, nagy diszpergálási energia és a szerves és külső vizes fázis alacsony aránya szükségeltetett (**9. ábra**). A méretcsökkentést az alacsony magnetit/PLGA arány is szolgálta, azonban a megfelelően nagy mágnesezettség elérésére magas magnetit tartalomra van szükség az alkalmazás szempontjából.

A nanoteranosztikum fejlesztési folyamatban célunk a szűrővel sterilizálható, azaz $0,22 \mu\text{m}$ -nél kisebb részecskék intravénás bevitelre tervezett előállítása a lehető legnagyobb kapszulázási hatékonysággal. Az előállítási paraméterek változtatása azonban legalább az egyik előbb említett tulajdonságban sok esetben a kívánatossal ellentétes hatást váltotta ki, azaz a méret csökkenésével a kapszulázási hatékonyság romlása járt együtt. Tipikusan ilyen a kapszulázó polimer hatása, amely koncentrációjának csökkentése kisebb szerves oldat viszkozitást eredményez, és így a diszpergálás során apróbb cseppek keletkezése révén elősegíti a méret csökkenését. Ugyanakkor a kisebb viszkozitású polimer oldaton könnyebben átjutnak a vízoldható fehérjemolekulák a belső vizes fázisból a külsőbe, ezáltal a hatóanyag kapszulázási hatékonysága is csökken. Vannak paraméterek, melyek csak az egyik kívánalmat befolyásolták, pl. a magnetit/PLGA arány és a szonikálás ideje szignifikáns hatást fejtett ki a nanorészecskék

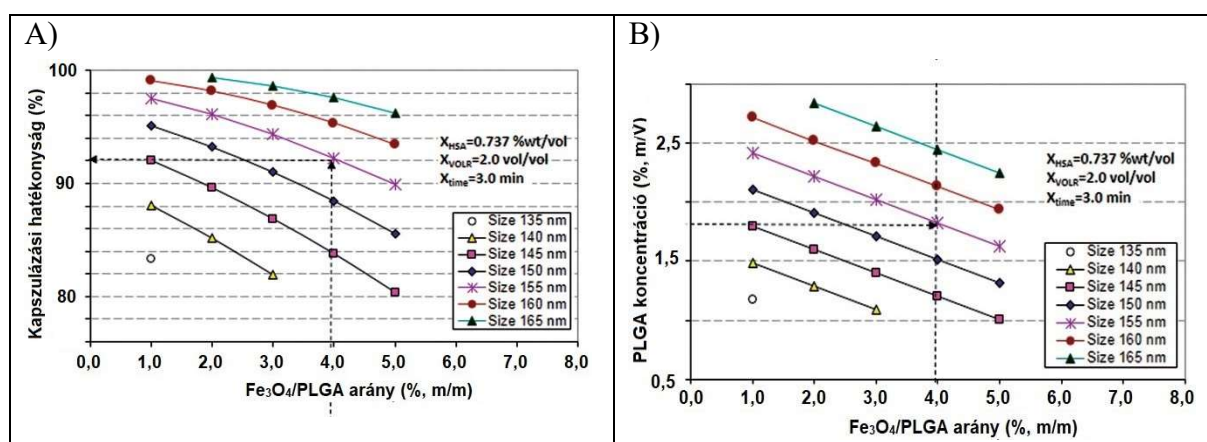
méretére, azonban nem volt szignifikáns hatásuk a kapszulázási hatékonyságra, míg a HSA koncentráció csak a kapszulázási hatékonyságra hatott és a méretre számottevően nem.



9. ábra: A PLGA-HSA-vas-oxid nanorészecskék méretének függése a legfontosabb paramétereiktől.

A részecskeméret és a kapszulázási hatékonyság matematikai optimalizását a GAMS/MINOS szoftverrel végeztük különböző magnetit/PLGA arányoknál. A PLGA koncentráció és a magnetit/PLGA arány meghatározza az elérhető részecskeméretet a másik 3 változó állandó értékénél. Ha célul tűzzük ki adott átlagos méretű PLGA-HSA-vas-oxid nanorészecskék optimális körülmények melletti előállítását adott kapszulázási hatásfokkal, akkor a **10.A ábrával** meghatározható az ehhez szükséges magnetit/PLGA arány, és ez utóbbi ismeretében a **10.B ábrán** megkapjuk az alkalmazandó PLGA koncentrációt. Az

optimalizáláshoz figyelembe vett független változók a **9. ábra** diagramjainak vízszintes tengelyein láthatók. A **10. ábrán** a magnetit/PLGA tömegarány, a PLGA koncentráció, az átlagos részecskeméret és kapszulázási hatások közötti összefüggések láthatók, aminek alapján kiválasztottuk az optimálisnak tekinthető, 155 nm átlagos méret és 92,3% HSA kapszulázási hatások eléréséhez szükséges paraméter kombinációt, ami 4,0% (m/m) vas-oxid tartalom mellett érhető el. Az állandó paraméterek közül a szonikálás idejét maximálisnak választottuk ($X_{\text{time}} = 3,0$ perc), hiszen a részecskeméretet ezzel hatékonyan lehetett csökkenteni, míg a kapszulázási hatékonyságot nem befolyásolta. A HSA koncentrációnak, mely a részecskeméretre nem gyakorolt hatást, a legalacsonyabb értékénél ($X_{\text{HSA}} = 0,737\%$ (m/V)), illetve a külső vizes és a szerves fázis legkisebb térfogatarányánál ($X_{\text{VOLR}} = 2,0$) érték el a legnagyobb kapszulázási hatásfokot (A).

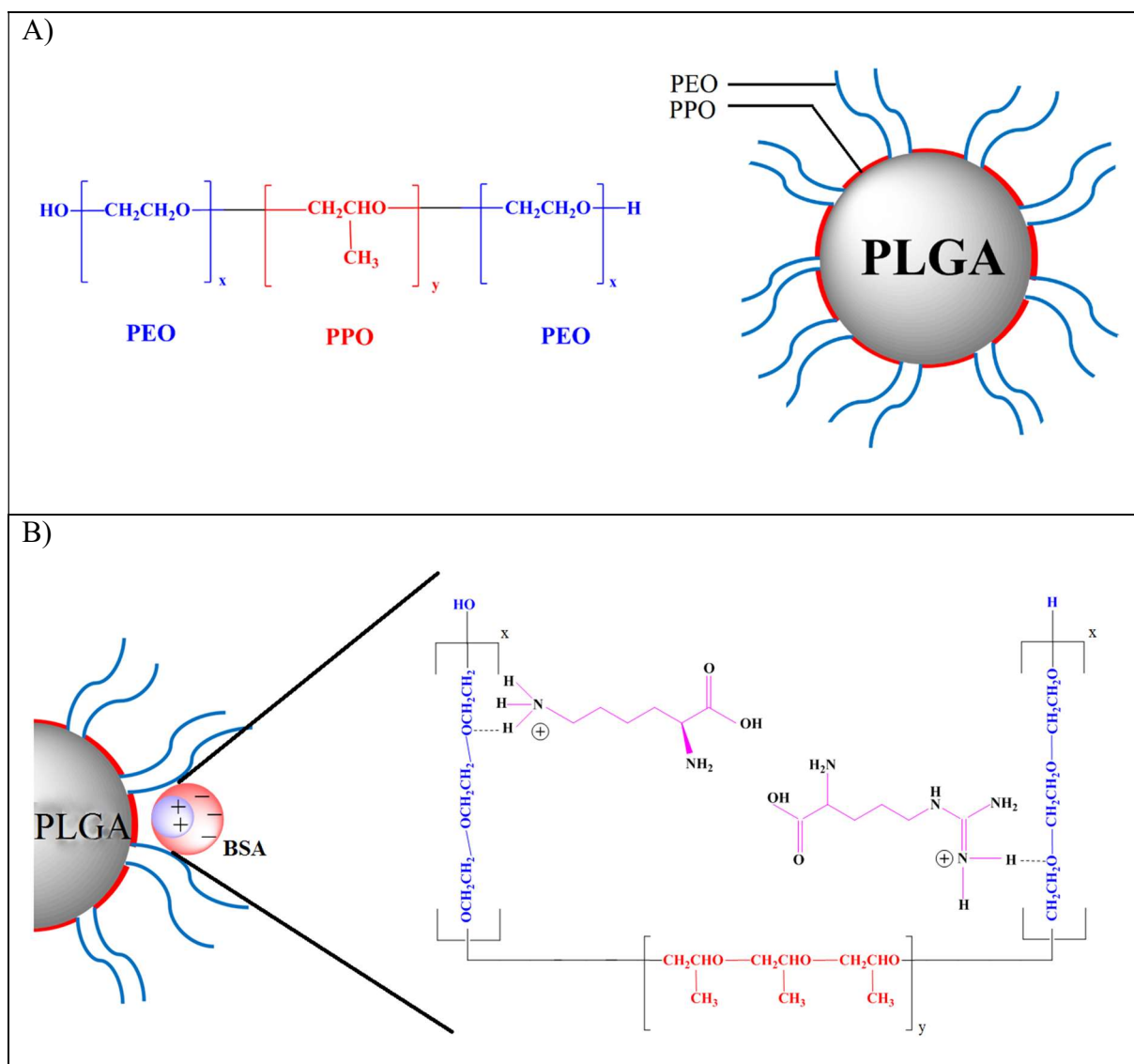


10. ábra: Magnetit/PLGA tömegarány, átlagos részecskeméret, kapszulázási hatások (A) és a PLGA koncentráció (B) közötti összefüggések.

A részecskeméret és a kapszulázási hatékonyság mellett számos más követelmény is fontos lehet a fehérje hatóanyagot tartalmazó mágneses PLGA nanorészecskék előállításakor. Ilyen például a hatóanyag koncentrációja a nanorészecskékben, az alkalmazott eljárás vagy eszköz produktivitása, illetve a termék előállítási költsége. A HSA koncentráció nem játszott szerepet a méret szempontjából, ezért megfelelően kis nanorészecskék állíthatók elő relatív magas HSA/PLGA tömegarányánál, a PLGA koncentráció nem túl magas értékénél. Azonban a HSA/PLGA arány növelése a kapszulázási hatékonyságot számottevően leronthatja. Magas HSA koncentrációnál a külső vizes fázis/szerves fázis térfogatarány növekedésének előnyös hatását az alacsonyabb energiasűrűség és nyírófeszültség magyarázza, ami egyfelől a fehérjevesztést csökkenti, másrészt nagyobb részecskéket eredményez. Ez egy költséges hatóanyag esetén (pl. interferonok) nagymértékben befolyásolja az előállítás gazdaságosságát.

A hidrofób felületű PLGA nanorészecskék esetében az immunrendszer felismerő mechanizmusait késleltethetjük, ha amfifil molekulákat kötünk a felületükre. A poloxamerek fizikai adszorpcióval a hidrofób polipropilén-oxid láncukkal a PLGA felülethez kötődnek, míg a hidrofíl PEG láncokkal a vizes fázis felé fordulnak (**11.A ábra**). 0,1-1,0% (m/V) koncentrációjú poloxamer (Pluronic F68) oldatokat vizsgálva megállapítottuk, hogy 0,5% (m/V) poloxamer koncentrációnál optimális a felületi kötődés. DLS mérések tanúsága szerint

142 nm átlagos átmérőjű PLGA-HSA-Fe₃O₄ nanorészecskékből 0,5% (m/V) és 1,0% (m/V) Pluronic F68 oldatban történő kezelés után külön-külön 177 nm, és 191 nm átlagos átmérőjű szemcsék jöttek létre. Izotermális kalorimetriás analízis segítségével megállapítottuk, hogy a BSA és a felületmódosításnak nem alávetett PLGA nanorészecskék között hidrofób-hidrofób kölcsönhatás lépett fel, míg a poloxamer PEG láncai és a fehérje amino csoportjai között H-híd kötések jöttek létre (**11.B ábra**). UV-vis analízissel mBCA fehérje színreagenssel megmutattuk, hogy a poloxamerrel történő felületi borítás hozzávetőleg 50% (m/m)-kal csökkentette a fehérje adszorpciót a létrehozott gyógyszerhordozó nanoteranosztikum felületén, ami a vérben történő opszonizáció lassítását vetíti előre. A modell hatóanyag nanoformulálásával hasznos tapasztalatokat szereztünk, melyeket a további kutatásaink során értékeesebb fehérje típusú hatóanyagoknál is jól tudunk hasznosítani.



11. ábra: Poloxamer adszorpció PLGA nanorészecskék felületén (A), és hidrogénhidak kialakulása a poloxamer PEG láncai és a BSA amino-csoportjai között (B).

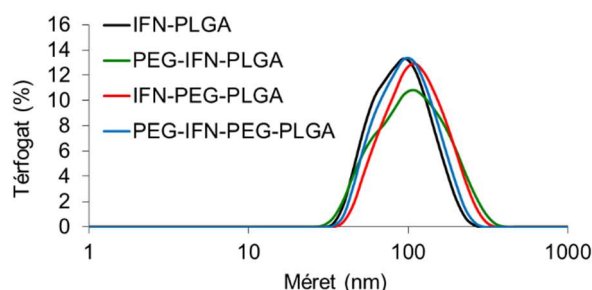
HSA modell hatóanyagot és vas-oxid nanorészecskéket tartalmazó PLGA nanoteranosztikumok előállításának összefoglalása

1. tézis: HSA fehérje típusú modell hatóanyagot magnetit mágneses nanorészecskékkel PLGA kopolimerrel együttesen mikrokapszulázva, összetett emulzió - oldószer elpárologtatás módszerével nanoteranosztikumot elsőként állítottunk elő. A nanorészecskék méretét és hatóanyag kapszulázási hatékonyságát optimalizáltuk. A részecskeméret szempontjából célul kitűzött szűrővel sterilizálható részecskeméretet (<0,22 μm) és a magas (>90%) kapszulázási hatékonyságot az eljárás matematikai optimalizálásával, Box-Behnken kísérlettervezéssel és statisztikai értékeléssel értük el. A nanoteranosztikum vérbeli tartózkodási idejének növelése érdekében poloxamer amfifil vegyületet adszorbeáltunk a nanorészecskék hidrofób felületére, amely által azokon a szérum fehérje adszorpciót 50%-kal csökkentettük.

I.4.1.2. Interferon típusú hatóanyagok nyújtott hatóanyag-leadása biokompatibilis polimer nanorészecskékkel [K4,5]

IFN- α mikrokapszulázása biokompatibilis polimerekkel

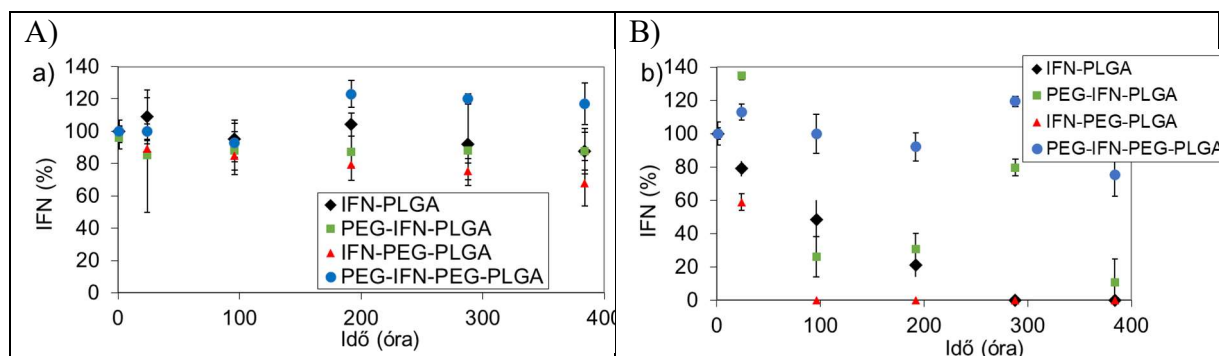
Hepatitis kezelésére használt IFN- α -t és pegilált IFN- α -t (PEG-IFN) intravénás beviteli úton alkalmazható, nyújtott hatóanyag-leadású gyógyszerhordozó polimer nanorészecskéket külön-külön PLGA (Resomer® RG 502H) és PEG-PLGA (Resomer® RGP d5055) kopolimerekkel állítottunk elő. Ideálisnak tartott körülmények között 104-129 nm térfogat szerinti átlagos méretű (**12. ábra**), szűk méreteloszlású (PdI=0,110-0,160) és magas kapszulázási hatékonyságú (78,2-90,6%) biodegradábilis nanorészecskéket hoztunk létre.



12. ábra: IFN- α és pegilált IFN- α hatóanyagok PLGA és PEG-PLGA polimerekkel alkotott nanorészecskéinek méreteloszlásai.

A különböző készítmények esetén a cél az volt, hogy a kioldódási közegben állandó koncentrációsintet tartsanak fenn lehetőleg minél hosszabb ideig. Mindkét polimerrel mikrokapszulázott pegilált és nem pegilált IFN- α vérplazmában a célnak megfelelően teljesített. Az IFN- α koncentrációt a kioldó közegben mértük, ahol a megfelelő koncentrációsint tartásához a folyamatosan elbomló interferont a kioldódással lehetett pótolni, többé-kevésbé egyensúlyban tartani. A 16 napos kioldódási vizsgálat végéig vérplazmában a kiindulási IFN-alfa koncentrációt (kezdeti burst) leginkább (117%) a PEG-PLGA-PEG-IFN részecskék biztosították (**13.A ábra**), bár abszolút értékben ez a készítmény szabadította fel a legkevesebb hatóanyagot, ugyanis ez esetben a kiindulási felszabadulás 9,0 ng/l koncentrációt eredményezett, míg a másik 3 készítménynél ezt az értéket több mint kétszeresen meghaladva, viszonylag szűk, 20,6-25,2 ng/l koncentráció-tartományban változott. A 16. napon az IFN-

PLGA és PEG-IFN-PLGA a kezdeti koncentrációhoz képest az IFN-alfa szint 88%-ra, míg az IFN-PEG-PLGA nanorészecskékénél 68%-ra változott.



13. ábra: Interferon-alfa hatóanyag-felszabadulás PLGA és PEG-PLGA nanorészecskékből emberi vérplazmában (A) és PBS pufferben (B). A diagramokon a 100% a kezdeti hatóanyag felszabadulás koncentráció szintjének felel meg minden esetben az adott nanorészecskénél tapasztalt kioldódásnak megfelelően.

A plazma fehérjék, különösen a HSA stabilizáló hatása jól ismert az IFN- α -ra. A kioldódási közeg szignifikáns hatást gyakorolt az IFN- α kibocsátására. Egyedül a PEG-PLGA-val mikrokapszulázott PEG-IFN tudott a PBS közegben hozzávetőleg egyenletes IFN- α szintet tartani (**13.B ábra**), azonban ez a nanorészecskék azonos IFN- α koncentrációjának ellenére hozzávetőleg egy nagyságrenddel kisebb koncentrációsintet (2,7 ng/l) jelentett ahhoz képest, amekkora legmagasabb koncentrációt a vérplazmában folytatott kioldódási vizsgálatokban detektáltunk. Az IFN-PEG-PLGA nanorészecskék esetében PBS pufferben egy nap után nem volt mérhető az IFN- α koncentrációja, míg IFN-PLGA és PEG-IFN-PLGA nanorészecskék esetén a kezdeti fehérje felszabadulás a PEG-IFN-PEG-PLGA-hoz hasonló volt (rendre 2.5ng/l és 3.3ng/l), azonban ezek a nanoanyagok a kísérlet ideje alatt nagy fluktuációval és csökkenő tendenciával szabadították fel a hatóanyagot.

IFN- β mikrokapszulázása biokompatibilis polimerekkel

A szklerózis multiplex ellen alkalmazott IFN- β fehérjét PLGA-val (Resomer® RG 752H) és PEG-PLGA-val (Resomer® RGP d5055) mikrokapszuláztuk. A hatóanyag modellezésére BSA fehérjét használtunk, melyet 4 különböző PLGA polimerrel (Resomer® RG 752H, Resomer® RG 502H, Resomer® RG 504H, Resomer® RG 0254) és 2 PEG-PLGA polimerrel (Resomer® RGP 5050, Resomer® RGP 50106) mikrokapszuláztunk. 3-szintű Box-Behnken kísérleti tervvel és statisztikai analízissel kimutattuk, hogy az eljárásban a létrejövő nanorészecskék méretére legnagyobb hatást az emulzió diszpergálására használt szonikálás energiája és a kapszulázó polimer koncentrációja fejtette ki, továbbá a szerves fázis és a külső vizes fázis aránya, illetve a fehérje és a PVA koncentrációja is szignifikáns hatást gyakorolt. A kapszulázási hatékonyságra a kapszulázó polimer koncentrációja a szerves fázisban és a fehérje koncentrációja a belső vizes fázisban hatott legjelentősebb mértékben, emellett a külső vizes fázis és a szerves fázis aránya is jelentős szerepet játszott. Az emulgeátor koncentráció és a szonikálás ideje nem bizonyultak szignifikáns hatótényezőknek a kapszulázási hatékonyság

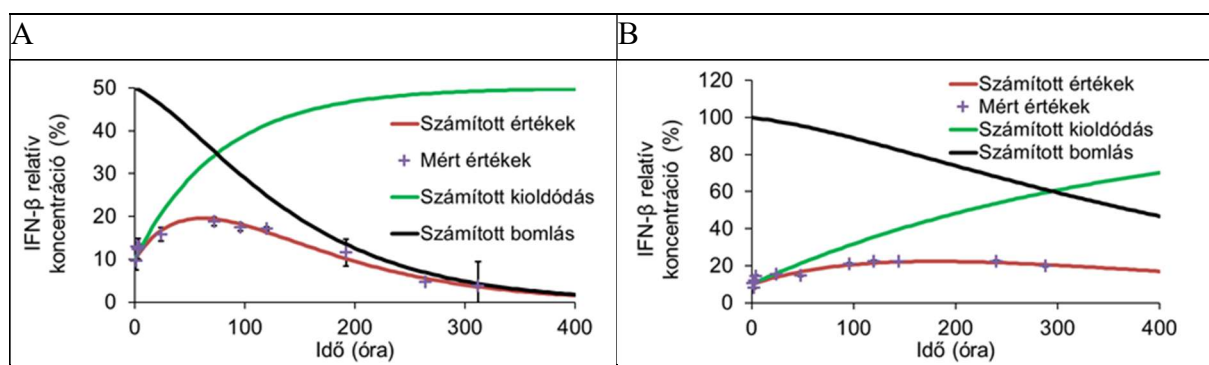
szempontjából. A BSA-ra optimalizált folyamatparaméterek alkalmazásával az IFN- β hatóanyagot az említett polimerekkel mikrokapszulázva a BSA modell anyaghoz hasonló (**1. táblázat**) és a célnak megfelelő tulajdonságokkal bíró polimer nanorészecskéket állítottunk elő.

- 1. táblázat.** BSA modellanyagot tartalmazó PLGA (RG 752H, RG 502H, RG 504H, RG 0254) és PEG-PLGA (RGP 5050, RGP 50106) részecskék tulajdonságai.

Polimer	D[4,3] (nm)	PdI	Kapsz. hat. (%)
RG 752H	144	0,088	98,7
RG 502H	173	0,070	86,6
RG 504H	168	0,078	87,3
RG 0254	162	0,081	87,0
RGP 5050	174	0,078	69,0
RG 50106	157	0,061	78,0

A részecskék térfogat szerinti átlagos méretére IFN- β hatóanyag alkalmazásával DLS-sel $150,0 \pm 10,4$ nm (PdI $0,081 \pm 0,030$) és $165,0 \pm 4,0$ nm (PdI $0,093 \pm 0,010$) adódott PLGA (Resomer® RG 752 H) és PEG-PLGA (Resomer® RGP d5055) kapszulázó polimerekkel külön-külön, mind a két esetben monodiszperz szemcseméret eloszlással, ahogy a PdI értékek mutatták. A kapszulázási hatékonyság is a BSA-val optimalizált értékekhez hasonlóan magasnak bizonyult; méghozzá 96,2% PLGA és 95,9% PEG-PLGA kapszulázó polimerekkel.

A modell hatóanyag BSA felszabadulását polimer nanorészecskékből PBS pufferben (pH=7,4), az IFN- β hatóanyagét emberi vérplazmában vizsgáltuk *in vitro*. PLGA-IFN- β nanorészecskékből az IFN- β kioldódására (**14. ábra**, zöld szín) és a bomlására számított telítési görbe (**14. ábra**, fekete szín) kombinációjából számolható a mérési pontjainkat modellező piros görbe. Az IFN- β bomlása közel kétszer olyan gyors a PLGA ($0,01195h^{-1}$), mint a PEG-PLGA polimerben ($0,0068h^{-1}$) (**2. táblázat**).



14. ábra IFN- β koncentrációjának változása PLGA (A) és PEG-PLGA (B) polimerből való kioldódásakor vérplazmában.

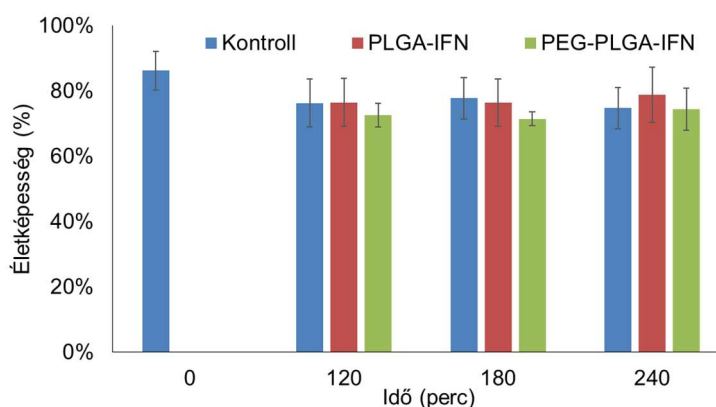
A BSA modell hatóanyag és az IFN- β bomlási és kioldódási sebességi együtthatóinak összevetéséből fontos következtetéseket lehet levonni. A kioldódás főként a polimer minőségétől függ, ugyanakkor a bomlás sebessége a hatóanyag sajátja. A kioldódás sebessége mindkét hatóanyagra a PLGA polimer esetében 5–6-szorosa a PEG-PLGA kopolimerben tapasztalt értéknek (**2. táblázat**). Az IFN- β bomlási sebessége mindkét

polimernél hozzávetőleg kétszerese a BSA-énak. Szembetűnő azonban, hogy a PLGA polimer esetében kétszer olyan gyors a BSA és az IFN- β bomlása, mint a PEG-PLGA-ban. Az eltérések oka feltehetően az, hogy a PLGA a hidrolízise során a pH-t lényegesen nagyobb mértékben tolja el a savas tartományba, ami felgyorsítja a hatóanyagok bomlását.

2. táblázat. IFN- β bomlási és kioldódási sebességi együtthatói PLGA és PEG-PLGA polimerekre.

Hatóanyag	Bomlási sebességi együtthatók, h ⁻¹	Bomlási sebességi együtthatók, h ⁻¹		Kioldási sebességi együtthatók, h ⁻¹	
	nem kapszulázott	PLGA	PEG-PLGA	PLGA	PEG-PLGA
IFN- β	0,00529	0,01195	0,0068	0,01283	0,00277
BSA		0,00447	0,00239	0,01387	0,00207

A HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont Molekuláris Élettudományi Intézetében Dr. Monostory Katalin csoportjában IFN- β -t hordozó polimer nanorészecskékkel hepatocitákon végzett citotoxicitási vizsgálatokban mindkét hordozó esetén a kontrollhoz képes nem tapasztaltunk számottevő viabilitás csökkenést (**15. ábra**).

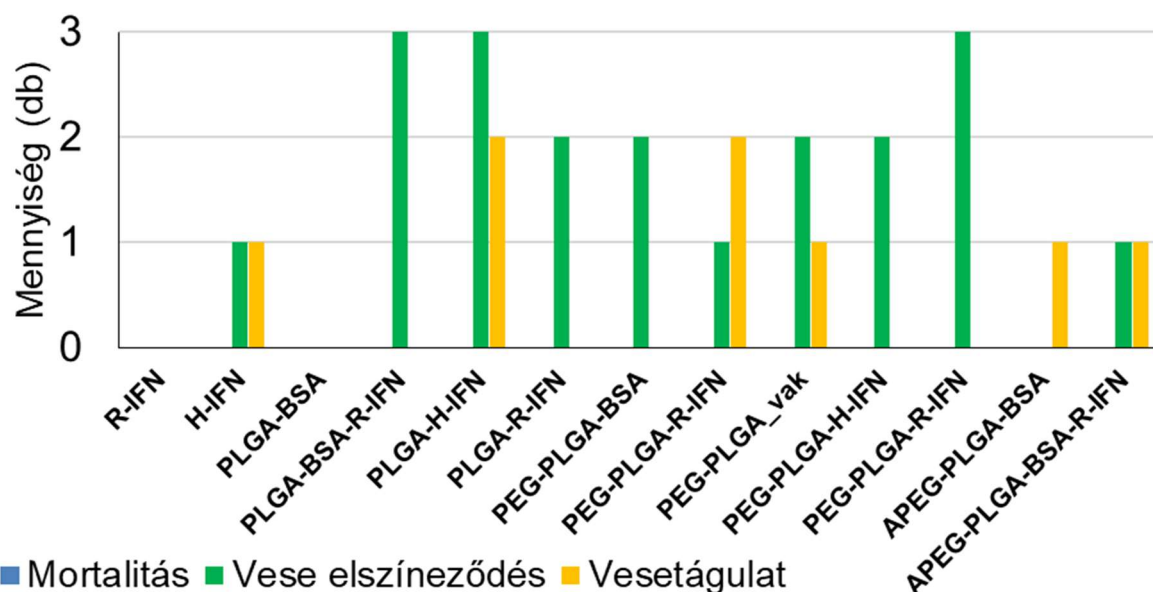


15. ábra: PLGA-IFN- β és PEG-PLGA-IFN- β nanorészecskék citotoxicitása hepatocitákon (kontroll: részecskékkel nem kezelt sejtek).

Az IFN- β -t tartalmazó polimer nanorészecskéinkkel és a kontroll anyagokkal *in vivo* toxicitási kísérletsorozatot patkány kísérleti állatokon a Toxi-Coop Zrt.-nél végeztek (**16. ábra**). Két kísérletsorozatban folytatták a teszteket, mindegyikben kezeletlen és IFN- β oldattal kezelt mintacsoport is szerepelt. A hatóanyag nélküli (vak) nanorészecskéket tartalmazó minták egyrészt nanoprecipitációval, másrészt o/v emulzió- oldószer elpárolgatás módszerével készültek. Az első sorozatban a hatóanyagra nézve vak minták tartalmaztak BSA-t, a második sorozatban a BSA-t kihagytuk a receptből.

Mortalitás egyáltalán nem fordult elő. Toxicitás jeleit az R-IFN oldattal kezelt és a BSA-t tartalmazó PLGA-val készült mintákkal kezelt állatoknál nem tapasztaltunk. A kétféle veseelváltozás közül nagyobb számban fordult elő vese elszíneződés, mint vesetágulat. Az IFN- β tartalmú nanoszemcsék mind BSA-val, mind BSA nélkül toxikusnak bizonyultak,

nagyrészt vese elszíneződés jelentkezett. A vesékben tapasztalt toxicitásra utaló jelek feltételezésem szerint a 50 nm alatti szemcsék jelenlétéből adódhatnak, amivel összhangban van, hogy a nanorészecskék közül csak a legnagyobb méretű, utólagosan pegilált nanoszemcsék hatására nem lépett fel toxicitási reakció.



16. ábra: Toxicitás adatok a két független in vivo toxicitási vizsgálatból a BSA fehérjét, patkány (R-IFN) vagy humán (H-IFN) IFN- β hatóanyagot tartalmazó PLGA, PEG-PLGA illetve utólag pegilált (APEG-PLGA) nanoszemcsékre.

Liao és munkatársai [76] hasonló tapasztalatról akkor számoltak be, amikor intravénásan adagoltak MeO-PEG_PLGA-PEG-OMe triblock kopolimer nanorészecskéket és azok szemcsemérete ≤ 50 nm volt. Figyelembe véve a szakirodalom eddigi széleskörű vizsgálatait, feltételezésem szerint a toxikus hatást a méret növelésével ki lehet küszöbölni. Mivel az előállítás során a PVA koncentráció a méretre nagyon jelentős hatást gyakorolt, míg a kapszulázási hatékonyságot nem befolyásolta, ennek a folyamatparaméternek a változtatásával feltehetőleg olyan méretet állíthatunk be, amellyel mind a toxikus hatás, mind a makrofágok gyors felismerő mechanizmusa kiküszöbölhető.

Nyújtott hatóanyag-leadású interferon típusú hatóanyagokat tartalmazó biokompatibilis polimer nanorészecskék összefoglalása

2.1. tézis: Hepatitis kezelésére használt IFN- α és pegilált IFN- α fehérje típusú hatóanyagokat elsőként mikrokapszuláztunk injekciós készítményben alkalmazható kis méretű (térfogat szerinti átlag méret: 104-129 nm), szűk méreteloszlású (PdI=0,110-0,160) és magas kapszulázási hatékonyságú (78,2-90,6%) PLGA és pegilált PLGA polimer nanorészecskékkel összetett emulzió - oldószer elpárologtatás módszerével. Bizonyítottam, hogy az *in vitro* kioldódási vizsgálatoknál a vér szimulálására gyakran alkalmazott pH=7,4 PBS puffer a vérplazma fehérjével stabilizálódó IFN- α hatóanyag esetén a vérplazmában tapasztalttól nagymértékben eltérő hatóanyag felszabadulási profilt mutat. Vérplazmában mind a négy készítmény a 16 napon át folytatott *in vitro* vizsgálatban közel egyenletes koncentrációsintet tartott fenn, maximálisan a PBS-hez képest hozzávetőleg egy nagyságrenddel nagyobb értéken.

2.2. tézis: A szklerózis multiplex kezelésére használt IFN- β hatóanyagot emulzió - oldószer elpárologtatás módszerével mikrokapszuláztuk. PLGA-humán IFN- β és PEG-PLGA-humán IFN- β nanorészecskéket >95% kapszulázási hatékonysággal és 150–165 nm térfogat szerinti átlag szemcsemérettel állítottunk elő. Kioldási vizsgálatokban igazolást nyert, hogy az előállított nanorészecskék minimum egy héten át képesek nyújtott IFN- β hatóanyag-leadást biztosítani humán vérplazmában *in vitro* körülmények között. Az IFN- β -t tartalmazó PLGA és PEG-PLGA nanorészecskék hepatocitákban *in vitro* körülmények között nem bizonyultak citotoxikusnak, azonban *in vivo* állatkísérletekben enyhe vesetoxicitási tüneteket okoztak.

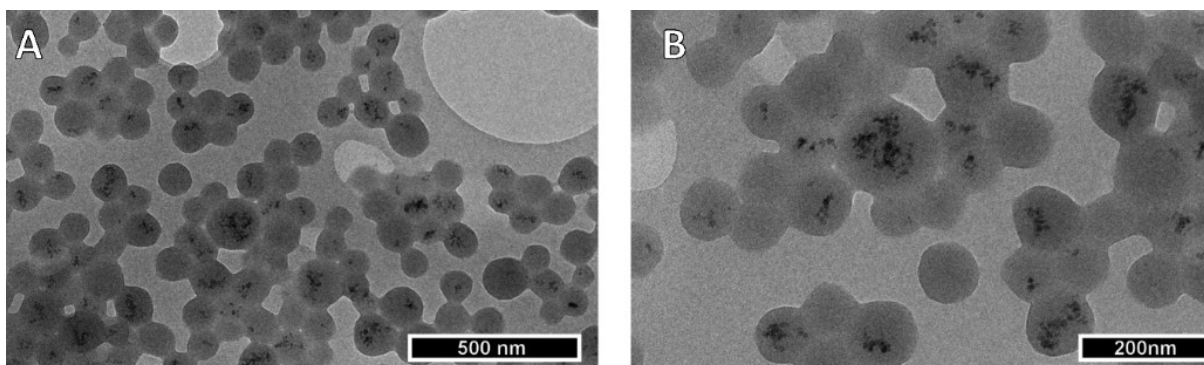
1.4.1.3. Idegnövekedési faktort (NGF) és vas-oxid nanorészecskéket tartalmazó nanoteranosztikum [K6]

Sztrók kezelésének és diagnosztizálásának céljából teranosztikus nanorészecskéket állítottam elő HSA hordozó fehérje és NGF hatóanyag együttes deszolvatációjával vas-oxid nanorészecskék (CANM) jelenlétében. A létrehozott nanorészecskék felszínéhez ApoE3 fehérjét kötöttem kovalens kötéssel PEG-et is tartalmazó keresztkötő ágenssel előbb az agyba történő aktív célzás, utóbbit a hosszabb vérbeli keringés elérése érdekében. A HSA-CANM nanorészecskék már ismert előállítási módszerét [41] az NGF hatóanyag bevezetésével fejlesztettem tovább. Megállapítottam, hogy a nanorészecskék mérete és hozama a pH növekedésével jelentős mértékben csökkent (**3. táblázat**).

3. táblázat. HSA-CANM nanorészecskék hozamának és méretének függése a pH-tól 1% (m/m) kiindulási vastartalom mellett és NaCl alkalmazása nélkül a deszolvatációban.

pH	Hozam	Méret (nm)
6,5	80,4	207,0
7,0	73,0	207,0
7,5	59,3	151,5
8,0	56,0	144,9
8,5	40,5	141,3

A lehető legkisebb méretet tűztem ki célul szem előtt tartva a vérbeli keringéshez ideálisnak tartott szemcseméret tartományt (lásd még **1.2.1 fejezet**) és a sterilizálás szempontját, aminek a legegyszerűbb eljárása 0,22 μ m-es membránon át megvalósított szűrés. Ugyanakkor a részecskék hozamát nagymértékben növelni tudtam a deszolvatáció során a vizes fázisban oldott 0,01 M NaCl alkalmazásával, amellyel pH=8 mellett az átlagos szemcseméret kismértékű növekedése mellett (152 ± 6 nm, PdI $0,037 \pm 0,009$), a hozam közel 20%-kal növekedett ($75,3 \pm 4,9\%$ (m/m)), és elektrosztatikusan stabilizált (zéta-potenciál: -48,3 mV) gömb alakú (**17. ábra**) nanoteranosztikumot állítottam elő. A TEM felvételen a szürke színű deszolvatált, gömb alakú HSA szemcsékben fekete színű pöttyök formájában láthatóak a mágneses nanorészecskék. Az NGF mikrokapszulázása során alkalmazott kis koncentrációja (1% m/m a HSA-hoz viszonyítva) a várákosoknak megfelelően a deszolvatációval létrejövő nanorészecskék fizikai paramétereit (átlagos szemcseméret: 156,9 nm, PdI 0,031, hozam: 71,5% (m/m), zéta potenciál: - 48,3 mV) nem befolyásolta számottevően.



17. ábra: HSA-CANM-NGF nanorészecskék TEM felvételei.

A nanorészecskék diagnosztikai hatékonyságának növelése érdekében megvizsgáltam a vas-oxid koncentráció növekedésének hatását. A NaCl alkalmazásának a deszolvatáció során e tekintetben is lényeges hatása volt, mivel a vas kapszulázási hatékonysága több mint 20 %-kal nőtt a vizsgált két vaskoncentráció esetében NaCl jelenlétében (**4. táblázat**). A SQUID magnetometer vizsgálatai azt mutatták, hogy a CANM telítési mágnesezettségét a mikrokapszulázás hozzávetőleg 10%-kal csökkentette.

4. táblázat. HSA-CANM nanorészecskék tulajdonságai a kiindulási vaskoncentráció (a HSA tömegéhez viszonyítva) függvényében.

Kiindulási Fe konc. (% m/m)	NaCl konc. (mM)	Hozam (%)	Fe kapsz. hat. (%)	Fe konc. (%)	Méret (nm)	Zéta pot. (mV)
2	0	35,0	59,3	3,4	134,4	-47,6
2	10	74,6	80,8	1,8	147,7	-48,0
4	0	46,3	57,5	4,6	140,4	-50,9
4	10	84,6	86,4	3,8	185,1	-47,5

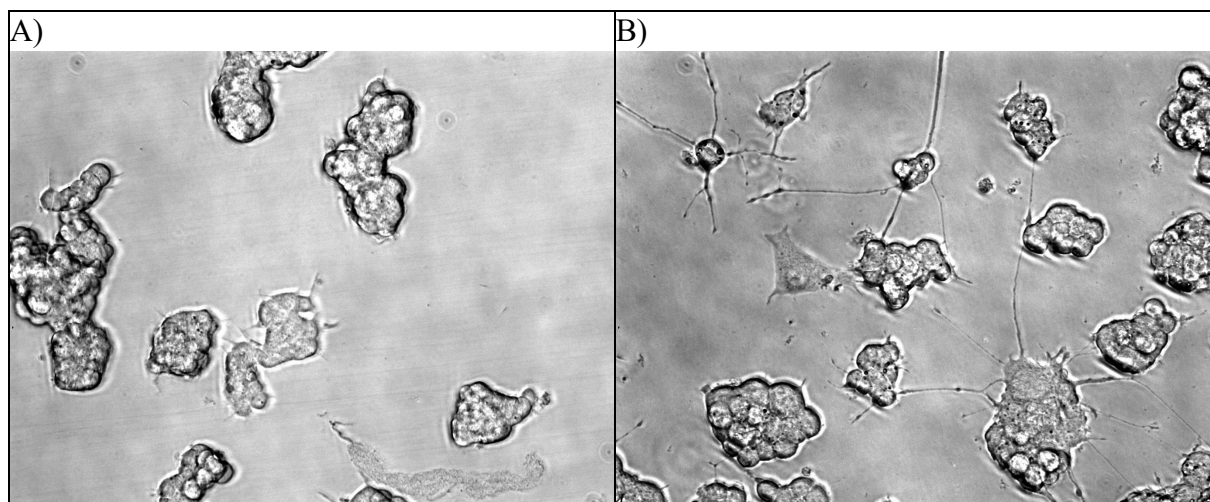
A HSA-CANM-NGF nanorészecskék felületét a bifunkciós keresztkötő α -maleimido-hexánsav- ω -NHS-PEG reagenssel módosítottam, egyfelől a BBB penetrációt lehetővé tevő ApoE3 fehérje, másfelől a hosszabb vérbeli keringési időt biztosító PEG felülethez kötése érdekében (**7. ábra**). A felületi módosítás a nanorészecskék méretét számottevően megnövelte (156,9 nm-ről 188,0 nm-re), emellett a zéta potenciál változása (-48,3 mV-ről -17,7 mV-ra) is a felszíni borítás sikerességét támasztotta alá az eredetileg erős töltéssel rendelkező szemcsék töltésének csökkentése révén.

A nanorészecskék stabilitását lioprotektorok alkalmazása mellett liofilizálás után 6 hónap hűtőszekrényben való tárolás után vizsgáltam (**5. táblázat**). Szacharóz vagy trehalóz lioprotektorok alkalmazása esetén a szemcsék eredeti méreteloszlását megőrizve lehetett azokat visszadiszpergálni.

A mikrokapszulázott NGF bioaktivitásának megállapítására PC12 mellékvesevelődaganat sejtek neurit növesztését fázis-kontraszt mikroszkóppal elemeztem. A HSA-CANM nanorészecskékbe zárt NGF biológiai aktivitást mutatott (**18. ábra**), bár hasonló mértékű neurit növesztés eléréséhez a szabad hatóanyaghoz képest a mikrokapszulázott NGF sokkal nagyobb koncentrációjára volt szükség.

5. táblázat. HSA-CANM nanorészecskék méretének változása liofilizálás hatására 6 hónap tárolás után mannit, szacharóz és trehalóz lioprotektorok alkalmazásával.

	Liofilizálás előtt	3% mannit	3% szacharóz	3% trehalóz
Méret (nm)	140,4	186,6		
PdI	0,05	0,25		
Méret (nm)	150,1		159,8	
PdI	0,06		0,06	
Méret (nm)	178,4			176,0
PdI	0,08			0,05

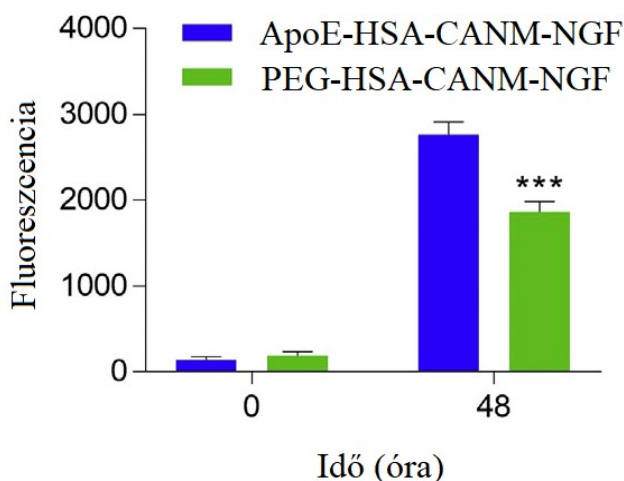


18. ábra: In vitro neurit növekedés patkány embrió PC12 sejteken NGF-et nem tartalmazó (A) és tartalmazó (B) HSA-CANM nanorészecskék hatására.

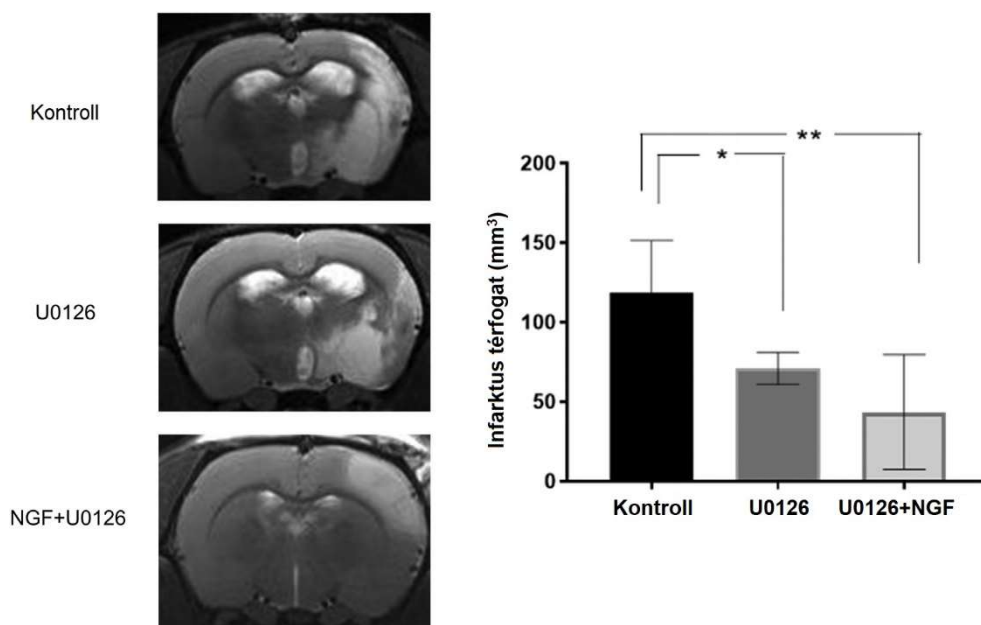
A biológiai aktivitás *in vitro* csökkenését a nanorészecskék késleltetett hatóanyag-felszabadulásával magyaráztuk, melyet a Dr. Matthias Wacker csoportja által fejlesztett dialízis alapú diszperziós hatóanyag kibocsátási technológiával vizsgáltunk bioreleváns közegben [77]. 4 óra elteltével a hatóanyag $18,0 \pm 17,8\%$ -a szabadult fel, ami 6 óra elteltével $32,4 \pm 10,3\%$ -ra növekedett.

Az NGF fehérje gyakorlati alkalmazásának egyik fő akadálya, hogy nem képes a BBB-n áthatolni. A korábbi tanulmányokban az ApoE3-mal borított, a BBB-t bizonyítottan leküzdeni képes nanorészecskék [31] mintájára funkcionalizáltuk az NGF-et tartalmazó teranosztikus nanorészecskéinket. *In vitro* BBB modellen Dr. Saema Ansar csoportjában (Lund University, Lund, Svédország) 48 óra elteltével az ApoE3-mal funkcionalizált HSA-CANM-NGF nanorészecskék BBB-n történő penetrációjának szignifikáns javulását mérték a referencia anyaghoz képest (**19. ábra**).

Kísérleti sztrók *in vivo* kezelését patkány állatokon végezték el szintén Dr. Saema Ansar csoportjában. Az infarktussal érintett terület számottevően lecsökkent a U0126 jelű mitogén-aktivált fehérje kináz inhibitor kezeléssel, azonban ezt a hatóanyagot az általam előállított NGF-et tartalmazó HSA-CANM nanorészecskékkel együttesen alkalmazva még jobb hatást értek el (**20. ábra**).



19. ábra: Fluoreszcens festékekkel jelölt ApoE3 fehérjével borított és pegilált HSA-CANM-NGF nanorészecskék penetrációja modell BBB-n (***) szignifikáns eltérés $p < 0,001$).



20. ábra: Az infarktussal érintett terület MR felvétele és területe a kontroll, U0126 jelű mitogen-aktivált fehérje kináz inhibitor önálló (U0126) és ApoE-HSA-CANM-NGF nanorészecskékkel történő együttes (U0126+NGF) alkalmazása esetén (* szignifikáns eltérés $p < 0,05$).

Idegnövekedési faktort és vas-oxid nanorészecskéket tartalmazó nanoteranosztikum előállítás és funkcionális vizsgálata a vér-agy gáton való átjutás érdekében - összefoglalás

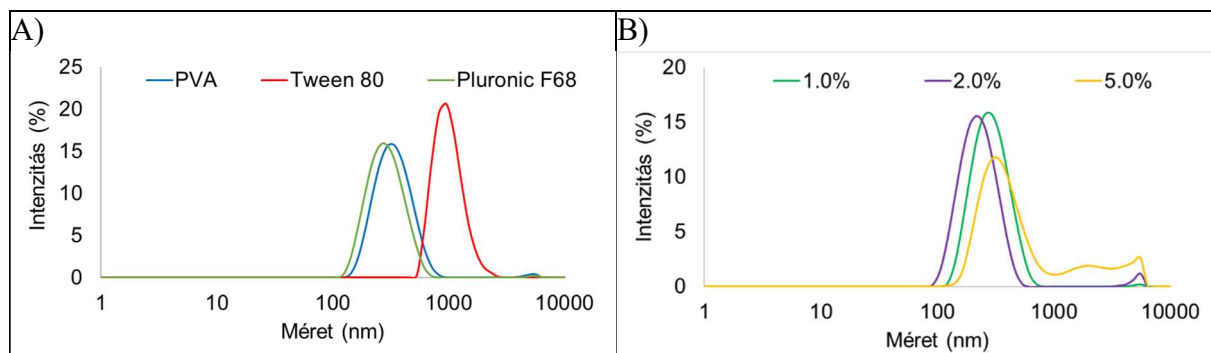
3. tézis: Deszolvatáció módszerével HSA nanorészecskékkel diagnosztikus vas-oxid nanorészecskéket és NGF terápiás fehérjét együttesen mikrokapszuláztam. A kifejlesztett hosszú tárolási stabilitású nanoteranosztikumot ApoE3 fehérjével funkcionálítottam PEG-et tartalmazó keresztkötő reagenssel a vér-agy gáton való penetráció és a vérbeli tartózkodási idő fokozása érdekében. A nanoteranosztikum *in vitro* vér-agy gát modellen hatékony penetrációt mutatott. Az újonnan fejlesztett nanoteranosztikum *in vitro* aktivitása neurit növesztési

kísérletekben PC12 mellékvesevelő-daganat sejteken, az *in vivo* hatékonysága állatkísérletekben tranziens középső agyi artéria elzáródás modellen nyert igazolást.

I.4.2. Szorafenib mikrokapszulázása biokompatibilis polimerekkel

I.4.2.1. Szorafenib mikrokapszulázása polivinil-alkohol polimerrel [K7]

Jól definiált szerkezetű, olefin gyűrűnyitások polimerizációjában metatézissel előállított 4 különböző PVA polimer közül előkísérleteink során a $C/O=5$ és $M_w=1340$ g/mol értékekkel jellemezhető, vízben rosszul oldódó PVA-5 jelű polimert választottuk ki, mely a vizsgált anyagok közül a legalkalmasabbnak bizonyult szorafenib hatóanyag mikrokapszulázására. PVA, poliszorbát 80 és poloxamer (Pluronic F68) emulgeátorok közül a legutóbbi használatával nanoprecipitáció módszerével állítottuk elő a legkisebb nanorészecskéket (**21.A ábra**) magas (82,1%) kapszulázási hatékonysággal és 10,7% hatóanyag-tartalommal 1% (m/V) felületaktív anyag alkalmazása mellett. Ennél az emulgeátor koncentrációnál a méreteloszlásban csak szubmikron méretű részecskék voltak jelen, és nem jelentek meg az aggregálódásra vagy a hatóanyag kristályok kicsapódására utaló nagyobb részecskék (**21.B ábra**). A nanorészecskék átlagmérete 1% (m/V) felületaktív anyag koncentrációnál 271,2 nm-nek adódott monomodális méreteloszlással ($PdI=0,142$).



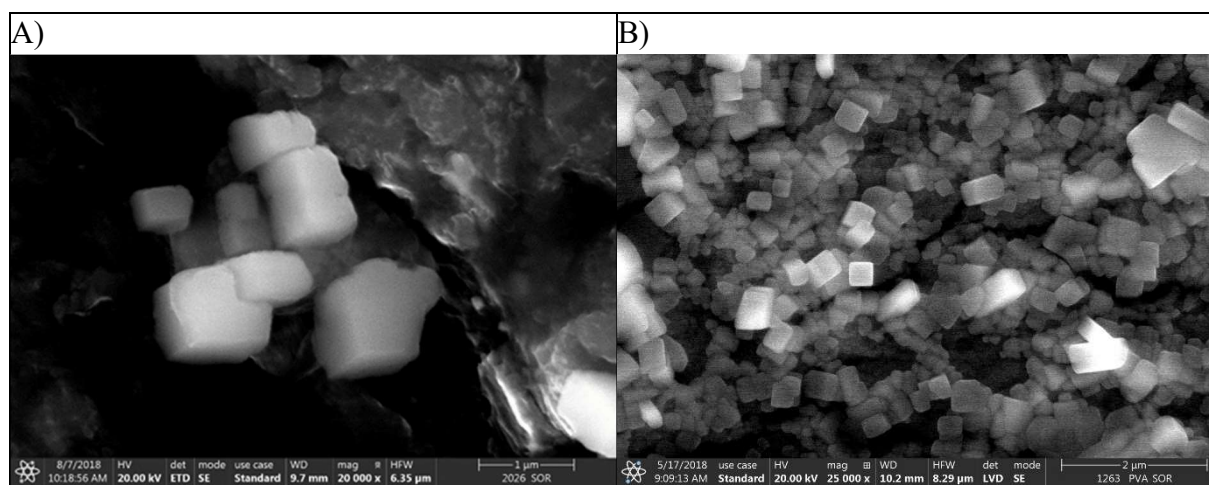
21. ábra: PVA, poliszorbát 80 (Tween 80) és poloxamer (Pluronic F68) emulgeátorokkal (A) és 1,0; 2,0 és 5,0% (m/V) poloxamer felületaktív anyaggal készült (B) PVA-szorafenib nanorészecskék szemcseméret eloszlása.

A PVA-5 polimerbe bezárt szorafenib kapszulázási hatékonysága 2% (m/v) poloxamer koncentrációnál bizonyult a legmagasabbnak, és mivel a részecskék hozama nem változott számottevően a felületaktív anyag koncentrációjának változásakor, a hatóanyagtartalom is ennél a koncentrációnál bizonyult a legmagasabbnak (**6. táblázat**). Tovább növelve az emulgeátor koncentrációt a kapszulázási hatékonyság és a hatóanyagtartalom is jelentősen csökkent, ami a hatóanyag szolubilizálásával magyarázható. A PVA-5 polimerrel mikrokapszulázott szorafenib elektrosztatikusan nem stabilizált (zéta potenciál ~ 0 mV), mégsem aggregálódtak a nanorészecskék, ami a poloxamer sztérikus stabilizálásának köszönhető.

6. táblázat. PVA-5-szorafenib nanorészecskék kapszulázási hatékonysága, hozama és hatóanyagtartalma a poloxamer (Pluronic F68) emulgeátor koncentrációjának függvényében.

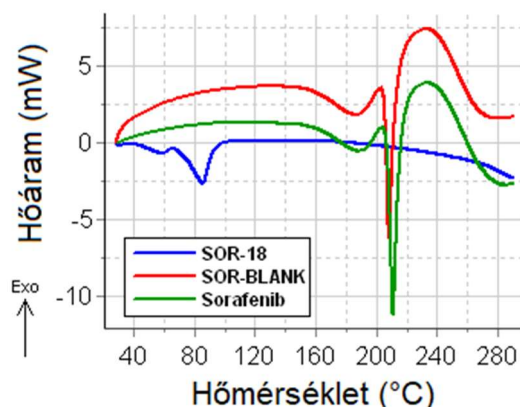
Emulgeátor koncentráció (%)	Kapszulázási hatékonyság (%)	Hozam (%)	Hatóanyagtartalom (%)
0,5	52,2	70,4	6,8
1	82,1	69,4	10,7
2	93,6	71,1	12,0
5	74,7	68,9	9,9

A szorafenib hatóanyag acetonos oldatából precipitálva köbös kristályokban kristályosodik (**22.A ábra**). Rendkívül meglepő módon a PVA-5 polimerrel létrehozott nanorészecskék is köbös alakot vettek fel (**22.B ábra**), ami szokatlan a polimer nanorészecskék esetében, hiszen általában gömb alakot vesznek fel. Míg a szorafenib nanoprecipitációja poloxamer emulgeátorral és kapszulázó polimer nélkül 1,45 μm átlagos méretű kristályokat eredményezett, addig PVA-5 polimerrel együtt az optimalizált átlagos hidrodinamikai átmérő a 225-271 nm tartományban változott, azaz szemben a néhány mikrométer méretű kiindulási hatóanyagkristályokkal a mikrokapszulázás hatására többnyire legalább egy nagyságrenddel kisebb kristályok keletkeztek.



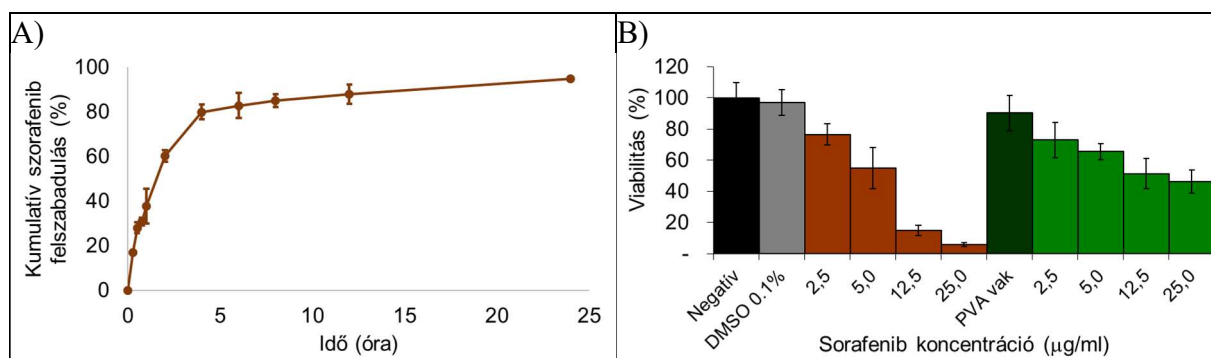
22. ábra: Szorafenib nanoprecipitációjával poloxamer emulgeátor jelenlétében készült kristályok (A) és PVA-5 kapszulázó polimer jelenlétében létrejövő polimer részecskék.

DSC vizsgálatok is megmutatták, hogy a PVA-5 polimerrel mikrokapszulázott szorafenib kristályos állapotban volt. A nanoprecipitált szorafenib hasonló termogrammal jellemezhető, mint a kereskedelmi forgalomban kapható tiszta hatóanyag (**23. ábra**). A két átfedő csúcs két különböző polimorfra utalt: a nagyobb és keskeny endoterma a stabilabb, míg a széles csúcs a kevésbé stabil formáé. Ezek a csúcsok a PVA-5 polimerrel mikrokapszulázott szorafenib termogramján is láthatók, azonban jelentős eltolódással, ami megerősíti a SEM-en is felfedezhető nanokristályok képződését (**22. B ábra**).



23. ábra: A kiindulási szorafenib hatóanyag (Sorafenib), a poloxamer emulgeátor jelenlétében a nanoprecipitációjával készült kristályok (SOR-BLANK) és a PVA-5 polimerrel mikrokapszulázott szorafenib (SOR-18) DSC-je.

Bioreleváns *in vitro* tesztben emberi vérplazmában a szorafenib egy napon át tartó nyújtott hatóanyag-leadását tapasztaltuk a PVA-5 nanorészecskékből (**24.A ábra**). HT-29 vastagbél karcinóma sejtvonalon végzett vizsgálatban a sejtek mindegyikében megjelent a fluoreszcens festékekkel jelölt PVA-5-szorafenib nanorészecske, ami azok hatékony bekebelezésére utalt. Ugyanezen a sejtvonalon végzett citotoxicitási tesztekben a hordozó PVA-5 polimer nem gátolta a sejtek szaporodását, azaz biokompatibilisnek bizonyult, míg a hatóanyagot tartalmazó nanorészecskék koncentrációfüggő citotoxicitást mutattak, ami a hatóanyag oldatához képest mérsékeltebb maradt (**24.B ábra**).



24. ábra: Kumulatív szorafenib kioldódás PVA-5 nanorészecskékből (A) és HT-29 ráksejteken végzett MTT citotoxicitási teszt (B) a hatóanyag oldatával (barna szín) és a szorafenibet tartalmazó PVA-5 nanorészecskékkel (zöld szín).

1.4.2.2. Szorafenib kemoterapeutikumot és Gd-DTPA MRI kontrasztanyagot tartalmazó PLGA és PEG-PLGA alapú nanoteranosztikumok [K8]

Szorafenib hatóanyagot és Gd-DTPA MRI kontrasztanyagot tartalmazó PLGA és PEG-PLGA alapú nanoteranosztikumokat fejlesztettem különböző előállítási módszerekkel. Ez a két biokompatibilis polimer jól ismert és az egyik legtöbbet vizsgált anyag a szerves gyógyszerhordozó nanorészecskék körében, mégis szorafenib hatóanyagot a mi kutatásaink előtt kevés csoport mikrokapszulázott ezekkel a hordozó anyagokkal. Az általam alkalmazott

anyagokhoz és módszerekhez hasonlóval Lin és mtsai [78] kísérleteztek. Az ő vizsgálataikhoz képest a legfontosabb újdonság a Gd-ot tartalmazó MRI kontrasztanyagok a gyógyszerhordozó nanoterapeutikumhoz való rendelése volt, és így a terápiás funkciót kiegészítettem a nanorészecskék diagnosztikus szerepével is. A cél elérése érdekében többféle előállítási módszert is alkalmaztam, úgy, mint nanoprecipitáció, o/v emulzió - oldószer elpárologtatás és az összetett emulzió - oldószer elpárologtatás; melyek közül a nanoprecipitáció és az összetett emulzió - oldószer elpárologtatás a korábbiakhoz képest szintén új eredményeket hozott az adott anyagi rendszerben.

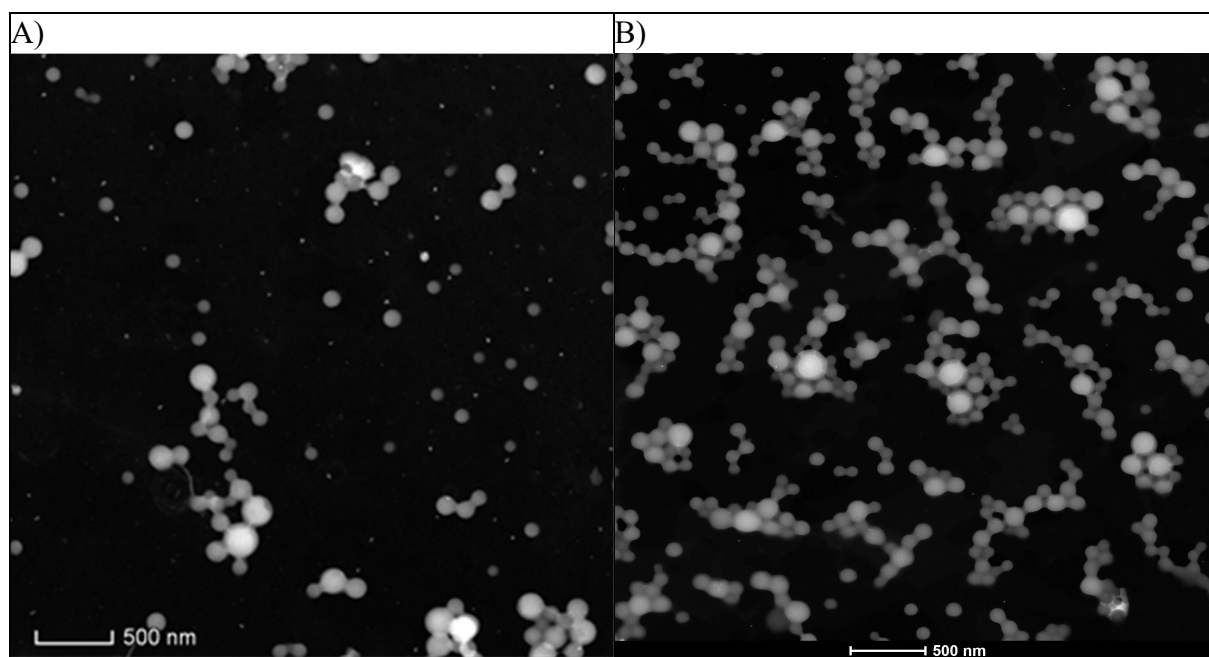
Számos emulgeátor alkalmazásánál (Triton X-100, poloxamer: Pluronic® F127, poliszorbát 80) a szorafenibet tartalmazó PLGA vagy a PEG-PLGA nanorészecskék aggregálódtak, vagy nagyon alacsony hozammal (<40%) és kapszulázási hatékonysággal (<40%) képződtek a nanoprecipitációs eljárás során. Az aggregálódás oka a felületaktív anyag nem megfelelő diszpergáló hatása, míg az alacsony hozam és kapszulázási hatékonyság éppen ellenkezőleg, a túl erős emulgeálás és szolubilizálás eredménye. Az o/v emulzió - oldószer elpárologtatás módszerével előállított szorafenibet tartalmazó (PEG-)PLGA nanorészecskéket sokrétű polimer hordozóval és a nanoprecipitációs módszernél tapasztaltaknál lényegesen kedvezőbb tulajdonságokkal készítettem el. A szerves fázisban 10 mg/ml polimer koncentráció és a polimerhez viszonyított 10% (m/m) kiindulási hatóanyag-koncentráció mellett mind a 3 vizsgált polimerrel 1% (m/m) és 2% (m/m) PVA koncentráció mellett 70,4 – 78,8% kapszulázási hatékonyságot értem el, a hatóanyag-tartalom 8,9% és 12,0% között változott egymódusú monodiszperz méreteloszlással (7. táblázat).

7. táblázat. Szorafenibet tartalmazó PLGA (RG 502H és RG 752H) és PEG-PLGA (RGP d5055) nanorészecskék eredmény paraméterei.

Polimer	RG 502H	RG 752H	RGP d5055	RG 502H	RG 752H	RGP d5055
PVA (% m/V)	1	1	1	2	2	2
Z _{avg} (nm)	235 ± 2,0	227,7 ± 3,3	228,3 ± 8,0	231,4 ± 15,6	231,3 ± 30,1	243,4 ± 40,4
PdI	0,14 ± 0,04	0,18 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,15 ± 0,06	0,19 ± 0,04	0,15 ± 0,14
Kapsz. hat. (%)	70,4 ± 3,5	76,2 ± 2,1	76,7 ± 2,6	78,8 ± 4,4	76,6 ± 2,7	75,2 ± 6,7
SOR tartalom (%)	9,0 ± 0,5	10,2 ± 0,3	10,0 ± 0,4	12,0 ± 0,2	11,2 ± 0,1	8,9 ± 0,4
Zéta potenciál (mV)	-21,3 ± 2,4	-22,4 ± 2,4	-19,7 ± 1,1	-19,8 ± 3,3	-22,2 ± 1,8	-19,5 ± 1,6

A legkisebb mérettel és az azonos körülmények között előállított nanorészecskék legnagyobb kapszulázási hatékonyságával a Resomer® RG 752H PLGA (a továbbiakban RG 752H) és a Resomer® RGP d5055 PEG-PLGA (a továbbiakban RGP d5055) hordozókkal készített nanorészecskék bírtak, így ezeket választottam ki a toxikológiai és biológiai vizsgálatokra. Annak érdekében, hogy a Gd-DTPA komplexet a részecskék felszínéhez kössem, amino csoportokat juttattam azok felületére. Első megközelítésben ezt úgy értem el, hogy o/v emulzió - oldószer elpárologtatás során keletkezett szorafenibet magukban foglaló nanorészecskék felületéhez EDC-vel való aktiválás (8. ábra) után HSA-t kapcsoltam kovalens

kötéssel. Ennek eredményeképpen RG 752H hordozópolimernél $1,0 \pm 0,3\%$, míg RGP d5055 esetében $1,9 \pm 0,5\%$ felszínhez kötött HSA tartalmat mértem a részecskék tömegéhez viszonyítva. Mivel ezt nem találtam elégségesnek, egy másik megközelítésben összetett emulzió - oldószer elpárologtatási eljárásban szorafenib hatóanyag mellett HSA-t mikrokapszuláztam a polimer nanorészecskékbe. Ezáltal az o/v emulzió - oldószer elpárologtatás módszerével kapott részecskékhez képest hozzávetőleg 10%-kal kisebb átlagos részecskeméreteket tapasztaltam RG 752H (átlagos átmérő: 210,6 nm, PDI: 0,113) és RGP d5055 (átlagos átmérő: 210,3 nm, PDI 0,099) polimerekkel. A méret csökkenése a rendszerbe bevezetett fehérje addicionális emulgeáló hatásának tulajdonítható, a nanorészecskék szabályos gömbalakot mutattak (**25. ábra**). A nanorészecskék HSA tartalma RG 752H PLGA esetén $10,6 \pm 1,1\%$, RGP d5055 esetén $9,4 \pm 1,2\%$ volt.



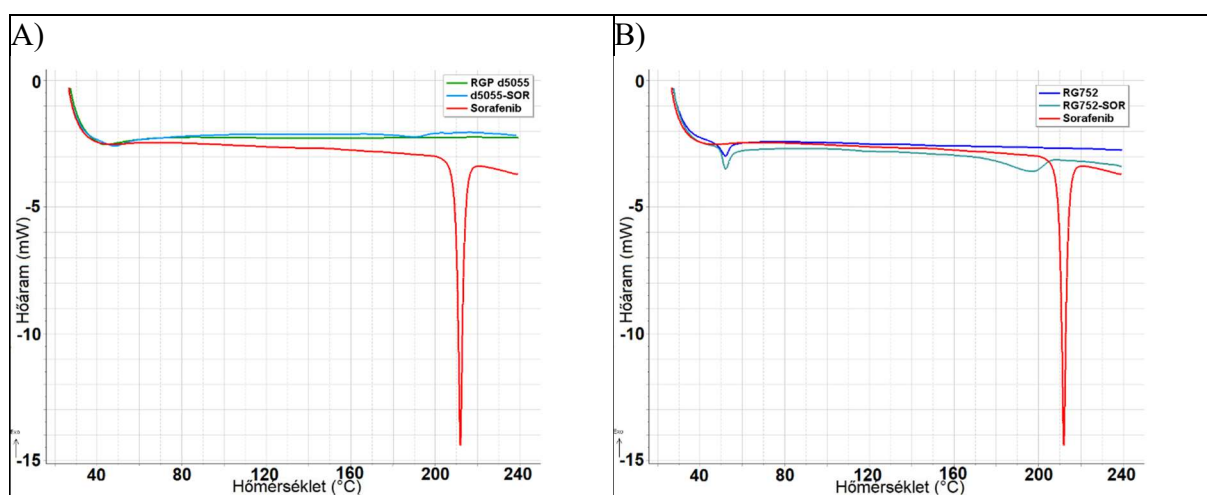
25. ábra: Összetett emulzió - oldószer elpárologtatással előállított, HSA-t és szorafenib hatóanyagot tartalmazó RG 752H (A) és RGP d5055 (B) nanorészecskék pásztázó-transzmissziós elektron mikroszkópos felvételei.

A Gd-DTPA diagnosztikai komplexet EDC-vel való aktiválás után (**8. ábra**) a HSA-t mikrokapszulázott vagy felületéhez kötött állapotban tartalmazó, szorafenib hatóanyag-hordozó RG 752H és RGP d5055 nanorészecskékhez rögzítettem. A felszíni HSA rögzítés és azt követő Gd kapcsolás alacsony $1,5 \text{ mg / g}$ RG 752H és $1,4 \text{ mg / g}$ RGP d5055 Gd koncentrációt eredményezett. A HSA-nak a polimer mátrixban történő mikrokapszulázásával ehhez képest lényegesen magasabb Gd koncentrációt értem el ($2,3 \text{ mg Gd / g}$ RG 752H, $3,2 \text{ mg Gd / g}$ RGP d5055). Mivel az ily módon nanorészecskékhez rögzített Gd koncentrációját sem tartottuk elegendőnek, ezért a Ratzinger és mtsai [79] által már PLGA nanorészecskéken más célból alkalmazott eljárást adaptáltam, melyben polietilén-imin rögzítésével a felszíni szabad amino csoportok számának jelentős növelése miatt a rögzített Gd koncentráció lényegesen megemelhető. Ezzel a módszerrel maximálisan $15,7 \text{ mg Gd/g}$ RG 752H és $10,7 \text{ mg Gd/g}$ RGP

d5055 koncentrációt értem el a szorafenibet hordozó nanorészecskék felületén az ICP vizsgálatok tanúsága szerint. RG 752H és RGP d5055 polimerekkel készített hozzávetőleg 10% (m/m) hatóanyag-tartalmú nanoteranosztikumok 3% (m/V) trehalóz lioprotektor jelenlétében aggregálódás nélkül visszadiszpergálhatóak maradtak 6 hónap hűtőszekrényben történő tárolás után is.

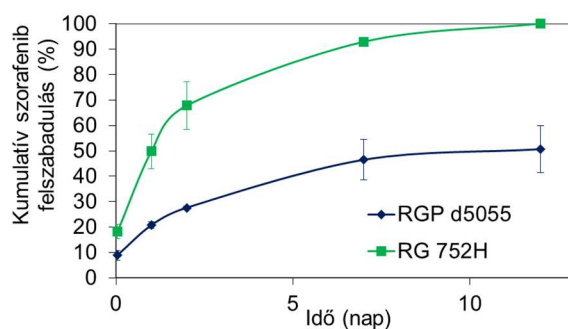
Az *in vitro* MRI vizsgálatokhoz referenciaként a kereskedelmi forgalomban kapható Magnevist® kontrasztanyag vizes oldatát használtuk. 0,02-0,3 mg/ml tartományban a Gd-mal jelölt PLGA és PEG-PLGA nanorészecskéink esetében is lineáris korrelációt ($R^2 = 0,9724$) találtunk a Gd koncentráció és az MRI jel között. Egy korábbi munkában HSA hordozó anyaggal 4,7-8,5 mg Gd/g nanorészecske kontrasztanyag koncentráció esetén [80] megfelelően magas MRI jelet mértek kísérleti állatokban, ami arra utal, hogy az általam előállított hozzávetőleg kétszeres Gd koncentrációjú nanoteranosztikumok is alkalmas *in vivo* MRI kontrasztanyag hordozó rendszerek lehetnek, bár ennek *in vivo* kísérleti igazolása nem történt meg.

A DSC vizsgálatok tanúsága szerint a szorafenib hatóanyag olvadáspontja 211,9 °C, 88,5 J/g olvadáshővel (**26. ábra**). A PEG-PLGA (RGP d5055) polimer 240 °C-ig termikusan stabil (**26.A ábra**). Ezzel a polimerrel kapszulázva a szorafenibet, a hatóanyag olvadáspontja 190,8 °C, a mért olvadáshő 3,8 J/g (**26.A ábra**). Figyelembe véve, hogy ezekben a nanorészecskékben 8,9% (m/m) hatóanyag-tartalmat mértünk (**7. táblázat**), a kapszulázott hatóanyag hozzávetőleg 50 %-a kristályos állapotú, a másik fele pedig amorf. A PLGA polimer (RG 752H) a DSC szerint már 52,0 °C-on megolvad (**26.B ábra**). A RG 752H polimerrel készített, szorafenibet tartalmazó nanorészecskékben a polimer olvadási endotermája ugyanott megjelenik a DSC vizsgálatban, ahol a tiszta polimeré, ugyanakkor a szorafenib olvadáspontja 197,5 °C-ra tolódik (**26.B ábra**). Az RG 752H-val mikrokapszulázott hatóanyag olvadáshő értéke a teljes hatóanyag-tartalom kristályos állapotára utalt, de ennek egyértelmű igazolására XRD vizsgálatra lenne szükség.



26. ábra: A kiindulási szorafenib hatóanyag (Sorafenib) a polimerek (RGP d5055, RG752), illetve PEG-PLGA (d5055-SOR) (A) és PLGA (RG752) (B) kapszulázó polimerrel mikrokapszulázott szorafenib DSC-je.

A SEM vizsgálatokban nagyobb méretű szorafenib kristályok egyáltalán nem jelentek meg (**25. ábra**), így arra lehet következtetni, hogy a PLGA és PEG-PLGA polimerekkel mikrokapszulázott, kristályos állapotban lévő hatóanyag kristályai is legalább egy nagyságrenddel kisebbek (nanokristályok), mint a polimer nélküli precipitációval létrehozható hatóanyagkristályok (**22.A ábra**). Humán vérplazmában végzett hatóanyag-felszabadulási vizsgálataink azt mutatták, hogy az RG 752H polimerből a szorafenib lényegesen kisebb kezdeti burst kibocsátást szenved el, mint az RG 502H, ezért az RGP d5055 mellett ezt a polimert alkalmaztuk a kísérletekben. Az optimális fiziko-kémiai tulajdonságokkal rendelkező gyógyszerhordozó nanorészecskék bioreleváns körülmények között, vérplazmában alacsony burst hatást produkáltak: RG 752H: $18,2 \pm 2,9\%$, RGP d5055: $8,8 \pm 2,1\%$. A PLGA polimer nanorészecskékből 12 nap alatt a teljes szorafenib-tartalom fokozatosan felszabadult, ezzel szemben a PEG-PLGA polimer hatóanyag-leadása $50,6 \pm 9,2\%$ értéken tetőzött (**27. ábra**). A DSC vizsgálatok arra utalnak, hogy a csak kristályos hatóanyagot tartalmazó PLGA polimerből (RG 752H) a kezdeti szakaszban - amikor még a polimer degradációja nem játszhat lényeges szerepet a kioldódásban - is sokkal gyorsabb a kioldódás, mint az amorf hatóanyagot is tartalmazó PEG-PLGA polimerből. Ez összhangban van azzal, hogy a szintén csak kristályos fázisú szorafenibet tartalmazó PVA-5 polimerből is gyors hatóanyagfelszabadulást tapasztaltunk.



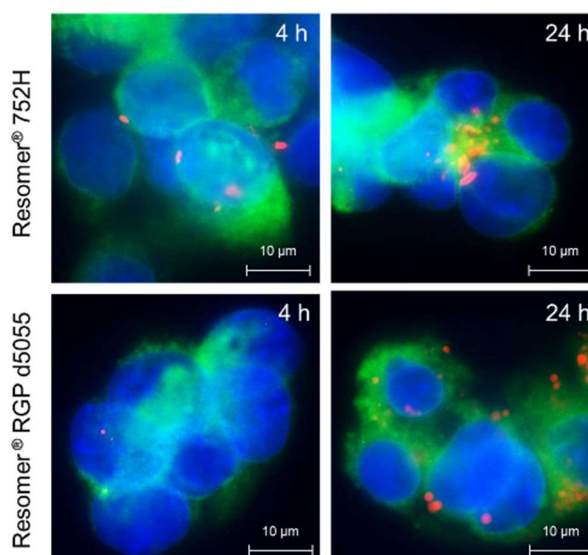
27. ábra: Kumulatív szorafenib kioldódás PLGA (RG 752H) és PEG-PLGA (RGP d5055) nanorészecskékből.

A nanorészecskék HepG2 HCC sejtek által történő felvételére és a citotoxicitási vizsgálatokra o/v emulziós módszerrel állítottuk elő a nanorészecskéket, és cianin-5-amin fluoreszcens festéket kötöttünk a felületükhöz. A nanorészecskék bekebelezését és a sejten belüli lokalizációt fluoreszcens mikroszkóppal mutattuk meg. A felvételek tanúsága szerint a PLGA nanorészecskék nagyobb arányban a sejtmag körül az aggregált nanorészecskék a sejtmembránon belül, a sejtmag körül helyezkedtek el (**28. ábra**).

A várakozásoknak megfelelően az áramlási citometria vizsgálatok szerint a pegilált RGP d5055 polimerből készült gyógyszerhordozó nanorészecskéket lényegesen kisebb arányban vették fel a ráksejtek ($3,9 \pm 3,3\%$), mint az RG 752H polimerrel létrehozott nanoterapeutikumokat ($49,9 \pm 4,9\%$).

A nanorészecskék citotoxicitását HepG2 HCC sejteken vizsgáltuk. A hatóanyagot nem tartalmazó nanorészecskék mind a két hordozó polimer esetén nem mutattak toxicitást, míg a szorafenibet magukba foglaló nanorészecskék a hatóanyag-koncentráció emelésével növekvő

toxicitást mutattak. A PEG-PLGA nanorészecskék citotoxicitása minden koncentrációnál nagyobb volt a PLGA részecskéknél, ami meglepő a sejtfelvételi és hatóanyag-felszabadulási eredmények tükrében. Feltételezhető, hogy a hatóanyag-felszabadulás a ráksejtek közegében és jelenlétében más jellegű, mint a modell kioldódási közegben. Ezek az eredmények is megerősítették, hogy mindenképpen fontos többféle közegben is megvizsgálni a hatóanyag-felszabadulást, ugyanakkor a gyógyszerfejlesztés során végső soron az *in vivo* vizsgálatok elkerülhetetlenek.



28. ábra: Cianin-5-amin fluoreszcens festékekkel jelölt szorafenibet tartalmazó RG 752H és RGP d5055 nanorészecskék internalizációja HepG2 HCC sejtekbe. A nanorészecskék vörös színnel látszanak, a membrán Alexa488 concanavalin A (zöld), a sejtmagok 4',6-diamidino-2-fenilindol (kék) festést kaptak.

Szorafenib kemoterapeutikum mikrokapszulázása biokompatibilis polimerekkel - összefoglalás

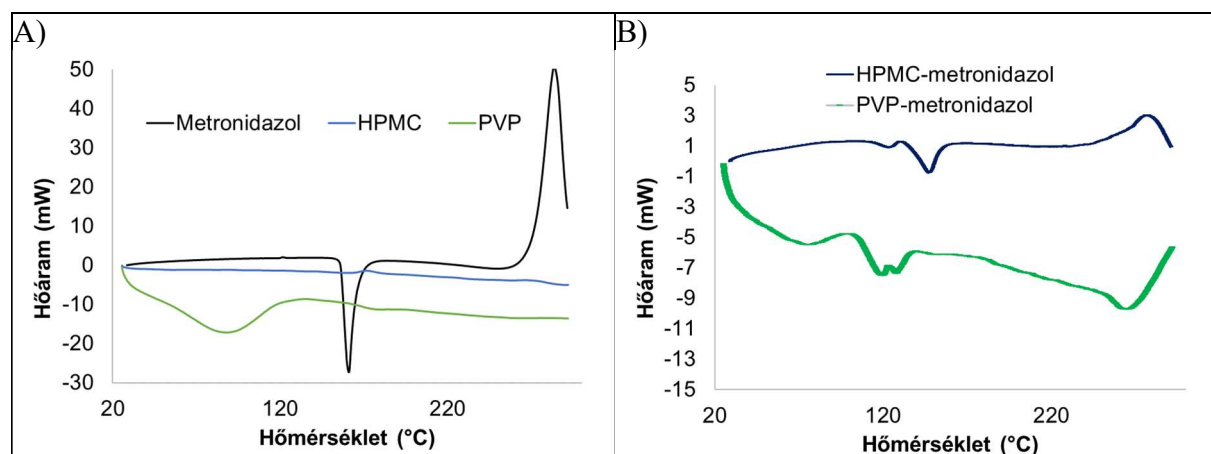
4. tézis: Szorafenib hatóanyagot új típusú, metatézissel szintetizált, vízben nem oldódó polivinil-alkohol polimerrel (PVA-5) nanoprecipitációs eljárásban mikrokapszuláztunk. Bizonyítottam, hogy a kristályos hatóanyag a mikrokapszulázás hatására a polimer hordozó mátrixban nanokristályokká alakult. Szorafenib hatóanyaggal, kétféle PLGA és egy PEG-PLGA kapszulázó polimerrel teranosztikus nanorészecskéket emulziós módszerekkel állítottam elő magas szorafenib-tartalommal (8,9-12,0%) és kapszulázási hatékonysággal (70,4-78,8%). Igazoltam, hogy a nanorészecskék felületét polietilén-iminnel borítva, a szabad amino csoportokhoz Gd-DTPA kontrasztanyagot kötve erős MR jelet mutató diagnosztikus nanoanyagot fejlesztettem. *In vitro* hatóanyag kioldódási vizsgálatban a nanokristályos szorafenib egy nap alatt felszabadult a PVA-5 nanorészecskékből. Ezzel szemben, bár a PLGA polimerrel kapszulázott szorafenib is teljes mértékben nanokristályos állapotú, több napon át tartó nyújtott, míg a nanokristályos és amorf hatóanyagot is tartalmazó PEG-PLGA polimerben bezárt hatóanyag még inkább elnyújtott kioldódással jellemezhető.

1.4.3. Biokompatibilis polimer részecskék előállítása porlasztva szárítással

1.4.3.1. Metronidazol hatóanyag formulálása porlasztva szárítással [K9]

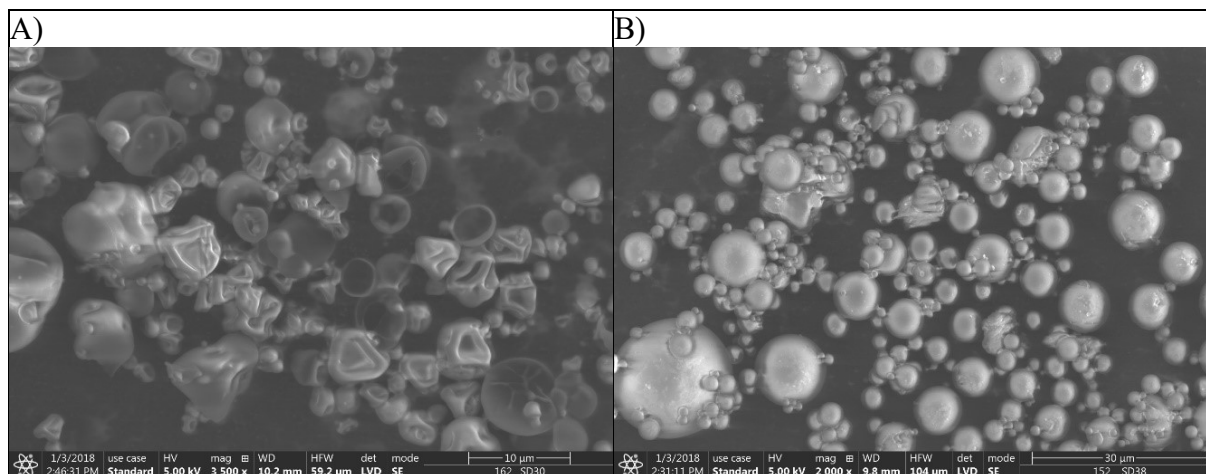
A modellanyagának választott kristályos metronidazol hatóanyagot porlasztva szárítással oldatokból HPMC és PVP polimerekbe mikrokapszuláztuk abból a célból, hogy potenciálisan jobb biohasznosulású gyógyszerösszetevőt hozzunk létre. A PVP viszkozitása a HPMC-nél jóval kisebb azonos koncentrációjú oldatokat összevetve, ezért a PVP szélesebb polimerkoncentráció tartományban alkalmazható, mivel a Büchi B-90 porlasztva szárító készülék jellemzően 10 mPa·s-nál nagyobb viszkozitású oldatokat nem képes porlasztani. A hatóanyag segédanyag nélkül való porlasztva szárítása nehezen kezelhető, ragadós terméket eredményezett. A porlasztva szárított hatóanyag hőáramlási görbéjén két csúcs látható (**29.A ábra**): az első éles csúcs 160 és 175 °C között a hatóanyag olvadásának, míg a második csúcs (284 °C) az olvadt anyag bomlásának felel meg.

A segédanyagokkal (HPMC, PVP) porlasztva szárított mikrorészecskék termikus vizsgálatában megfigyelt olvadási endoterma arra utalt, hogy a hatóanyag kristályos állapotban diszpergálódott az amorf polimer hordozóban (**29.B ábra**). Az olvadás a polimerrel szárított minták esetében lényegesen alacsonyabb hőmérséklet intervallumban (108,8-159,0 °C) következett be, mint a polimer nélkül szárított hatóanyag esetében (157,5-166,3 °C). A HPMC-metronidazol porlasztva szárított termékekben a hatóanyag olvadása két endoterm csúcs formájában jelent meg a termogramon 99,1 és 160,0 °C között. Feltételezve, hogy az olvadáspont a kristályméret csökkenése miatt csökkent, az első endoterma a kisebb kristályok olvadásának felelt meg, míg a második nagyobb endoterma a nagyobb kristályfrakció olvadásának eredménye. Az első csúcs nagyobb aránya nagyobb számú kisebb kristályt jelent. Az első és második olvadási endoterma csúcs arányát a szárítási körülmények határozták meg. A porlasztás során előidézett nagyobb párolgási sebesség az első csúcs arányát növelte meg, ami a kristályméret és ezáltal az olvadáspont csökkenésének az eredménye. A hordozóval porlasztva szárított metronidazol olvadáspont csökkenését a kristallit méret csökkenése okozta. Ennek további igazolására a porlasztott anyaggal azonos összetételű polimer-metronidazol keveréket is készítettünk. A fizikai keverék olvadáspontja (160,5 °C) gyakorlatilag megegyezett a hordozó nélkül szárított hatóanyag olvadáspontjával (160,3 °C).



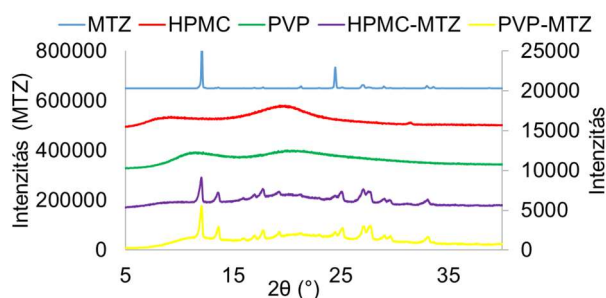
29. ábra: Metronidazol, HPMC, PVP, porlasztva szárított HPMC-metronidazol és PVP-metronidazol DSC termogramjai.

A PVP hordozóval készült porok esetében a két különböző olvadáspont nem különült el egyértelműen a DSC görbéken. Ennek oka lehet a hatóanyag eltérő kölcsönhatása a különböző hordozóanyagokkal, illetve a polimerek különböző szilárdulási folyamata. Ez utóbbira utal a különböző részecske alak is: a metronidazol a HPMC-vel behorpadt, a PVP-vel szabályos gömb alakú részecskéket alkotott (**30. ábra**).



30. ábra: Porlasztva szárított HPMC-metronidazol (A) és PVP-metronidazol (B) szemcsék SEM felvétele.

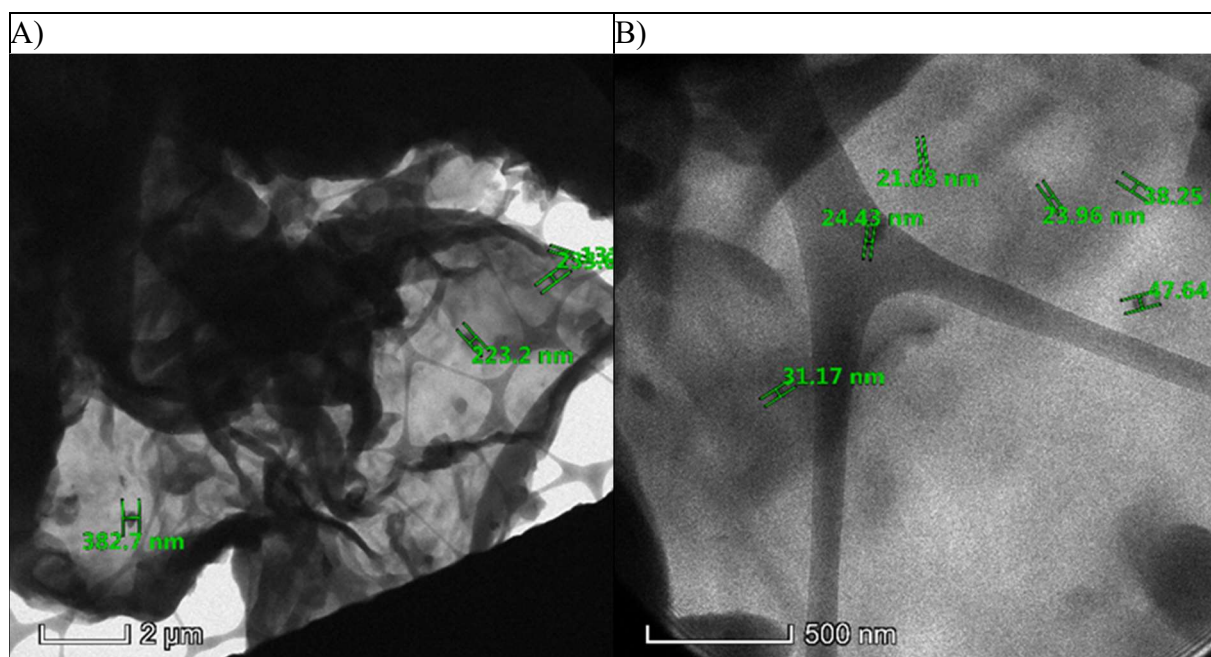
Az XRD eredmények szintén megerősítették, hogy a metronidazol kristályos állapotban volt jelen a porlasztva szárított termékekben mind a HPMC, mind a PVP hordozó alkalmazása esetén (**31. ábra**). A tiszta hatóanyaghoz képest a csúcsok kiszélesedése is megfigyelhető, aminek feltételezett oka a kristálméret csökkenése, ami az olvadáspontot is csökkentti [81]. A Scherrer-egyenlet a röntgendiffrakcióban és a krisztallográfiában alkalmazott képlet, amely a szilárd anyagban lévő szubmikrométeres krisztallitok méretét a diffrakciós minta csúcsának kiszélesedéséből vezeti le. E szerint a hatóanyag kristályaira 19-87 nm doménméretek számíthatók, amit a TEM felvételek is alátámasztottak (**32. ábra**).



31. ábra: Metronidazol, HPMC és PVP hordozóanyagok és a polimer segédanyagokkal porlasztva szárított hatóanyag XRD spektrumai.

A HPMC hordozó polimerrel porlasztott porokban a kristályos fázis aránya a teljes hatóanyag-tartalomhoz viszonyítva 50,2-87,1%, míg a PVP polimerrel ez az arány 35,0-50,0% tartományban változott a porlasztott oldat összetételének és az eljárás körülményeinek függvényében.

A TEM felvételeken nagyobb (200-400 nm) (**32. ábra**) és jóval kisebb (20-50 nm) (**32.B ábra**) kristályok is láthatók, amely utóbbiakat az XRD vizsgálatokban számítható koherens szórési domén méreteiben is megfigyeltünk. A kis metronidazol-kristályok sötét foltokként láthatók a TEM-en, mivel a kristályok sokkal több elektront szórnak, mint az amorf polimer, amely nem mutat rendezettséget. Az XRD és DSC mérések alátámasztották, hogy a termékekben a kapszulázott metronidazol részben nanokristályos, részben molekulárisan diszpergált formában fordult elő mindkét amorf polimer mátrixban. A méretstabilizált nanoszerkezetű gyógyszer-mikroszemcséket az elterjedt gyakorlat szerint többnyire két vagy több egymást követő lépésben hozzák létre, pl. nanoprecipitációt követően porlasztva szárítással [82]. Ezzel szemben a porlasztva szárítással a nanoformulálást egy lépésben valósítottuk meg.



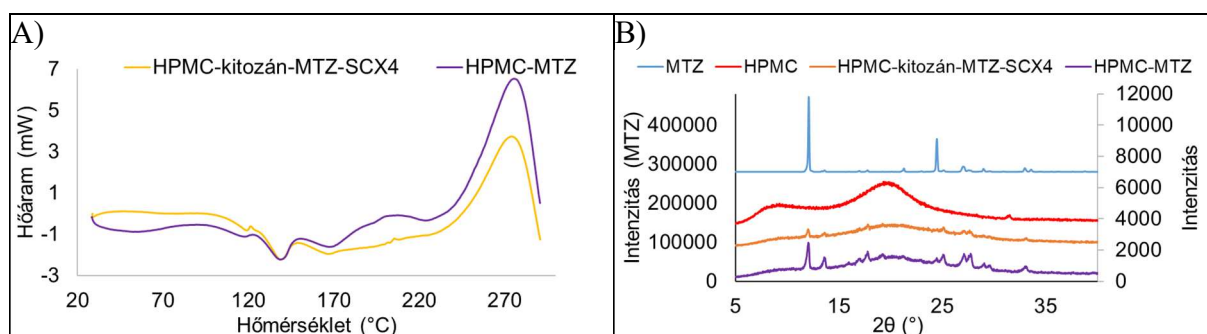
32. ábra: HPMC-metronidazol TEM felvételei.

1.4.3.2. Metronidazol tartalmú nanoszuszpenzió porlasztva szárítása [K10]

A porlasztva szárítás a nanoszuszpenziók stabilizálására használt ígéretes eljárások egyike. A biológiai hozzáférhetőség további fokozása érdekében metronidazol-4-szulfonatokalix[4]arén (SCX4) inklúziós komplexet kitozánnal reagáltatva önszerveződéssel nanoszuszpenzió jött létre, amelyet porlasztva szárítottunk. Ennek a munkának az egyik fő újdonsága, hogy kalixarén-komplexekből tudomásunk szerint még nem állítottak elő mikrométeres mérettartományba eső szilárd diszperziókat porlasztva szárítási eljárással. Az elkészített nanoszuszpenzióban HPMC polimer segédanyaggal kerültük el a tiszta hatóanyag szárításánál fellépő nagymértékű összetapadást.

A SCX4 makrociklus molekulárisan kapszulázta a metronidazol protonált formáját. A multianionos metronidazol-SCX4 komplexek a polikationos protonált kitozán polimerrel nanorészecskékké szerveződtek. A HPMC segédanyaggal porlasztva szárított hatóanyag és szintén ezzel a polimerrel formulált kitozán-metronidazol-SCX4 nanorészecskék hasonló

olvadási endotermákat mutattak a DSC vizsgálatokban (**33.A ábra**). Az 1. maximumok lényegesen alacsonyabb hőmérsékleten jelentek meg (138,9 °C HPMC-metronidazol és 138,6 °C HPMC-kitozán-metronidazol-SCX4 esetén), mint a hatóanyag olvadáspontja (161,0 °C, lásd még **29. ábra**). A többszörös olvadási csúcsok különböző méretű kristályokra vagy eltérő morfológiára vezethetők vissza [83]. Az első endoterm csúcsnál megfigyelhető kisebb olvadáspont a kristályméret csökkenésének, míg a második nagyobb endoterm csúcs a nagyobb kristályfrakció olvadásának következménye volt. A hatóanyag bomlásának csúcsa hozzávetőleg 10 °C-kal alacsonyabb hőmérsékleten jelentkezett mind a HPMC-vel oldatból (275 °C), mind a molekulárisan kapszulázott kitozán komplexből porlasztva szárított mikrorészecskék (274 °C) esetében a hordozó nélkül szárított metronidazolhoz képest (284 °C).



33. ábra: Porlasztva szárított HPMC-kitozán-metronidazol-SCX4 (HPMC-kitozán-MTZ-SCX4) és HPMC-metronidazol (HPMC-MTZ) minták DSC termogramjai és XRD spektumai.

A hatóanyag amorf vagy kristályos állapotát XRD-vel vizsgáltuk. Az amorf hatóanyag forma hatékonyabb az oldhatóság fokozása és a biológiai hozzáférhetőség tekintetében, míg a kristályos forma jobb fizikai stabilitással rendelkezik. Az XRD felvételek legalább részleges kristályos állapotot jeleztek a metronidazol porlasztva szárított termékében (**33.B ábra**). A metronidazol csúcsintenzitásai alapján arra lehetett következtetni, hogy a hatóanyag amorf/molekulárisan diszpergált formája nagyobb mennyiségben volt jelen a szupramolekuláris komplex szuszpenziójából porlasztva szárított HPMC-kitozán-metronidazol-SCX4 termékben, mint a porlasztva szárított HPMC-metronidazol porban. Ennek oka, hogy a pozitív töltésű polikationos protonált kitozán nanorészecskék elektrosztatikusan taszítják a feleslegben lévő pozitív töltésű hatóanyagot (ugyanis a hatóanyag csak egy kisebb része van jelen multianionos metronidazol-SCX4 komplexek formájában), ezzel is gátolva annak kristályosodását. A feleslegben lévő protonált metronidazol a disszociált sav kloridjával a hatóanyag hidroklorid formáját hozta létre a savas közegben. Az oldatból történő szárítás során pozitív töltésű nanorészecskék hiányában a metronidazol affinitása kicsi a negatív töltésű kloridionokhoz, ezért nagyobb mennyiségű és krisztallitméretű kristályos termék keletkezett. A porlasztva szárított HPMC-kitozán-metronidazol-SCX4 termékben a hatóanyag részben stabil kristályos, részben molekulárisan diszpergált formáját mutattuk ki.

Porlasztva szárítással metronidazol hatóanyagot tartalmazó biokompatibilis polimer mikrorészecskék előállításának kidolgozása - összefoglalás

5.1. tézis: Metronidazol hatóanyagot porlasztva szárítás módszerével oldatokból hidroxipropilmetilcellulóz (HPMC) és polivinil-pirrolidon (PVP) polimerekkel mikrokapszuláltunk. Bebizonyítottuk, hogy a hordozóanyagok alkalmazása a hatóanyag kristályméretének, és ennek következtében az olvadáspontjának csökkenéséhez vezetett. Az olvadáspont csökkenést az XRD-n tapasztalt csúcscsúszésedés is alátámasztotta. A DSC, XRD és TEM analízis eredményeit figyelembe véve megállapítottuk, hogy a porlasztva szárítással HPMC vagy PVP hordozóanyaggal előállított metronidazol-polimer mikrorészecskék nanostrukturált szilárd diszperziók, amelyekben a hatóanyag nanokristályok és molekulárisan diszpergált formában volt jelen el az amorf polimer mátrixban.

A polikationos protonált kitozán polimerrel nanorészecskékké önszerveződő multianionos metronidazol-4-szulfonatokalix[4]arén (SCX4) komplexek szuszpenzióját HPMC polimer segédanyaggal porlasztva szárítottuk szilárd mikrorészecskék előállítása érdekében. A keletkező szilárd diszperzióban a DSC és XRD analízis szerint a nanorészecskét is tartalmazó HPMC polimer mátrix a metronidazol részben kristályos, részben molekulárisan diszpergált formában tartalmazta. Megmutattuk, hogy a metronidazol-SCX4-kitozán nanorészecskeszuszpenzióból szárított termékben a hatóanyag lényegesen magasabb arányban volt jelen molekulárisan diszpergált állapotban, mint a metronidazol és HPMC oldatából porlasztva szárított termékben, ami az azonos pozitív töltésű kitozán-metronidazol-SCX4 komplexek és a metronidazol elektrosztatikus taszításának, valamint a metronidazol számára elérhető kisebb mennyiségű kloridionoknak köszönhető.

1.4.3.3. Levocetirizin-dihidroklorid porlasztva szárítása [K11,12]

A levocetirizin anitihisztamin tartalmú forgalomban lévő gyógyszerformulációk jellemzően orális tabletták vagy cseppek. Célunk volt bizonyos alkalmazások esetében hatékonyabb nazális és dermális beviteli útra tervezett termékek előállítása. A cél érdekében száraz poralapú mikrokapszulákat porlasztva szárítással állítottunk elő, melyek közvetlenül felhasználhatóak nazális orrporokként, továbbá dermális beviteli formulációkhoz oleogélekbe kevertük azokat. A portartalmú orrspray hatékony a kiürülés csillapításában a folyadék alapú készítményekhez képest. A gélformulációt topikális alkalmazásra állítottuk elő allergiás ödéma kezelésére. Ennek legfőbb előnye az emésztőrendszer és a gasztrointesztinális felszívódással járó mellékhatások elkerülése.

Porlasztva szárított levocetirizin-dihidroklorid nazális alkalmazásra

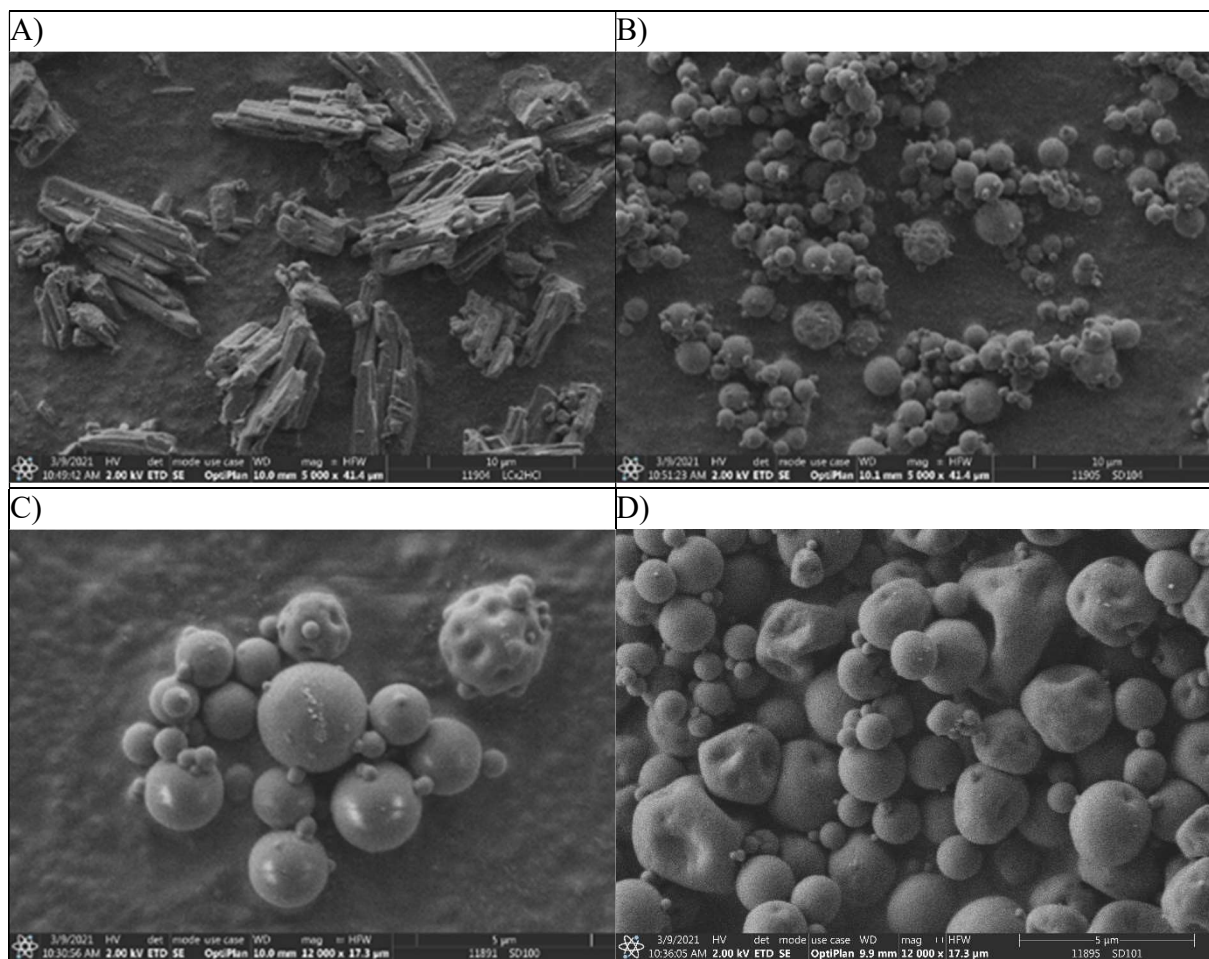
A levocetirizint tartalmazó mikrorészecskéket három mukoadhezív polimer (HPMC, PVA és PVP) hordozó anyaggal, porlasztva szárítással állítottuk elő. A szárított mikrorészecskék hatóanyag-tartalma 49,1-52,9 (m/m) % tartományban változott (**8. táblázat**), ami hozzávetőleg megegyezik a hatóanyag hordozóhoz viszonyított arányával a szárítás előtti oldatokban (50,0 m/m %). A mikrorészecskék mérete a nazális alkalmazási célt figyelembe véve az egyik legfontosabb paraméter. A kiindulási levocetirizin térfogat szerinti átlagos részecskemérete 55,9 μm volt, melyet a porlasztva szárítás során az esetek többségében egy

nagyágréddel csökkentettünk, és a létrejövő részecskeméret mind az orrban, mind a tüdőben történő alkalmazásra alkalmas [84]. A 71,1-83,5% hozam a készülékben alkalmazható kis mintatömegeket figyelembe véve kifejezetten magasnak mondható. A minták víztartalma termogravimetriai (TG) mérések alapján minden esetben 5% (m/m) alatt maradt, azaz megfelelően száraz termék keletkezett.

8. táblázat: A hatóanyag (LC) és a különböző hordozóanyagokkal porlasztva szárított termékek jellemzői.

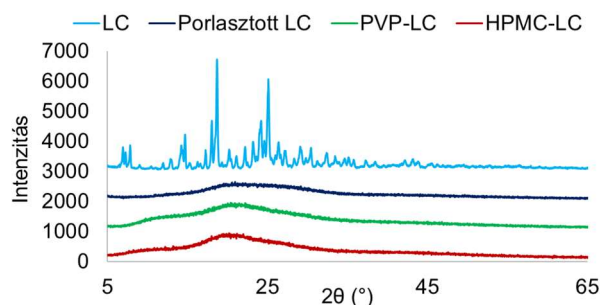
Minta	Hozam (%)	Hatóanyag-tartalom, (% m/m)	Víztartalom, (% m/m)	D [4,3], μm	J, $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$
LC	-	100	-	55,9	56,9
Nano porl. LC	71,1	96,2	3,8	2,4	53,2
PVP-LC	83,5	49,9 \pm 0,3	4,2	2,7	36,4
PVA-LC	71,8	49,9 \pm 0,3	3,1	29,8	32,4
HPMC-LC	82,6	50,0 \pm 0,6	2,4	3,1	23,3

A SEM-felvételek szerint a porlasztva szárított mikrorészecskék többé-kevésbé szabályos gömb alakúak szemben a hosszú tűszerű kristályokból felépülő kiindulási hatóanyaggal (**34. ábra**).



34. ábra: Kezeletlen (A) és porlasztva szárított levocetirizin-dihidroklorid (B), illetve a hatóanyag PVP-vel (C) és HPMC-vel porlasztva szárított (D) termékeinek SEM-felvételei.

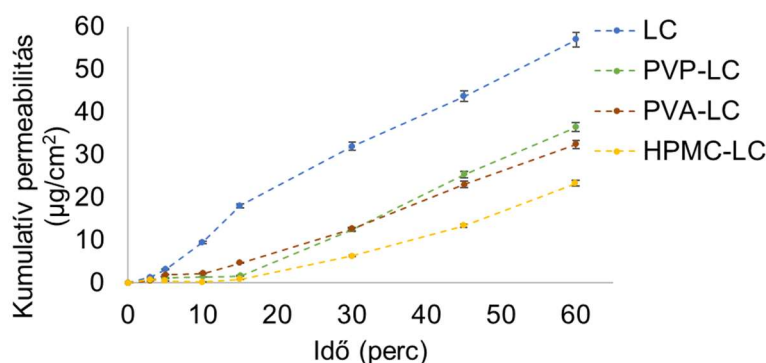
Az XRD vizsgálat megmutatta (**35. ábra**), hogy a kiindulási hatóanyag kristályos, a porlasztva szárítás minden esetben amorf terméket eredményezett. A termékek amorf jellege elősegíti a gyors oldódást, ami előnyös a nazális beviteli formáknál.



35. ábra: Kezeletlen, adalék nélkül (Porlasztott LC) és hordozókkal (PVP-LC, HPMC-LC) porlasztva szárított levocetirizin-dihidroklorid XRD spektrumai.

Az USP II-es típusú kioldó készülékben végzett vizsgálatok során a hatóanyag és az alkalmazott segédanyagok hidrophil jellegének következtében a hatóanyag 100%-a néhány másodperc alatt felszabadult, azaz a segédanyagok nem befolyásolták az oldódási kinetikát. Mivel az ornyálkahártya nagyon gyorsan megújul, ezért a gyors hatóanyagfelszabadulás elvárt az ide bejuttatott készítmények esetében. Az adalékanyagok szerepe a biológiai hozzáférhetőség biztosításában rejlik.

A polimer adalékokkal porlasztva szárított levocetirizin-dihidroklorid, a hordozó nélkül porlasztva szárított és a kiindulási hatóanyag permeabilitását szintetikus membránon, Side-Bi-Side™ (Crown Glass, USA) diffúziós testben modellező diffúziós görbéit a **36. ábrán** jelenítem meg. A polimer adalékok viszkozitása befolyásolta leginkább a penetrációt. A PVP, PVA és HPMC 1% (m/m)-os vizes oldatának viszkozitása 1,14 mPa·s, 1,44 mPa·s és 2,11 mPa·s. A diffúziós együttható fordítottan arányos az oldatok viszkozitásával, így a PVP gátolta legkevésbé a penetrációt, a HPMC pedig a leginkább lassította azt. A levocetirizin ionos állapota a pH függvényében változik, pH = 5,43-nál semleges és ikerionos formában létezik [85]. Az ikerionok a töltött csoportok miatt ritkán lipofilek, és gyakran oldódnak vízben bármilyen pH-n. A PVP, PVA és HPMC adalékokkal porlasztva szárított termékekben a hatóanyag dihidroklorid formája volt jelen, ami a donorfázis pH-értékét a savas tartomány felé tolta el, és így a hatóanyag hidrophilebb kationos formája jelent meg, ami nem kedvező a penetráció szempontjából.

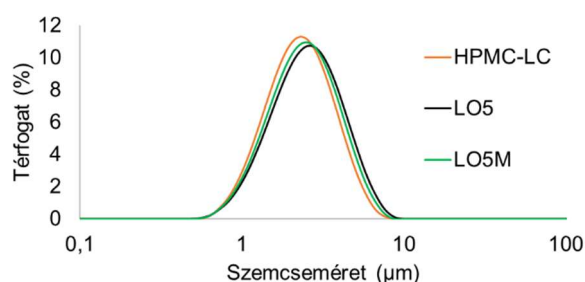


36. ábra: A kezeletlen levocetirizin-dihidroklorid a polimer kompozitok penetrációs görbéivel összevetve.

Porlasztva szárított levocetirizin-dihidroklorid dermális alkalmazásra

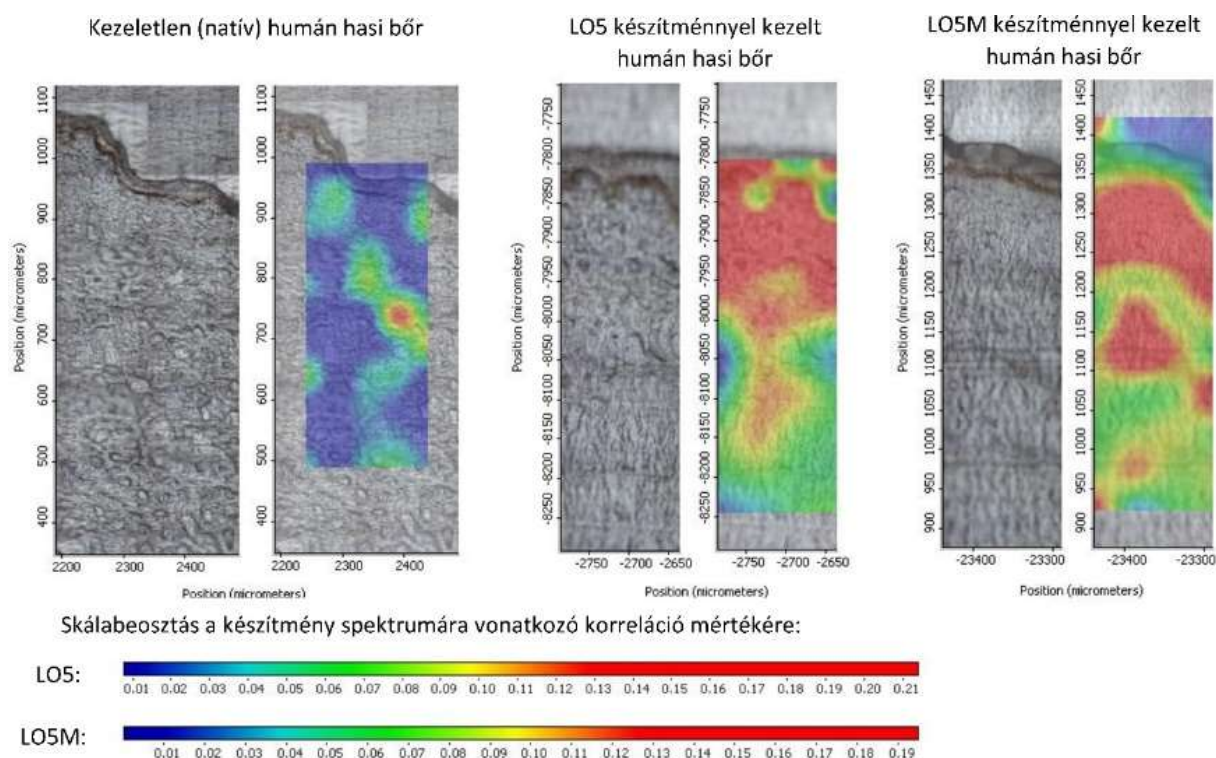
Az elterjedt készítményekben a levocetirizin különböző típusú hidrogélekben vagy oleogélekben oldott formában van jelen jelentős víztartalommal. Ezen felül jellemzően még többféle segédanyagot, pl. felületaktív anyagot, tartósítószeret, társoldószeret és penetrációfokozót adnak a megfelelő hatás kiváltásához. Az általunk létrehozott porlasztva szárított levocetirizint tartalmazó porokból víz és/vagy felületaktív anyagok hozzáadása nélkül állítottunk elő oleogéleket. A dermális készítményekhez segédanyagként a HPMC polimert választottuk. A porlasztva szárított por könnyen és homogénean diszpergálható volt a Dermofeel viscolid gélképzővel az ilyen célból elterjedten alkalmazott Miglyol 812 olajból létrehozott oleogélben. A géleket mentol penetrációfokozó hozzáadásával és anélkül is előállítottuk. A gyógyszerek *ex vivo* bőrön keresztüli penetrációját emberi bőrmintákon a Szegedi Tudományegyetem Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézetében vizsgálták konfokális Raman-mikroszkópos módszerrel, míg az *in vivo* vizsgálatokat az Egis Gyógyszergyár Zrt.-ben krotonolaj-indukált fülödéma egérmódellemel végezték. Összehasonlító hatékonysági vizsgálatot a kereskedelmi forgalomban kapható dimetindén-maleát hatóanyagot tartalmazó Fenistil géllal folytattak.

A porlasztva szárított HPMC-levocetirizin kompozit mikrorészecskék méreteloszlása (**37. ábra**) és átlagos szemcsemérete (2,7 μm) az oleogélben történő diszpergálás után (3,0 μm) és mentol penetrációfokozó adalék hozzáadásával (2,9 μm) sem változott jelentősen, ami jó diszpergálhatóságukra és az oleogélben való stabilitásukra utal.



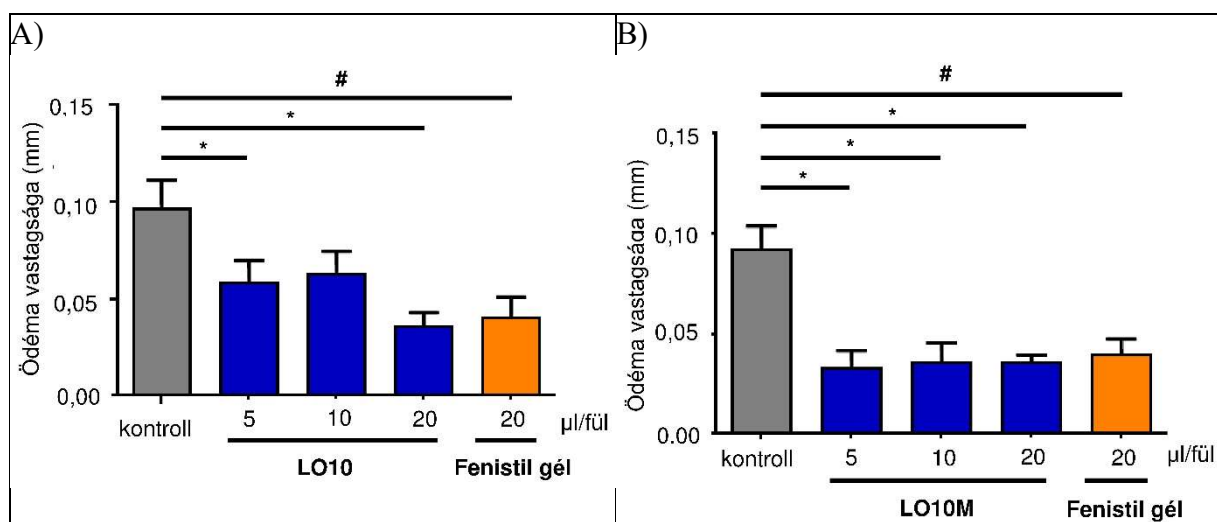
37. ábra: A porlasztva szárított HPMC-levocetirizin mikrorészecskék (HPMC-LC) szemcsemérete oleogélben diszpergálás után (LO5), illetve ugyanaz mentol penetráció fokozó adalékkal (LO5M).

Az XRD vizsgálatok a teljes porlasztva szárított terméket amorfoknak mutatták (**35. ábra**), ami elősegíti a gyors oldódást. A formulációk (LO5, LO5M) spektrumának ujjlenyomat-tartományát ($1200-900\text{ cm}^{-1}$) vettük figyelembe a bőrminták Raman-térképezésének értékelésénél, és korrelációs térképet hoztunk létre a hatóanyag bőrbe való behatolásának kimutatására. A készítmény jelenlétét a bőr egyes rétegeiben színskála jelezte, kéktől a piros felé haladva a koncentráció növekszik (**38. ábra**). A levocetirizin hatóanyagot tartalmazó oleogél nagymértékben feldúsult az epidermiszben és a dermisz felső régiójában, míg mentol penetrációfokozó adalékkal nagyrészt a felső dermiszben koncentrált. Mivel a csalánkiütés ezt a területet érinti, megállapítható, hogy az előállított oleogélek hatékonyak lehetnek annak kezelésében.



38. ábra: Porlasztva szárított HPMC-levocetirizint mentol penetráció fokozóval (LO5M) és anélkül (LO5) tartalmazó oleogéllal kezelt emberi hasi bőrminták Raman korrelációs térképe.

In vivo gyulladáscsökkentő vizsgálatot krotonolaj által kiváltott egér ödéma modellen végeztek. A készített oleogél mind a 3 koncentrációban jelentősen csökkentette az ödéma vastagságát, a legnagyobb koncentrációban a Fenistil gél pozitív kontroll hatását is meghaladva (**39.A ábra**). A mentol penetrációfokozót is tartalmazó oleogél már a legkisebb koncentrációban is hatékonyabbnak bizonyult a pozitív kontroll gélkészítménynél (**39.B ábra**).



39. ábra: Porlasztva szárított HPMC-levocetirizint (HPMC-LC) mentollal (LO10M) és anélkül (LO10) tartalmazó oleogél *in vivo* vizsgálata egér ödéma modellen.

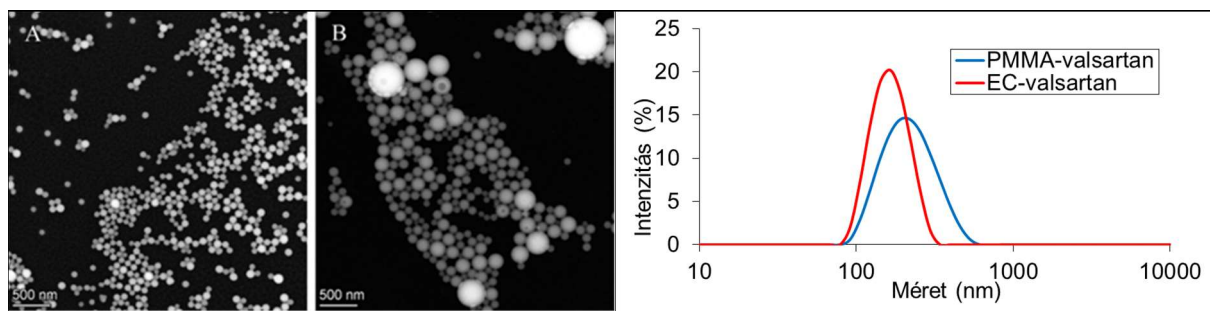
Porlasztva szárítással levocetirizin-dihidroklorid hatóanyagot tartalmazó biokompatibilis polimer mikrorészecskék előállításának kidolgozása nazális és dermális alkalmazásra - összefoglalás

5.2. tézis: A levocetirizin antihisztamin porlasztva szárítását háromféle mukoadhezív polimer segédanyaggal valósítottuk meg nazálisan alkalmazható porok előállításának céljából. A hatóanyag eredetileg 55,9 μm átlagméretű szemcséit a hordozóanyagokkal történő porlasztva szárítással 2,4 - 29,8 μm átlag átmérőjű, gömb alakú mikrorészecskékké alakítottuk. Az XRD vizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy a porlasztva szárított termékekben az amorf polimerben a hatóanyag is amorf formában volt jelen. A levocetirizin a porlasztva szárított termékekből kioldódási vizsgálatokban azonnal felszabadult, hasonlóan a kiindulási hatóanyaghoz, aminek fontos szerepe van, mivel az ornyálkahártya 10-15 percenként mukociliáris tisztulással megújul.

5.3. tézis: A HPMC polimer hordozóval porlasztva szárított levocetirizint oleogélben diszpergáltuk topikális készítmény fejlesztése céljából. Az oleogélben aggregálódás nélkül diszpergálható szilárd halmazállapotú HPMC-levocetirizin mikrorészecskék *ex vivo* penetrációs vizsgálatokban az emberi hasi bőr epidermiszében és a felső dermiszben dúsultak a Raman-mikroszkópos korrelációs térképezés tanúsága szerint. Mentol penetrációfokozó hatására a készítmény nagyrészt a felső dermisz rétegében koncentrált, ami az elvárt hatás szempontjából előnyös. A formuláció krotonolajjal kiváltott fülödéma egérmódellem végzett vizsgálatokban a kereskedelmi forgalomban kapható Fenistil gélhez hasonló gyulladáscsökkentő hatékonyságot mutatott. A fejlesztett készítményünk és a mentol penetrációfokozó együttes alkalmazásával a Fenistil pozitív kontrollhoz hasonló hatás eléréséhez szükséges dózist a 25%-ára csökkentettük.

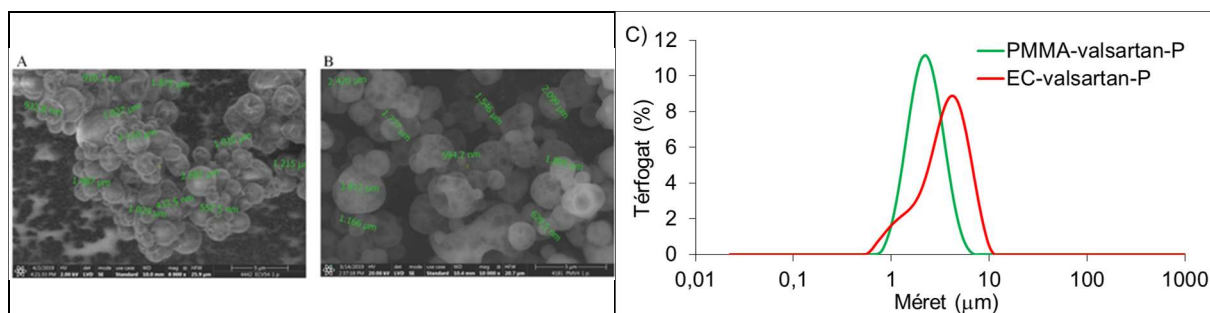
I.4.3.4. Valsartant tartalmazó polimer nanorészecskék porlasztva szárítása orális alkalmazásra [K13]

O/v emulzió - oldószer elpárolgatás módszerével a vérnyomáscsökkentő valsartant biokompatibilis EC és PMMA polimerekkel mikrokapszuláztunk PVA emulgeátor segítségével abból a célból, hogy olyan nanorészecskéket állítsunk elő, melyek a bélben szabályozott hatóanyag-leadást biztosítanak. A Statsoft® STATISTICA szoftver (Statsoft Inc. USA) alkalmazásával végzett kísérlettervezés és optimalizálás segítségével az EC-valsartan esetén 160-213 nm átlagos hidrodinamikai átmérőjű monodiszperz méreteloszlású (PdI=0,047-0,082) gömb alakú nanorészecskéket állítottunk elő, míg PMMA hordozópolimer esetén ennél nagyobb, 195-221 nm átlagos méretű, szintén monodiszperz (PdI=0,050-0,118) nanoszemcsék keletkeztek (**40. ábra**). A részecskeméretet leginkább az emulgeátor (PVA) és a hordozó polimer koncentrációja határozta meg, míg a hatóanyag-koncentráció nem mutatott szignifikáns hatást. A valsartan kapszulázási hatékonysága a hatóanyag és a polimer koncentráció növelésével és a PVA koncentráció csökkenésével növelhető szignifikánsan, ami EC-valsartan esetén a vizsgált paraméter tartományokban 84,1-94,7%, míg PMMA-valsartan nanorészecskékben 84,0-93,8% tartományban változott.



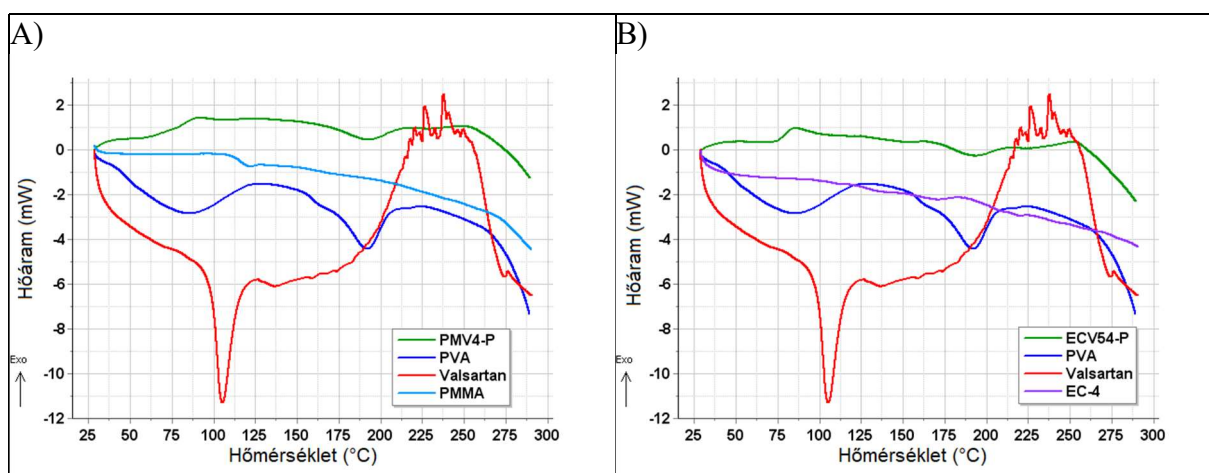
40. ábra: PMMA-valsartan (A) és EC-valsartan (B) SEM felvétele és szemcseméret eloszlásuk (C).

A nanorészecskék diszperzióját porlasztva szárítottuk annak érdekében, hogy eltartható stabil gyógyszerformulát hozzunk létre. További adalék alkalmazására nem volt szükség, ugyanis az emulgeátor PVA megfelelő hordozónak bizonyult a porlasztva szárított termékben. A PMMA-valsartan és EC-valsartan nano porlasztott szemcséi rendre 1-5 μm és 1-10 μm szemcseméretű mikrorészecskéket eredményeztek (**41. ábra**). A porlasztva szárított PMMA-valsartan nanorészecskéket kiválóan vissza lehetett diszpergálni, azonban az etil-cellulóz-valsartan szemcsék a szárítás hatására aggregálódtak, amit ultrahangos kezeléssel sem lehetett megszüntetni.



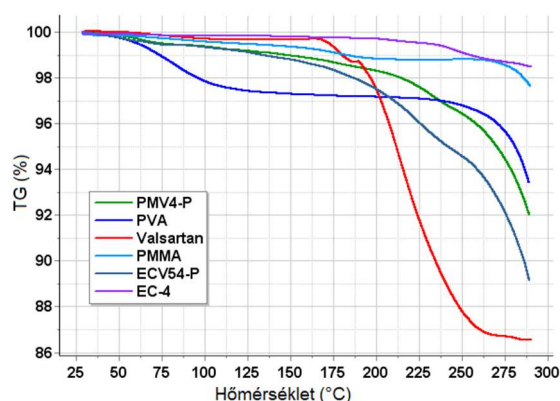
41. ábra: Porlasztva szárított PMMA-valsartan (A) és EC-valsartan (B) SEM felvétele és szemcse méreteloszlásuk (C).

A porlasztva szárított szuszpenziókból létrejött mikrorészecskék a két hordozó polimer esetében nagyon hasonló viselkedést mutattak a DSC (**42. ábra**) és TG vizsgálatokban (**43. ábra**). A jelentős mennyiségben jelenlévő PVA hatására a DSC termogramokon a porlasztva szárított mikrorészecskékben is megjelent 190 $^{\circ}\text{C}$ -nál a karakterisztikus olvadási endoterma (**42. ábra**). A DSC-k a hatóanyag amorf állapotára utalnak mindkét hordozó polimerbe mikrokapszulázott és porlasztva szárított anyagok esetében. A PMMA-val és EC-vel mikrokapszulázott valsartan nanoszuszpenzióiban a PVA 1,5-szeres és 2-szeres tömegben volt jelen porlasztva szárított részecskékben, mégis a mikrokapszulázó polimerek hatása termikus szempontból elhanyagolhatónak bizonyult szintén a DSC-k alapján.



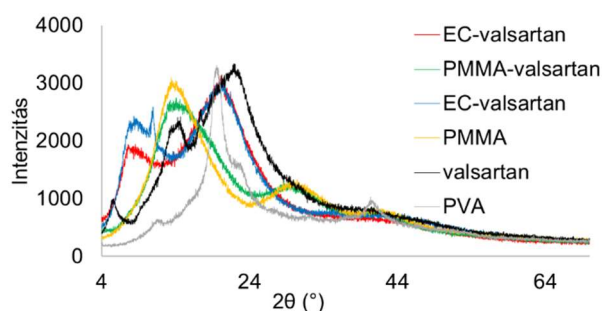
42. ábra: Porlasztva szárított PMMA-valsartan (A) és EC-valsartan (B) DSC termogramjai és TG-k (C) a kiindulási anyagokkal összevetve.

A TG vizsgálatok szerint a hőbomlást sokkal jobban meghatározták a kapszulázó polimerek, mint az emulgeátorként a porlasztva szárított részecskékbe kerülő PVA polimer annak ellenére, hogy ez utóbbi lényegesen nagyobb koncentrációban volt jelen, mint előbbieik (**43. ábra**). A valsartan 163 °C-ig termikusan stabil, efölött megindul a termikus degradációja, 100 °C-ig kis tömegcsökkenés látszott (a nedvesség távozása). A PMMA polimerben 200 °C-ig egy enyhe, elnyúló tömegcsökkenést (1,1%) tapasztaltunk, ami minden bizonnyal az erősen kötött felületi víz távozásából adódott. Az EC még kevesebb adszorbeált nedvességet (0,3%) veszített. Mindkettő hordozó polimernek 200 °C fölött indult a lassú termikus bomlása. A PVA-ból távozott a legnagyobb mennyiségű fizikailag kötött víz (2,7%), 225 °C fölött megindult az anyag bomlása. A porlasztva szárított részecskék (PMV4-P és ECV54-P) termikus viselkedése 125 °C-ig nagyon hasonló volt, a nedvességtartalmuk kb. 1%, 125 °C fölött a hőbomlás lefutása különböző, de párhuzamos; az EC hordozóval készült részecskék gyorsabb átalakulásával a PMMA-val mikrokapszulázott szemcsékhez képest. A termogramon 175 °C fölött mindkét anyag esetében két tömegcsökkenési lépcső látszik: az egyik 175 és 250 °C között, mely minden valószínűség szerint a mintában lévő valsartan bomlásából adódott, efölött a mérés végéig a tömegcsökkenést a hordozók (PMMA és EC-4), illetve a PVA bomlása okozta.



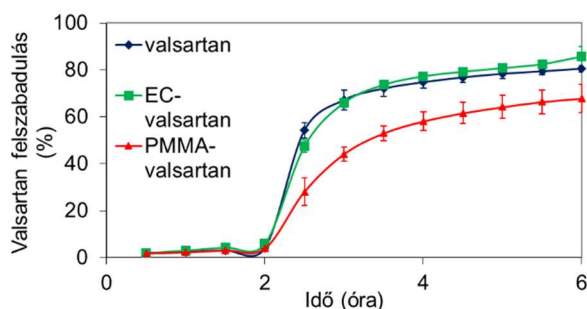
43. ábra: Porlasztva szárított PMMA-valsartan (PMV4-P) és EC-valsartan (ECV54-P) TG-je a kiindulási anyagokkal összevetve.

Bár a DSC termogram szerint a tiszta valsartan hatóanyag kristályos és amorf karaktert is mutat, a szuszpenziókból porlasztva szárítással létrehozott mikrorészecskékben nem fordult elő kristályos fázis, amit az XRD vizsgálatok is megerősítettek (**44. ábra**).



44. ábra: Porlasztva szárított PMMA-valsartan (PMV4), etil-cellulóz-valsartan (ECV54) és a kiindulási anyagok röntgen diffraktogramjai (A) és hatóanyag-felszabadulásuk 2 óra 0,1 M HCl-oldatban és utána 4 óra pH=6,8 foszfát pufferben történő inkubálás során (B).

A gyomor és a vékonybél pH-ján dialízis membránnal végzett kioldódási vizsgálatban a porlasztva szárított PMMA-valsartan nanorészecskék számottevően késleltették a hatóanyag kioldódását, míg az EC-valsartan nanorészecskék a tiszta hatóanyaghoz hasonló kioldódási profilt mutattak (**45. ábra**). A hatóanyag-felszabadulása kétfázisú kibocsátási profillal jellemezhető (felületi leoldódás és diffúzió a polimer mátrixból).



45. ábra: Porlasztva szárított PMMA-valsartan és etil-cellulóz-valsartan illetve valsartan hatóanyag-felszabadulása 2 óra 0,1 M HCl-oldatban és utána 4 óra pH=6,8 foszfát pufferben történő inkubálás során (B).

Porlasztva szárítással valsartan hatóanyagot tartalmazó biokompatibilis polimer mikrorészecskék előállításának kidolgozása orális alkalmazásra - összefoglalás

5.4. tézis: O/v emulzió - oldószer elpárologtatás módszerével etil-cellulóz-valsartan és poli(metil-metakrilát)-valsartan nanorészecskéket első alkalommal állítottunk elő, melyek kísérleti paramétereit Box-Behnken kísérlettervezéssel és statisztikai értékeléssel optimalizáltuk. A magas kapszulázási hatékonysággal (>90%) és monodiszperz méreteloszlással jellemezhető polimer nanorészecskéket porlasztva szárítással szilárd formulációvá alakítottuk. Az eredetileg kristályos és amorf fázist is tartalmazó hatóanyag a formulálás során amorf formába került. Az etil-cellulóz kismértékben fokozta, míg a poli(metil-metakrilát) lassította a hatóanyag felszabadulását a gastrointestinális körülményeket modellező dialízis membrános kioldódási vizsgálatban.

I.5. A gyógyszerhordozó polimer mikro- és nanorészecskék gyakorlati aspektusai

A biokompatibilis és biológiailag lebomló polimer gyógyszerhordozó nano- és mikrorészecskék az utóbbi évtizedekben számos és rendkívül szerteágazó kutatások tárgyát képezték. Az első időszakban az FDA által engedélyezett PLGA kopolimerekkel fehérje típusú gyógyszerhatóanyagok mikrokapszulázását vizsgáltuk. Modell hatóanyagokkal (BSA és HSA) az összetett emulzió - oldószer elpárologtatás módszerét optimalizáltuk, ugyanis a szakirodalomban egyfelől nagyon szerteágazó kísérleti körülményeket, másrészt a fellelhető receptekben számos esetben indokolatlanul kis koncentrációkat alkalmaztak, ami az eljárás gazdaságosságát jelentősen rontja. A fehérjék PLGA kopolimerekkel való mikrokapszulázása után mágneses nanorészecskékkel ellátott nanoteranosztikumok előállításának az optimalizálását is elvégeztük. A modell fehérjékkel szemcseméretre és kapszulázási hatékonyságra optimalizált paraméterek az értékes terápiás szerekekkel (interferonok és NGF) is az említett tulajdonságok szempontjából megfelelő kísérleti körülményeket tettek lehetővé. Új típusú biokompatibilis polimerrel szorafenibet, illetve PLGA polimerekkel a kemoterapeutikumot diagnosztikus anyaggal együttesen mikrokapszuláztuk, ami által a nanoterapeutikumok és nanoteranosztikumok funkcióját bővítettük. A fiziko-kémiai jellemzésen túl *in vitro* hatóanyag-felszabadulási vizsgálatokat végeztünk, és partnereink segítségével egyes esetekben állatkísérletek révén is fontos megállapításokat tehattünk a fejlesztett nanoterapeutikumokról.

A porlasztva szárítás módszerével különböző hatóanyagokkal oldatokból és nanorészecskék szuszpenzióiból nanoszerkezetű porformulációkat állítottunk elő. Levocetirizin-dihidroklorid antihisztamin hatóanyaggal a forgalomban lévő orális beviteli úttól eltérő, nazális és topikális formulációkat állítottunk elő. Utóbbi oleogél készítményünk *in vivo* vizsgálatokban a gyakorlatban elterjedten alkalmazott, más hatóanyagot tartalmazó, allergiás bőrreakciókat és gyulladást csökkentő gélkészítménnyel összevethető hatékonyságúnak bizonyult.

II. FÁZISVÁLTÓ HŐTÁROLÓ ANYAGOK MIKROKAPSZULÁZÁSA

II.1. Fázisváltó hőtároló anyagok mikrokapszulázásának bevezetése és célkitűzései

A megújuló hőenergia (napenergia, geotermikus energia) és az ipari tevékenység során képződő hulladékhő, valamint a háztartási berendezésekből távozó hőenergia visszanyerése jelenleg elhanyagolható mértékű, mivel ezek az energiaforrások általában nem a megfelelő időpontban és helyen állnak rendelkezésre. Ahhoz, hogy ezek az ipari, mezőgazdasági, vagy háztartási energiafelhasználásban megjelenhessenek, az időszakosan rendelkezésre álló hőenergiát gazdaságosan szükséges tárolni.

Az energiafelhasználás egy jelentős része épületek fűtésére és hűtésére fordítódik, melynek jelentős csökkentése alapvető gazdasági és társadalmi érdek. A fázisváltó hőtároló anyagok épületszerkezetekben a hőmérséklet-ingadozás mérséklésével, valamint a napsugárzásból származó hőmennyiségek átmeneti tárolásával és hasznosításával számottevő mértékben csökkenthetik az épületek klimatizálási energiafelhasználását és javíthatják az ott élők komfortérzetét. A fázisváltó hőtároló anyagokat Magyarországon épületekben egyelőre gyakorlatilag nem használják, a tudományos vizsgálatuk is csekély nemzetközi összehasonlításban. A szerves hőtároló anyagok legfontosabb hátrányainak, mint pl. a gyúlékonyságra való hajlamlak, rossz hővezetésnek és a kis fajlagos hőátadó felületnek a kiküszöbölése, továbbá az épületszerkezetekben történő felhasználhatóságuk mikrokapszulázással segíthető. A leggyakrabban alkalmazott szerves fázisváltó anyagoknak egy része környezetvédelmi és életciklus tulajdonságaik szempontjából nem megfelelő elsősorban azért, mert nem megújuló forrásból származnak és az élettartamuk végén a természetben nem bomlanak le, ezért környezetszennyezést okoznak. A beépített fázisváltó anyagok hulladék építőanyagtól való elválasztása nem megoldott, így komoly környezetvédelmi kockázatot rejtenek magukban. Ezek a tulajdonságok globálisan is hátráltatják a mikrokapszulázott PCM-ek elterjedését és épületszerkezetekben való hasznosítását. A magyarországi elterjedést tovább hátráltatja, hogy ilyen termékeket a gyakorlat számára hazánkban még egyáltalán nem állítanak elő, főként azért, mert a megfelelő tulajdonságú PCM mikrokapszulák létrehozásához szükséges tudás és technológia nem áll rendelkezésre.

A PCM mikrokapszulázási vizsgálatok elsődleges célja biológiai eredetű fázisváltó anyagokból és hordozó anyagból létrehozott környezetbarát, hosszú időn át mechanikailag stabil, maximális hőtároló kapacitással, hővezetési és hőátadási tulajdonságokkal bíró, a környezeti hatásoknak ellenálló hőtároló mikrokapszulák kifejlesztése és elemzése, továbbá az előállítási technológia méretnövelése volt. A kalcium-alginát-PCM mag-héj szerkezetű mikrokapszulákat egymást követő emulzifikálási, ionos keresztkötési és hőkezelési eljárásokkal hoztuk létre. Szintén biológiailag lebontható etil-cellulóz polimerrel – melyet korábban tudomásom szerint PCM mikrokapszulázására nem használtak – 3-szintű, 3 faktoros Box-Behnken kísérlettervezéssel optimalizált emulzió - oldószer elpárologtatás módszerével állítottunk elő, továbbá modellszámításokkal előre megjósoltuk a részecskék morfológiáját. Célul tűztem még ki olyan új típusú pórusos polimer hordozóban fázis stabilizált formában PCM-et tartalmazó, szilika nanorészecskékkel borított mikrokapszulák előállítását és

vizsgálatát, melyek nagyarányban és szivárgásmentesen képesek fázisváltó hőtároló anyagot magukba zárni. További fő célom volt olyan fázisváltó hőtároló polimer mikrokapszulák léptéknövelt előállítását, melyek épületek szerkezeti elemeiben a hőmérsékletingadozás kiegyenlítésével hozzájárulnak az épület hatékonyabb energetikai üzemeltetéséhez és a komfortérzet javításához. Ennek érdekében szintetikus polimer (PMMA)-PCM mikrokapszulákat szuszpenziós polimerizáció módszerével állítottunk elő.

A PCM-et tartalmazó, 1 mm-nél nagyobb kapszulák méretének vizsgálatára optikai mikroszkópos, a mikrorészecskék méreteloszlásának meghatározására lézer diffrakciós analízis szolgált. A SEM a méret mellett a morfológia megjelenítését is lehetővé tette. Az összetevők és funkcionális segédanyagok azonosítására FTIR, XPS és ICP-tömegspektrométer (ICP-MS) technikákat alkalmaztunk. Az emulzió - oldószer elpárologtatás módszerével létrehozott mikrokapszulák morfológiáját a függő csepp módszerrel meghatározott határfelületi feszültségekből számolható szétterülési együtthatók segítségével jeleztük előre. A hőtároló mikrokapszulák termikus viselkedésének és stabilitásának analízisére TG és DSC módszereket alkalmaztunk. A funkcionális, biológiai eredetű kalcium-alginát-PCM kapszulák antibakteriális és gombaölő hatását *in vitro* teszteltük.

II.2. Irodalmi áttekintés a fázisváltó hőtároló anyagokra

A fenntartható fejlődés az utóbbi időszakban a föld népességének rohamos növekedése miatt és az ökológiai hanyatlás megakadályozása érdekében már nemcsak a természettudósok, hanem egyre inkább a nagypolitika szintjén is előtérbe kerül. Azonban a robbanásszerű népességnövekedés és a fejletlenebb gazdasági régiók felemelkedése miatt a fosszilis energiaforrások felhasználása az utóbbi két évtizedben exponenciálisan növekedett. Mára a fenntarthatóság az egyik alapvető szervező elvvé vált a világ szociális és gazdasági fejlődésének tervezésekor. A fő fenntarthatósági célok között az energia és a környezet kiemelt helyen szerepel, ezért egyre inkább előtérbe került a fosszilis tüzelőanyagok helyettesítését szolgáló megújuló energiaforrások alkalmazása. Ezek között a nap-, a szél-, a bio- és geotermikus energia, továbbá az árapály- és hullámenergia egyre nagyobb léptékben kerül felhasználásra. A fenntartható energiarendszerek között jelentős fejlődésen ment keresztül a hőenergia-tárolás és a hatékony hőenergia-hasznosítás.

A megújuló energiaforrások közül a napsugárzásból származó hő Magyarországon viszonylag nagy mennyiségben áll rendelkezésre. Más, nem egyenletesen rendelkezésre álló energiaforrás lehet az ipari és háztartási maradványhő vagy más szóval hulladékhő. Ezek felhasználása vagy visszanyerése azonban különböző nehézségek miatt ma még nem kellő mértékű. Ennek egyik oka az, hogy ezek a potenciális energiaforrások nem a megfelelő időpontban és formában állnak rendelkezésre. Az ipari, mezőgazdasági, vagy háztartási energiafelhasználásban elengedhetetlen, hogy a szükséges hőmennyiség adott időben, kellő mennyiségben és hőmérsékleti szinten legyen elérhető. Ehhez az általában csak bizonyos időszakokban rendelkezésre álló hőenergiát gazdaságosan, elegendő ideig, és egyszerűen visszanyerhető formában tárolni kell.

Az építőiparban alkalmazott szerkezeti anyagok a hőmérsékletük változtatása révén képesek a bevezetett ún. érzékelhető (szenzibilis) hőt tárolni a fajhőjüknek megfelelő mértékben, és az alkalmazható hőmérséklet tartomány által korlátozott módon, viszonylag kis fajlagos hőkapacitással. Ezzel szemben azok az anyagok, melyek az energiatárolás kívánt hőmérsékleti tartományában halmazállapotukat is megváltoztatják, az említett anyagokhoz képest fajlagosan sokkal nagyobb mennyiségű hőt képesek tárolni, látens hőtartalmuk megváltozása révén. A lehetséges halmazállapot változás fajtáit tekintve műszaki-technológiai okokból a szilárd-folyadék/folyadék-szilárd fázisátmenethez tartozó hőtartalom-változás használható ki gazdaságosan.

A PCM-ek manapság hatékony megoldást kínálnak a megújuló energia alkalmazásának számos területén: a nap hőenergiája és az alacsony hőmérsékletű hulladékhő (pl. ipari és kombinált hűtő-fűtő rendszerek hulladékhője) hasznosításában, termikus szabályozásra a fotovoltaiikus-termoelektromos rendszerekben, gyógyszerészeti vagy biológiai termékek hűtésénél, hőmérséklet-érzékeny elektromos eszközök és alkatrészek melegedéstől vagy lehűléstől való védelménél, energia-hatékony épületeknél, intelligens textíliáknál, Li-ion akkumulátoroknál vagy járművek termikus komfortjánál.

A gyakorlati szempontból használható PCM-ek szilárd-szilárd vagy szilárd-folyadék csoportokba sorolhatók [86]. Az előbbieket különböző szerves és szervetlen anyagokat foglalnak magukban forma-stabilizált fázis átalakítással, ami történhet pl. a réteges perovszkittal,

ammónium-tiocianáttal, polietilén-alapú keresztkötött kopolimerekkel, polietilén-glikollal vagy poliuretán-alapú kopolimerekkel. Habár a szilárd-szilárd PCM-ek fontos előnye a stabil alak a fázisváltozás során, a szilárd-folyékony PCM-ek jobban elterjedtek a magasabb fázisváltási entalpiaváltozásuk miatt. Ez utóbbiak a következő csoportokba oszthatók: szerves anyagok (és eutektikumaik), szervetlen sók (sóoldadékok, sóhidrátok és eutektikumok) és néhány fém. A szerves PCM-ek szénhidrogének, szénhidrátok és egyéb hosszúláncú makromolekulák (zsírsavak, zsíralkoholok, zsírsav észterek, polimerek). A megbízható fázisváltó teljesítményük és megfelelő fázisváltó hőmérsékletük a legtöbb energiatárolási alkalmazásban, továbbá a mérsékelt árak teszik ezeket leginkább vonzóvá a hőtárolás és a termikus szabályozás terén. A PCM-ek hőtárolása és –felszabadítása elvileg nem jár a hőtároló közeg hőmérsékletváltozásával, mivel a fázisváltozás az olvadáspont/fagyáspont hőmérsékletén történik. A gyakorlatban alkalmazott anyagok sok esetben nem egy adott hőmérsékleten, hanem bizonyos hőmérséklettartományban olvadnak vagy dermednek meg. Az energia elnyelése nem okoz nagy hőmérsékletnövekedést a hőtároló anyagban, és a hő visszanyerésekor sincs jelentős lehűlés. Ez a felhasználás és a hőcsere szempontjából is kedvezőbb, mivel a hőátadás jobb hatásfokkal és kisebb hőcserélő felülettel hajtható végre. A PCM-ek hátránya, hogy általában drágábbak az érzékelhető hő tároló anyagoknál, és a rendszer technikai megvalósítása is költségesebb. Ezért ezek többnyire csak kisebb tömegű, rövidtávú hőtárolók esetében jelenthetnek gazdaságos megoldást.

II.2.1. Fázisváltó hőtároló anyagok mikrokapszulázása

A PCM-ek alkalmazásához számos műszaki problémát kell megoldani [87]. Tömb fázisban (vagy csövekben, rétegekben elhelyezve) ezek az anyagok a kis fajlagos felület és az alacsony hővezetési tényező miatt túlságosan lassan veszik fel és szabadítják fel a bennük tárolt hőmennyiséget, továbbá technológiailag és gépészetileg is nehezen kezelhetők. Nem egynemű (nem kongruens) vagy csak részleges megolvadásuk/megdermedésük során kémiai vagy fázis összetételüket tekintve térben és időben szétválhatnak, azaz szegregálódhatnak. Egyes PCM-ek korrozívak, toxikusak, éghetőek, vagy a környezetet károsítják. Ezen anyagokat a technológiai környezetüktől el kell különíteni, és a szabadba való kikerülést meg kell akadályozni. Ezeknek a technológiai problémáknak az egyik megoldása a PCM-ek mikrokapszulázása, ami azt jelenti, hogy a hőtároló anyagot mikro- vagy nanokapszulákba zárják, melyek biztosítják a hőtároló rendszer jó technológiai kezelhetőségét. A nagy fajlagos hőátadó felület és a kis hővezetési távolság miatt gyors, egyenletes és - kis hőmérséklet-különbség esetén is - jó hőátadás érhető el a kapszulák és technológiai környezetük között. A mikrokapszulák kis mérete segítségével nagyrészt elkerülhető bennük a szegregáció. Ideális esetben gyors és egyenletes fázisváltás érhető el a kapszulák belsejében. A kapszulák át nem eresztő fala gátolja a PCM kikerülését a környezetbe, és hogy ott korróziós vagy egyéb problémákat okozzanak.

A PCM-ek többféle szerkezetű részecskébe is belefoglalhatók. Egyik leggyakoribb megoldás a mag-héj szerkezetű PCM mikrokapszulák előállítás, ahol a hőtároló anyag a kapszula magjában helyezkedik el, amit egy zárt bevonat választ el a környezetétől [87]. A kapszula héja többnyire valamilyen szerves polimer, ugyanakkor SiO₂-ből is képeztek már

bevonatot. Mátrix szerkezetű vagy pórusos részecskék is használatosak, melyeket alak- illetve fázis-stabilizált részecskékként is aposztrofálnak. Ezeket a részecskéket a PCM szivárgás megakadályozása érdekében sok esetben utólagosan egy héjjal látják el. A mag-héj szerkezet előnye, hogy ez esetben a hőtároló anyag nagyobb tömeggel, ennek megfelelően magasabb hőtároló képességgel van jelen a részecskékben. A mátrixszerkezet előnye lehet a jobb mechanikai és termikus stabilitás, bár ezek a tulajdonságok a felhasznált anyagoktól és módszerektől, végső soron a hordozóanyag tulajdonságaitól függenek.

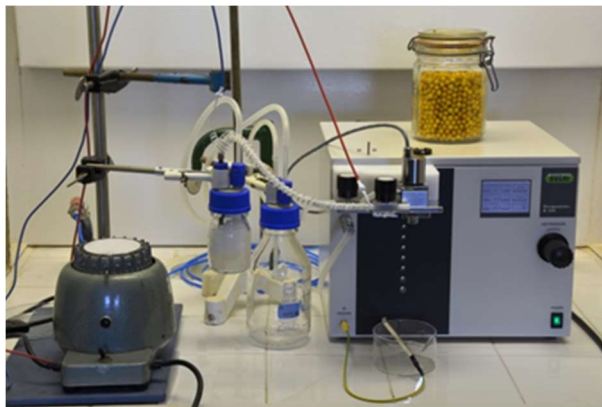
Kapszulázó anyagként különböző természetes eredetű polimereket alkalmaznak, mint pl. a viszonylag olcsó zselatint, kitozánt, gumiarábikumot, valamint különböző szintetikus polimereket, mint például a metakrilátok, a fenol-formaldehid, karbamid-formaldehid és polikarbamid gyanták vagy ezekből és más anyagokból előállított kompozit filmek [87]. A kapszulázó anyagok legfontosabb kívánalmái a kémiai és fizikai stabilitás, szilárdság, hő- és mechanikai stressz tűrő képesség, illetve kompatibilisnek kell lenniük a kapszulázott hőtároló anyaggal, valamint azokkal a technológiai anyagokkal (hőközvetítő közegek, szerkezeti anyagok) melyekkel a kapszulák a felhasználás során érintkeznek.

Szervetlen anyagok, sók vagy sóhidrátok mikrokapszulázására is találni példát [88], de megfelelő mechanikai és termikus stabilitású, hosszú időn át alkalmazható terméket nagyon nehéz előállítani, ugyanis a vízmolekuláknak a kapszulák falán át történő diffúziója megváltoztathatja a bezárt sóhidrát összetételét, ezáltal a látens hőtároló képesség elvesztését okozva. Az előállítás során a szervetlen kapszulamag és a polimer bevonat esetleges összeférhetetlensége is nehézséget okozhat.

PCM mikrokapszulák előállítására sokféle módszer áll rendelkezésre, az alkalmazott anyagi rendszerektől, a kapszulák méretétől, alkalmazásuk körülményeitől és a technológiai elvárásoktól függően [89]. Ezek két fő csoportba oszthatók: fizikai és a kémiai eljárások. A fizikai módszerek esetében a kapszulamagokat és bevonatukat a felhasznált anyagok kémiai változása nélkül alakítják ki. Kapszulamagok előállíthatók porlasztva szárítással, porlasztva dermesztéssel, ahol a fázisváltó anyag oldatából vagy olvadákból létrehozott apró folyadékcseppeket az oldószer elpárologtatásával, vagy a cseppek lehűtésével megszilárdítjuk. A szférikus agglomeráció egy ritkábban alkalmazott eljárás a maganyag formálására [EK13]. Hatékony eljárás a csepegtetési (prilling) módszer, aminek speciális eszköze a Büchi cég B-390 jelű kapszulázó gépe (**46. ábra**), ahol a folyadéksugár egy nagy frekvenciával rezegtetett fúvókán keresztül halad át, és homogén méretű cseppekre szakad szét, melyeket példának okáért ionos gélképzéssel lehet megszilárdítani és bevonni. Ezzel a készülékkel koncentrikus elrendezésű kettős fúvóka is alkalmazható, ahol a belső fúvókában a mikrokapszula magját alkotó folyadék, míg a külső, gyűrű alakú fúvókán a bevonat anyaga jön létre. Az így képződő cseppek megszilárdításával mag-héj szerkezetű kapszulák jönnek létre.

A fizikai módszerekkel előállított kapszulamagokat kémiai módszerekkel is be lehet vonni. Ez esetben a magok szilárd részecskék, vagy cseppek formájában kerülnek általában egy vizes oldatba, ahol fáziszeperációval hozzák létre a héjat, majd polimerizációval, vagy keresztkötésekkel megszilárdítják azt. A kémiai módszerek közül a polimerizációs eljárásokkal jó minőségű bevonat és kis kapszulaméret (néhány mikrométeres vagy akár szubmikronos) érhető el. A szuszpenziós polimerizációban a vízzel nem elegyedő monomer és PCM elegyét a

stabilizátort tartalmazó vizes folytonos fázisban cseppek formájában intenzív keveréssel osztják el. A polimerizációt megfelelő hőmérsékleten az iniciátor indítja el. A keletkező mikrokapszulák méretét a keverési sebesség, a monomer fázis térfogataránya, a stabilizátor koncentrációja, illetve a csepp és a szuszpenzió-közeg viszkozitása befolyásolja.



46. ábra: Büchi B-390 kapszulázó berendezés.

A mikrokapszulázási módszerek az eljárás során alkalmazott fázisrendszerek szerint is csoportosíthatók. A folyadékfázisú kapszulázási eljárások közé elsősorban az emulziós-, illetve a szuszpenziós polimerizációs és koacervációs módszerek tartoznak. A koacervációs eljárásban a bevonandó PCM részecskéket vagy kis méretű kristályokat szuszpenzióba viszik, és a folyadékban oldott, vagy kolloid állapotban lévő kapszulázó polimert kicsapással vagy fázisszeperációval a szuszpendált részecskék felületére választják le [90] [91]. Gáz-folyadék fázisú előállítási módszerek a porlasztva szárítás és a porlasztva dermesztés. Ezek lényege, hogy a hőtároló anyagot tartalmazó diszperziót vagy szuszpenziót finom cseppekké bontva porlasztják be a szárítókamrába. A bevonó anyag az oldószer elpárologtatása során válik ki a hőtároló anyag részecskéinek felületére. A bevonat tulajdonságai utólagos kezeléssel, keresztkötések létrehozásával vagy polimerizációval javíthatók. Ide tartozik még a fluidizációs - porlasztásos bevonás, amely során a szilárd halmazállapotú hőtároló anyag szemcséit gázárammal intenzív mozgásban tartják, és a kapszulázó anyag oldatát vagy olvadékát finom cseppek formájában a rétegbe porlasztják. Az oldószer elpárolgása, vagy az olvadék megdermedése során a részecskék felületén szilárd bevonat keletkezik.

A szerves PCM-eket tartalmazó polimer mikrokapszulák tulajdonságait funkcionálizálással is lehet javítani. A funkcionálizálás célja lehet többek között a hővezetés és a mechanikai szilárdság javítása, illetve biológiai eredetű anyagok használata esetén a mikroorganizmusok elleni védelem. A PCM-tartalmú mikrokapszulák antimikrobiális védelmére a kiváló fotokatalitikus aktivitással bíró TiO_2 [87] vagy ZnO [92] nanorészecskéket alkalmazták. Az ezüst nanorészecskék mind a Gram-pozitív, mind a Gram-negatív baktériumok gátlásában nagyon hatékonyak, azokat az orvosi, gyógyszeripari és élelmiszer-somagolás területén gyakran alkalmazzák [93]. Az ezüst nanorészecskék a nagy fajlagos felületük és a nyújtott ezüst ion felszabadításuk révén tartós antimikrobiális hatást fejtenek ki. Az előállításukra legelterjedtebb eljárás a kémiai redukció stabilizáló ágens jelenlétében. Számos nagy reaktivitású redukáló anyag, mint pl. a hidrazin vagy az N,N -dimetil-formamid erősen

toxikusak. Természetes nem toxikus redukálószer az aszkorbinsav [94], mellyel ezüst-nitrátból méretnövelhető eljárásban állíthatóak elő ezüst nanorészecskék.

II.2.2. Mikrokapszulázott fázisváltó anyagok irodalmi vizsgálati módszerei és alkalmazásai

A mikrokapszulázott fázisváltó anyagok jellemzőinek és funkcionális tulajdonságainak vizsgálatára különféle kémiai és fizikai módszereket használnak. Ezek között a legfontosabbak: a mag és a bevonat anyaga, összetétele, tömegaránya, a kémiai- és termikus stabilitás, morfológiai jellemzők, valamint a termikus tulajdonságok (olvadáspont, dermedéspont, fajlagos hőkapacitás). Fontos követelmény a bevonat tömörsége: a kapszulahéj nem lehet permeábilis, azaz vízpárát, vagy folyadékot átengedő. Leggyakoribb vizsgálati módszerek: oldószeres extrakció után – szükség esetén őrléssel kombinálva – az összetétel vizsgálata, lézerdiffrakciós szemcseméret analízis, SEM és TEM a méret és a morfológia megjelenítésére, valamint DSC és TG a termikus jellemzők és stabilitás mérésére. Az alkalmazástechnikai vizsgálatokat általában laboratóriumi- vagy félüzemi lépékű hőcserélő rendszerekben, kis-, közepes, vagy valóságos méretű hőtároló tartályokban és modellházakban végzik.

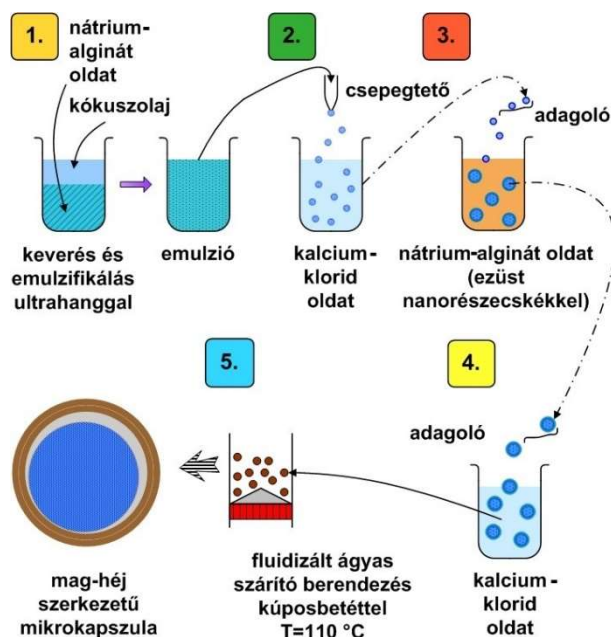
A mikrokapszulázott fázisváltó hőtároló anyagokat alapvetően hőmérséklet ingadozás csillapítására vagy hő átmeneti tárolására használják. A hőmérséklet ingadozást a termikus tehetetlenség, azaz a termikus tömeg (az adott térfogatú objektumban adott hőmérsékletváltozás során tárolható hőmennyiség) növelésével csökkentik, ami a túlmelegedés vagy túlhűlés megelőzésére szolgál. Ilyen esetekben a PCM mikrokapszulákat általában befoglalják a védendő tárgyba vagy annak burkolatába, pl. épületek szerkezeti elemeibe, gépek, járművek, űrhajók, elektronikai egységek hővédő rendszerébe, sport- és védőruházatokba. Könnyűszerkezetes épületek falában, padlózatában vagy mennyezetében használva a hőtároló mikrokapszulákat, az épületszerkezet jelentősebb hőtároló tömeg alkalmazása nélkül is alkalmassá válik a hőmérsékletingadozások kiegyenlítésére [95]. A PCM mikrokapszulák szerepet kaphatnak a naphő hasznosításában. Az építőelemekbe integrált PCM mikrokapszulákkal szemben ebben az esetben azokat általában különállóan alkalmazzák, pl. álló- vagy fluid ágyas, vagy mozgó töltetek formájában. A hőtároló mikrokapszulák és a hőközvetítő közeg közötti hőátadás az áramlási viszonyok beállításával hatékonyabbá tehető. Zagy formájában alkalmazott mikrokapszulák esetén a hőtároló és hőközvetítő közeg azonos lehet. Hőtároló részecskék szuszpenziói esetében a mikrokapszulákat folyadékban - általában vízben – diszpergálják [96]. A szuszpenzió stabilitása miatt a kapszulák mérete nem lehet túl nagy (legfeljebb néhány 10 mikrométerig terjedhet), ugyanakkor felületaktív szer használatára is szükség lehet a stabilizáláshoz. Mikrokapszulázott fázisváltó hőtároló anyagokból készült zagyok jól használhatók lakóterek vagy egyéb helyiségek napsugárzásból származó hővel történő fűtésére, vagy azok légkondicionálására [97]. A napkollektorok hatékonysága is javítható a PCM mikrokapszulákból készült zaggal a hőközvetítő közeg hőkapacitásának növelése révén. PCM zagy alkalmazásával a hőátadási tényező nagymértékű növelését érték el a fázisváltozás tartományában [98].

A PCM-et tartalmazó épületeket valódi használati körülmények között, vagy kisebb modellházakat, szobákat, falrétegeket és beton szendvics panel falakat klímakamrákban vizsgálják [99].

II.3. Fázisváltó hőtároló mikrokapszulák előállítási és vizsgálati módszerei az alkalmazott anyagokkal

II.3.1. Kalcium-alginát-PCM mag-héj mikrokapszulák előállítása emulzifikálás, ionos keresztkötés és hőkezelés eljárásokkal

A PCM-et tartalmazó kalcium-alginát héjjal ellátott mikrokapszulák előállításához (47. ábra) első lépésben nátrium-alginát (viszkozitás 5 wt% 80:20 toluol/etil-alkohol oldatban, 25 °C-on: 14 mPa·s, 950 mPa·s) oldatban a PCM-et emulgeáltuk (felület aktív anyag alkalmazására nem volt szükség) Vibra cell VCX130 szonikátorral (Sonics and Materials Inc., Newtown, USA) [K14-17]. Az így keletkező emulziót kalcium-klorid oldatba csepegtettük mágneses kevertetés közben a Büchi Encapsulator B-390 készülékkel (46. ábra, BÜCHI Labortechnik AG, Flawil, Svájc), aminek eredményeképpen a nátrium ionok cseréjével kalcium-alginát gél képződött megfelelő gélesítési idő alatt. Az így formázott maganyagot szűrővel eltávolítottuk a kalcium-klorid oldatból, és nátrium-alginát oldatba adagoltuk, majd megfelelő érintkeztetési idő és szűrés után újra kalcium-klorid oldatba juttattuk a gél cseppeket. Ismételt szűrés és vizes mosás után a gél gömböket kontakt hőkezelésnek vetettük alá, mely során a kalcium-alginát üvegszerű kemény héjat képezett a PCM mag körül. Az eljárás méretnövelése során Ultraturrax-40 ipari homogenizátorral (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Németország) készítettük az emulziót, mágneses keverés helyett air-lift rendszerű keverőt használtunk, és kúpos áramlásterelő betéttel ellátott fluidágyas szárítóban szárítottuk a gélt. A kalcium-alginát-PCM mikrokapszulák funkcionalizálásához ezüst nanorészecskéket AgNO_3 nátrium-aszkorbáttal történő redukciójával állítottunk elő nátrium-citrát stabilizátor alkalmazása mellett [K16,17]. A létrehozott töltésstabilizált ezüst nanorészecskéket a héjképzéshez használt nátrium-alginát oldatban szonikálással diszpergáltuk.



47. ábra: Kalcium-alginát-kókuszolaj PCM mikrokapszulák előállítása.

A kalcium-alginát-PCM hőtároló kapszulák előállításának kísérleti tervét a StatSoft® STATISTICA (Statsoft Inc. USA) szoftverrel, 3-szintű, 3 faktoros Box-Behnken modell alapján készítettük el. A legfontosabb folyamatváltozóknak, még hozzá a nátrium-alginát és kalcium-klorid koncentrációjának és a nátrium-alginát gélesítő oldat és a maganyag érintkeztetési idejének hatását vizsgáltuk a kalcium-alginát hidrogél héj formázási művelet során a keletkező részecskék méretére és PCM tartalmára. Állandó értéken tartottuk a kísérletek során a nátrium-alginát és a kalcium-klorid koncentrációját a maganyag formázási lépései során. A kísérlettervezési program által javasolt 15 kísérletet (3 ismételt kísérletet tartalmazva) végeztünk el.

II.3.2. Szintetikus polimer - PCM mikrokapszulák előállítása emulzió - oldószer elpárologtatás és szuszpenziós polimerizáció módszerével

Olaj-a-vízben emulzió - oldószer elpárologtatás módszerével n-hexadekán (HD) PCM-et tartalmazó etil-cellulóz (EC, viszkozitás: 4 mPa·s, 5 wt% 80:20 toluol/etil-alkohol oldatban, 25 °C-on) mikrorészecskéket állítottunk elő [K21]. Az EC-t diklór-metánban oldottuk és a HD-val összeöntve létrejött az olaj fázis, melyet PVA ($M_w = 30000-70000$ g/mol, hidrolízis arány: 87–90%), poliszorbát 80 vagy PMAA ($M_w = 9500$) emulgeátorokat tartalmazó vizes fázisban emulgeáltunk mágneses kevertetéssel. A PCM-et tartalmazó EC mikrokapszulák az oldószer szobahőmérsékleten kevertetéssel történő elpárologtatása folyamán jöttek létre.

A szuszpenziós polimerizációhoz Smith PhD dolgozatában [100] leírt recepteket adaptáltuk [K22]. A szerves fázis a metil-metakrilát monomert és a trimetilol-propán-trimetakrilát keresztkötő monomert tartalmazta, melyek elegyéhez a PCM-et (Rubitherm® RT25, Rubitherm Technologies GmbH, Berlin, Németország) és a benzoil-peroxid iniciátort adagoltuk. A szerves fázist a PVA emulgeátort tartalmazó vizes fázisban Ultraturrax-40 ipari homogenizátor (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Németország) készülékkel homogenizáltuk. A reakcióhőmérsékletet 4 órán át 70 °C-on, 2 órán át 80 °C-on és 1 órán át 90 °C-on tartottuk a polimerizáció véghezviteléhez.

II.3.3. PCM-et tartalmazó mikrorészecskék fiziko-kémiai vizsgálata

A mintavétel szabályainak betartásával 50 db kiválasztott részecske optikai mikroszkópos (Carl Zeiss, Jena) vizsgálatával határoztuk meg a kalcium-alginát kapszulák szemcseméretét és a szórást. A többi, PCM-et tartalmazó, kisebb méretű mikrorészecske szemcseméret eloszlását a lézerdiffrakció elvén működő Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Malvern, UK) készülékkel határoztuk meg. A mikrokapszulák morfológiáját FEI Apreo S pásztázó elektronmikroszkóppal (SEM, Thermo Scientific, Waltham, MA) vizsgáltuk. Az ezüst nanorészecskék méretét Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Malvern, UK) segítségével mértük a DLS/fotonkorrelációs spektroszkópia elvét alkalmazva. A PCM-tartalom extrakciós meghatározásához 1 g tömegű mikrokapszulát Narva Vibrátor típusú (Gyártó Erbisdorf) mikro golyós malomban 5 percen keresztül öröltünk, és a PCM kioldását 20 ml petróleum-éterrel 60 percen keresztül kevertetés mellett valósítottuk meg. Az oldhatatlan szilárd maradékot (kalcium-alginát) szűrtük és a petróleum-étert vákuumban desztilláltuk (Heidolph Laborota

4001). A visszamaradt PCM tömegét analitikai mérlegen mértük. A mikrokapszulák hozamát gravimetriával határoztuk meg az (5) egyenlet alapján:

$$\text{Hozam (\%)} = \frac{\text{mikrokapszula tömege (g)}}{[\text{alginát tömege (g)} + \text{PCM (g)} + \text{kalciumklorid (g)} + \text{ezüst nanorészecske (g)}] \text{ az előállítási folyamatban}} \times 100 \quad (5)$$

Az FTIR méréseket Jasco FT/IR-4600 (JASCO International Co., Ltd., Japán) készülékkel végeztük, amely Jasco ATR Pro One szimpla reflexiós gyémánt ATR kiegészítővel (45°-os beesési szög) és 4000-400 cm⁻¹ intervallumban működő DLATGS detektorral volt felszerelve.

A felületi feszültség mérését FTA 1000 B tenziométerrel (First Ten Angstroms, Inc., Portsmouth, VA, Egyesült Államok) végeztük. A folyadékok folyadék-levegő határfelületi feszültségét függő csepp módszerrel, míg az EC filmen kialakuló folyadék-szilárd határfelületi feszültséget a kontaktszög méréséből határoztuk meg a Young-egyenlet alapján:

$$\gamma_{LV} \cdot \cos(\theta) = \gamma_{SV} - \gamma_{SL} \quad (6)$$

ahol LV: folyadék-gőz határfelület, SV: szilárd (polimer film) - gőz határfelület, SL: szilárd-folyadék határfelület és θ : kontaktszög a polimer film és a folyadék fázis között.

A mikrokapszulák morfológiája az előállítás során létrejövő határfelületi feszültségektől függ. Három nem elegyedő folyadék esetére Torza és Mason [101] írták le az emulzióképződés során kialakuló csepp egyensúlyi morfológiájának egyenleteit, melyeket a szétterülési együtthatók határoznak meg. Ezt a közelítést alkalmazták és fejlesztették tovább Loxley és Vincent [102] PCM mikrokapszulákra.

Ha két nem elegyedő folyadék cseppjeit (1: HD és 2: emulgeátor oldata) egy harmadik szintén nem elegyedő fázissal (3. fázis: EC polimerfilm) érintkezésbe hozzuk, a végső egyensúlyi morfológiát a fázisok közötti határfelületi feszültségek határozzák meg (γ_{12} , γ_{23} és γ_{13}). A S_i szétterülési együtthatók definíció szerint:

$$S_1 = \gamma_{23} - (\gamma_{12} + \gamma_{13}), \quad (7)$$

$$S_2 = \gamma_{13} - (\gamma_{23} + \gamma_{12}), \quad (8)$$

$$S_3 = \gamma_{12} - (\gamma_{23} + \gamma_{13}), \quad (9)$$

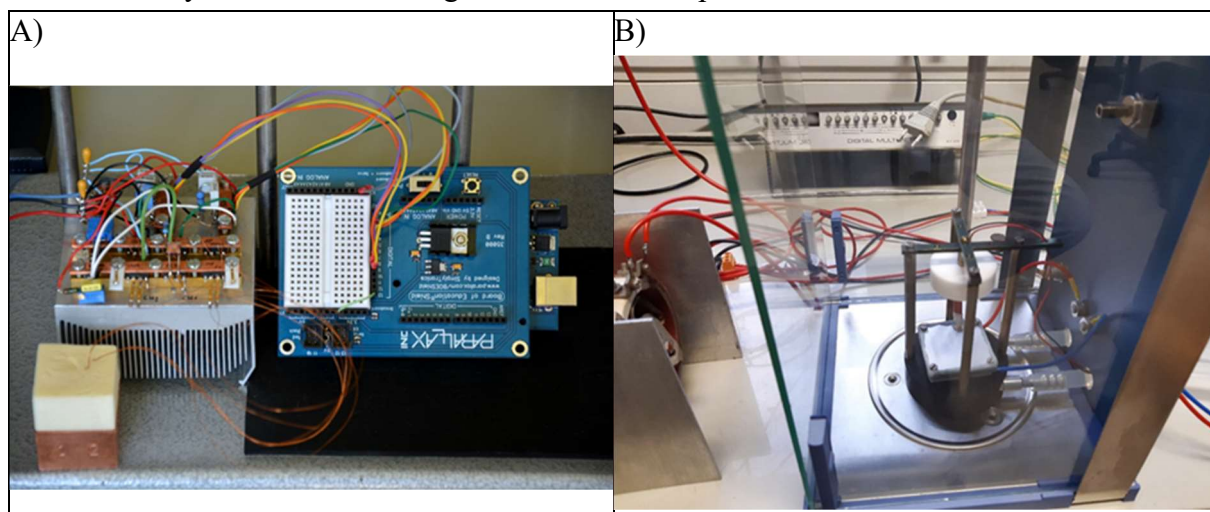
ahol $\gamma_{12} = \gamma_{\text{HD/Emulgeátor}}$, $\gamma_{13} = \gamma_{\text{HD/ECfilm}}$, és $\gamma_{23} = \gamma_{\text{ECfilm/Emulgeátor}}$ és amelyre érvényes, hogy $\gamma_{12} > \gamma_{23}$, és $S_1 < 0$, amelyek alapján három lehetséges kombinációja van S_i előjelének:

$S_1 < 0$; $S_2 < 0$; $S_3 > 0$	mag-héj szerkezet
$S_1 < 0$; $S_2 < 0$; $S_3 < 0$	makk szerkezet (a héj a magot csak részben borítja be)
$S_1 < 0$; $S_2 > 0$; $S_3 < 0$	különálló cseppek alakulnak ki.

II.3.4. PCM-et tartalmazó mikrorészecskék termikus és stabilitási vizsgálatai

A termogravimetriás analízist LabsysEvo (Setaram, Lyon, Franciaország) TG-DSC rendszeren, 25-1000 °C hőmérséklet-tartományban, 10 °C/perc fűtési sebességgel végeztük; a hőtároló mikrokapszulák termikus viselkedésének analizésére Setaram μ DSC3evo típusú differenciális pásztázó kalorimétert, a TG és DSC mérések értékelésére Calistro Processing (v1.49, v1.12 és v2.05) szoftvert használtunk. A kapszulák ciklikus hőterhelés-állóságának vizsgálata Németh Bence László tervezésével és kiépítésével, az általam vezetett PhD

munkájának [103] keretében készült gyorsított öregedés vizsgáló berendezéssel történt **(48. ábra)** az irodalomban leírt módszerrel [104]. A hőtechnikai berendezés tápegységének építéséhez a Linear Technology Low Dropout Positive Adjustable Regulators LT 1083-t (RS Components, London, Egyesült Királyság) használtuk fel. A vezérlőegység egy Arduino Mega2560 REV3 típusú mikrokontroller. A digitális tápegységhez az AD 660 Monolithic 16-Bit Serial/Byte DACPORT-ot, valamint az OPA541 High Power Monolithic Operational Amplifier integrált áramköröket építettük be. A hőmérsékletmérő egységet MAX 132 \pm 18 bit Adc soros interfésszel, INA128 Precision, Low-Power Instrumentation és BUR BROWN Precision INA131 $G = 100$ erősítők, LM334 3-áramgenerátor, VISHAY ellenállás, Z-Foil alkatrészekből és IST PT100 (216) platina hőmérsékletmérő szenzorokból készítettük el. Az elektromos hőszivattyú típusa QUICKCOOL HighTech Peltier elem, 40x40x3,6mm, QC-241-1.0-3.9M. A folyadék hűtőkörhöz egy JULABO F33 (JULABO GmbH, Seelbach, Németország) termosztátot használtunk. 200-1000 felfűtési és lehűtési ciklusnak tettük ki a mintákat, mely után DSC-vel vizsgáltuk a látens entalpiaváltozást.



48. ábra: Hőterhelési vizsgálatra épített készülék Arduino mikrovezérlője a kapcsolódó hőmérsékletmérő körrel (A) és a termoelektromos temperálóegység (B).

II.3.5. Ezüst-tartalom és minőség meghatározása ICP-MS és XPS módszerekkel

A kalcium-alginát-PCM kapszulák ezüst-tartalmát ICP-MS módszerrel (Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS, Thermo Scientific, Waltham, MA) határoztuk meg tömény salétromsavval történt oldás után. Az ezüst nanorészecskék összetételének elemzését röntgen fotoelektron spektroszkópiával (XPS) végeztük, az ezüstformákat EA 125 electron spectrometer készülékkel (Omicron Nanotechnology GmbH, Németország) vizsgáltuk, a felvett spektrumokat CasaXPS és XPS MultiQuant szoftverekkel elemeztük.

II.3.6. Antibakteriális és gombaölő hatás vizsgálatai

Az ezüst nanorészecskéket tartalmazó mikrokapszulák antibakteriális hatékonyságát az ampicillin rezisztens pKOT-1 plazmidot (pKOT-1/SJW2536) tartalmazó flagellinhiányos Salmonella Serovar Typhimurium SJW2536 törzsön teszteltük. A sejtszám meghatározására áramlási citometriát (Beckman Coulter Gallios áramlási citométer, Brea, CA) használtunk. A

feczko_273_24

sejtek festése Hoechst 33342-vel és propidium-jodiddal történt. A sejtszuszpenziót tartalmazó mikrocentrifuga csöveket Bio RS-24 Mini-Rotator (BioSan, Riga, Lettország) berendezésben, szobahőmérsékleten forgattuk. A sejtek túlélésének 6 és 24 óra elteltével történő ellenőrzésére az egynapos tenyészetek turbiditásának változását detektáltuk.

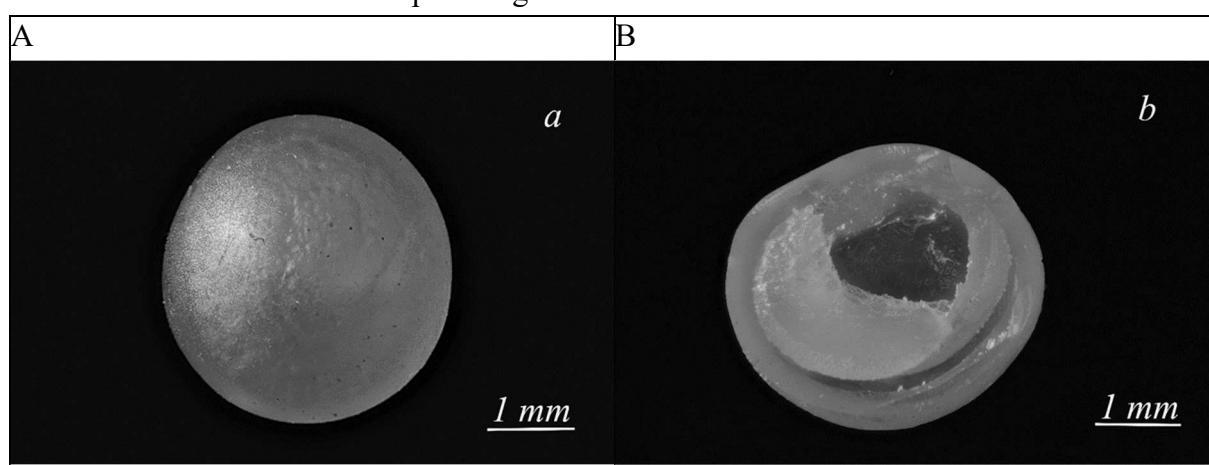
Az ezüst nanorészecskékkel vagy azok hiányában készült kalcium-alginát-kókuszosolaj részecskéket *Penicillium funiculosum* NCAIM F 00689, *Paecilomyces variotii* NCAIM F 00862 vagy *Trichoderma viride* NCAIM F 00795 gomba szuszpenzióval vontuk be, és inkubálás után feljegyeztük a micélium átmérőjét, amiből a penésztelep térfogata számítható.

II.4. Eredmények és következtetések fázisváltó hőtároló mikrokapszulákkal

II.4.1. Kalcium-alginát héjú, mag-héj szerkezetű hőtároló kapszulák

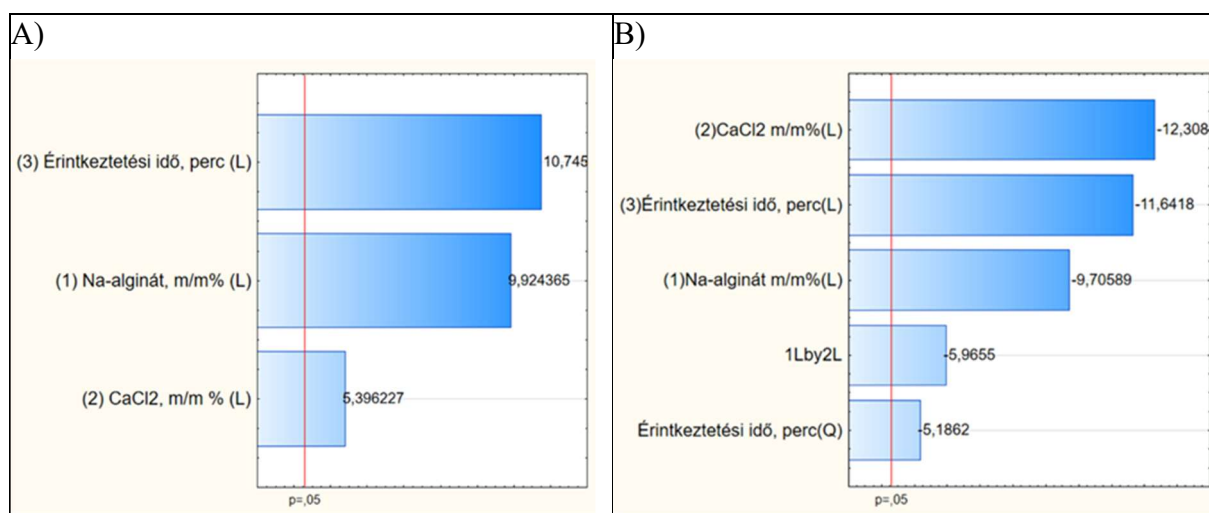
II.4.1.1. Kalcium-alginát-paraffin kapszulák [K14-16]

Új eljárást dolgoztunk ki PCM-ek biológiai eredetű kalcium-alginát héjjal történő szivárgásmentes mikrokapszulázására. Az emulzifikálás, ionos keresztkötés és hőkezelés eljárásokkal először olyan részecskéket állítottunk elő, melyek két fő komponenset (36,8 °C és 56,8 °C olvadáspontú) tartalmazó paraffin PCM-et foglaltak magukba. Az előállított hőtároló kapszulák gömb alakúak, mag-héj szerkezetűek és sima felületűek (49.A ábra), melyek a kalcium-alginát héj hőkezelésének hatására bekövetkező zsugorodása miatt egy üreget is tartalmaztak (49.B ábra). Ez utóbbi az alkalmazás szempontjából azzal az előnnyel jár, hogy a fázisváltás során teret ad a fellépő térfogatváltozásnak.



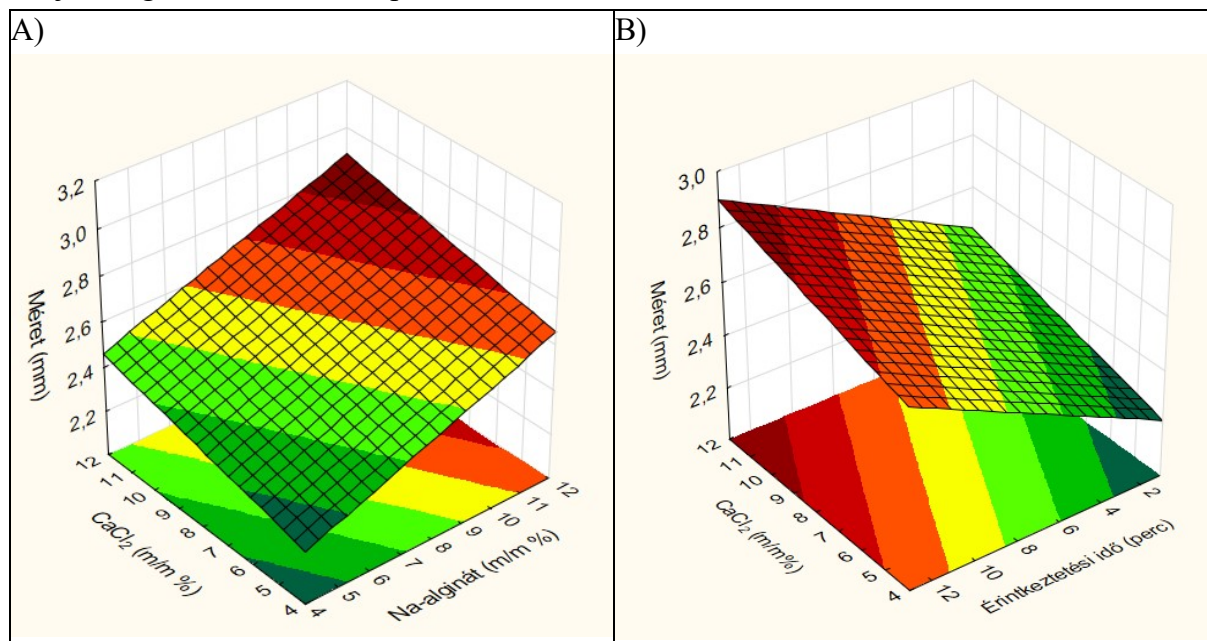
49. ábra Kalcium-alginát-paraffin kapszulák optikai mikroszkópos felvétele (A) és keresztmetszeti képe (B).

Statisztikai kiértékelés alapján megállapítottuk, hogy az előállítási körülmények között a három legfontosabb hatással bíró műveleti paraméter lineáris hatása a kapszulák méretére szignifikáns (50.A ábra).



50. ábra: Pareto diagram az érintkeztetési idő, a nátrium-alginát és a kalcium-klorid koncentráció méretre (A) és PCM tartalomra (B) gyakorolt standardizált hatásának becslésére.

A kapszulák mérete az érintkeztetési idő, a nátrium-alginát és a kalcium-klorid koncentrációjának növelésével növekszik, hiszen mindhárom hatás a kalcium-alginát tömegének gyarapodásának irányába mutat (**51. ábra**). A részecskék tömeg szerinti szemcseméret eloszlása szűk tartományban ingadozott. A kapszulák átmérője 2,16 mm és 3,04 mm között változott. A részecskeméret adatok szórása átlagosan 5,5%. Ez a méret definíció szerint már inkább a makrokapszulák tartománya, viszont az előállítási módszer és a kapszulák tulajdonságai miatt a mikrokapszulázás témaköréhez sorolom.



51. ábra: A kalcium-klorid és a nátrium-alginát koncentráció (A), illetve a kalcium-klorid koncentráció és az érintkeztetési idő (B) kapszulaméretre gyakorolt hatása.

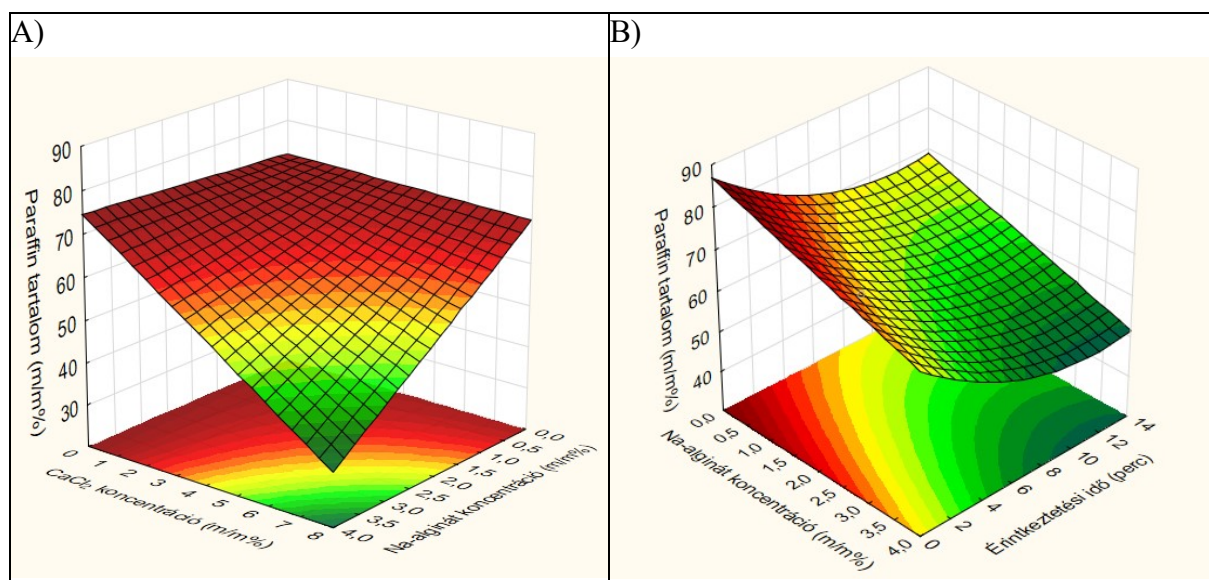
A hőtároló kapszula méretének a vizsgált előállítási paramétereiktől való függését a szignifikáns hatásokat figyelembe véve többváltozós regressziós analízissel határoztuk meg:

$$D = 0,05287 \cdot X_{NaAlg} + 0,02875 \cdot X_{CaCl_2} + 0,03817 \cdot t + 1,63597 \quad (10)$$

A (10) egyenletben a D (mm) a kapszulák átlagos átmérője, X_{NaAlg} (% m/m) a nátrium-alginát koncentrációja, X_{CaCl_2} (% m/m) a kalcium-klorid koncentrációja és t (min) a maganyag és a nátrium-alginát közötti érintkeztetési idő a hidrogél héj képzése során.

A kapszulák paraffin-tartalma az első kísérletsorozatban 11,1-48,0% (m/m) széles tartományban változott, melyre szintén az érintkeztetési idő, a nátrium-alginát és a kalcium-klorid koncentráció gyakorolt lineáris hatást, ami mellett az érintkeztetési idő négyzetes hatása is szignifikánsnak bizonyult. A paraffin-tartalmat nagymértékben megnöveltük azért, hogy a kis viszkozitású nátrium-alginát (14 mPa·s) helyett nagy viszkozitású alginát gélképzőt (950 mPa·s) alkalmaztunk, ezáltal kisebb vastagságú és tömegű héj alakult ki a folyamat során. A paraffin-tartalomra legnagyobb hatást a kalcium-klorid koncentráció és az érintkeztetési idő (L lineáris hatások) gyakorolta (**50.B ábra**). A nátrium-alginát koncentrációja szintén kulcsparaméter volt a PCM tartalom tekintetében (lineáris hatás), továbbá az érintkeztetési idő hatása a másodfokú (Q) tagban is megmutatkozott. Mindegyik változó statisztikailag szignifikáns hatást gyakorolt a PCM-tartalomra. A növekvő nátrium-alginát koncentráció

lineárisan csökkenti a paraffin-tartalmat a kalcium-klorid koncentráció és az érintkeztetési idő bármely kombinációjával a kapszulabevonat tömegének növekedése miatt (**52. ábra**). A maximális paraffin-tartalmat (85%, m/m) minimális érintkeztetési idővel, a legkisebb kalcium-klorid és minimális nátrium-alginát koncentrációval érték el. Ha azonban a kalcium-klorid koncentráció túl alacsony, akkor a nátrium-alginát koncentráció csak kismértékben befolyásolja a paraffin-tartalmat, mivel az alginát térhálósodásához szükséges elegendő mennyiségű kalcium-ion nélkül a héj tömegét nem lehet növelni. Állandó nátrium-alginát koncentráció és érintkeztetési idő esetében a kapszulák paraffin-tartalma lineárisan csökken a kalcium-klorid koncentráció növekedésével. A legkisebb érintkeztetési idő a legmagasabb paraffin-tartalmat eredményezi, függetlenül a nátrium-alginát koncentrációtól a legkisebb kalcium-klorid koncentráció esetén. Azt is fontos volt vizsgálni, hogy a legnagyobb PCM koncentrációnál a kapszula fala mechanikailag kellően stabil legyen. A legalacsonyabb nátrium-alginát- és kalcium-klorid koncentrációkkal elért legmagasabb paraffin tartalom, valamint a legrövidebb érintkeztetési idő mechanikailag és termikusan instabil kapszulák kialakulásához vezet. A paraméterek közepes értékeinél a paraffin-tartalom megfelelően magasnak adódott erős kapszulafal mellett. Nagy viszkozitású kapszulázó anyagot használva a maximális paraffin-tartalmat jelentősen, 48% (m/m)-ról 81,5% (m/m)-ra növeltük, amely PCM koncentrációnál még megfelelő mechanikai stabilitású kapszulák jöttek létre. Ez azt mutatja, hogy a nátrium-alginát minősége, különösen a viszkozitása döntő fontosságú. Ennek az az oka, hogy az emulgeáláshoz szükséges nátrium-alginát oldat viszkozitását jelentősen kisebb koncentráció alkalmazásával lehetett számottevően megnövelni, ami által stabil o/v emulzió hozható létre, ahol a PCM-et (o) emulgeáljuk az alginátot tartalmazó vizes fázisban.



52. ábra: A PCM-tartalom változása a nátrium-alginát és a kalcium-klorid koncentráció (A), illetve a nátrium-alginát koncentráció és az érintkeztetési idő függvényében (B).

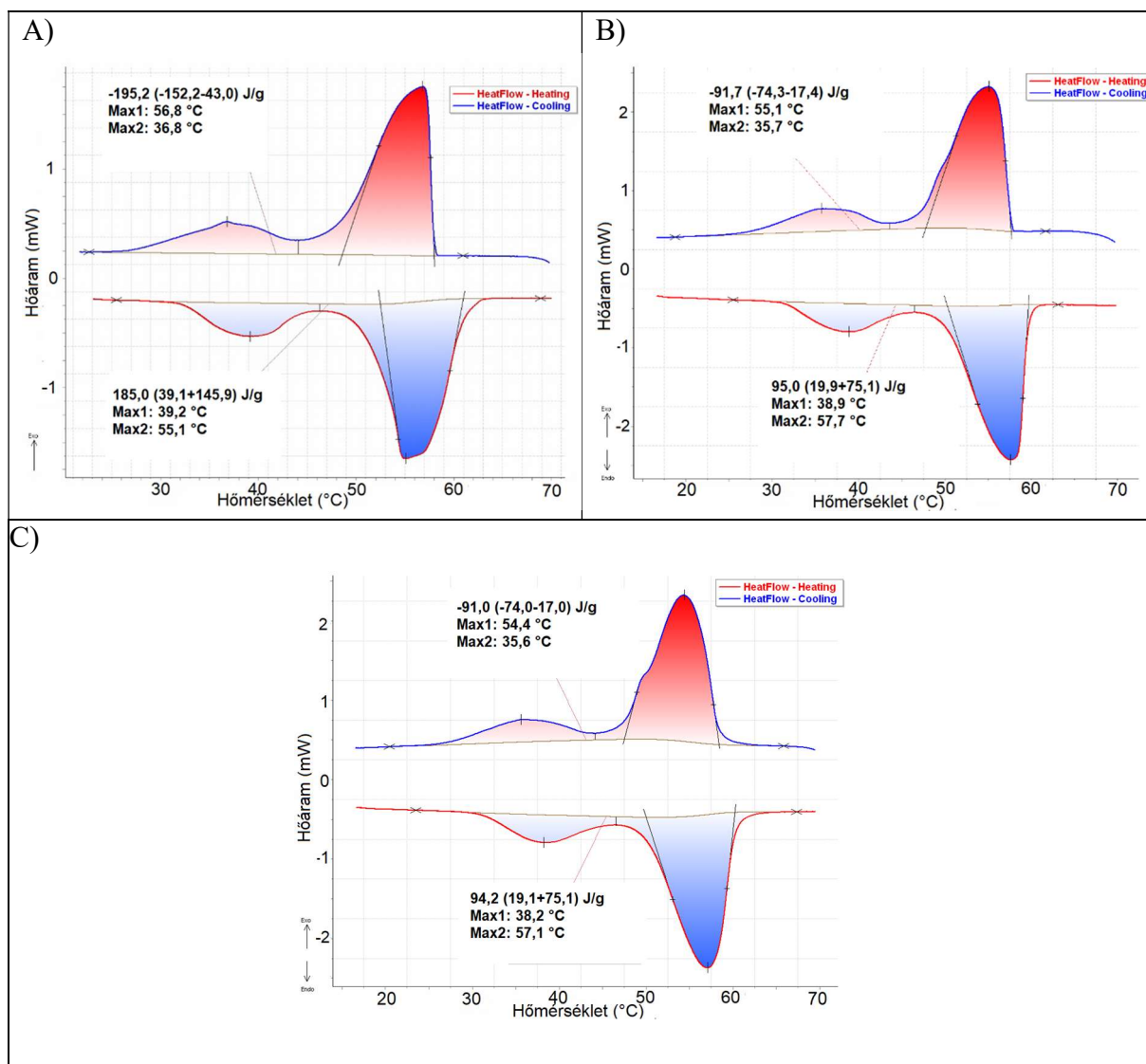
A PCM-tartalom vizsgált változóktól való függését többváltozós másodfokú regresszióval határoztuk meg:

$$Y_P = 0,6867 \cdot X_{Na_Alg} - 0,2358 \cdot X_{CaCl_2} - 3,2665 \cdot t + 0,1408 \cdot t^2 - 1,2517 \cdot X_{Na_Alg} \cdot X_{CaCl_2} + 87,8616 \quad (11)$$

ahol Y_P a kapszulák paraffin tartalma (% m/m), X_{Na_Alg} a nátrium-alginát koncentrációja (% m/m), X_{CaCl_2} a kalcium-klorid koncentrációja (% m/m), t pedig az érintkeztetési idő (perc).

A kapszulák paraffin-tartalmának változása az alginát héj tömegének változásával magyarázható, hiszen a méret, és ezzel együtt a héjanyag növekedésével a paraffin tömegaránya a kapszulákban csökkent, tehát a méret és a PCM-tartalom fordított arányosságban van egymással.

A tiszta paraffin microDSC-vel meghatározott olvadási és fagyási látens hője egyenként 185,0 J/g, illetve 195,2 J/g (**53.A ábra**). A legmagasabb paraffin tartalmú (48% m/m), kapszulák hőtároló képessége az extrakcióval meghatározott paraffin-tartalomnak megfelelő nagyságúnak bizonyult 95,0 J/g olvadási és illetve 91,7 J/g fagyási látens entalpiaváltozás értékekkel (**53.B ábra**) kis viszkozitású nátrium-alginát használata esetén. 1000 fűtési-hűtési ciklus után a kapszulák látens hőtárolóképessége elhanyagolható mértékű csökkenést mutatott 94,2 J/g és 91,0 J/g olvadási, illetve fagyási entalpiaváltozás értékekkel (**53.C ábra**), azaz a kapszulák PCM-tartalma gyakorlatilag nem változott.



53. ábra: Paraffin (A) és kalcium-alginát-paraffin kapszulák DSC termogramjai 1000 fűtési-hűtési ciklus előtt (B) és után (C).

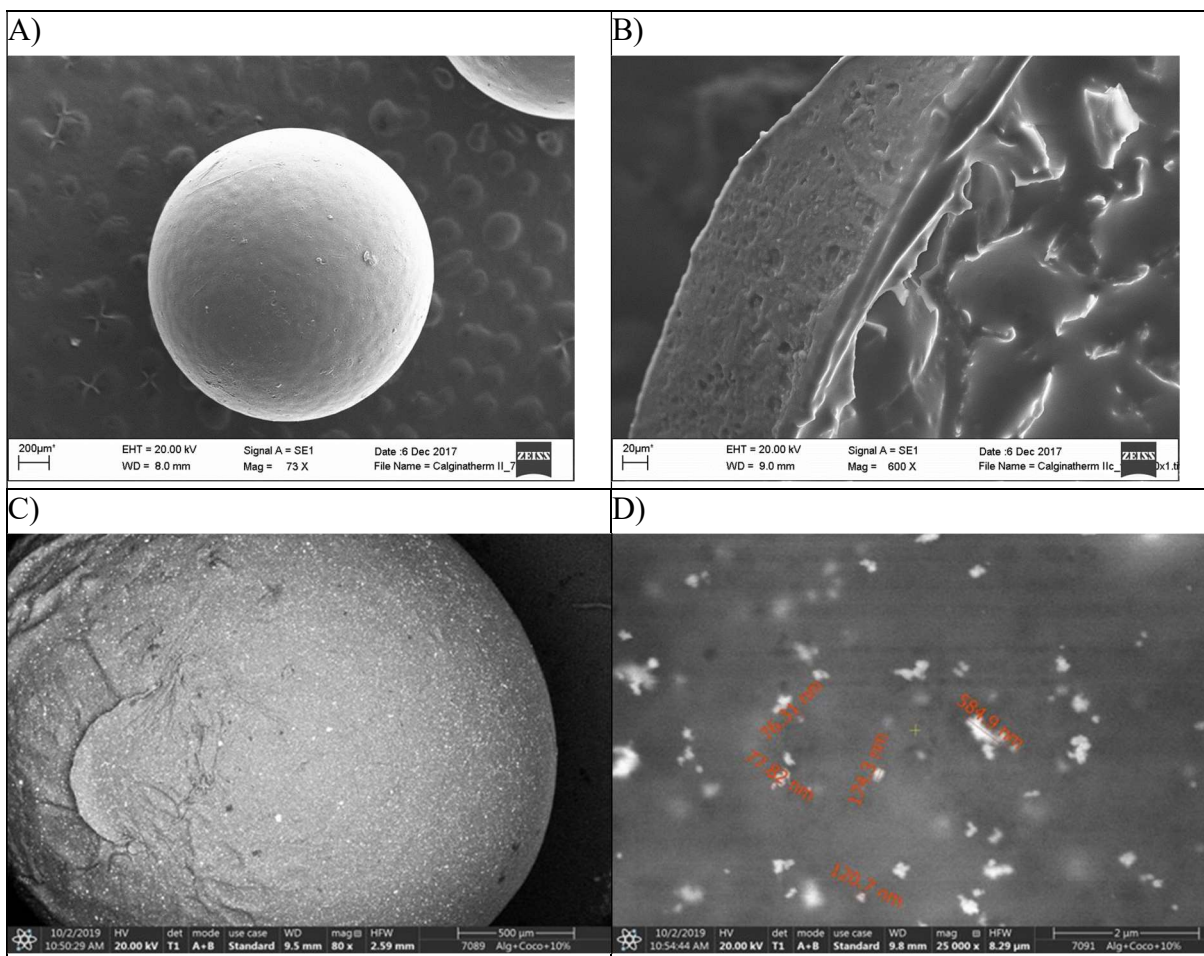
A kiindulási paraffin DSC termogramja (**53.A ábra**) azt is megmutatta, hogy a fő komponens (olvadáspont: 55,1 °C, dermedéspont: 56,8 °C) mellett a vizsgált paraffin kisebb mennyiségben egy alacsonyabb hőmérsékleten fázist váltó (olvadáspont: 39,2 °C, dermedéspont: 36,8 °C) alkotót is tartalmazott. Mindkét összetevő olvadás- és fagyáspontja között kicsi a különbség, azaz nincs számottevő túlhűlésük. A kalcium-alginát héjjal történő mikrokapszulázás hatására a túlhűlés a magasabb (olvadáspont: 57,7 °C, dermedéspont: 55,1 °C) és az alacsonyabb fázisváltási hőmérsékletű komponensek (olvadáspont: 38,9 °C, dermedéspont: 35,7 °C) esetében is kismértékben növekedett. 1000 fűtési-hűtési ciklus a kapszulákba zárt PCM olvadás- és fagyáspontjára nem volt hatással (**53.C ábra**).

II.4.1.2. Kókuszolaj PCM-et tartalmazó kalcium-alginát kapszulák [K16]

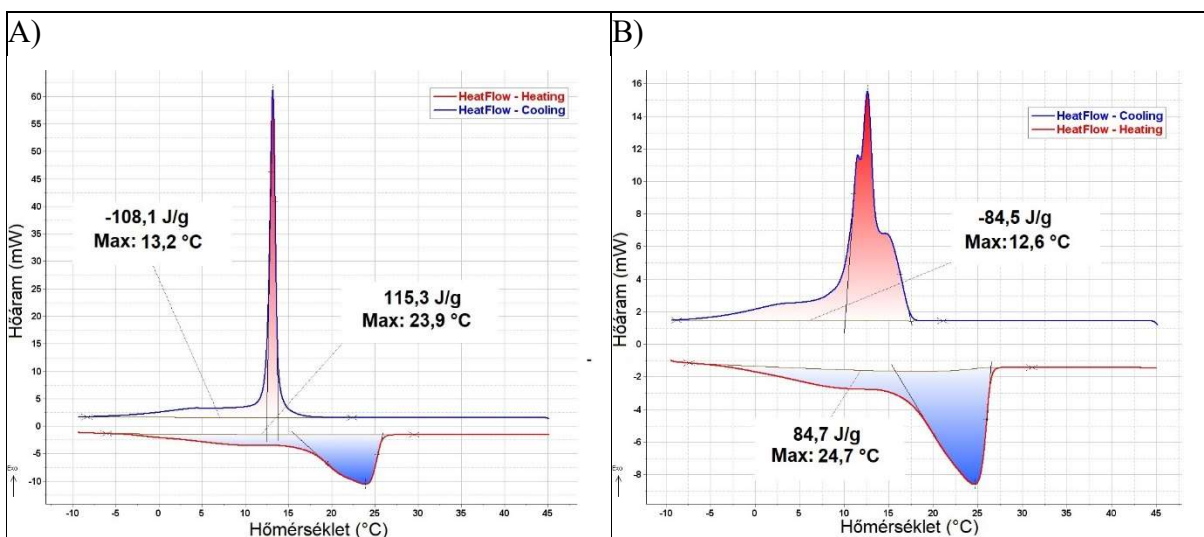
Annak érdekében, hogy a célkitűzésem szerint minden összetevőjében biológiai eredetű, szobahőmérsékleten fázist váltó PCM kapszulákat állítsunk elő, az eddigiekben alkalmazott paraffint a célnak megfelelő anyaggal helyettesítettük. A magas PCM-tartalmat és megfelelő mechanikai és termikus stabilitást biztosító paraméterek alkalmazásával végzett folyamatoptimalizálás után a kalcium-alginát mag-héj részecskékkkel a főképp zsírsavakat tartalmazó kókuszolaj természetes eredetű fázisváltó anyagot mikrokapszuláztuk. A PCM extrakcióval és gravimetriával mért kókuszolaj-tartalom az optimalizált eljárásban $81,1 \pm 4,6\%$ (m/m)-nak adódott, ami gyakorlatilag megegyezett a paraffin esetében mért értékkel.

SEM felvételek alapján a kókuszolajjal is mag-héj szerkezetű, gömb alakú, sima felületű kapszulák képződtek (**54.A ábra**). A kis viszkozitású nátrium-algináttal előállított kapszulákhoz (kapszula falvastagság: 200-300 μm , **49.B ábra**) képest vékonyabb kapszulafal keletkezett (50-100 μm , **54.B ábra**), ami magyarázza az utóbbi esetben elérhető lényegesen magasabb PCM tartalmat. Ezek alapján megállapítható, hogy a folyamat paramétereinek változtatása nélkül, a kifejlesztett új eljárás a hosszú szénláncú alkánok mellett zsírsavak mikrokapszulázására is kiválóan alkalmas.

A kókuszolaj látens hőtároló képességére DSC vizsgálatokban 115,3 J/g olvadási és 108,1 J/g fagyási entalpiaváltozást mértünk (**55.A ábra**). A kalcium-alginát-kókuszolaj kapszulák megfelelő hőtároló képessége 84,7 J/g-nak, illetve 84,5 J/g-nak bizonyult (**55.B ábra**), amely értékek összhangban voltak a kémiai extrakcióval és gravimetriával mért PCM-tartalommal. Megjegyzendő még, hogy a kiindulási kókuszolaj olvadáspontja 23,9 °C, míg a dermedéspontja 13,2 °C, ami számottevő túlhűlést jelent. A kalcium-alginát héjba történő mikrokapszulázás hatására az olvadáspont kissé növekedett (24,7 °C), és a fagyáspont némileg csökkent (12,6 °C), azaz a túlhűlés mértéke látszólag emelkedett. Azonban a DSC termogramon (**55.B ábra**) megfigyelhető, hogy a mikrokapszulázott kókuszolaj dermedése során a kiindulási anyagban (**55.A ábra**) a termoanalitikai vizsgálatban homogénnek bizonyuló fő komponens (egy határozott csúccsal) 3 alkotóra válik szét, ami a DSC-n 3 egymásba olvadó csúcsként jelenik meg. Ezek közül a legmagasabb fagyáspontú (kb. 15 °C), a DSC alapján a 2. legnagyobb mennyiségben jelenlevő összetevő megjelenése végső soron a dermedéspontot emeli, azaz eredő túlhűlést valamelyest csökkenti.



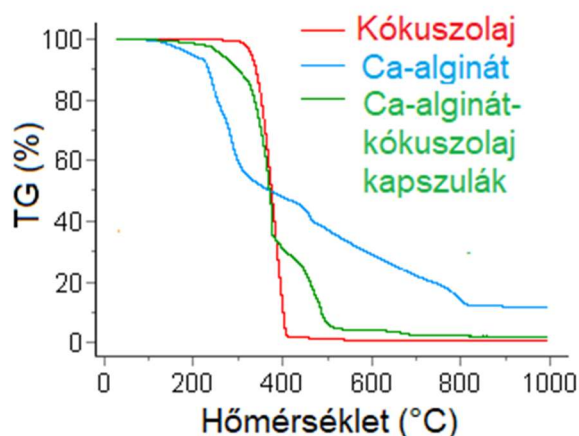
54. ábra: SEM felvételek a kalcium-alginát-kókuszosalaj hőtároló kapszula felszínéről (A) és keresztmetszetéről (B). Ezüst nanorészecskéket tartalmazó kapszulák felszíne (C) 80-szoros és 25000-szeres (D) nagyításban. A nanorészecskék fehér pöttyökként látszanak a felvételeken.



55. ábra: Kókuszosalaj (A) és kalcium-alginát-kókuszosalaj (B) DSC termogramjai.

A kapszulák és összetevőik hőstabilitását vizsgálva, a kókuszosalaj TG görbéjén (56. ábra) két tömegvesztési lépés látható: az első (98,5%) 195 és 426 °C között következett be, melyet

egy sokkal kisebb követi 426 és 609 °C között (tömegvesztés: 1,3%). Az első lépés a kókuszolaj elégetése, míg a második, az olaj tökéletlen elégetése miatt keletkezett széntartalmú maradék oxidációjából származik. A kókuszolajat nem tartalmazó vak kalcium-alginát kapszulák TG termogramján több hőbomlási lépés azonosítható. 193 °C-ig 6,2 % fizikailag kötött víz és az illékony komponensek távoznak. 716 °C-ig lezajlik a szerves anyagok teljes oxidatív bomlása (tömegvesztés: 73,7%) CaCO₃ képződésével, ami 826 °C-ig CO₂-ra és CaO-ra bomlik (tömegvesztés: 8,3%). A visszamaradó 11,9% anyag a CaO.



56. ábra: Kókuszolaj, kalcium-alginát vak részecskék és kalcium-alginát-kókuszolaj kapszulák TG termogramja.

A kókuszolajat tartalmazó kalcium-alginát kapszulák természetesen mind a két alkotó jellegzetességeit mutatták. 30-207 °C tartományban sokkal kisebb tömegcsökkenést figyeltünk meg (1,9%), mint a tiszta kalcium-alginát hőbomlása esetén, azaz kevesebb víz és illékony komponens volt a kókuszolajat tartalmazó kapszulákban, ami nem meglepő, hiszen a víztartalom elsősorban a héjanyaghoz kötődik, ami ez esetben jóval kisebb arányú a kapszulák össztömegéhez képest. 207-298 °C hőmérséklettartományban a kalcium-alginát enyhe bomlása megkezdődik (9,9% tömegcsökkenéssel), amit egy intenzívebb és gyorsabb, 59,5% tömegvesztés követ a kókuszolaj elégetése miatt 410 °C-ig hevítve. 410 és 545 °C között a Ca-alginát héj hőbomlása zajlik (24,4% tömegvesztéssel), ami ennél magasabb hőmérsékleten a fent leírtak szerint CO₂-ra és CaO-ra bomlik. Megjegyzendő, hogy ez esetben a CaCO₃ bomlása sokkal alacsonyabb hőmérsékleten játszódik le, mint a kókuszolajat nem tartalmazó kalcium-alginát kapszulák esetében tapasztalt, aminek az az oka, hogy a kókuszolaj bomlásakor felszabaduló hő felgyorsítja a héj bomlását.

II.4.1.3. Ezüst nanorészecskékkel funkcionizált kalcium-alginát-kókuszolaj kapszulák [K17]

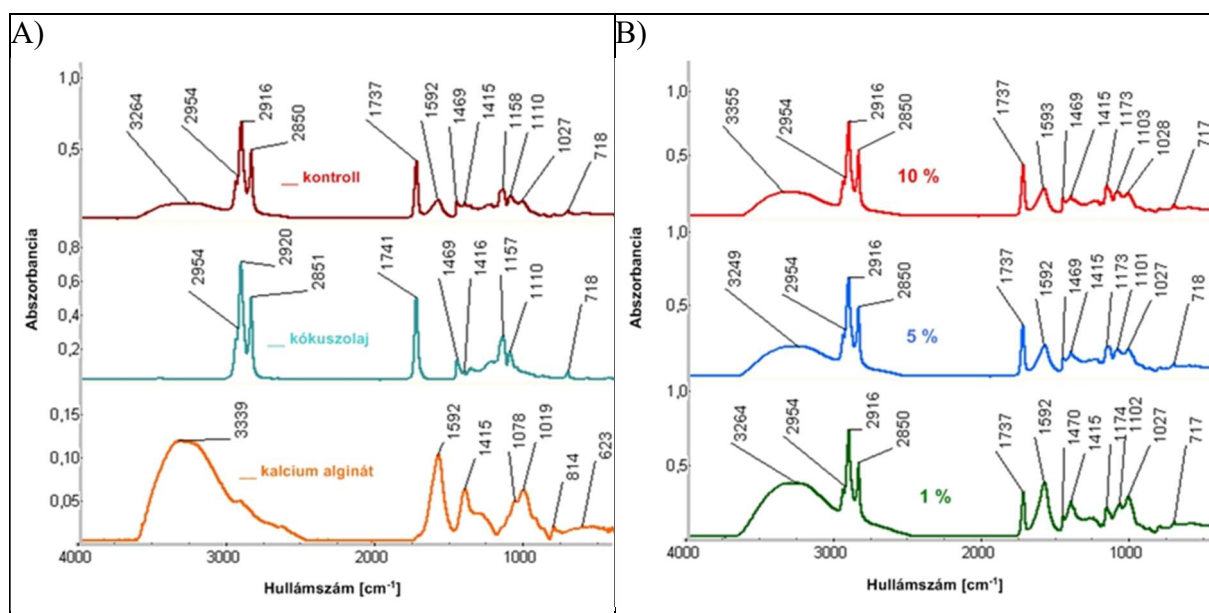
A kalcium-alginát-kókuszolaj kapszulák tartósságának növelése érdekében a kapszulák héját ezüst nanorészecskék beépítésével antimikrobiálisan funkcionizáltuk. Az ezüst nanorészecskéket környezetbarát eljárásban ezüst-nitrátból nátrium-aszkorbáttal végrehajtott redukcióval nátrium-citrát stabilizátor jelenlétében állítottuk elő. Az ezüst nanorészecskék koncentrációját ICP-MS és oxidációs állapotát XPS módszerrel vizsgáltuk. Fém ezüst mellett szén és oxigén detektáltunk a kimutatási határt (0,1%, m/m) meghaladó mennyiségben. Az

ezüst spektrális jellemzői (az ezüst 3d5/2 csúcs kötési energiája, az ezüst M4N45N45 Auger-csúcs kinetikus energiája, a vegyértéksáv és az MNN Auger-régió alakja, valamint a Fermi-él jelenléte) azt mutatták, hogy az ezüst szinte teljes mértékben elemi fém formájában volt jelen. Csak az ezüst 3d5/2 csúcs magas kötési energiájú oldalán megfigyelt nyomokban jelenlévő komponens utalt arra, hogy a minta tartalmazhat néhány százalék AgO-t is. Az ezüst nanorészecskék mérete foton korrelációs spektroszkópiával $131,6 \pm 5,3$ nm-nek adódott, ami a nátrium-alginát oldatban kismértékű aggregálódást mutatott, amit a SEM vizsgálatokban, a megszilárdult héjban is tapasztaltunk (**54.C,D ábra**). A kalcium-alginát-kókuszoalaj kapszuláknak sem a mérete (**9. táblázat**), sem a morfológiája nem változott az ezüst nanorészecskék kapszulahéjba való beépítésének hatására, megtartották a gömbszerű alakjukat (**54. ábra**).

9. táblázat. Ezüst nanorészecskék nátrium-alginát oldatával készített kapszulák kókuszoalaj tartalma gravimetriás és DSC elemzésekből.

Kiindulási ezüst-tartalom a nátrium-alginát oldatban (% m/V)	Ezüst-tartalom a kalcium-alginát kapszulákban (% m/V)	Méret (nm)
0,0 (kontroll)	-	2.59 ± 0.14
1,0	0.82 ± 0.08	2.61 ± 0.11
5,0	3.69 ± 0.17	2.60 ± 0.12
10,0	8.38 ± 0.88	2.58 ± 0.12

A kalcium-alginát, kókuszoalaj és a kontroll (vagyis ezüstöt nem tartalmazó) kapszulák FTIR vizsgálataiban (**57. ábra**) a kalcium-alginát spektrumában az O-H kötések nyújtó rezgései (ν O-H) széles abszorpciós sávként jelennek meg $3000-3500$ cm^{-1} tartományban, ami a víztartalomra utal, amit a TG vizsgálatokban számszerűsítettünk. A 2935 cm^{-1} -nél tapasztalt csúcs az alginát poliszacharid szerkezetében jelenlévő alifás szénhidrogén kötések (ν C-H) nyújtó rezgésének feleltethető meg. Az 1592 cm^{-1} -nél lévő abszorpciós sáv a COO-aszimmetrikus (ν_a), míg az 1415 cm^{-1} -nél lévő sáv a szimmetrikus (ν_s) nyújtórezgésekhez rendelhető. Az 1078 cm^{-1} -nél lévő sáv a piranozilgyűrű C-O nyújtási rezgésének, míg az 1019 cm^{-1} -nél lévő sáv a C-O-C és C-C kötések rezgéseinek (ν C-O, ν C-C) is megfelel. A kalcium-alginát-kókuszoalaj kapszulák spektruma az alapanyag spektrumok szuperpozíciójának felel meg a kókuszoalajra jellemző abszorpciós sávok dominanciájával. Az ezüst nanorészecskéket tartalmazó kapszulák FTIR spektrumai a hőtani mérések eredményeihez hasonlóan nagymértékben hasonlítanak a kontroll kapszulák spektrumára, a várakozásnak megfelelően az ezüst jelenléte nem befolyásolja az ezüst-tartalmú kapszulák spektrumát a kontrollhoz képest. Megfigyelhető még az abszorpciós sávok (pl. C=O, C-O) kisebb hullámszámú régiókba történő eltolódása, ami a kalcium-ionokkal való kelátképzést bizonyítja.



57. ábra: A kalcium-alginát, kókuszosolaj és az ezüstöt nem tartalmazó (A) és ezüst nanorészecskéket tartalmazó (B) kapszulák FTIR spektrumai.

Az ezüst nanorészecske tartalom nem csökkentette számottevő mértékben a petroléteres extrakció után gravimetriával és DSC-vel is meghatározott hőtároló képességet sem (**10. táblázat**), mivel az aránya a legnagyobb ezüst-koncentráció esetében is csak 1,3% (m/m) a teljes kapszula tömegéhez viszonyítva.

10. táblázat. Ezüst nanorészecskék nátrium-alginát oldatával készített kapszulák kókuszosolaj tartalma gravimetriás és DSC elemzésekből.

Kiindulási ezüst-tartalom a nátrium-alginát oldatban (% m/V)	Kókuszosolaj-tartalom a kapszulákban (%)	
	Gravimetria	DSC
0,0 (kontroll)	85,0 ± 3,8	84,8 ± 3,6
1,0	83,9 ± 3,9	84,3 ± 2,7
5,0	83,2 ± 3,2	82,7 ± 2,3
10,0	84,2 ± 3,9	83,7 ± 3,1

Az ezüstöt tartalmazó fázisváltó hőtároló kapszulák hőterhelési vizsgálataiban 200 fűtési-hűtési ciklus után az olvadási és fagyási entalpiaváltozások nem mutattak a hibahatárt meghaladó változást (**11. táblázat**), ami arra utal, hogy a kapszulákat szivárgásmentes héjjal láttuk el.

Ezüst nanorészecskéket tartalmazó kalcium-alginát-kókuszosolaj kapszulák antimikrobiális hatását baktériumon és penészgomba törzseken vizsgáltuk. Az ezüstöt tartalmazó kapszulák *Salmonella Typhimurium* szerotípuson (pKOT-1/SJW2536) koncentrációfüggő baktericid hatást fejtettek ki, ugyanakkor az inkubációs idő is jelentős hatást gyakorolt (**12. táblázat**).

11. táblázat. Ezüst nanorészecskéket tartalmazó kalcium-alginát-kókuszolaj kapszulák ciklikus hőterhelési vizsgálat előtti és utáni látens entalpiaváltozása.

Kiindulási ezüst-tartalom a nátrium-alginát oldatban (% m/V)	Ciklikus hőterhelési vizsgálat előtt		Ciklikus hőterhelési vizsgálat után	
	Olvasási ΔH (J/g)	Fagyási ΔH (J/g)	Olvasási ΔH (J/g)	Fagyási ΔH (J/g)
0,0 (kontroll)	92,6 ± 0,9	85,1 ± 0,6	92,5 ± 0,9	84,4 ± 1,9
1,0	91,0 ± 0,6	85,6 ± 1,0	91,6 ± 0,4	85,7 ± 1,0
5,0	89,7 ± 0,7	83,6 ± 0,8	90,5 ± 0,2	83,7 ± 0,8
10,0	90,8 ± 1,0	84,6 ± 1,2	91,7 ± 0,9	84,9 ± 1,3

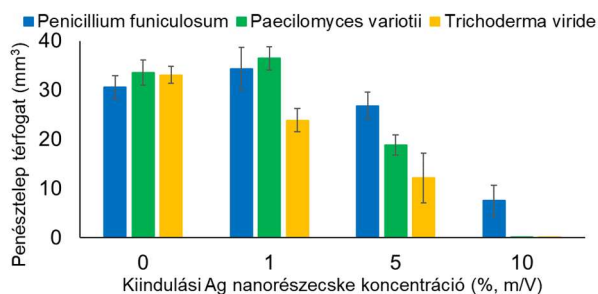
6 óra inkubáció után bármely ezüst tartalmú kapszula 4×10^5 sejt/ml koncentrációig gátolta a baktériumok szaporodását, míg 2×10^6 sejt/ml koncentrációnál az 5% (m/V) és 10% (m/V) ezüst nanorészecskék felhasználásával készített kapszulák gátolták a baktériumokat. 24 órás inkubáció során az összes ezüsttel funkcionális minta baktericid hatást váltott ki 2×10^6 sejt/ml koncentrációig, míg az 5%-os és 10%-os (m/V) kapszulák a legmagasabb sejt koncentráció (4×10^6 sejt/ml) esetén is antimikrobiális hatást fejtettek ki.

12. táblázat: Ezüst nanorészecskéket tartalmazó kalcium-alginát-kókuszolaj kapszulák koncentrációfüggő baktericid hatása (+: baktérium szaporulat, -: nem detektálható baktérium).

	Sejt koncentráció	Negatív kontroll	Ca-alginát-kókuszolaj (0% Ag)	Ca-alginát-kókuszolaj (1% Ag)	Ca-alginát-kókuszolaj (5% Ag)	Ca-alginát-kókuszolaj (10% Ag)
6 h	2×10^5 /ml	+	+	-	-	-
	4×10^5 /ml	+	+	-	-	-
	2×10^6 /ml	+	+	+	-	-
	4×10^6 /ml	+	+	+	+	+
24 h	2×10^5 /ml	-	-	-	-	-
	4×10^5 /ml	+	+	-	-	-
	2×10^6 /ml	+	+	-	-	-
	4×10^6 /ml	+	+	+	-	-

Penészgomba törzsekkel végzett vizsgálatokban az 5% (m/V) és 10 % (m/V) ezüst nanorészecskével készített kapszulák szignifikáns gombaellenes hatását tapasztaltuk (**58. ábra**). A *Paecilomyces variotii* és a *Trichoderma viride* fajokat teljes mértékben, míg a *Penicillium funiculosum* a kezdeti micéliumtérfogatot 25%-áig gátolták a legmagasabb ezüst-tartalmú kapszulák. Jelentős micélium gátlást tapasztaltunk az 5% (m/V) ezüst nanorészecskékkel előállított kapszulák esetében. A kontroll micéliumtérfogathoz viszonyítva a *Paecilomyces variotii* 56%-ra, a *Trichoderma viride* 36%-ra és a *Penicillium funiculosum* 88%-ra nőtt. Az 1% (m/V) kiindulási ezüst nanorészecske koncentrációval előállított kapszulák

csak a *Trichoderma viride* gombák szaporodását gátolták 28%-kal, míg a másik két fajt enyhén stimulálta a legalacsonyabb Ag nanorészecske koncentráció.

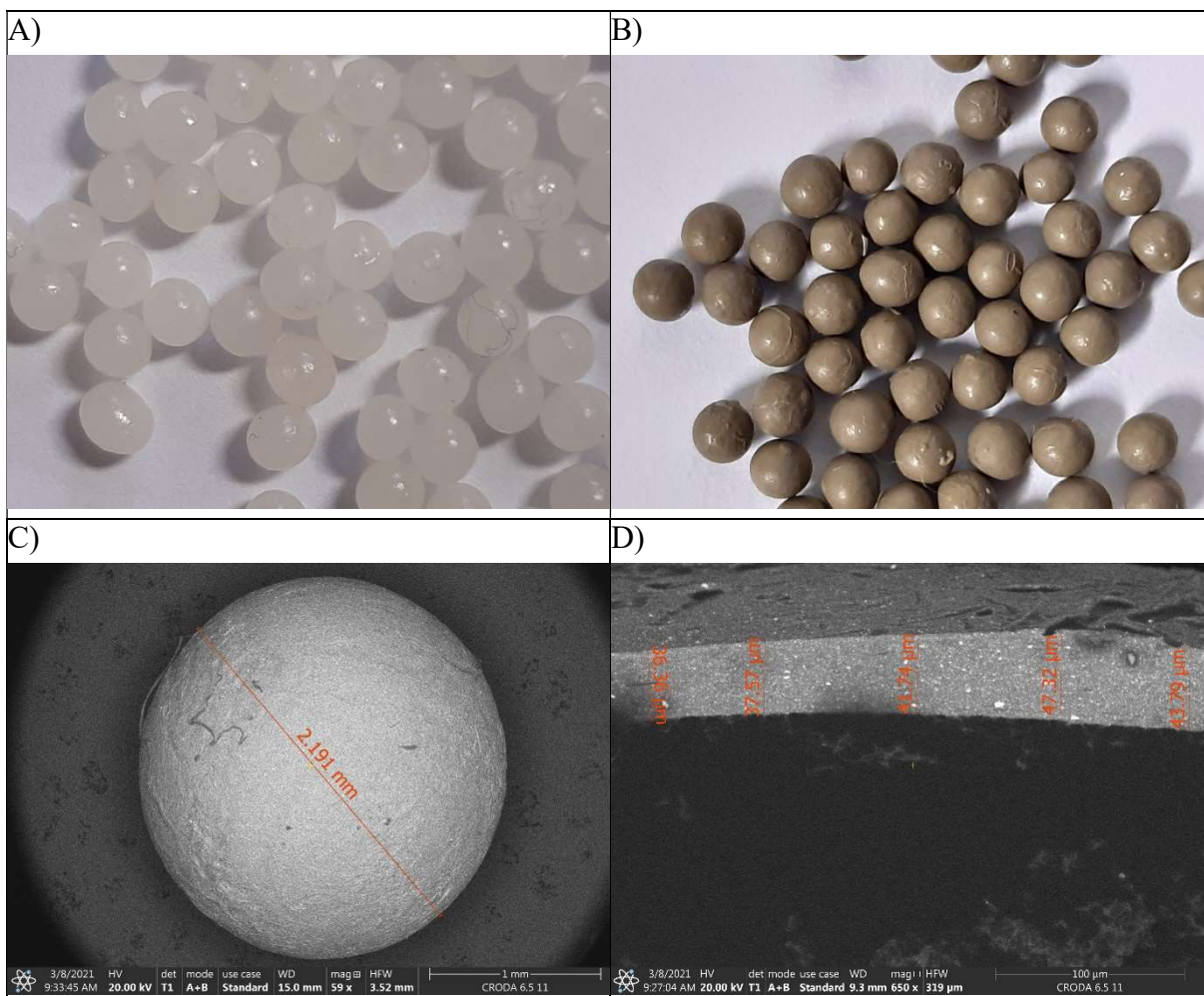


58. ábra: 3 penészgomba törzzsel végzett gombaellenes hatás vizsgálata ezüst nanorészecskékkel funkcionizált kalcium-alginát-kókuszolaj kapszulákkal.

II.4.1.4. Kalcium-alginát-oktil-laurát kapszulák hűtési felhasználásra [K18]

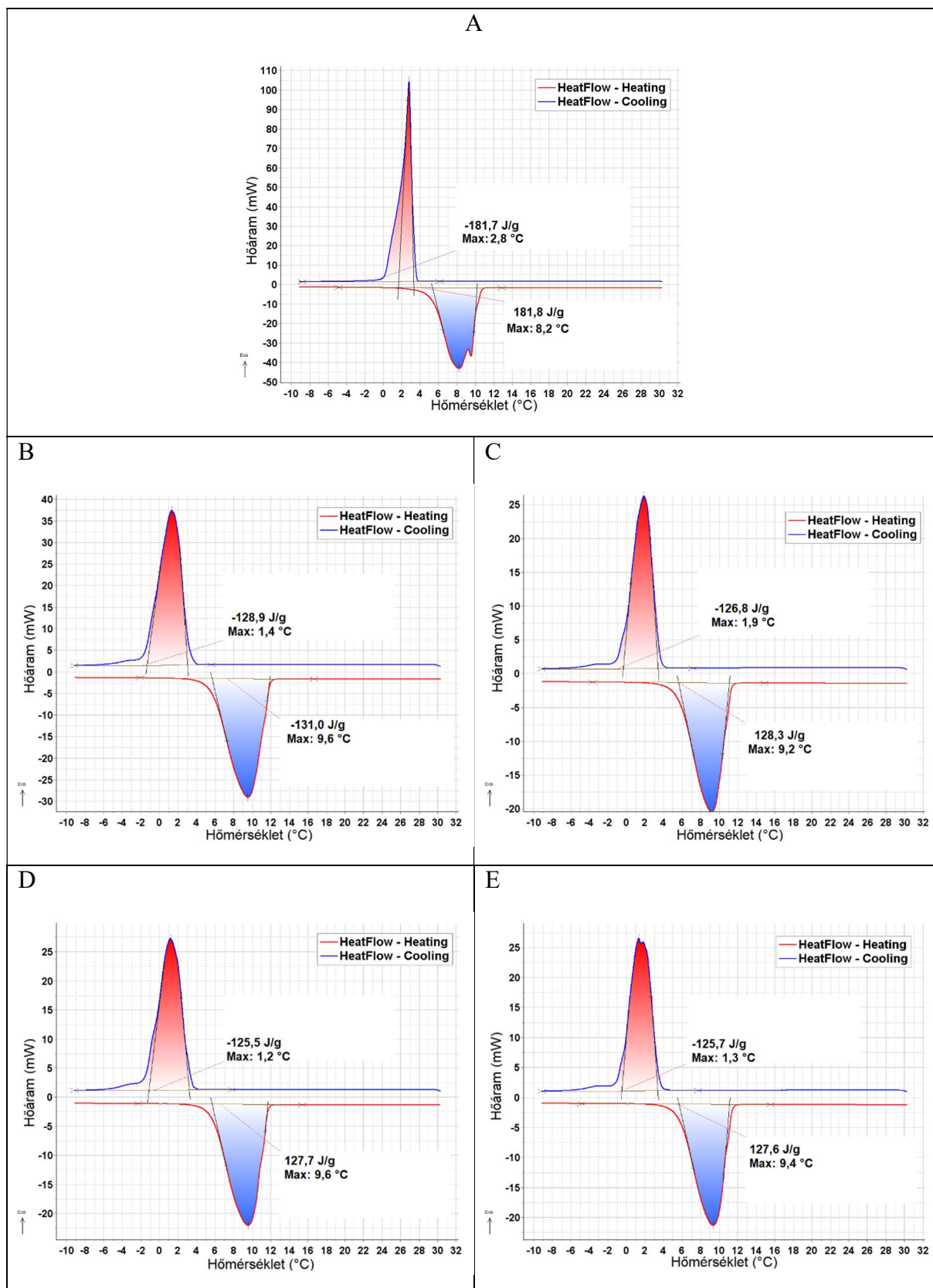
A potenciálisan épületek temperálására használható, szobahőmérsékleten fázist váltó paraffint, illetve kókuszolajat tartalmazó kalcium-alginát kapszulák előállítását után hűtésre (pl. élelmiszerek csomagolásában) használható PCM kapszulákat állítottunk elő az előzőekben leírt, általunk kifejlesztett eljárással. Hűtési felhasználásra a kókuszolajhoz hasonlóan megújuló alapanyagból előállítható oktil-laurát zsírsav észtert mikrokapszuláztunk, melynek 6,8 °C a gyártó által közölt olvadáspontja. A kapszulák tartósságának növelésére az ezüst nanorészecskékkel történő funkcionizálást is megvizsgáltuk. Optikai mikroszkópos felvételeken látható, hogy a kapszulák gömbalakúak és homogén méreteloszlásúak (**59.A,B ábra**), a SEM felvételek tanúsága szerint a héjvastagság 40-50 µm (**59.D ábra**). Méretük $2,22 \pm 0,13$ mm a kókuszolajat tartalmazó kapszulákhoz képest hozzávetőleg 15 %-kal kisebbnek adódott, ami azzal magyarázható, hogy az oktil-laurátot és nátrium-alginát oldatot tartalmazó rendszer emulgeálására lényegesen nagyobb energiabevitelre volt szükség, mint a kókuszolaj-tartalmú emulzió esetében, ugyanis a kókuszolajnak a zsírsav-észternél hidrofílebb karaktere kedvezőbb a stabil emulzió kialakulásához.

A hűtési célra felhasználható oktil-laurát DSC mérés szerint $181,8 \pm 0,2$ J/g olvadási és $181,6 \pm 0,3$ J/g fagyási entalpiaváltozással bír (**60.A ábra**), melyek a mikrokapszulázás hatására sorrendben $130,8 \pm 0,3$ J/g és $128,6 \pm 0,4$ J/g értékekre csökkentek (**60.B ábra**). Ezekből az értékekből hozzávetőleg 71% (m/m) PCM tartalom számítható, ami kb. 10%-kal alacsonyabb a paraffinnal és kókuszolajjal elért legnagyobb koncentrációkhoz viszonyítva. A kapszulahéjat ezüst-nanorészecskékkel ellátva, a legnagyobb alkalmazott koncentrációnál is csak hozzávetőleg a beépített, fázisváltást ilyen hőmérsékleten nem mutató anyag arányának megfelelő mértékben csökkent az olvadáshő (Ag nanorészecskék jelenlétében mért érték: $127,5 \pm 0,4$ J/g) és fagyáshő (Ag nanorészecskék jelenlétében mért érték: $125,2 \pm 0,5$ J/g) (**60.D ábra**).



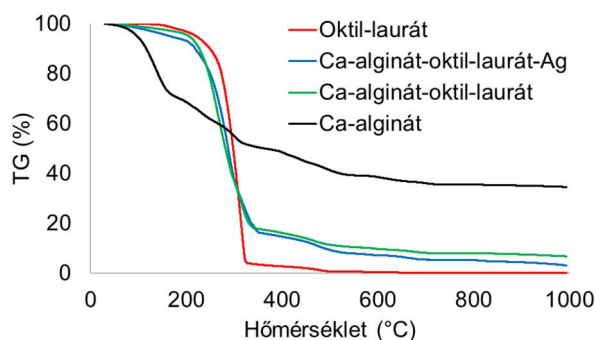
59. ábra: Kalcium-alginát-oktil laurát kapszulák (A, méret: $2,22 \pm 0,13$ mm) és ezüst nanorészecskékkel funkcionizált megfelelőjüknek (B, méret: $2,18 \pm 0,10$ mm) optikai mikroszkópos felvétele. Felszíni (C) és keresztmetszeti (D) SEM felvétel egy ezüstöt tartalmazó kapszuláról.

A hűtési célra használható környezetbarát anyagokból felépülő fázisváltó kapszulák egy lehetséges alkalmazása pl. nagy hőkapacitású hűtődobozokba beépítve, ahol azoknak számos felmelegedési-lehülési ciklust ki kell bírnia szivárgás nélkül. Ezért a 250 gyorsított fűtési-hűtési ciklusnak kitett kapszulákat is DSC vizsgálatoknak vetettük alá, melyek az olvadás- és fagyáshő hiba határon belüli csökkenését mutatták (**60.C,E ábra**), ami arra utal, hogy az elvégzett teszt során a kapszulák fala szivárgásmentesnek bizonyult. Az oktil-laurát PCM olvadáspontja DSC méréseink szerint $8,3$ °C, míg a dermedéspontja $2,8$ °C, ami mérsékelt túlhűlést jelent (**60.A ábra**). Kalcium-algináttal mikrokapszulázva az olvadáspont kissé magasabbnak ($9,5$ °C), míg a fagyáspont némileg alacsonyabbnak ($1,4$ °C) adódott, azaz a túlhűlés mértéke is nem elhanyagolható mértékben növekedett (**60.B ábra**). Ag nanorészecskéket a héjba foglalva (**60.D ábra**) a kapszulák olvadás- és fagyáspontja nem változott számottevően, és a hőciklizálás sem befolyásolta (**60.C,E ábra**) ezeket a paramétereket.



60. ábra: Oktil-laurát (A) és kalcium-alginát-oktil-laurát kapszulák DSC termogramjai hőciklizálás előtt (B) és után (C). Ezüst nanorészecskéket a héjban tartalmazó kalcium-alginát-oktil-laurát részecskék DSC görbéi hőciklizálás előtt (D) és után (E.)

Az oktil-laurát PCM-et és ezüst nanorészecskéket tartalmazó kalcium-alginát kapszulák termikus stabilitását TG-vel vizsgáltuk (61. ábra). 180 °C-ig a fizikailag kötött víz (3-6%) távozik a kapszulákból. Mivel a kalcium-alginát lényegesen több vizet köt, mint a PCM, így a kapszulahéj anyagának vizsgálata során az említett hőmérsékletig 30 % vízvesztést detektáltunk. Az oktil-laurát 180-365 °C tartományban 95 % tömegsökkenést szenvedett el a szerves anyag elégése következtében, míg a kapszulák tömege 78-80 %-kal csökkent, ugyanakkor a PCM-et nem tartalmazó kalcium-alginát részleges oxidatív bomlása ebben a hőmérséklettartományban 20,5% tömegsökkenést eredményezett. 365 °C és 555 °C között a maradék szerves anyag tartalom elégése következik be mindegyik minta esetében. A kalcium-alginátból keletkező CaCO_3 bomlása 555–750 °C tartományban játszódik le, mindkét PCM-et tartalmazó kapszulatípusban 2,5%, míg a kalcium-alginát esetében 4% tömegvesztéssel. Meglepő a PCM 2,5% tömegvesztése ebben a hőmérséklettartományban. Ennek oka, hogy az oktil-laurát pirolitikus környezetben bekövetkező elszéneseése következtében termikusan nagy molekulatömegű stabil polimerizált anyag keletkezik, ami magas hőmérsékleten oxidálódik.



61. ábra: Oktil-laurát, kalcium-alginát vak részecskék és ezüst nanorészecskéket magukban foglaló és azokat nem tartalmazó kalcium-alginát-oktil-laurát kapszulák TG-je.

Kalcium-alginát héjú, mag-héj szerkezetű szerves hőtároló anyagot (paraffint, zsírsav elegyet vagy zsírsav-észtert) tartalmazó kapszulák előállításának összefoglalása

6.1. tézis: Emulzifikálás, ionos keresztkötés és hőkezelési lépésekből álló új eljárást dolgoztunk ki szerves fázisváltó hőtároló anyagot tartalmazó kalcium-alginát mag-héj szerkezetű kapszulák előállítására, mely módszer jelenleg is magyar szabadalmi védettség alatt áll [K14]. Box-Behnken kísérlettervezéssel és statisztikai értékeléssel igazoltuk, hogy a három legfontosabb műveleti paraméter: a nátrium-alginát és a kalcium-klorid koncentrációja, illetve a magszemcsék és azokra rétegzett nátrium-alginát oldat érintkezési ideje szignifikáns hatással van a kapszulák PCM tartalmára és a méretükre. A kis viszkozitású (14 mPa·s) nátrium-alginát alkalmazásával maximálisan 48% (m/m) paraffin tartalmú kapszulák jöttek létre, ezzel szemben nagy viszkozitású (950 mPa·s) nátrium-algináttal a kapszulák PCM tartalma 81,5% (m/m)-ra nőtt megfelelő mechanikai stabilitású héj képződésével. A hőtároló kapszulák 1000 fűtési-hűtési ciklus után sem vesztek a látens entalpiaváltozásukból, ezáltal igazolva a szivárgásmentes héj kialakulását.

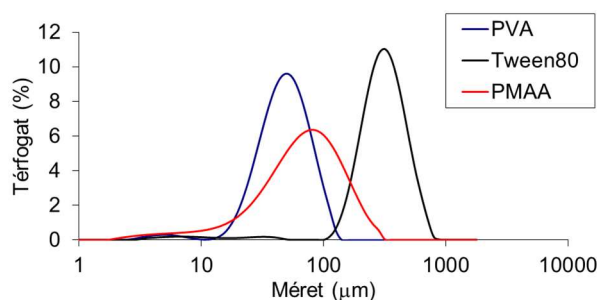
6.2. tézis: Az eredetileg paraffin mikrokapszulázására kidolgozott eljárást kókuszolaj PCM-re is alkalmaztuk, ezáltal teljes összetételében természetes, megújuló forrásból származó hőtároló kapszulákat hoztunk létre. Kókuszolaj esetében a paraffinra optimalizált eljárással hasonlóan magas (81,1%, m/m) PCM tartalmat értünk el, amit a kémiai extrakció mellett a DSC vizsgálatok is igazoltak. Kókuszolajat mikrokapszulázva a paraffinnal létrehozott kalcium-alginát kapszulák méretéhez és morfológiájához hasonló részecskék keletkeztek, melyek héját környezetbarát redukálószerrel előállított ezüst nanorészecskékkel funkcionizáltuk. Gravimetriás és DSC analízissel is bizonyítottuk, hogy a magas kókuszolaj-tartalom (> 80%, m/m) és az ennek megfelelő entalpiaváltozás az ezüst nanorészecskék jelenlétében sem csökkent, és 200 fűtési-hűtési ciklus után is változatlan maradt, igazolva a jól záró, tartós kalcium-alginát héj képződését. Bizonyítottuk, hogy az ezüst nanorészecskékkel funkcionizált kapszulák koncentrációfüggő oligodinamikus hatást fejtenek ki baktérium törzsön és penészgomba törzseken.

6.3. tézis: Hűtési célú felhasználásra a szintén megújuló forrásból származó oktil-laurát zsírsav észter típusú PCM-et a fent leírt eljárással mag-héj szerkezetű kalcium-alginát kapszulákba zártuk, és ezüst nanorészecskékkel funkcionizáltuk azokat. 71,0% (m/m) PCM tartalmat és ennek megfelelően magas látens entalpiaváltozást értünk el a kapszulákban, ami DSC elemzés tanúsága szerint a ciklikus hőterhelési vizsgálat során sem csökkent, igazolva a kapszulák tartósságát.

II.4.2. Szerves fázisváltó hőtároló anyagokat tartalmazó szintetikus polimer mikrorészecskék

II.4.2.1. Etil-cellulóz-n-hexadekán hőtároló mikrokapszulák emulzió - oldószer elpárologtatás módszerével [K19]

Szintén biológiailag lebontható héjjal (EC), HD paraffin PCM-et tartalmazó mikrokapszulákat fejlesztettünk o/v emulzió – oldószer elpárologtatás eljárásával. Ez esetben a két egymással nem elegyedő fázis felületaktív anyag jelenlétében találkozunk. A megfelelő emulgeáláshoz célszerű a vizes fázisban magas HLB értékű felületaktív anyagot választani, mint pl. a nem ionos poliszorbát 80 (HLB = 15) vagy PVA (HLB = 18) emulgeátorok. Ezek mellett egy ionos felületaktív anyagot, PMAA-t ($M_w = 9500$) is kiválasztottuk, melyet Loxley és Vincent [102] más kapszulázó anyaggal, ugyanakkor hasonló folyamatban alkalmasnak talált mag-héj szerkezetű mikrokapszulák előállítására. A felületaktív anyag jelentős hatással bírt a mikrorészecskék méretére: poliszorbát 80 emulgeátorral 319 μm , PVA-val 92 μm és PMAA-val 85 μm térfogat szerinti átlagos méretű szemcsék jöttek létre (**62. ábra**).



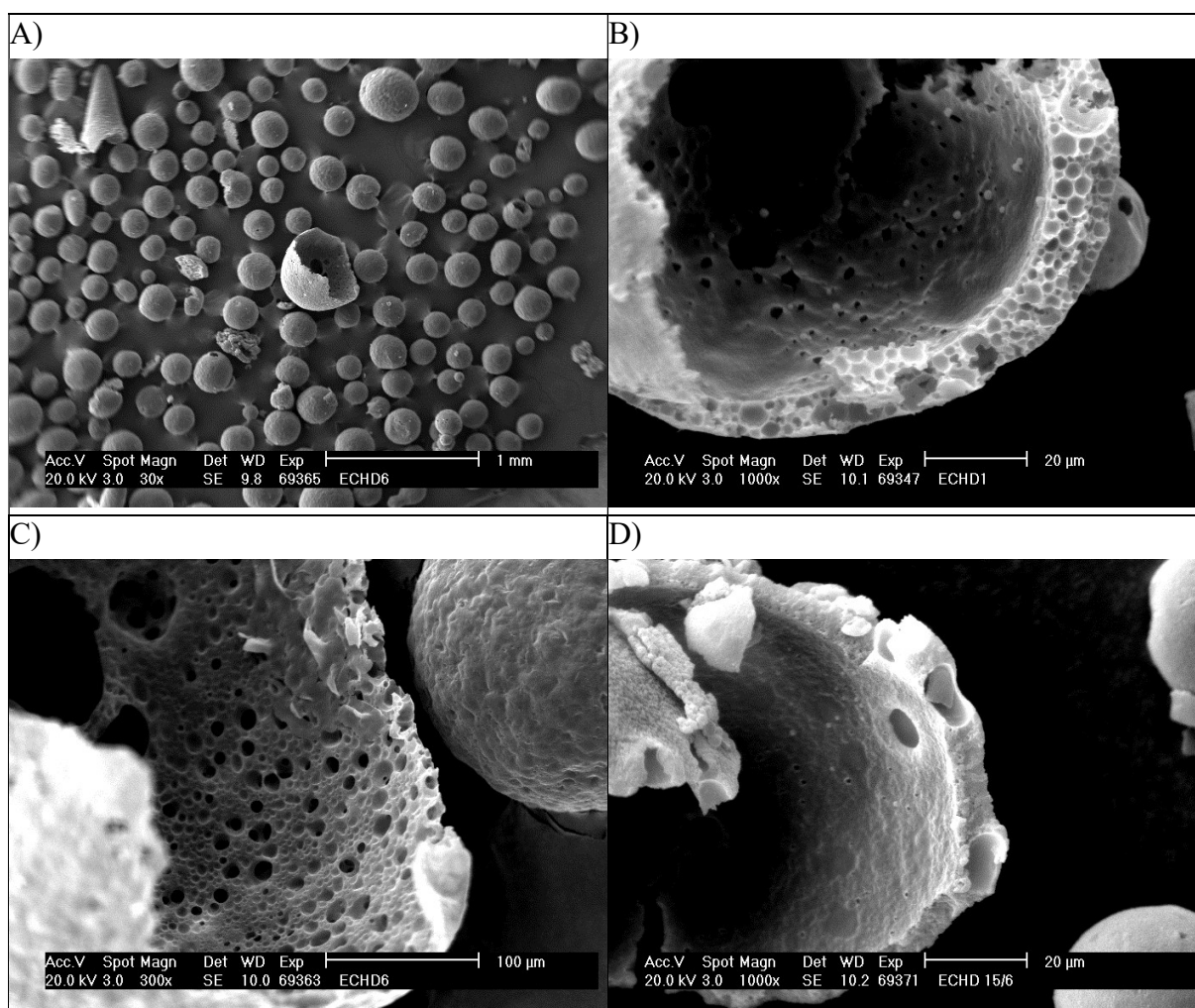
62. ábra: Etil-cellulóz-n-hexadekán mikrokapszulák lézerdiffrakciós szemcseméret eloszlása PVA, poliszorbát 80 (Tween80) és PMAA emulgeátorok alkalmazása esetében.

Legmagasabb hozammal és PCM tartalommal a PMAA jelenlétében létrehozott mikrokapszulák rendelkeztek, ugyanakkor a PVA-val készült részecskék is hozzávetőleg a bemért arányban (66,7%) tartalmaztak PCM-et (**13. táblázat**). A poliszorbát 80 emulgeátor esetében viszont a PCM több mint egyharmad része nem kapszulázódott vagy elszivárgott a kapszulákból az előállítási folyamat során.

13. táblázat: Etil-cellulóz–n-hexadekán mikrokapszulák hozama és PCM tartalma különböző emulgeátorok alkalmazása esetén.

Emulgeátor	Hozam (%)	bemért PCM (%)	PCM tartalom (%)
PVA	84,7	66,7	66,0
Poliszorbát 80	82,8	66,7	40,8
PMAA	95,5	75,0	71,7

SEM-mel végzett morfológia vizsgálat során megállapítottuk, hogy a keletkező PCM-et tartalmazó EC mikrokapszulák többnyire gömb alakúak és mag-héj szerkezetűek (**63.A ábra**). Az EC héj különböző fokú porozitással bírt (**63.B-D ábra**), ami bizonyos esetekben nyilvánvalóan szivárgást okozhat. A leginkább pórozus kapszulák poliszorbát 80 emulgeátor jelenlétében jöttek létre (**63.C ábra**), ami az alacsony PCM tartalmat jól magyarázza. A legtömörebb héjat a PMAA emulgeátor alkalmazásával (**63.D ábra**) sikerült előállítanunk.



63. ábra: Etil-cellulóz-n-hexadekán mikrokapszulák morfológiája (A) és héjszerkezete PVA (B), poliszorbát 80 (C) és PMAA emulgeátorral (D).

Loxley és Vincent [102] modelljéből adaptált (7-9) egyenletek szétterülési együtthatóinak $S1 < 0$; $S2 < 0$; $S3 > 0$ bekövetkezése esetén számolhatunk mag-héj szerkezet kialakulásával. Ennek érdekében mértük az emulgeátor oldatok és a levegő közötti, illetve a HD és az emulgeátor oldatok közötti felületi feszültséget, mely adatok alapján számítható a szétterülési együttható [102]. A mért felületi feszültség adatokat és a számított szétterülési együtthatók értékeit a **14. és 15. táblázatok** tartalmazzák. A várakozásoknak megfelelően a HD-emulgeátor folyadék-folyadék felületi feszültség legkisebb értékénél (poliszorbát 80 esetén) a szétterülési együttható ($S3$) a legnagyobb negatív értéket vette fel. A legnagyobb folyadék-folyadék felületi feszültség esetében (PMAA-val), az $S3$ pozitív értékű volt, ami azt jelenti, hogy PMAA alkalmazásakor valószínű a mag-héj szerkezet, míg a másik két emulgeátor esetében makk forma a valószínű, ahol a magot nem borítja összefüggő héj. A mi tapasztalatunk azt mutatta, hogy látszólag mag-héj szerkezet alakult ki poliszorbát 80 és PVA emulgeátorok használatánál is, azonban a héj nagyfokú porozitása miatt nem beszélhetünk tényleges mag-héj struktúráról.

14. táblázat: Etil-cellulóz (EC) – n-hexadekán (HD) – emulgeátor oldat felületi feszültség értékei (mN/m).

Emulgeátor	Polimer	PCM	Emulgeátor oldat L-V	HD L-V	Emulgeátor oldat HD L-L
Poliszorbát 80, 2%	EC, 5%	HD	43,21	26,94	9,78
PVA, 2%	EC, 5%	HD	46,82	26,94	16,29
PMAA, 1%	EC, 5%	HD	73,34	26,94	32,51

15. táblázat: Etil-cellulóz (EC) – n-hexadekán (HD) – emulgeátor oldat kontaktszög, felületi feszültség (mN/m) és szétterülési együttható értékei.

Emulgeátor	Emulgeátor-EC film S-L, HD-EC film S-L				S3	S2	S1
	Kontaktszög		Felületi feszültség				
Poliszorbát 80, 2%	71,83	22,22	18,53	7,06	-15,81	-21,25	1,69
PVA, 2%	73,12	22,22	18,40	7,06	-9,17	-27,64	-4,94
PMAA, 1%	67,33	22,22	3,73	7,06	21,72	-29,18	-35,84

Ez a modell csak a felületi energiák hatását veszi figyelembe, és olyan fontos paraméterekkel, mint a mag és héjanyag aránya vagy az elpárologtatás sebessége nem számol. A mi kísérleteinkben a kapszulák nem vették fel az egyensúlyi morfológiát. A kezdetben kialakuló emulziócseppekben az EC oldhatósága csökken a DCM párolgása során. Ez EC-ben gazdag koacervátum képződéséhez vezet, ami a felszínre mozog és ott koaleszkál, de a nedvesítési körülmények miatt nem képez összefüggő réteget poliszorbát 80 és PVA jelenlétében. Közben a DCM elpárolog az emulziócseppekből növelve a viszkozitást és a héj mechanikai szilárdságát, ami gátolja nagy HD cseppek szivárgását a kapszulafal felé és a makk alak kialakulását. A kisebb HD cseppek viszont átjuthatnak a felszínre, kialakítva a pórusosságot.

A HD és az EC-vel mikrokapszulázott PCM DSC vizsgálataiból megállapítható (**16. táblázat**), hogy PVA emulgeátor jelenlétében kb. 65%, míg PMAA felületaktív anyaggal hozzávetőleg 70% PCM-tartalmat értünk el, melyhez képest a poliszorbát 80-nal előállított kapszulák nagyon kis mennyiségű HD-t zártak magukba, ami az extrakciós PCM tartalom meghatározással (**13. táblázat**) jó összhangban van. Ezzel is igazolva láttuk, hogy a nagy pórusokon át a folyadék fázisban lévő PCM már az előállítás során kifolyik a poliszorbát 80 emulgeátor jelenlétében készített mikrokapszulákból. 1000 fűtési és hűtési ciklus után a várakozásoknak megfelelően a PMAA-val készült mikrokapszulák kis mértékű szivárgást szenvedtek el, míg a másik két emulgeátorral készített HD-t tartalmazó mikrorészecskék jelentős mennyiségű PCM-et vesztek el a DSC vizsgálat tanúsága szerint (**16. táblázat**). A DSC-vel mért olvadáspont és fagyáspont értékek a kiindulási paraffin hozzávetőleg 4 °C értékű túlhűlését mutatták, amit a mikrokapszulázás nem befolyásolt számottevően.

16. táblázat: n-hexadekan (HD) és különböző emulgeátorokkal készített (PVA, PMAA, poliszorbát 80) EC-HD mikrorészecskék DSC-vel mért olvadási és fagyási hőmérsékletei és entalpiaváltozásai.

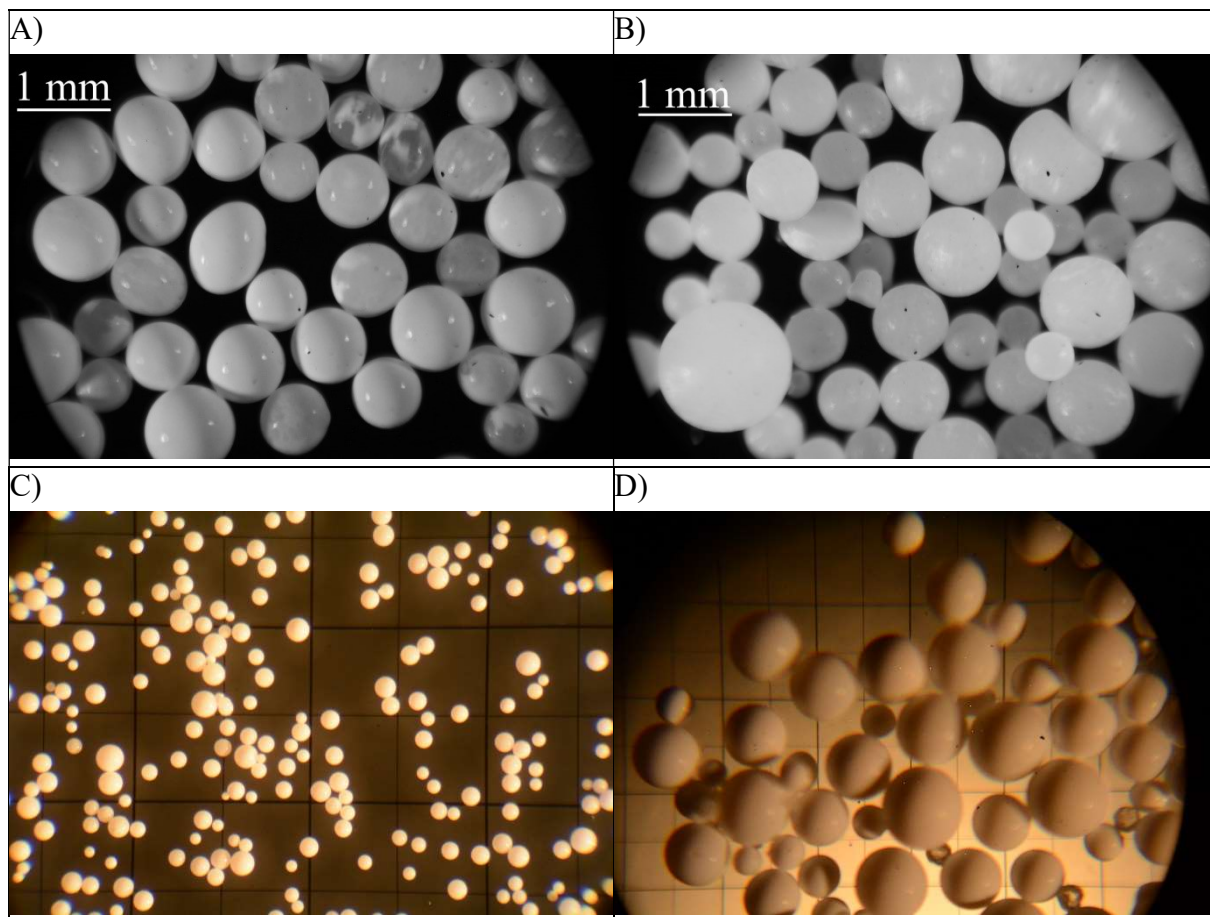
Minta	Ciklikus hőterhelés előtt				Ciklikus hőterhelés után	
	Olvadáspont (°C)	Fagyáspont (°C)	Olvadási ΔH (J/g)	Fagyási ΔH (J/g)	Olvadási ΔH (J/g)	Fagyási ΔH (J/g)
HD	18,9	15,0	208,4	206,6	-	-
PVA	18,5	13,9	137,8	134,4	118,2	115,3
PMAA	19,5	15,2	147,1	140,8	137,9	132,3
poliszorbát 80	18,4	14,2	46,6	32,6	26,2	18,6

II.4.2.2. Szilika nanorészecskékkel borított pórusos polietilén-dimetakrilát és poli(glicidil-metakrilát-etilén-dimetakrilát) polimer hordozó mikrorészecskék [K20,21]

Pórusos polimer mikrorészecskékkel fázis-stabilizált PCM-eket szuszpenziós gyökös polimerizációval a javaslatomra a cseh Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic (Prága, Csehország) partner intézményben állítottak elő. A polietilén-dimetakrilát (PEDMA) és a poli(glicidil-metakrilát-etilén-dimetakrilát) P(GMA-EDMA) polimer hordozó mikrorészecskék polimerizációs előállításához 2,2'-azobis(isobutironitril) iniciátort alkalmaztak. A létrehozott pórusos hordozó mikrorészecskéket tudomásom szerint először alkalmaztuk PCM-ek fázis-stabilizálására oly módon, hogy 1-hexadekanol és paraffin PCM-ekkel telítették a mikrorészecskék pórusait, majd a felszínükön trimetoxi-metil-szilánból szol-gél módszerrel szilika nanorészecskékből felépülő héjat képeztek. A létrehozott mikrorészecskék fizikai, kémiai és hőtechnikai vizsgálatainak túlnyomó részét az én csoportomban végeztük, jelen műben ezen vizsgálatok közül a legfontosabbakat emelem ki.

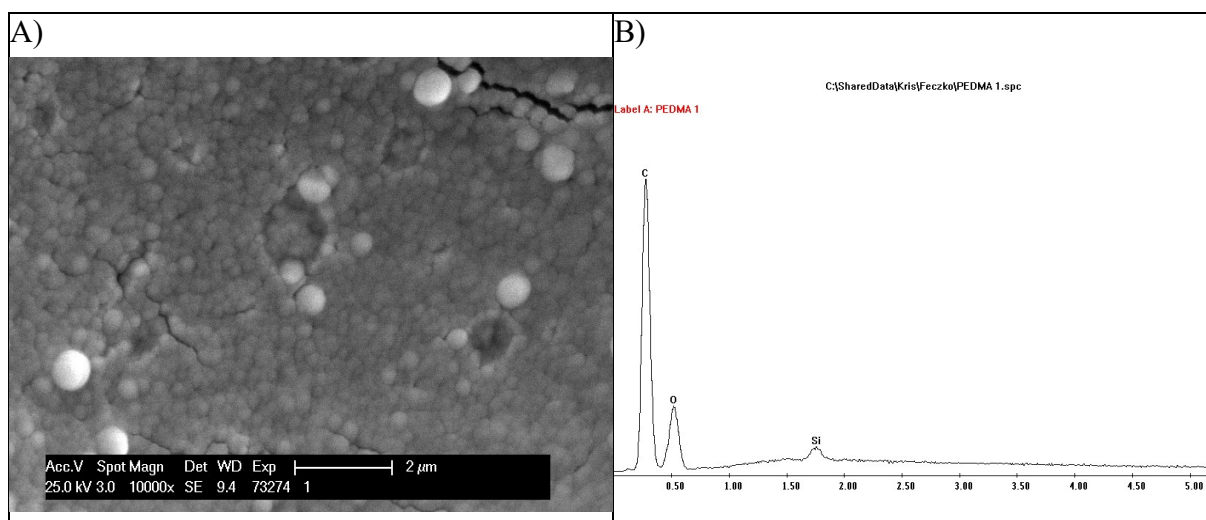
Mind a két hordozó polimerrel létrehozott mikrorészecskék többnyire szabályos gömb alakot vettek fel, és az erősen hidrofób karakterük kedvezett a pórusok szerves PCM-ekkel történő telítésének, a létrejövő 1-hexadekanollal töltött PEDMA szemcsék 0,5-1,5 mm (**64.A**

ábra), míg a paraffint tartalmazó PEDMA szemcsék 0,6-2,0 mm mérettartományúak voltak (64.B ábra). Az 1-hexadekanol fázis-stabilizálására alkalmazott P(GMA-EDMA) polimer hordozó részecskék az előzőeknél lényegesen kisebb, méghozzá 0,07-0,20 mm méretűek voltak (64.C ábra), míg a paraffint tartalmazó P(GMA-EDMA) pórusos szemcsék 0,3-1,4 mm mérettartományba estek (64.D ábra) a lézerdiffrakciós szemcseméret analízis tanúsága szerint.



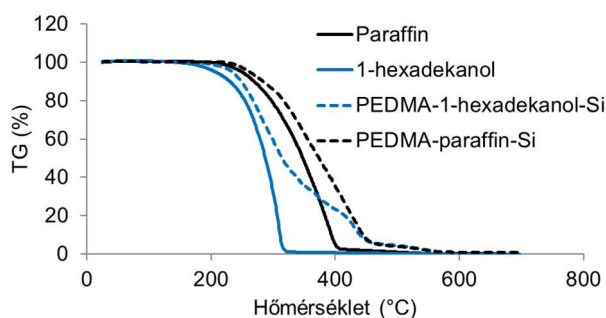
64. ábra: 1-hexadekanolt (A,C) és paraffint (B,D) tartalmazó szilika nanorészecskékkel borított PEDMA (A,B) és P(GMA-EDMA) mikrorészecskék. C és D felvételeken a skálanégyzetek 0,5 mm × 0,5 mm-t jelölnek.

SEM vizsgálataink a kapszulák felületének szilika nanorészecskékkel való sűrű borítottságát mutatták (65.A ábra), ahol a Si jelenlétét energia-diszperzív röntgen-analizátorral (EDX) igazoltuk (65.B ábra).



65. ábra: Szilika nanorészecskék 1-hexadekanol PCM-et tartalmazó PEDMA mikrorészecskék felületén (A) és a mikrorészecskék EDX spektruma (B).

A kapszulák termikus stabilitását TG-vel vizsgáltuk. Az 1-hexadekanol 200-300 °C és az alkalmazott paraffin 300-400 °C tartományban égett el, míg a szilikával borított PEDMA részecskék égést késleltető hatással bírtak (**66. ábra**). A PCM-et tartalmazó szilika nanorészecskékkel borított PEDMA mikrorészecskék oxidatív hőbomlása nagyrészt a 220-550 °C hőmérséklettartományban játszódott le, ami annak tudható be, hogy a szilika héj késleltette a szerves hordozó égését. Ezáltal az új típusú PCM mikrokapszuláink felületén a hőnek jól ellenálló héjat hoztunk létre.



66. ábra: 1-hexadekanol és paraffin, illetve a két PCM-et tartalmazó szilika nanorészecskékkel borított PEDMA kapszulák TG termogramjai.

A két vizsgált szerves PCM hasonló látens entalpiaváltozással rendelkezett, azonban a paraffint lényegesen nagyobb mennyiségben lehetett a PEDMA kapszulákba zárni, míg az 1-hexadekanolt a vizsgált P(GMA-EDMA) mikrokapszulák vették fel nagyobb koncentrációban, ami a látens entalpiaváltozás értékekben (**17. táblázat**) is megjelent. A kapszulák nagyobb részénél a látens hő 1000 fűtési-hűtési ciklus után is csak elhanyagolható mértékben változott (**17. táblázat**), ami bizonyítékul szolgál a szilika héj szivárgásmentes záró réteggé váló működésére. Kizárólag a szilika nanorészecskékkel borított P(GMA-EDMA)-paraffin

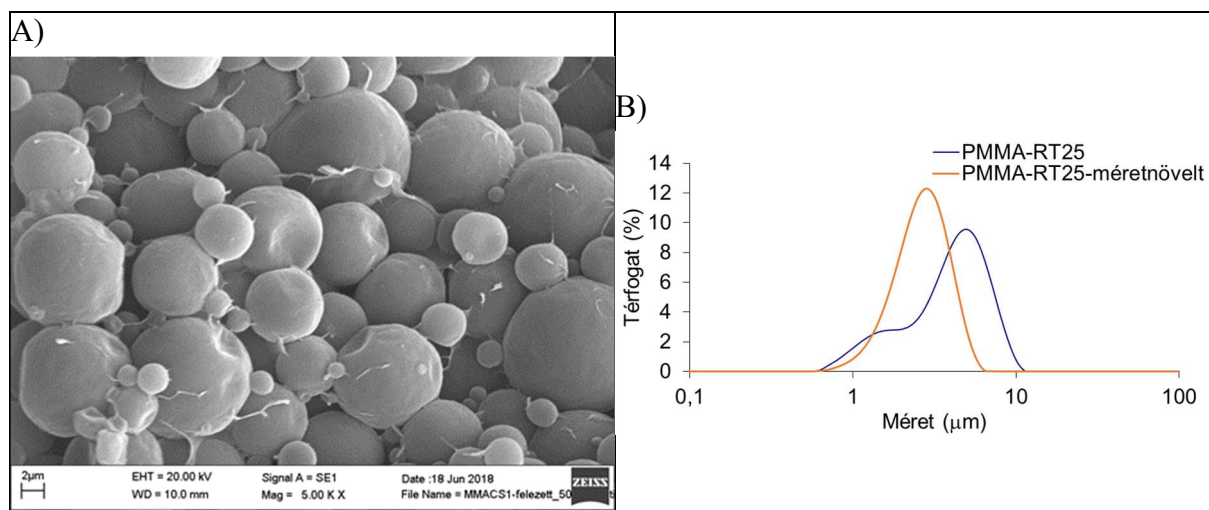
mikrokapszulák esetében tapasztaltuk a látens hő kis mértékű csökkenését a hőterhelési vizsgálat után, többi 3 mikrokapszula esetében hibahatáron belüli változást mértünk.

17. táblázat. A PCM-ek és az 1-hexadekanolt és a paraffint tartalmazó szilika nanorészecskékkel borított PEDMA és P(GMA-EDMA) kapszulák DSC eredményei.

Minta	Ciklikus hőterhelési vizsgálat előtt		Ciklikus hőterhelési vizsgálat után	
	Olvasási ΔH (J/g)	Fagyási ΔH (J/g)	Olvasási ΔH (J/g)	Fagyási ΔH (J/g)
1-hexadekanol	204,3	218,0	-	-
paraffin	203,2	198,7	-	-
PEDMA-1-hexadekanol-Si	89,6	88,6	89,1	88,1
PEDMA-paraffin-Si	132,6	133,4	131,3	132,4
P(GMA-EDMA)-1-hexadekanol-Si	96,1	94,5	93,8	93,3
P(GMA-EDMA)-paraffin-Si	78,0	78,8	73,1	73,1

II.4.2.3. Poli(metil-metakrilát) mikrokapszulák méretnövelt előállítás szuszpenziós polimerizációval [K22]

Smith receptjét [100] adaptálva szobahőmérsékleten fázist váltó paraffint (RT25) szuszpenziós polimerizációs eljárásban gömb alakú PMMA mikrokapszulákba zártunk (**67.A ábra**). A módszert méretnövelve, az Ultraturrax-40 ipari homogenizátorral hatékonyabbnak bizonyult az emulgeálás, és a kis léptékben bimodális helyett egymódusú szemcseméret eloszlású részecskerendszert állítottunk elő (**67.B ábra**). A térfogat szerinti átlag méret 6,8 μm -ról 4,0 μm -re csökkent a léptéknövelt polimerizációs kísérletben.



67. ábra: Szuszpenziós polimerizációval előállított PMMA-RT25 paraffin mikrokapszulák SEM felvétele (A) és lézer diffrakciós szemcseméret eloszlása (B).

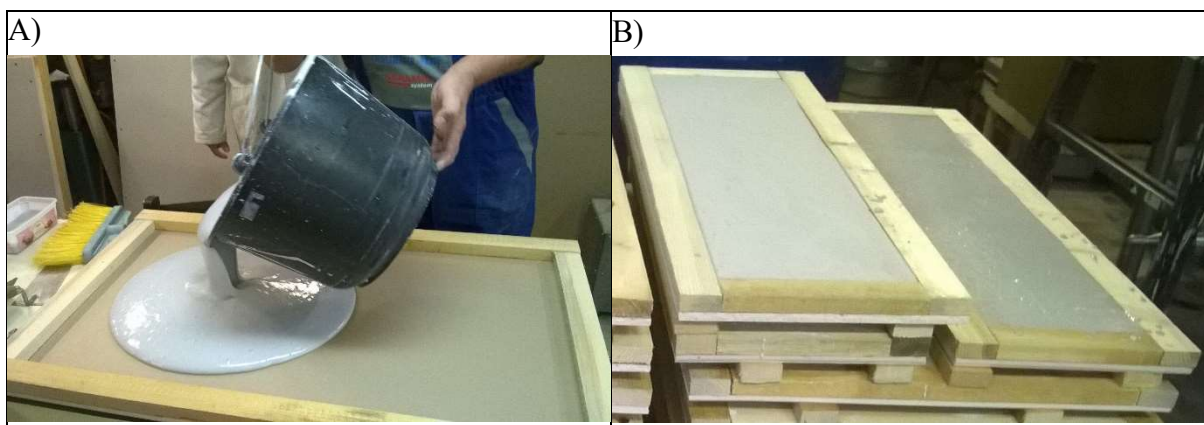
A nagy mennyiségben (200 l reaktortérfogatban) előállított PMMA-RT25 mikrokapszulákat gipszvakolatba kevertük. A gipszport, homokot, lágyítót és folyasztószert propelleres keverővel kevertük össze 51,2 kg PMMA-PCM mikrokapszulát tartalmazó

szuszpenzióval (**18. táblázat**), - a szükséges vizet a mikrokapszula szuszpenzió magában foglalta - melynek eredményeképpen a sablonokba kiöntött vakolatanyag száradás után 22% (m/m) PMMA-PCM kapszulát tartalmazott (**68. ábra**). A paneleket egyenként 1100 mm x 725 mm x 12,5 mm méretű, fakerettel ellátott gipszkarton táblák felületére történő öntéssel és megszilárdítással készítettük el.

18. táblázat: PMMA-RT25 mikrorészecskék keverési arányai a gipszvakolat panelekhez.

Összetevők	Koncentráció (m/m %)
PMMA-RT25 szuszpenzió	42,4
Gipsz por	32,1
Homok	25,4
Lágyító adalék	0,05
Folyósítószer	0,05
Összesen	100,0

Az RT25 paraffin olvadási és fagyási entalpiaváltozása a DSC vizsgálataink szerint sorrendben 203,5 J/g és 203,6 J/g, míg ugyanezek a paraméterek a mikrokapszulázott paraffinra 106,9 J/g és 113,4 J/g értéket vettek fel, ami 55,7 % PCM tartalomnak felel meg a mikrokapszulákban. A gipszvakolat mintákból mintát véve és DSC-vel elemezve 24,0 J/g olvadási és 23,9 J/g fagyási entalpiaváltozást mértünk az egyes fázisváltások során, ami 21,1% (m/m) mikrokapszula koncentrációnak felel meg a száraz vakolatban. Megjegyzendő, hogy a nagy koncentrációban alkalmazott mikrokapszulák a vakolat száradási idejét hozzávetőleg kétszeresére növelték meg.



68. ábra: PMMA-PCM mikrokapszulákat tartalmazó gipszvakolat panelek öntése (A) és szárított formájuk (B).

Szerves PCM-eket (paraffin, zsíralkohol) tartalmazó szintetikus polimer mikrorészecskék előállításának összefoglalása

7.1. tézis: Etil-cellulóz héjjal bevont n-hexadekán PCM hőtároló mikrokapszulákat emulzió - oldószer elpárologtatás módszerével első ízben állítottunk elő. A felületi feszültség mérésével és a szétterületi együttható számításával előre becsültük a létrejövő kapszulák várható szerkezetét. A számításokkal összhangban kísérletekben bizonyítottuk, hogy a polimetakrilsav Na-só emulgeátor jelenlétében alakult ki a megfelelően záró mag-héj szerkezet, míg a másik két alkalmazott felületaktív anyag (polivinil-alkohol és poliszorbát 80) jelenlétében létrejövő

pórusos héj a PCM jelentős szivárgásához vezetett, amit a gyorsított hőterhelési vizsgálatok (1000 fűtési-hűtési ciklus) után végzett DSC vizsgálatok is igazoltak.

7.2. tézis: Szuszpenziós gyökös polimerizációval létrehozott pórusos polietilén-dimetakrilát (PEDMA) és poli(glicidil-metakrilát-etilén-dimetakrilát) polimer mikrorészecskéket először alkalmaztunk paraffin és 1-hexadekanol PCM-ek fázis-stabilizálására. A fázis-stabilizált mikrokapszulákat szilika nanorészecskékből képzett héjjal borítva magas PCM-tartalmú (40-65%) hibrid (szervetlen-szerves) mikrokapszulákat állítottunk elő. TG vizsgálatokban igazoltuk a szilika nanorészecskékkel borított PCM-et tartalmazó PEDMA mikrorészecskék fokozott hőellenállását. A polimer mikrokapszulák 1000 fűtési-hűtési ciklus után is megőrizték a magas látens entalpiaváltozásukat bizonyítva ezzel a szilika héjjal való szivárgásmentes borítottságukat.

7.3. tézis: Paraffin PCM-et szuszpenziós polimerizációval poli(metil-metakrilát) héjú mikrokapszulákba foglaltunk. A mikrokapszulák méretnövelt előállítására után azokat nagyarányban (21,1% m/m) gipszvakolat anyagába keverve, megnövelt látens hőkapacitású épületpaneleket hoztunk létre.

II.5. A fázisváltó hőtároló mikrokapszulák gyakorlati aspektusai

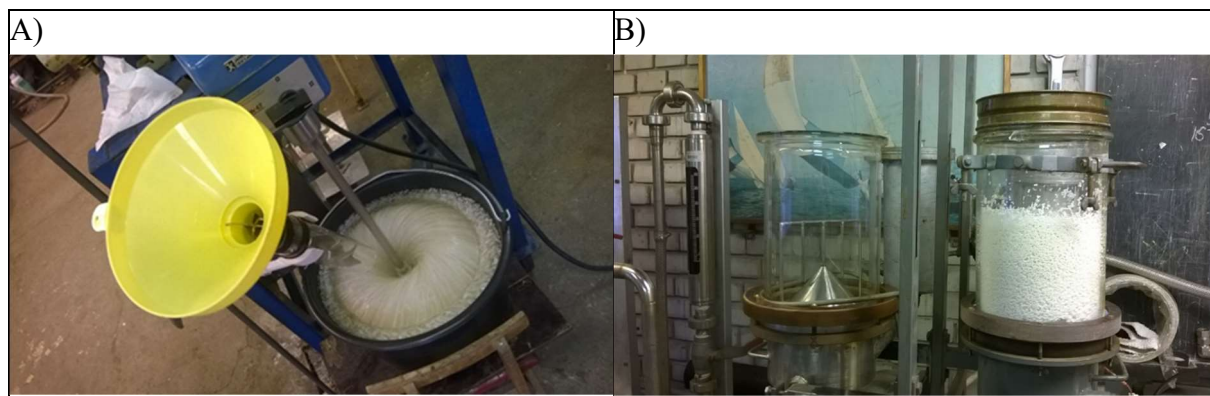
Minden összetevőjében biológiai eredetű, szerves fázisváltó hőtároló anyagot tartalmazó kalcium-alginát kapszulákat fejlesztettünk. A hőtároló kapszulák kísérlettervezéssel végzett, szabadalommal védett előállítását eredetileg paraffin hőtároló anyaggal optimalizáltuk, majd bizonyítottuk, hogy természetes eredetű zsírsavakkal és zsírsav észterekkel is a környezeti hatásoknak hasonlóan ellenálló, nagy fázisváltó anyag tartalmú kapszulák hozhatók létre. Az eljárást több léptéknövelési kísérletben üzemi méretű gyártásig fejlesztettük, és részt vettünk a Thermofoam Kft. bácsalmási telephelyén üzembe helyezett gyártósor tervezésében [103]. A kapszulák magjának kialakítását az egyfűvókás Büchi Encapsulator B-390 továbbfejlesztésével első lépésben laboratóriumi (69.A ábra), majd nagylaboratóriumi (69.B ábra) csepegtetőkészüléket hoztunk létre. A tapasztalatokat felhasználva pilot (69.C ábra) és üzemi (5000 fűvókával) csepegtetőkészüléket (69.D ábra) terveztünk (a Thermofoam Kft. bácsalmási telephelyén). A csepegtető készülék reaktorának megnövelése során szembesültünk azzal a problémával, hogy a kevertetés propellerkeverővel nem bizonyult elég hatékornak, és a létrejövő kapszulák a folyamat során összetapadtak. A tölséresedést és a kavitációt pilot léptékben air-lift rendszerű keverő alkalmazásával küszöböltük ki.

Az úgynevezett magkapszulák még további védőbevonatot igényeltek, ezért azok léptéknövelt előállítása mellett a héjképzés üzemelését is megoldottuk. A magrészcsekék aggregálódásmentes adagolását egy Fix-Mix^(R) statikus keverőelemeket tartalmazó adagolócsővel (70.A ábra) hajtottuk végre.



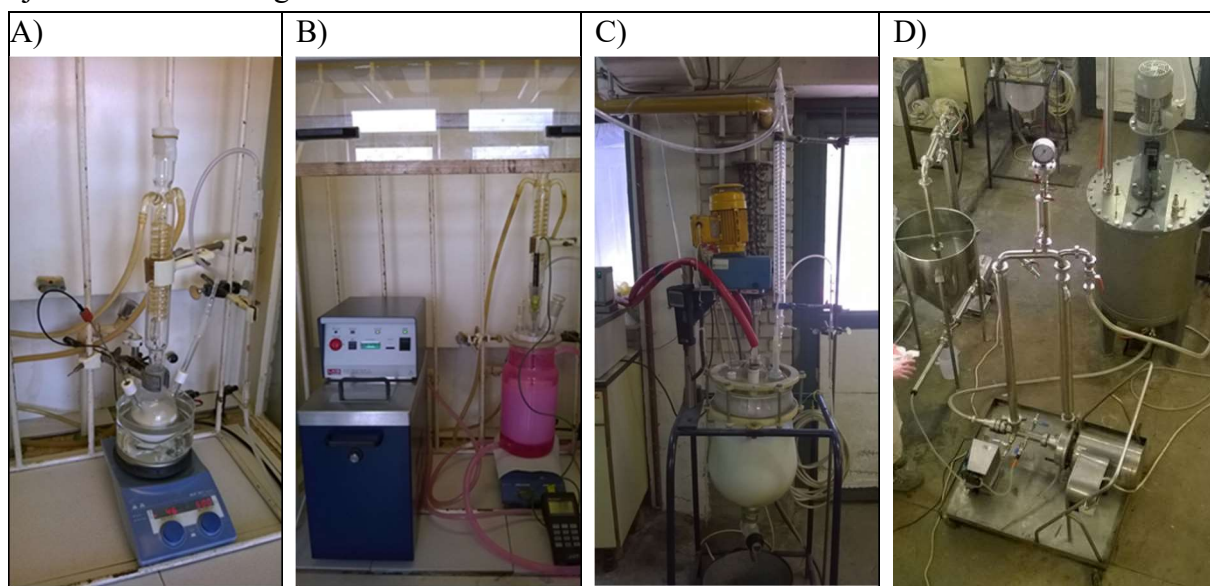
69. ábra: Laboratóriumi (A), nagylaboratóriumi (B), air-lift keverővel ellátott pilot méretű (C) és üzemi csepegtetőberendezés (D).

A léptéknövelési kísérletekben az intenzív keverés hatására a részben gélesedett héjanyag egy része a magkapszulákról leválva a kalcium-alginát oldatban képzett gél, ezáltal jelentős anyagvesztéget okozva, aminek kiküszöbölésére tettünk erőfeszítéseket (EK14). Az utolsó formálási lépéshez, a kapszulák szárításának üzemeltetéséhez kúposbetéttel ellátott fluidizált ágyas szárítóberendezést üzemeltünk be (70.B ábra). A kísérletekhez három mérettartományban (100 ml, 500 ml, valamint 5000 ml hasznos térfogat) építettünk kísérleti hőkezelő berendezéseket.



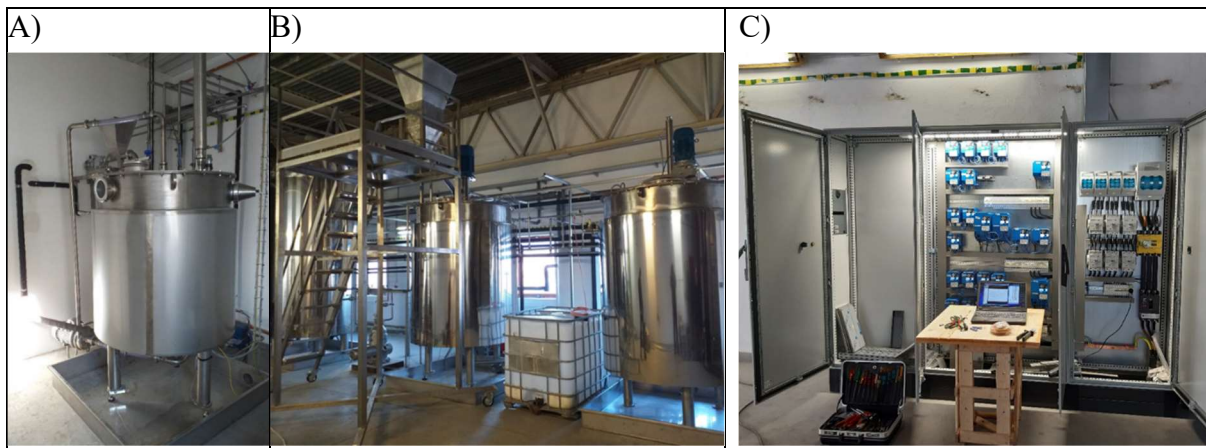
70. ábra: Fix-Mix(R) keverőrendszer a magrészecskék adagolására (A) és fluidizált ágyas kúposbetéttel ellátott szárítóberendezés (B).

Gazdasági és környezetvédelmi szempontokat is figyelembe véve meg kell jegyezni, hogy az eljárással előállítható biológiailag lebontható, környezetbarát kapszulák alkalmazása elsősorban nagyobb értékű területeken képzelhető el, mint pl. a hűtést igénylő gyógyszerek és élelmiszerek szállításánál. Építőipari alkalmazásuk olyan szabályozó környezetben jöhetne szóba, ahol a termékek árában jobban figyelembe vennék annak életciklusa során létrejövő környezetterhelést. Az eljárás gazdaságosságán még lehetne javítani, ha például a gyártás során keletkező részben gélesedett nátrium-alginát hulladékot mezőgazdasági felhasználásra vagy újrahasznosításra forgatnák vissza.



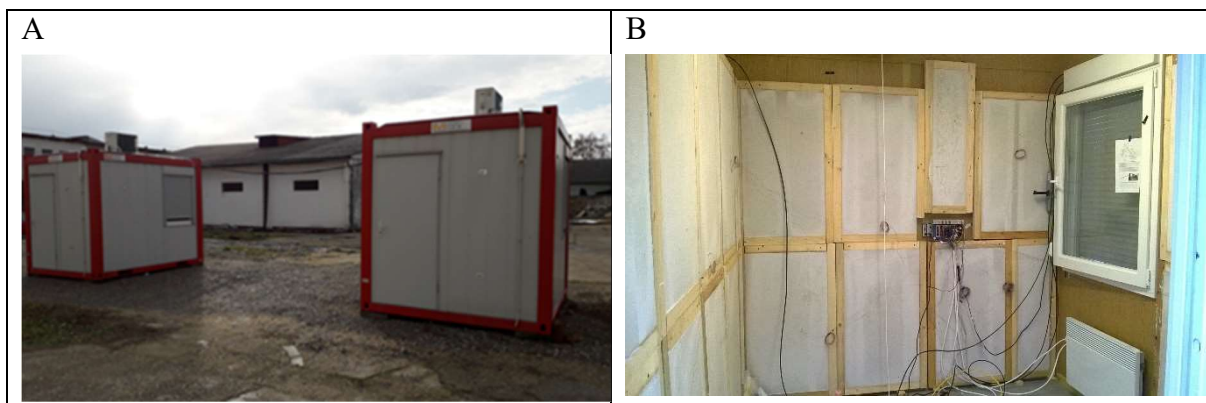
71. ábra: Laboratóriumi (A,B), nagylaboratóriumi (C) és pilot méretű (D) polimerizáló berendezés.

Szuszpenziós polimerizációs módszerrel PMMA-paraffin mikrokapszulákat állítottunk elő (K22), és az előállítási módszert méretnöveltük pilot léptékig (71. ábra). A méretnövelési kísérletek mellett a Thermofoam Kft. bácsalmási telephelyén létesített polimerizáló mikrokapszula gyártó üzem (72. ábra) tervezésében is aktívan részt vettünk, melynek gyártási kapacitása 100 kg/h.



72. ábra: Szerves fázis előkészítő robbanásbiztos üzemegység (A), előkészítő és polimerizáló reaktorok (B), 1800 l/h teljesítményű tányéros szeparátor (C), illetve folyamatirányító és elektromos vezérlőközpont (D) a Thermofoam Kft. polimerizáló mikrokapszula gyártó üzemében.

Az üzemben előállított fázisváltó hőtároló mikrokapszulákat vakolatanyagba keverve (68. ábra) és modellházba beépítve igazoltuk, hogy jelentős energiamegtakarítás érhető el azok megfelelő használatával (K22, EK15,16). Egy referencia és egy a PCM-vakolatpaneleket tartalmazó modell konténerházat szereltünk fel a Thermofoam Kft. bácsalmási telephelyén (73.A ábra). Az épületek falait kívülről és belülről is termoelemekkel (13-13 db) láttuk el (73.B ábra), melyek mérési adatait egy számítógép gyűjtötte. Az épületeket elektromos fűtőtesttel és klímaberendezéssel is felszereltük a különböző fűtési módok összehasonlítása céljából.



73. ábra: A modellházak fényképe (A) és a PCM panelekkel burkolt épület belső képe (B).

A publikált eredményeinken túl ezek a vizsgálatok azt is megmutatták, hogy a fázisváltó hőtároló anyagokkal megvalósított passzív hőtárolás az átmeneti időszakokban (kontinentális éghajlaton tavasszal és ősszel) megfelelő hőtároló tömeg alkalmazásával a fűtési igényt

minimálisra csökkenti. Megállapítottuk, hogy éghajlatunkon a téli és nyári időszakokban a fázisváltó anyagok gazdaságos alkalmazásához aktív épületgépészeti csatolás szükséges, aminek segítségével a fázisváltó anyagból akkor vonunk el vagy akkor közlünk azzal hőt, amikor olcsó (ideális esetben megújuló) energia rendelkezésre áll. A jelenleg megvalósítás alatt lévő piaci KFI projektünkben már nem konténer modellházakban, hanem valós családi ház méretű modellházban tervezzük optimalizálni a mikro- és makrokapszulázott fázisváltó hőtároló anyagok aktív és passzív alkalmazásait. A „Hulladékhő tárolására és szállítására alkalmas hőtároló egység kifejlesztése” című projektünkben 6 partner kutatóhellyel és vállalkozással együtt azt vizsgáljuk, hogy a kapszulázott fázisváltó anyagokkal milyen léptékben és megoldásban lehet gazdaságosan hőt szállítani.



KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A köszönetnyilvánítást rendhagyó módon a Családommal kezdem. Ahogy a Feleségem, Adél szokta mondani, ez a dolgozat legalább 50 %-ban az ő érdeme, és ez így is van, hiszen ő az enyémhez hasonló, ígéretes tudományos előmenetelét a Családunkért és értem feláldozta. Köszönöm Gyermekeimnek, Artúrnak, Anasztáziának és Teodórának, hogy bár a koruk miatt meg nem érthették, de legalábbis elviselték a tőlük elvett időt. Külön kiemelem még a Szüleimet, különösen Édesanyámat, akiktől a tudásvágyat és a tudás megszerzésének lehetőségét kaptam.

Köszönettel tartozom Gyenis Jánosnak, a csoportunk szellemi vezetőjének, aki az utóbbi 20 évben mind szakmailag, mind emberileg elmondhatatlanul sokat adott nekem. Szintén az elsők között említem Tóth Juditot, akinek a segítségére szintén bármikor számíthattam. Az együtt töltött évek során Fodorné Kardos Andrea és Mirankó Mirella még a legnehezebb időszakokban is mindenben támogattak, akiknek ezen és a PhD munkájukon felül a dolgozat formai és szakmai javításáért is külön hálás vagyok. Hálás szívvel gondolok még a csoportunk szakmai magjához tartozó önzetlen segítőkire, Németh Bence Lászlóra és Trif Lászlóra. Quazi Tanminul Haque Shubhra, Babos György, Kántor Izolda és Ferencz Mónika PhD munkájának gyümölcse a dolgozatomat is gyarapította. A csoportunk tapasztaltabb kutatóitól, Kovács Sándortól és Ujhidy Auréltól is sok segítséget kaptam, illetve Scheibelhoffer Miklós műszaki hozzájárulása nélkül nem juthattunk volna ideig. A csoportunk korábbi kollégái közül hálámat fejezem ki Szentmarjay Tiborné Erikának, Szemesné Dr. Németh Ágnesnek, Némethné Herczeg Eszternek és Vörös-Molnár Nikolettnek.

Köszönetemet fejezem ki az egykori MTA Kémiai Kutatóközpont Anyag- és Környezetkémiai Intézet vezetőjének, Szépvölgyi Jánosnak és utódjának, jelenlegi igazgatónak Tompos Andrásnak, akik minden tőlük telhető eszközzel segítettek az én és a csoportom munkáját. Szépvölgyi Jánosnak emellett külön köszönet jár a dolgozat átnézéséért és értékes javaslataiért. Köszönöm a HUN-REN TTK és előd intézmények főigazgatóinak, Pálinkás Gábornak, Keserű György Miklósnak, Pokol Györgynek és Buday Lászlónak a támogatását.

Kiemelt köszönettel tartozom még a HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont Anyag- és Környezetkémiai Intézetben dolgozó minden kollégának. Külön köszönöm Bóta Attilának, hogy átnézte a dolgozatot, és számos jó tanáccsal járult hozzá annak színvonalasabbá tételéhez. Az intézetből név szerint kiemelem még a közös években elért kutatási eredményekért a Plazmakémiai Kutatócsoportból Károly Zoltánt, Szentmihályi Klárát és May Zoltánt, utóbbit a társtémavezetői és analitikai segítségéért is, a Zöld kémia Kutatócsoport vezetőjét Tuba Róbertet, a Szupramolekuláris Kémiai Kutatócsoportból Biczók Lászlót és Miskolczy Zsombort, a Polimer Kémiai és Fizikai Kutatócsoportból Kasza Györgyöt és Szanka Istvánt, továbbá a Megújuló Energia Kutatócsoportból Pásztai Zoltánt az XPS vizsgálatokért.

Hálás vagyok még a HUN-REN TTK Molekuláris Élettudományi Intézet Metabolikus Gyógyszer-kölcsönhatások Kutatócsoport vezetőjének, Monostory Katalinnak és a Gyógyszerrezisztencia Kutatócsoportból Füredi Andrásnak a közös munkáért.

Köszönöm a Pannon Egyetem Műszaki Kémiai Kutatóintézetében együtt küzdő minden kolléga segítségét, kiemelten néhai Nagy Endre Igazgató Úrét, Járvás Gábor jelenlegi igazgatóét és Jankovics Hajnalkáét. Köszönettel adózom még a Pannon Egyetemen Kurdi Róbert, Jakab Miklós, néhai Kovács Kristóf, Korim Tamás, Nagy Roland és Dósa György együttműködéséért.

A Szegedi Tudományegyetemről Ambrus Rita és Csányi Erzsébet együttműködő munkáját és Csapó Editnek a dolgozat szerkesztésében és benyújtásában nyújtott segítségét köszönöm. A Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetemen Imre Attila, a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetemen Dobolyi Csaba együttműködése is hozzájárult ehhez a munkához.

Ipari kapcsolataink közül első helyen említem a Thermofoam Kft.-t annak vezetőjével Pirityi Lászlóval. Közös kutatási munkánk az EGIS Gyógyszergyárból Mikulasik Endre, Spaits Tamás, Szakály Péter és Móricz Krisztina; a Richter Gedeon Nyrt. és a Trigon Biotechnológiai Zrt.-ből Pallai Zsolt együttműködése jelentősen gazdagították a gyógyszermolekulák mikrokapszulázásában elért eredményeinket.

Külföldi együttműködő partnereim közül a legtöbbet Matthias G. Wackertól és Albrecht Piipertől tanultam a Goethe University Frankfurt (Frankfurt, Németország) általuk vezetett csoportjaiban töltött Humboldt ösztöndíjas 1,5 év során. Ezen az egyetemen öröm volt együtt dolgozni még Mukul Ashtikarral, Tomas Plelivel, Christian Schmithals-szal, Bianca Kakoschkyval, Franz Rödellel és Bernd Wolffal.

Gyümölcsöző együttműködést köszönhetek Péter Ferencnek a University Politehnica Timișoara csoportvezető professzorának. Hálás vagyok még a további nemzetközi együttműködő partnereimnek: Dékány Gyulának (Carbocode Germany GmbH, Konstanz, Németország), Saema Ansarnak (Lund University, Department of Clinical Sciences, Lund, Svédország), Michal Kawalecnek (Centre of Polymer and Carbon Materials Polish Academy of Sciences, Zabrze, Lengyelország), Daniel Horaknak (Institute of Macromolecular Chemistry, The Czech Academy of Sciences Czech, Prága, Csehország), Jean-Paul Lellouche-nak (Department of Chemistry, Bar Ilan University, Ramat Gan, Izrael), Muttuswamy Sivakumarannak (Department of Haematology, Peterborough City Hospital, Peterborough, UK) és Bojana Voncinanak (University of Maribor, Maribor, Szlovénia).

Hivatkozások

- [1] B. T. Lobel, D. Baiocco, M. Al-Sharabi és others, „Current Challenges in Microcapsule Designs and Microencapsulation Processes: A Review,” *ACS Applied Materials & Interfaces*, 16, 40326-40355, 2024.
- [2] A. Wicki, D. Witzigmann, V. Balasubramanian és J. Huwyler, „Nanomedicine in cancer therapy: challenges, opportunities, and clinical applications,” *Journal of controlled release*, 200, 138–157, 2015.
- [3] M. Vert, Y. Doi, K.-H. Hellwich, M. Hess, P. Hodge, P. Kubisa, M. Rinaudo és F. Schué, „Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012),” *Pure and Applied Chemistry*, 84, 377–410, 2012.
- [4] E. Marin, M. I. Briceño és C. Caballero-George, „Critical evaluation of biodegradable polymers used in nanodrugs,” *International journal of nanomedicine*, 3071–3091, 2013.
- [5] M. Goldberg, R. Langer és X. Jia, „Nanostructured materials for applications in drug delivery and tissue engineering,” *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 18, 241–268, 2007.
- [6] M. G. Wacker, „Nanomedicines—A Scientific Toy or an Emerging Market?,” *Polymer Nanoparticles for Nanomedicines: A Guide for their Design, Preparation and Development*, 591–614, 2016.
- [7] Y. Xu, C.-S. Kim, D. M. Saylor és D. Koo, „Polymer degradation and drug delivery in PLGA-based drug–polymer applications: A review of experiments and theories,” *Journal of biomedical materials research part B: applied biomaterials*, 105, 1692–1716, 2017.
- [8] R. W. Korsmeyer, R. Gurny, E. Doelker, P. Buri és N. A. Peppas, „Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers,” *International journal of pharmaceutics*, 15, 25–35, 1983.
- [9] A. Lucero-Acuña, C. A. Gutiérrez-Valenzuela, R. Esquivel és R. Guzmán-Zamudio, „Mathematical modeling and parametrical analysis of the temperature dependency of control drug release from biodegradable nanoparticles,” *RSC advances*, 9, 8728–8739, 2019.
- [10] F. Danhier, „To exploit the tumor microenvironment: Since the EPR effect fails in the clinic, what is the future of nanomedicine?,” *Journal of Controlled Release*, 244, 108–121, 2016.
- [11] Z. M. Png, C.-G. Wang, J. C. C. Yeo, J. J. C. Lee, N. E. Surat'man, Y. L. Tan, H. Liu, P. Wang, B. H. Tan, J. W. Xu és others, „Stimuli-responsive structure–property switchable polymer materials,” *Molecular Systems Design & Engineering*, 8, 1097–1129, 2023.
- [12] Z. Kónya, „Összetett nanoszerkezetek készítése, jellemzése, és néhány felhasználási lehetősége,” 2009.
- [13] M. De Andrea, R. Ravera, D. Gioia, M. Gariglio és S. Landolfo, „The interferon system: an overview,” *European journal of paediatric neurology*, 6, A41–A46, 2002.
- [14] G. R. Foster és H. C. Thomas, *Use of interferon alpha subtypes for enhancing immune response (WO/1998/033517A1)*, 1998.
- [15] S. Chevaliez és J.-M. Pawlotsky, „Interferon-based therapy of hepatitis C,” *Advanced drug delivery reviews*, 59, 1222–1241, 2007.

- [16] S. Kuroda, K. Tanizawa, A. Kondo, M. Ueda, M. Seno és H. Tada, *Drugs comprising protein forming hollow nanoparticles and therapeutic substance to be transferred into cells fused therewith (EP20030745405)*, Google Patents, 2005.
- [17] A. Sanchez, M. Tobío, L. González, A. Fabra és M. J. Alonso, „Biodegradable micro- and nanoparticles as long-term delivery vehicles for interferon-alpha,” *European journal of pharmaceutical sciences*, 18, 221–229, 2003.
- [18] N. Giri, P. Tomar, V. S. Karwasara, R. S. Pandey és V. K. Dixit, „Targeted novel surface-modified nanoparticles for interferon delivery for the treatment of hepatitis B,” *Acta Biochim Biophys Sin*, 43, 877–883, 2011.
- [19] C. d. S. Melo, B. G. Pereira, A. Silva-Cunha és S. L. Fialho, „Poly-ε-caprolactone microspheres containing interferon alpha as alternative formulations for the treatment of chronic hepatitis C,” *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 48, 51–59, 2012.
- [20] M. King, P. Kumar, D. Michel, R. Batta és M. Foldvari, „In vivo sustained dermal delivery and pharmacokinetics of interferon alpha in biphasic vesicles after topical application,” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 84, 532–539, 2013.
- [21] K. Kaur, P. Kush, R. S. Pandey, J. Madan, U. K. Jain és O. P. Katare, „Stealth lipid coated aquasomes bearing recombinant human interferon-α-2b offered prolonged release and enhanced cytotoxicity in ovarian cancer cells,” *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 69, 267–276, 2015.
- [22] A. H. Badawi és T. J. Siahaan, „Immune modulating peptides for the treatment and suppression of multiple sclerosis,” *Clinical immunology*, 144, 127–138, 2012.
- [23] S. M. Holliday és P. Benfield, „Interferon-beta-1a,” *BioDrugs*, 8, 317–330., 1997.
- [24] E. Chiellini, E. E. Chiellini, F. Chiellini és R. Solaro, „Targeted administration of proteic drugs. I. preparation of polymeric nanoparticles,” *Journal of bioactive and compatible polymers*, 16, 441–465, 2001.
- [25] G. Cappellano, A. D. Woldetsadik, E. Orilieri, Y. Shivakumar, M. Rizzi, F. Carniato, C. L. Gigliotti, E. Boggio, N. Clemente, C. Comi és others, „Subcutaneous inverse vaccination with PLGA particles loaded with a MOG peptide and IL-10 decreases the severity of experimental autoimmune encephalomyelitis,” *Vaccine*, 32, 5681–5689, 2014.
- [26] P. P. D. Kondiah, L. K. Tomar, C. Tyagi, Y. E. Choonara, G. Modi, L. C. du Toit, P. Kumar és V. Pillay, „A novel pH-sensitive interferon-β (INF-β) oral delivery system for application in multiple sclerosis,” *International journal of pharmaceutics*, 456, 459–472, 2013.
- [27] L. F. González, E. Acuña, G. Arellano, P. Morales, P. Sotomayor, F. Oyarzun-Ampuero és R. Naves, „Intranasal delivery of interferon-β-loaded nanoparticles induces control of neuroinflammation in a preclinical model of multiple sclerosis: A promising simple, effective, non-invasive, and low-cost therapy,” *Journal of Controlled Release*, 331, 443–459, 2021.
- [28] G. A. Donnan, M. Fisher, M. Macleod és S. M. Davis, „Stroke,” *Lancet*, 371, 1612–1623, 2008.
- [29] M. Mostajeran, L. Edvinsson, K. Warfvinge, R. Singh és S. Ansar, „Inhibition of mitogen-activated protein kinase 1/2 in the acute phase of stroke improves long-term neurological outcome and promotes recovery processes in rats,” *Acta Physiologica*, 219, 814–824, 2017.

- [30] K. B. Kurakhmaeva, I. A. Djindjikhshvili, V. E. Petrov, V. U. Balabanyan, T. A. Voronina, S. S. Trofimov, J. Kreuter, S. Gelperina, D. Begley és R. N. Alyautdin, „Brain targeting of nerve growth factor using poly (butyl cyanoacrylate) nanoparticles,” *Journal of drug targeting*, 17, 564–574, 2009.
- [31] A. Zensi, D. Begley, C. Pontikis, C. Legros, L. Mihoreanu, S. Wagner, C. Büchel, H. von Briesen és J. Kreuter, „Albumin nanoparticles targeted with Apo E enter the CNS by transcytosis and are delivered to neurones,” *Journal of controlled release*, 137, 78–86, 2009.
- [32] L. A. Torre, F. Bray, R. L. Siegel, J. Ferlay, J. Lortet-Tieulent és A. Jemal, „Global cancer statistics, 2012,” *CA: a cancer journal for clinicians*, 65, 87–108, 2015.
- [33] A. Heidarinassab, H. A. Panahi, M. Faramarzi és F. Farjadian, „Synthesis of thermosensitive magnetic nanocarrier for controlled sorafenib delivery,” *Materials Science and Engineering: C*, 67, 42–50, 2016.
- [34] Z. Wang, S. Shen, J. Peng, D. Wu, X. Liu, Y. Deng, X. Shi és W. Su, „Study on Novel Solid-State Forms of Sorafenib with Advantages in Terms of Solubility,” *Preprint*, 2023.
- [35] Y. Wu, Q. Guo, J. Bai és C. Guo, „Solubility determination, solute–solvent interactions, and model correlation of sorafenib in twelve pure organic solvents between T= 273.15 and 313.15 K,” *Journal of Chemical & Engineering Data*, 66, 4286–4292, 2021.
- [36] J. Liu, B. Boonkaew, J. Arora, S. H. Mandava, M. M. Maddox, S. Chava, C. Callaghan, J. He, S. Dash, V. T. John és others, „Comparison of sorafenib-loaded poly (lactic/glycolic) acid and DPPC liposome nanoparticles in the in vitro treatment of renal cell carcinoma,” *Journal of pharmaceutical sciences*, 104, 1187–1196, 2015.
- [37] Y. Liu, L. Feng, T. Liu, L. Zhang, Y. Yao, D. Yu, L. Wang és N. Zhang, „Multifunctional pH-sensitive polymeric nanoparticles for theranostics evaluated experimentally in cancer,” *Nanoscale*, 6, 3231–3242, 2014.
- [38] D. H. Kim, M.-D. Kim, C.-W. Choi, C.-W. Chung, S. H. Ha, C. H. Kim, Y.-H. Shim, Y.-I. Jeong és D. H. Kang, „Antitumor activity of sorafenib-incorporated nanoparticles of dextran/poly (dl-lactide-co-glycolide) block copolymer,” *Nanoscale research letters*, 7, 1–6, 2012.
- [39] W. Watcharin, C. Schmithals, T. Pleli, V. Köberle, H. Korkusuz, F. Hübner, O. Waidmann, S. Zeuzem, H.-W. Korf, A. Terfort és others, „Detection of hepatocellular carcinoma in transgenic mice by Gd-DTPA-and rhodamine 123-conjugated human serum albumin nanoparticles in T1 magnetic resonance imaging,” *Journal of Controlled Release*, 199, 63–71, 2015.
- [40] C. E. Astete, C. S. S. R. Kumar és C. M. Sabliov, „Size control of poly (d, l-lactide-co-glycolide) and poly (d, l-lactide-co-glycolide)-magnetite nanoparticles synthesized by emulsion evaporation technique,” *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 299, 209–216, 2007.
- [41] I. Rosenberger, C. Schmithals, J. Vandooren, S. Bianchessi, P. Milani, E. Locatelli, L. L. Israel, F. Hübner, M. Matteoli, J.-P. Lellouche és others, „Physico-chemical and toxicological characterization of iron-containing albumin nanoparticles as platforms for medical imaging,” *Journal of Controlled Release*, 194, 130–137, 2014.

- [42] M. G. Wacker, M. Altinok, S. Urfels és J. Bauer, „Nanoencapsulation of ultra-small superparamagnetic particles of iron oxide into human serum albumin nanoparticles,” *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 5, 2259–2266, 2014.
- [43] A. H. Haviv, J.-M. Grenèche és J.-P. Lellouche, „Aggregation control of hydrophilic maghemite (γ -Fe₂O₃) nanoparticles by surface doping using cerium atoms,” *Journal of the American Chemical Society*, 132, 12519–12521, 2010.
- [44] L. L. Israel, E. Lellouche, S. Ostrovsky, V. Yarmiayev, M. Bechor, S. Michaeli és J.-P. Lellouche, „Acute in vivo toxicity mitigation of PEI-coated maghemite nanoparticles using controlled oxidation and surface modifications toward siRNA delivery,” *ACS applied materials & interfaces*, 7, 15240–15255, 2015.
- [45] J.-P. Lellouche, S. Michaeli, L. L. Israel, E. Lellouche és Y. Kapilov-Buchman, *Magnetic inorganic iron-based nanoparticles*, Google Patents, 2023.
- [46] P. Di Martino, R. Censi, L. Malaj, D. Capsoni, V. Massarotti és S. Martelli, „Influence of solvent and crystallization method on the crystal habit of metronidazole,” *Crystal Research and Technology: Journal of Experimental and Industrial Crystallography*, 42, 800–806, 2007.
- [47] L. Nohemann, M. P. d. Almeida és P. C. Ferrari, „Floating ability and drug release evaluation of gastroretentive microparticles system containing metronidazole obtained by spray drying,” *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 53, e15218, 2017.
- [48] F. Naseem, S. U. Shah, S. A. Rashid, A. Farid, M. Almeahmadi és S. Alghamdi, „Metronidazole based floating bioadhesive drug delivery system for potential eradication of *H. pylori*: preparation and in vitro characterization,” *Polymers*, 14, 519, 2022.
- [49] C. J. Lee, C. S. Nah, C. S. Teng, W. W. Jun és M. Saravanan, „Spray dried calcium gelled arabinoxylan microspheres: A novel carrier for extended drug delivery,” *Chemical Papers*, 69, 1325–1330, 2015.
- [50] C. Chen, „Physicochemical, pharmacological and pharmacokinetic properties of the zwitterionic antihistamines cetirizine and levocetirizine,” *Current medicinal chemistry*, 15, 2173–2191, 2008.
- [51] P. I. Hair és L. J. Scott, „Levocetirizine: a review of its use in the management of allergic rhinitis and skin allergies,” *Drugs*, 66, 973–996, 2006.
- [52] G. P. van Balen, G. Caron, G. Ermondi, A. Pagliara, T. Grandi, G. Bouchard, R. Fruttero, P. Carrupt és B. Testa, „Lipophilicity behaviour of the zwitterionic antihistamine cetirizine in phosphatidylcholine liposomes/water systems,” *Pharmaceutical research*, 18, 694–701, 2001.
- [53] A. Kazsoki, B. Palcsó, S. M. Omer, Z. Kovacs és R. Zelkó, „Formulation of Levocetirizine-Loaded Core–Shell type nanofibrous orally dissolving webs as a potential alternative for immediate release dosage forms,” *Pharmaceutics*, 14, 1442, 2022.
- [54] S. E. M. I. M. U. L. Akhtar, S. O. E. B. Hussain és S. K. U. M. A. R. Mandal, „Formulation development and characterization of effervescent tablets along with levocetirizine dihydrochloride,” *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 13, 124–130, 2020.
- [55] A. Ahad, M. Aqil és A. Ali, „Investigation of antihypertensive activity of carbopol valsartan transdermal gel containing 1, 8-cineole,” *International journal of biological macromolecules*, 64, 144–149, 2014.

- [56] O. Sadoun, F. Rezgui és C. G'Sell, „Optimization of valsartan encapsulation in biodegradable polyesters using Box-Behnken design,” *Materials science and engineering: C*, 90, 189–197, 2018.
- [57] S. Shah, R. Patel, M. Soniwala és J. Chavda, „Development and optimization of press coated tablets of release engineered valsartan for pulsatile delivery,” *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 41, 1835–1846, 2015.
- [58] S. L. Tao, M. W. Lubeley és T. A. Desai, „Bioadhesive poly (methyl methacrylate) microdevices for controlled drug delivery,” *Journal of controlled release*, 88, 215–228, 2003.
- [59] S. Gaca, S. Reichert, G. Multhoff, M. Wacker, S. Hehlhans, C. Botzler, M. Gehrman, C. Rödel, J. Kreuter és F. Rödel, „Targeting by cmHsp70. 1-antibody coated and survivin miRNA plasmid loaded nanoparticles to radiosensitize glioblastoma cells,” *Journal of controlled release*, 172, 201–206, 2013.
- [60] I. M. Steinhauser, K. Langer, K. M. Strebhardt és B. Spänkuch, „Effect of trastuzumab-modified antisense oligonucleotide-loaded human serum albumin nanoparticles prepared by heat denaturation,” *Biomaterials*, 29, 4022–4028, 2008.
- [61] Z. Zhang, J. Zhang, T. Yang, S. Li, G. Xu, H. Liang és F. Yang, „Developing an anticancer platinum (II) compound based on the uniqueness of human serum albumin,” *Journal of Medicinal Chemistry*, 66, 5669–5684, 2023.
- [62] A. Combes, C. Rieb, L. Haye, A. S. Klymchenko, C. A. Serra és A. Reisch, „Mixing versus polymer chemistry in the synthesis of loaded polymer nanoparticles through nanoprecipitation,” *Langmuir*, 39, 16532–16542, 2023.
- [63] C. Weber, J. Kreuter és K. Langer, „Desolvation process and surface characteristics of HSA-nanoparticles,” *International journal of pharmaceutics*, 196, 197–200, 2000.
- [64] C. N. Cheaburu-Yilmaz, H. Y. Karasulu és O. Yilmaz, „Nanoscaled dispersed systems used in drug-delivery applications,” *Polymeric nanomaterials in nanotherapeutics*, 437–468, 2019.
- [65] C. E. Mora-Huertas, H. Fessi és A. Elaissari, „Polymer-based nanocapsules for drug delivery,” *International journal of pharmaceutics*, 385, 113–142, 2010.
- [66] S. Suri, G. Ruan, J. Winter és C. E. Schmidt, „Microparticles and nanoparticles,” in *Biomaterials Science: An Introduction to Materials: Third Edition*, Elsevier Inc., 2013, 360–388.
- [67] R. Vehring, „Pharmaceutical particle engineering via spray drying,” *Pharmaceutical research*, 25, 999–1022, 2008.
- [68] X. Li, N. Anton, C. Arpagaus, F. Belleteix és T. F. Vandamme, „Nanoparticles by spray drying using innovative new technology: The Büchi Nano Spray Dryer B-90,” *Journal of Controlled Release*, 147, 304–310, 2010.
- [69] Y.-F. Maa, H. R. Costantino, P.-A. Nguyen és C. C. Hsu, „The effect of operating and formulation variables on the morphology of spray-dried protein particles,” *Pharmaceutical development and technology*, 2, 213–223, 1997.
- [70] S. M. Jafari, C. Arpagaus, M. A. Cerqueira és K. Samborska, „Nano spray drying of food ingredients; materials, processing and applications,” *Trends in Food Science & Technology*, 109, 632–646, 2021.
- [71] A. Singh és G. Van den Mooter, „Spray drying formulation of amorphous solid dispersions,” *Advanced drug delivery reviews*, 100, 27–50, 2016.

- [72] M. Holzer, V. Vogel, W. Mäntele, D. Schwartz, W. Haase és K. Langer, „Physico-chemical characterisation of PLGA nanoparticles after freeze-drying and storage,” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72, 428–437, 2009.
- [73] T. Yin, J. Liu, Z. Zhao, Y. Zhao, L. Dong, M. Yang, J. Zhou és M. Huo, „Redox sensitive hyaluronic acid-decorated graphene oxide for photothermally controlled tumor-cytoplasm-selective rapid drug delivery,” *Advanced Functional Materials*, 27, 1604620, 2017.
- [74] P. J. Johnson, S. L. Skornia, S. E. Stabenfeldt és R. K. Willits, „Maintaining bioactivity of NGF for controlled release from PLGA using PEG,” *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 86, 420–427, 2008.
- [75] D. Horák, N. Semenyuk és F. Lednický, „Effect of the reaction parameters on the particle size in the dispersion polymerization of 2-hydroxyethyl and glycidyl methacrylate in the presence of a ferrofluid,” *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 41, 1848–1863, 2003.
- [76] L. Liao, M. Zhang, H. Liu, X. Zhang, Z. Xie, Z. Zhang, T. Gong és X. Sun, „Subchronic toxicity and immunotoxicity of MeO-PEG-poly (D, L-lactic-co-glycolic acid)-PEG-OMe triblock copolymer nanoparticles delivered intravenously into rats,” *Nanotechnology*, 25, 245705, 2014.
- [77] C. Janas, M.-P. Mast, L. Kirsamer, C. Angioni, F. Gao, W. Mäntele, J. Dressman és M. G. Wacker, „The dispersion releaser technology is an effective method for testing drug release from nanosized drug carriers,” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 115, 73–83, 2017.
- [78] T.-T. Lin, D.-Y. Gao, Y.-C. Liu, Y.-C. Sung, D. Wan, J.-Y. Liu, T. Chiang, L. Wang és Y. Chen, „Development and characterization of sorafenib-loaded PLGA nanoparticles for the systemic treatment of liver fibrosis,” *Journal of controlled release*, 221, 62–70, 2016.
- [79] G. Ratzinger, P. Agrawal, W. Körner, J. Lonkai, H. M. H. F. Sanders, E. Terreno, M. Wirth, G. J. Strijkers, K. Nicolay és F. Gabor, „Surface modification of PLGA nanospheres with Gd-DTPA and Gd-DOTA for high-relaxivity MRI contrast agents,” *Biomaterials*, 31, 8716–8723, 2010.
- [80] W. Watcharin, C. Schmithals, T. Pleli, V. Köberle, H. Korkusuz, F. Huebner, S. Zeuzem, H. W. Korf, T. J. Vogl, C. Rittmeyer és others, „Biodegradable human serum albumin nanoparticles as contrast agents for the detection of hepatocellular carcinoma by magnetic resonance imaging,” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 87, 132–141, 2014.
- [81] P. Roumanille, V. Baco-Carles, C. Bonningue, M. Gougeon, B. Duployer, P. Monfraix, H. Le Trong és P. Tailhades, „Bi₂(C₂O₄)₃·7H₂O and Bi(C₂O₄)OH oxalates thermal decomposition revisited. formation of nanoparticles with a lower melting point than bulk bismuth,” *Inorganic Chemistry*, 56, 9486–9496, 2017.
- [82] J. Hu, Y. Dong, W. K. Ng és G. Pastorin, „Preparation of drug nanocrystals embedded in mannitol microcrystals via liquid antisolvent precipitation followed by immediate (on-line) spray drying,” *Advanced Powder Technology*, 29, 957–963, 2018.
- [83] D. J. Blundell, „On the interpretation of multiple melting peaks in poly (ether ether ketone),” *Polymer*, 28, 2248–2251, 1987.

- [84] A. Pomázi, R. Ambrus, P. Sipos és P. Szabó-Révész, „Analysis of co-spray-dried meloxicam–mannitol systems containing crystalline microcomposites,” *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 56, 183–190, 2011.
- [85] B. Testa, A. Pagliara és P. A. Carrupt, „The molecular behaviour of cetirizine.” *Clinical & Experimental Allergy*, 27, 1997.
- [86] L. M. Bal, S. Satya és S. N. Naik, „Solar dryer with thermal energy storage systems for drying agricultural food products: A review,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14, 2298–2314, 2010.
- [87] H. Liu, X. Wang és D. Wu, „Innovative design of microencapsulated phase change materials for thermal energy storage and versatile applications: a review,” *Sustainable energy & fuels*, 3, 1091–1149, 2019.
- [88] <http://www.salcabv.com/index.asp?CategorieID=1&Taal=EN> (2014. június).
- [89] P. B. Salunkhe és P. S. Shembekar, „A review on effect of phase change material encapsulation on the thermal performance of a system,” *Renewable and sustainable energy reviews*, 16, 5603–5616, 2012.
- [90] L. Bayés-García, L. Ventolà, R. Cordobilla, R. Benages, T. Calvet és M. A. Cuevas-Diarte, „Phase Change Materials (PCM) microcapsules with different shell compositions: Preparation, characterization and thermal stability,” *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 94, 1235–1240, 2010.
- [91] M. N. A. Hawlader, M. S. Uddin és M. M. Khin, „Microencapsulated PCM thermal-energy storage system,” *Applied energy*, 74, 195–202, 2003.
- [92] F. Li, X. Wang és D. Wu, „Fabrication of multifunctional microcapsules containing n-icosane core and zinc oxide shell for low-temperature energy storage, photocatalysis, and antibiosis,” *Energy Conversion and Management*, 106, 873–885, 2015.
- [93] Y. Shao, C. Wu, T. Wu, C. Yuan, S. Chen, T. Ding, X. Ye és Y. Hu, „Green synthesis of sodium alginate-silver nanoparticles and their antibacterial activity,” *International journal of biological macromolecules*, 111, 1281–1292, 2018.
- [94] S. P. Dimitrijević, Ž. Kamberović, M. Korać, Z. Anč'ić, S. Dimitrijević és N. Vuković, „Influence of reducing agents and surfactants on size and shape of silver fine powder particles,” *Metallurgical and materials engineering*, 20, 73–88, 2014.
- [95] L. F. Cabeza, C. Castellon, M. Nogués, M. Medrano, R. Leppers és O. Zubillaga, „Use of microencapsulated PCM in concrete walls for energy savings,” *Energy and buildings*, 39, 113–119, 2007.
- [96] W. Li, G. Song, G. Tang, X. Chu, S. Ma és C. Liu, „Morphology, structure and thermal stability of microencapsulated phase change material with copolymer shell,” *Energy*, 36, 785–791, 2011.
- [97] S. Zhang és J. Niu, „Experimental investigation of effects of supercooling on microencapsulated phase-change material (MPCM) slurry thermal storage capacities,” *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 94, 1038–1048, 2010.
- [98] B. M. Diaconu, S. Varga és A. C. Oliveira, „Experimental assessment of heat storage properties and heat transfer characteristics of a phase change material slurry for air conditioning applications,” *Applied Energy*, 87, 620–628, 2010.
- [99] J. L. Reytez-Araiza, J. Pineda-Piñón, J. M. López-Romero, J. R. Gasca-Tirado, M. Arroyo Contreras, J. C. Jáuregui Correa, L. M. Apátiga-Castro, E. M. Rivera-Muñoz, R. R. Velazquez-Castillo, J. d. J. Pérez Bueno és others, „Thermal energy

- storage by the encapsulation of phase change materials in building elements—a review,” *Materials*, 14, 1420, 2021.
- [100] M. C. Smith, „Microencapsulated phase change materials for thermal energy storage,” 2009.
- [101] S. Torza és S. G. Mason, „Three-phase interactions in shear and electrical fields,” *Journal of colloid and interface science*, 33, 67–83, 1970.
- [102] A. Loxley és B. Vincent, „Preparation of poly (methylmethacrylate) microcapsules with liquid cores,” *Journal of colloid and interface science*, 208, 49–62, 1998.
- [103] B. L. Németh, „Természetes eredetű szerves látens hőtároló kalcium-alginát mikrokapszulák fejlesztése,” 2024.
- [104] A. Sari és A. Karaipekli, „Preparation, thermal properties and thermal reliability of capric acid/expanded perlite composite for thermal energy storage,” *Materials Chemistry and Physics*, 109, 459–464, 2008.