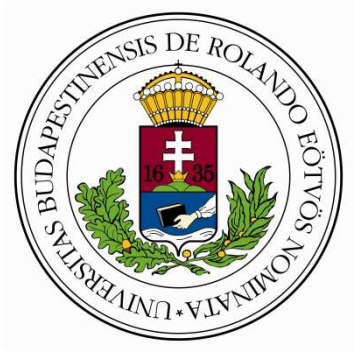
HIDROGÉL ALAPÚ GYÓGYSZERHORDOZÓ RENDSZEREK REOLÓGIAI VIZSGÁLATA

Szakdolgozat
Kémia Alapszak

TÓTH BENCE DÁVID

Témavezető: Dr. Antal István
Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészeti Intézet

Konzulens: Dr. Csempesz Ferenc
Fizikai Kémiai Tanszék



Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest
Természettudományi Kar
Kémiai Intézet
Védés helye: Fizikai Kémiai Tanszék
2015

Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőmnek, **Dr. Antal István** intézetigazgatónak, hogy a gyógyszertechnológiai tudományos kutatás módszereivel megismertetett és szakmai fejlődésem útján folyamatos buzdításával és irányításával vezet.

Köszönöm **Dr. Csempesz Ferenc** tanár úrnak szakmai konzulensi segítségét, és hogy mindig, minden kérdésemben a rendelkezésemre állt.

Köszönettel tartozom **Dr. Balogh Emese** adjunktus asszonynak és a Gyógyszerészeti Intézet minden munkatársának segítőkész támogatásukért.

Külön szeretném megköszönni **Winkler Péter** úrnak a Malvern Instruments Ltd. mérnökének, a készülékkel és méréstechnikával kapcsolatos kimerítő segítségét.

TARTALOMJEGYZÉK

1. Bevezetés 3

2. Irodalmi áttekintés 4

2.1. Transzdermális készítmények 4

2.3. Hidrogélek mint gyógyszerhordozók 7

2.7. A reológia tárgya 11

3. Célkitűzés 17

4. Kísérleti anyagok és módszerek 18

4.1. Gélek formulálási segédanyagai és a hatóanyag 18

4.1.1. Szentjánoskenyér gumi – LBG (Locust bean gum). 19

4.2.1. Kitozán. 19

4.2.3. Carbopol készítmények 21

4.2.4. Diklofenák nátrium. 21

4.2.5. Felhasznált kísérleti anyagok jegyzéke 22

4.2. Kísérleti módszerek 23

4.2.1. Gélek készítése 23

4.2.1. In vitro hatóanyag felszabadulás vizsgálata Franz-cellával 24

4.2.1. Hatóanyag mérése spektrofotometriásan 25

4.2.1. pH mérése oldatokban és gélekben 25

4.2.1. Reológiai mérések, a Kinexus Pro rotációs reométer 25

5. Eredmények és értékelésük 31

5.1. 2% Kitozán tartalmú gélek pH függése 31

5.2. Hatóanyag nélküli Carbopol gélek ideális pH tartománya 32

5.3. Hatóanyag nélküli és hatóanyag tartalmú gélek viszkozitás görbéi 34

5.4. Kioldódott hatóanyag mennyisége különböző típusú gélek esetén 36

5.5. Carbopol71G NF és LBG 1:1 arányú, 2% hatóanyag tartalmú gél elegy reológiai jellemzése 37

Szakdolgozat összefoglaló 42

Summary 43

Irodalomjegyzék 44

1. Bevezetés

A hidrogélek vízközegű, kohezív, kolloid rendszerek. Ha a makromolekula láncok közti taszítás nem számottevő és a vonzó kölcsönhatások energiája nagyobb a hőmozgás kinetikus energiájánál, a makromolekula láncok összekapcsolódnak.

A szakirodalomban a makromolekulás gélekre többféle definíció található: „A gélek alaktartó, nem túl nagy mechanikai behatásra rugalmasan viselkedő kolloid rendszerek [2].”

A géleket az átkötések kiterjedésétől függően széles tartományú rugalmassági modulussal rendelkező ún. „lágyan szilárd rendszereknek” lehet tekinteni [1].” Gyakran használják a fél szilárd kifejezést is.

A fizikában szilárdtest alatt általában kristályos anyagokat értünk, tehát ezen osztályozás szerint, makromolekulás géljeink inkább folyadék halmazállapotú rendszernek tekinthetők [3]. Ugyan ezen besorolás szerint viszont a folyadékok, saját meghatározott alak híján a körülvevő teret részben vagy teljesen kitöltik. Ez nyilvánvaló ellentmondás, ha például egy duzzadt zselatinkockára gondolunk, ami laboratóriumi körülmények között egy alaktartó hidrogél.

A reológia az anyagi rendszerek folyási és deformációs vizsgálatával foglalkozó tudomány [1].

2. Irodalmi áttekintés

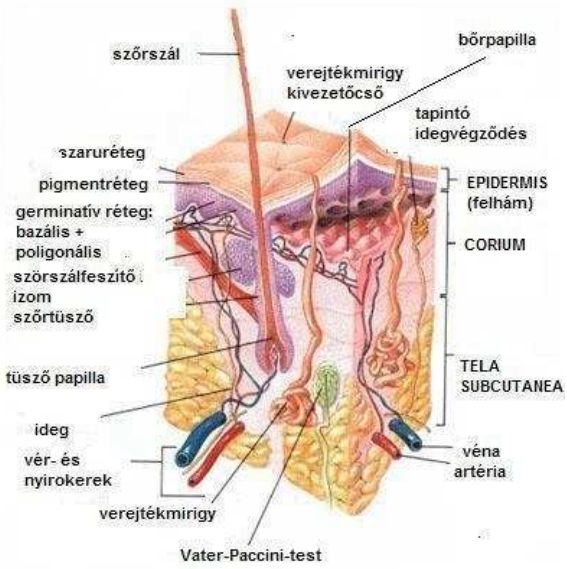
2.1. Transzdermális készítmények

Számos hatóanyag esetében előnyösebbnek tekinthetőek a lokális készítmények mivel, alacsonyabb plazma csúcskoncentráció érhető el, így a mellékhatások mértéke is csökken. Elkerülhető vele a máj metabolizáló hatása, ezáltal a készítménynek jobb lesz a biohasznosíthatósága.

A lokálisan alkalmazott hatóanyag-leadó rendszerekkel szemben általában a gél forma hatása még előnyösebb.

A különböző krónikus váz- és izomrendszeri megbetegedések (pl. osteoarthritis, rheumatoid arthritis) kezelésében széles körben alkalmazzák a nem-szteroid gyulladáscsökkentő hatóanyagokat (NSAID).

Az emberi bőr képes szabályozni illetve akadályozni a környezeti anyagok szervezetbe való bejutását, mert erős gátfunkcióval rendelkezik (1. ábra). A bőr kétirányú barrierként funkcionál, megakadályozza a víz és az elektrolitok felszívódását valamint elvesztését.



1. ábra: A bőr szerkezete [34]

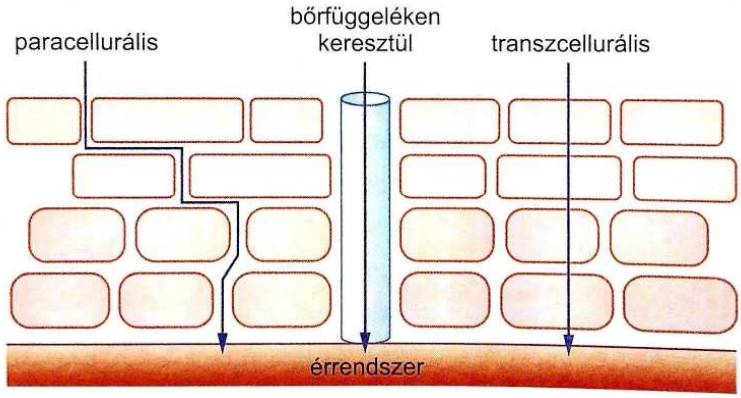
A lokálisan alkalmazható hatóanyagoknak megfelelő oldhatósággal, nagy megoszlási hányadossal és kicsi molekulatömeggel (<600 Da) kell rendelkezniük. Az anyagok bőrön keresztül történő áthatolását befolyásolhatja a bőr vastagsága, lipidtartalma, hidratáltsága, metabolizációs készsége, a szőrtüszők és verejtékmirigyek sűrűsége, pH értéke, véráramlása, de fontosak a vegyületek fizikai-kémiai tulajdonságai is [28, 33].

A 70-es, 80-as években széleskörű kutatás kezdődött a programozott gyógyszerleadás technológiai lehetőségeit vizsgálva. Ezek a gyógyszerformák képesek a terápiás hatás idejének, helyének vagy egyszerre mindkét paraméternek a szabályozására, így a gyógyszerforma is meghatározza a célszövetben levő hatóanyag koncentrációját.

Ezen terápiás rendszerek között igen fontos helyet foglalnak el a dermális és transzdermális terápiás rendszerek (TTS - Transdermal Therapeutic System).

A dermális készítményeket legtöbbször, helyileg használják, amikor nem kívánatos, hogy a hatóanyag bejusson a szisztémás keringésbe. Elsősorban a bőr ápolására, állapotának javítására, gyulladásos vagy egyéb elváltozások, sebek gyógyszeres kezelésére alkalmazzák e készítményeket.

A transzdermális készítmények képesek szisztémás hatás kifejtésére, mert a bőrön keresztül felszívódnak (2. ábra). Alkalmazásuk fontos az állandó, hosszantartó kezelést igénylő megbetegedések terápiájában (pl. Reumás megbetegedések, hipertónia, szívritmuszavarok stb.). Használatukkal elérhető fájdalomcsillapítás, hormonterápia, fogamzásgátlás, vizelési inkontinencia enyhítése, antiemetikus hatás vagy központi idegrendszeri hatás is.



2.ábra: A hatóanyagok penetrációjának lehetséges útjai [33]

Ezen rendszerek előnyei, hogy kikerülik a gyomor-bél traktust, és a májat s ez által a hatóanyagok nincsenek kitéve az ezekben a szervekben lezajló metabolizmusnak.

Az alul- vagy túladagolás veszélye ép bőrfelület esetében minimális, mivel szabályozott a felszabadulás folyamata. A készítmény eltávolításával megszüntethető a nem kívánt gyógyszerhatás [29, 33].

Szükséges a hátrányokat is megemlíteni. Elsősorban fontos megemlíteni, hogy a nagy molekulákat ilyen úton nem tudjuk bejuttatni a szervezetbe, gyógyszerhatás csak a kezelt területen érhető el és nem minden kezelni kívánt területhez tudunk hozzáférni. Ezen felül

helyi irritáció, allergia is felléphet a használat során, valamint csak kis mennyiségű hatóanyag képes bejutni a szisztémás keringésbe.

A gyógyászatban használt gélképzők természetes és szintetikus polimerek lehetnek, melyek szabályozzák a készítmény konzisztenciájátés növelik annak viszkozitását. A természetes gélképzők fő hátránya, hogy mikrobiológiailag instabilak, ettől függetlenül manapság gyakran alkalmazzák őket kedvező áruk miatt.

A fejlesztés és utóellenőrzések során az alábbi minősítő vizsgálatokat végzik:

- Reológiai vizsgálatok (viszkozitás mérése, tixotrópia és elasztikusság meghatározása)
- Extrudálhatóság: empírikus vizsgálat, mellyel a tubusból való kipréseléshez szükséges erőt adják meg
- Duzzadási index meghatározása:

  Duzzadási Index (SW)% = [(W_t - W_o) / W_o] ×100, ahol (SW) egyensúlyi százalékos duzzadás, W_t a duzzadt emulgél súlya t idő múlva, W_o az emulgél eredeti súlya a t=0 időpontban.
- Hatóanyag tartalom mérése (spektrofotometriásan).
- Ex-vivo bioadhezivitás jellemzése(egérbőrön tanulmányozzák).
- In vitro hatóanyag felszabadulás vizsgálata.
- Bőrirritációs teszt:

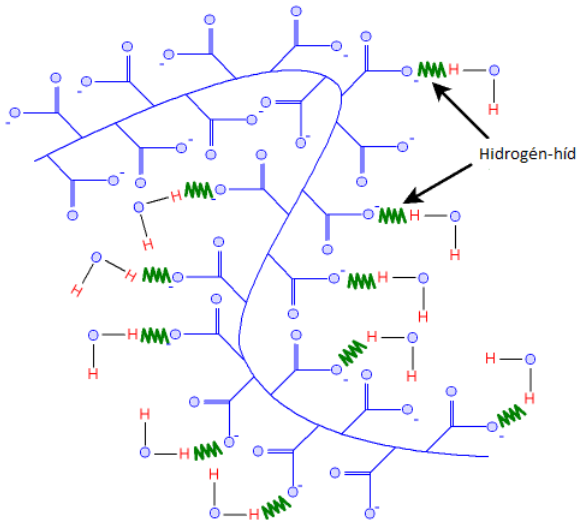
  Irritáció hatására bekövetkező morfológiai elváltozás megfigyelése patkány bőrén 24 óra után.
- Stabilitási vizsgálatok:

  alumínium tubusban tárolják a készítményt, 5 és 25 °C-on 60 %-os, 30 °C-on 65 %-os és 40 °C-on 75 %-os relatív páratartalom mellett, 3 hónapon keresztül. 15 naponként elvégeznek bizonyos vizsgálatokat (pH, viszkozitás, hatóanyag mennyiség/felszabadulás) [33, 28, 29].

2.2. Hidrogélek mint gyógyszerhordozók

Bizonyos hidrofil polimerek vízben, már kis koncentrációban (0,1-1%) is „sűrűn folyó”, viszkózus és/vagy opálos rendszert alkotnak. Növelve a koncentrációt a folyékonyság egyre csökken és viszkózus gélt kapunk. A folyamat során a szilárd, hidrofil polimer vizet vesz fel és sokszorosára duzzad, tömegének akár több százszoros vízmennyiséget is megkötve [7]. A képződött gélformát a hálópontok közötti kötések biztosítják. A polimer láncok és keresztkötések lehetnek kovalens kötések, hidrogén-hidak vagy van der Waals kölcsönhatások [4].

A vízfelvételt biztosító poláros csoportok leggyakrabban karboxil-, hidroxil- vagy amino-csoportok, a víz hidrogén kötésekkel kapcsolódik a csoportokhoz, ill. ionjaikhoz (3. ábra) [7]. A hosszú szénlánc sokféle struktúrába rendeződhet a fizikai és kémiai körülményektől függően. A közeg pH-ja például befolyásolja a csoportok protonleadását illetve felvételét és ezzel a láncrészek oldhatóság is változik. A legjobb vízfelvétel minden poli-elektrolitnál egy adott pH tartományban valósul meg, a hidrofil funkciós csoportok savas/bázisos karaktere szerint. Fizikai szempontból a gél érzékeny lehet a hőmérséklet, nyomás változásán túl fényre, elektromosságra, mágnesességre is (1. táblázat) [11,17].

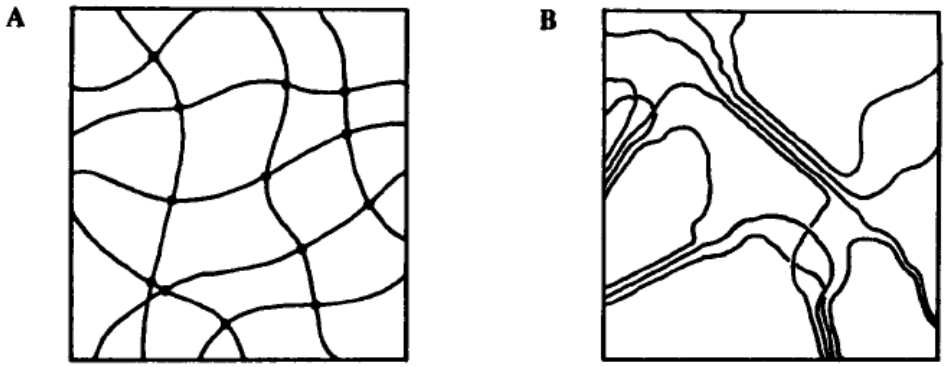


3. ábra: Polimerlánc és víz kapcsolata

Külső inger	Eredmény	Példa
Hőmérsékletváltozás	Éles szol-gél átmenet (t_{25C} -> t_{37C})	Pluronic (PEO-PPO-PEO kopolimer) Xiloglukán Poli-aminosavak
pH változás	megfelelő pH tartományban oldódás, gélesedés	Kitozán Poli-akrilsav származékok (Carbopol) Cellulóz acetát ftalát
Ionerősség változás	szol-gél átmenet illetve változozó gélszerkezet	Gellángumi (E418) Alginátok (E400)
elektromos inger vagy mező	elektromos polarizáció, szerkezetváltozás és deformációs változások	Elecktroaktív polimerek: Ferroelektromos polimerek Ionos polimerek és fémkompozitok Elektroreológiai folyadékok

1. táblázat: néhány példa inger érzékeny (*stimuli-sensitiv*) gélekre [11,17]

A hidrogélek szerkezetének megismerése, gyógyászati felhasználásukkal párhuzamosan egyre jobban előtérbe került. 1960-ban Wichterle és Lim úttörő munkát publikált keresztkötéses hidroxi-etil metakrilát hidrogél biokompatibilitásáról, ami felhívta a figyelmet sok hasonló polimerre [18].



4. ábra: Kémiai gél pontszerű elágazásokkal és fizikai gél változatos kapcsolatokkal [5]

Reverzibilis, vagy másként fizikai gélekről beszélünk akkor, ha a gélhálózatot másodrendű kötések (H-hidak, Van der Waals erők vagy hidrofób kölcsönhatás) tartják össze. Az ilyen gélek belső szerkezete nem homogén, kisebb-nagyobb zárványok és „molekuláris lukak”, valamint szabad polimer láncok és hurkok tarkítják (4/B ábra). Ilyen jellegzetes gélek a kalcium-alginátok. Ezekben a polielektrolit lánchoz egy többértékű fémion kapcsolódik, létrehozva a keresztkötéseket. Ezáltal a gél (pl.: mikro-gömb) szerkezete és kialakulása erősen függ a közeg pH-jától, a fémion koncentrációjától és az ionerősségtől [8].

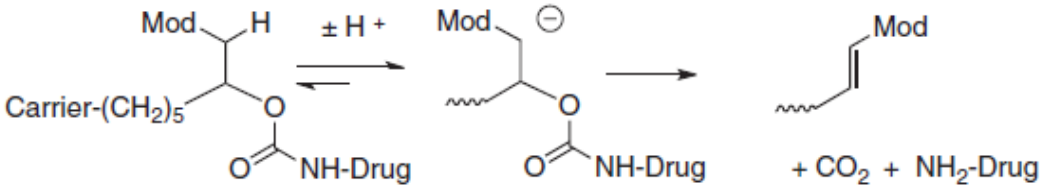
Állandónak, vagy kémiai térhálónak nevezzük a hidrogéleket, ha a hálópontokat kovalens kötések stabilizálják (4/A ábra). Tipikusan ilyennek tekinthetjük a poli-akrilsav láncok polialkil-éterekkel vagy divinil-glikollal keresztkötött kopolimerjeit, melyek a gyógyszer- és kozmetikai ipar karbomer vagy carbopol néven ismert gyakori segédanyagai [9]. A kémiai gélek szerkezete sem mindig teljesen homogén, a polimer hálóban mikroheterogén térelemek fordulhatnak elő, melyek a tapasztalat szerint csökkentik a gél elaszticitását [8].

A vízfelvétellel járó duzzadás összetett folyamat, több lépésben képzelhető el. A vízmolekulák először a legpolárosabb csoportokon adszorbeálódnak. Ha ezen csoportok telítődtek, a hidrofób csoportok „kifelé" fordulnak és szintén vizet köthetnek meg. További jelentős víz kerülhet a hálóba, ozmotikus folyamat révén. Ez utóbbi felelős leginkább az elasztikus tulajdonságért [8]. A duzzadás mértéke a gél tömegnövekedésével jellemezhető:

$$DI_m = \frac{m_t - m_0}{m_0}$$

ahol DI_m a duzzadási index, m_0 és m_t a gél tömege kezdetben illetve t idő után.

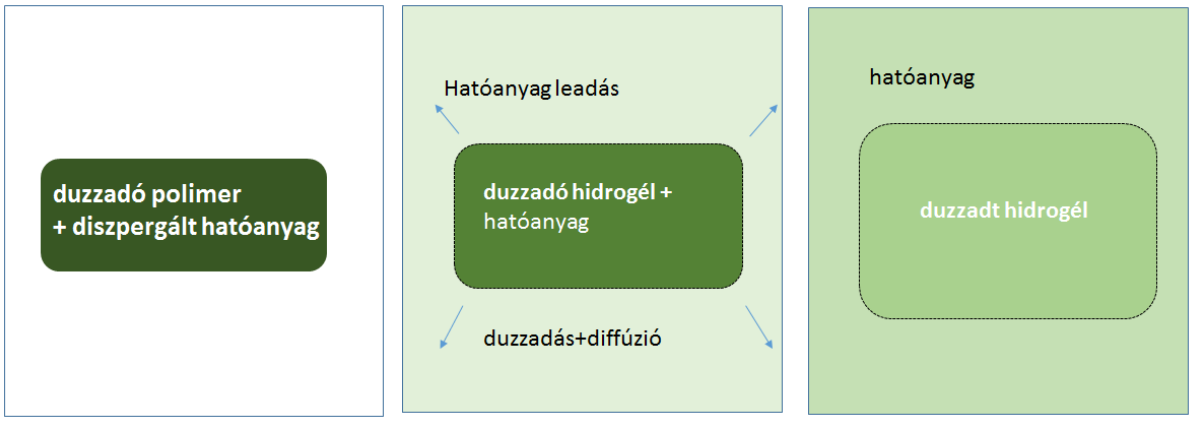
Az alkalmazás kapcsán felmerül a kérdés: hogyan működik egy ilyen hatóanyag leadó rendszer? A gyógyszermolekula kapcsolódhat kovalens módon a hordozójával. Az alábbi példában a hordozó polimer (pl.: polietilén-glikol) és a hatóanyag (vagy annak előanyaga) sav-amid csoporton keresztül kapcsolódik:



A protonleadás kontrollja a módosító csoport elektronvonzó képessége, tehát jórészt az első reakció szabályozza a hatóanyag-leadás sebességét is. A második lépésben gyors enzimatikus béta-elimináció történik [9]. Egy ilyen kémiailag kapcsolt és szabályozott hatóanyag-hordozó rendszer létrehozásához jól definiált és tervezett polimerizáció szükséges.

Más esetben diffúzió szabályozza a hatóanyag felszabadulását [17]. Ilyenkor a biológiailag aktív anyag egy tároló, azaz egy hidrogél membrán belsejében „várja” kijutását. Így működnek a legegyszerűbb kapszulák is.

A hatóanyagleadás és szabályozása duzzadás által is megvalósulhat. Ilyenek például a különböző hidrofil polimerekkel képzett mátrixtabletták (7. ábra):



5.. ábra: Duzzadó mátrix tabletta hatóanyag leadása [10]

Ilyenkor a Fick II. törvénnyel közelíthetjük a koncentráció változását:

$$\left(\frac{\partial c}{\partial t}\right)_y = D\left(\frac{\partial^2 c}{\partial y^2}\right)_t$$

[6]

Tehát a hatóanyag koncentráció (c) időbeni változása adott helyen arányos, a koncentráció grádines adott időben vett y irányú változásával és az arányossági tényező D, diffúziós koefficiens [6,10].

A hatóanyagleadás kinetikája polimergélből általában az alábbi egyenlettel modellezhető:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad ,$$

ahol M_t a t időben felszabadult hatóanyagmennyiség, M_∞, a végtelen időben felszabaduló hatóanyag mennyisége, k a polimer rendszer szerkezeti és geometria tulajdonságait magában foglaló sebességi állandó, n a diffúzió transzport mechanizmusát jellemző hatványkitevő. Duzzadás által szabályozott hatóanyagfelszabadulás esetén alapvetően fontos a hatóanyagleadás és a gél viselkedése közötti összefüggések elemzése [17, 10].

Ha kifejezetten duzzadó rendszerben diszpergált hatóanyag felszabadulásáról van szó (pl.: *per os.* alkalmazott módosított hatóanyag leadású gélmátrix), akkor az előbbi kitevő 0,5-1 között változik. Egyik megközelítés szerint a duzzadással változik a diffúziós karakter a határfelület növekedése miatt. Az is ismert, hogy a diffúziós koefficiens függhet a duzzadás fokától [10].

Alkalmazás módja	Polimer
gasztrointesztinális	PEG, PEO, HPMC, Kitozán, Carbopol, stb.
rektális	Nátrium-alginát, Xiloglukán, Xantán gumi, Szentjános kenyér gumi
okuláris	Poli-metakrilsav-anilin, Carbopol
transzdermális	PHEMA, PEG, PAA,
szubkután	PAHy, PEG, PEG-Dex, Poli-caprolacton, poli-aminosavak

2. táblázat: néhány példa a hidrogélek gyógyászati alkalmazására illetve a segédanyagokra

2.3. A reológia tárgya

A reológia -mint a mechanika egy ága- az anyagok azon tulajdonságait vizsgálja, melyek meghatározzák az anyag erőbehatásra adott válaszát [2]. A reológia kifejezést Bingham vezette be, jelentése: *az anyag deformációjának és folyásának tanulmányozása*. A társaság 1929-es alapításakor a definíciót elfogadták [1].

1678-ban Robert Hook a „*Rugalmasság igazi elmélete*” című munkájában lefektette a rugalmasság klasszikus elméletének alapjait. Kimondta azt a tapasztalati törvényt mely szerint a keresztmetszetre merőlegesen ható erő ($\sigma=F/A$) arányos a relatív hosszváltozással ($\varepsilon=\Delta l/l$).

$$\sigma = E \cdot \varepsilon$$

Az E arányossági tényező, a kísérleti úton meghatározható Young-modulus [3,1].

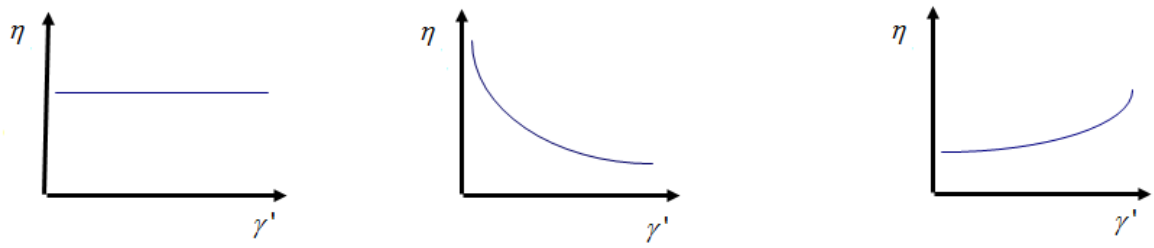
Hook kortársa, Newton a reológiai tulajdonságokat is vizsgálta. A csúszósság hiányát a belső súrlódásra vezette vissza. A Newton féle súrlódási törvény szerint, a nyíró erő arányos a sebesség grádienssel.

$$\sigma = \eta U/d \quad ,$$

ahol σ az erő és felület hányadosa (Pa), U/d a sebesség gradiens, szokásos jelölése: G vagy γ'. A dolgozat további részeiben a γ' jelölést használom. Az ún. Newtoni folyadékok esetén az η konstansnak tekinthető, állandó hőmérsékleten. Ilyen a víz és a glicerin melyek viszkozitása Si egységben kifejezve 1 mPas illetve 1 Pas. A legtöbb anyag azonban nem mutatja ezt az ideális viselkedést [1].

A legfontosabb erőhatások a nyújtás vagy összenyomás illetve a nyírás, mivel homogén, izotróp anyag mindennemű alakváltozása visszavezethető ezekre. Gélek és egyéb polimerek folyástani vizsgálatai során használt különböző készülékek is ilyen jellegű hatást gyakorolnak a megfigyelt rendszerre [3].

A Hook törvény által leírt viselkedést *elasztikus*nak hívjuk, míg a Newtoni folyadékra az ideálisan *viszkózus* kifejezést használjuk. A reális anyagok nagyobb része még a vizsgált nyírási tartományokban sem mutatja a fent említett két egyenlet lineáris összefüggéseit. A merevségi- vagy rugalmassági- (Young-) modulus illetve a viszkozitás az alkalmazott nyírófeszültséggel változhat és az időnek is függvénye lehet [1].



6. ábra: Newtoni-, pszeudopasztikus („nyírásvékonyodó") és dilatáns („nyírásvastagodó") rendszerek viszkozitási görbéi

Ilyen viselkedésre hétköznapi példa a fogkrém kinyomása a tubusból, ami közepesen nagy sebességgrádiensnek tekinthető és egyértelműen viszkózus folyást eredményez. A fogkeféről azonban már nem folyik le. Tehát itt a viszkozitás változása szinte pillanatszerűen következik be, példázva ezzel az ún. *"nyírásvékonyodó"* anyagi viselkedést. Természetesen az ilyen változás történhet sokkal nagyobb időskálán is illetve növekvő viszkozitást is megfigyelhetünk bizonyos anyagoknál, amit *„nyírásvastagodás"*-nak nevezünk (6. ábra).

A nem ideális rugalmassági és folyási sajátságokat is mutató rendszereket *viszkoelasztikus*nak is hívjuk. Szűkebb értelemben, ha egy folyadék nem írható le a Navier-Stokes-egyenletekkel, de elasztikus jelleget nem tudunk megfigyelni, a *nem-Newtoni* folyadék kifejezés használatos [1,13].

A Newtonitól eltérő viselkedést mutató polimereknél a hőmérséklet változása különböző hatással lehet a reológiai tulajdonságokra. Gyakran találkozunk olyan hidrogélekkel, melyek a

hőmérséklet emelésére elfolyósodnak. Bizonyos termoreverzibilis gélek viszont pár fokos melegedés hatására szol – gél átmenetet mutatnak, tehát magasabb hőmérsékletű közegbe kerülve (pl.: belső testfolyadék) gél mikrogömböket formálhatnak [12,1].

Fontos méréstechnikai szempont a termosztálás és hőelvezetés. Ez utóbbi annál is inkább, mivel nem elég a felületek állandó (vagy program szerint változó) hőmérsékletének biztosítása, mivel a nyírás önmagában hőt fejleszt. A térfogategységre eső energiaveszteség nagysága a sebesség gradiens és a nyírási feszültség szorzata. Kúp-lap viszkozimétereknél fontos a résszélesség minimalizálása [1].

Gyakorlati szempontból jó közelítést ad a *lineáris viszkoelasztikus* leírásmód.

$$\left(1+\alpha_1\frac{\partial}{\partial t}+\alpha_2\frac{\partial^2}{\partial t^2}+\cdots+\alpha_n\frac{\partial^n}{\partial t^n}\right)\sigma=\left(\beta_0+\beta_1\frac{\partial}{\partial t}+\beta_2\frac{\partial^2}{\partial t^2}+\cdots+\beta_n\frac{\partial^m}{\partial t^m}\right)\gamma,$$

ahol σ a nyírási feszültség, γ a deformáció. Ha β_0 az egyetlen nem zéró paraméter, akkor a Hook-féle rugalmasság egyenletét kapjuk, ahol a β_0 a szilárdsági modulus:

$$\sigma=\beta_0\gamma$$

Ha β_1-re igaz ugyan ez a feltétel, a newtoni viszkózus folyás leírását kapjuk:

$$\sigma=\beta_1\dot{\gamma}$$

Ha pedig mindkét paraméter nullától különböző, jelölve őket rendre G és η betűvel:

$$\sigma=G\gamma+\eta\dot{\gamma}$$

egyenlethez jutunk, ami az un. *Kelvin-modell*, G az ún. nyírási rugalmassági modulus. Ha α_1- és β_1-re igaz, hogy egyedül nem nulla akkor a következő összefüggés adódik:

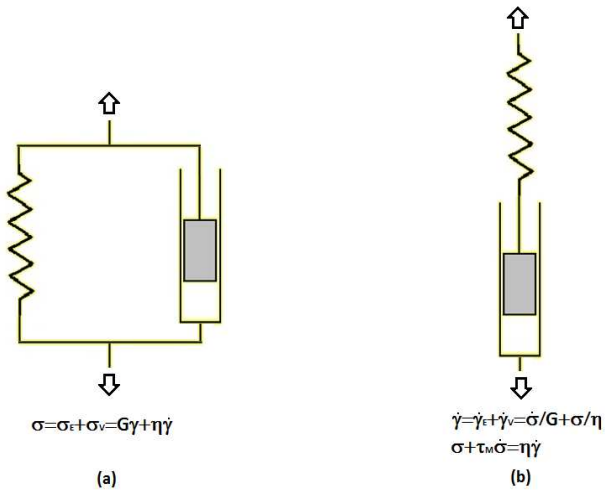
$$\sigma+\tau_M\dot{\sigma}=\eta\dot{\gamma},$$

ahol α_1- és β_1-et τ_M és η karakterekkel helyettesítettük. τ_M sebességi állandót relaxációs időnek hívjuk, és η/G hányadossal egyenlő. A fenti leírást *Maxwell-modellnek* nevezzük. Három paramétert is választhatunk nullától különbözőnek, ez a Jeffreys-modell:

$$\sigma + \tau_M \dot{\sigma} = \eta(\dot{\gamma} + \tau_J \ddot{\gamma})$$

Ez az egyenlet higított szuszpenziók és emulziók leírására született matematikai megfontolásból, és további négy vagy több paraméteres egyenletek kifejlesztésének úttörője volt [1].

A fenti egyenletek szemléltethetők „Hook-féle rugó” és „Newton-féle dugattyú” elemek különböző soros vagy párhuzamos kapcsolásával. A Kelvin- (7/a ábra) és Maxwell-modell (7/b ábra) tehát egy párhuzamosan és sorban kapcsolt elasztikus illetve viszkózus feszültséget reprezentáló elemmel, a következőképpen néz ki:



7. ábra: „Hook-féle rugó” és „Newton-féle dugattyú” párhuzamos és soros kapcsolásban

Ahol σ_E és σ_V az elasztikus illetve viszkózus elem deformációs feszültsége, γ'_E és γ'_V pedig az elasztikus illetve viszkózus tagra vonatkozó deformációs sebesség [13, 1]. A bal oldali modellt szokás a viszkoelasztikus szilárd, míg a jobb oldalit a viszkoelasztikus folyadék modellként emlegetni [20].

A fenti leírásokban σ nyíró feszültség számításánál izotróp anyagot feltételeztünk és egydimenziós esetként kezeltük a problémát. Folyásnál azonban az anyag mikroszerkezete megváltozik és anizotróppá válik. σ tehát nem skaláris mennyiség, hanem tenzoriális és ebben az esetben nem tekinthetünk el a σ_{xx}, σ_{yy}, σ_{zz} un. normálerő vagy normálfeszültség komponensektől. Izotrópikus külső nyomás esetén:

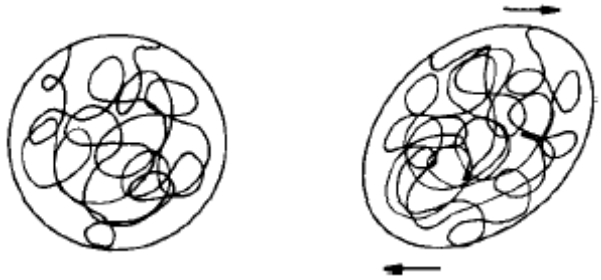
$\sigma_{xx} = \sigma_{yy} = \sigma_{zz} = -p$, ha $\sigma_{xz} = \sigma_{yz} = 0$, akkor a képlet az egy dimenziós példára egyszerűsödik:

$\sigma_{yx} = \eta\gamma'$, reális, viszkoelasztikus anyagok esetén azonban a normálfeszültségek különbségei nem nullát adnak:

$\sigma_{xx} - \sigma_{yy} = N_1$, $\sigma_{yy} - \sigma_{zz} = N_2$,

ahol N_1 és N_2 az ún. első és második normál feszültség különbség [14].

Például folyékony műanyag rendszerekben vagy emulziókban a molekulaláncok burkolója illetve a cseppek alakja gömb alakú, nyírási igénybevétel alatt azonban torzul (8. ábra)

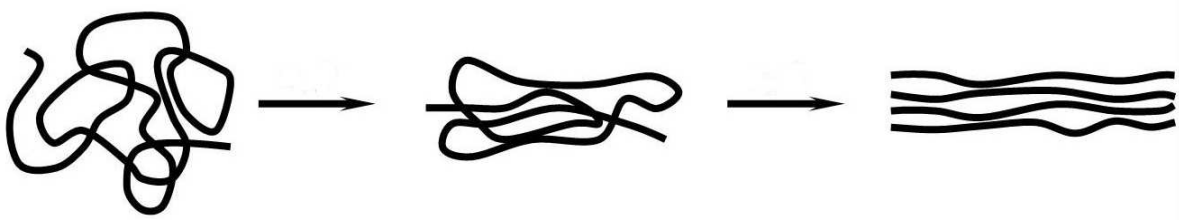


8. ábra: nyugalmi és nyírás utáni molekulaláncok [1]

A folyás irányába mutató ellipszoid deformációval szembe visszarendező erők ebben az irányban nagyobbak, mint a másik két ortogonális irányba, és ezek a különbségek adják a fenti egyenlettel definiált első és második normálfeszültség különbséget. N_2 értékét mérések és matematikai megfontolások is kicsi és/vagy negatív értéknek találták, N_1 vizsgálata viszont érdekes és hasznos gyakorlati eredményekhez vezetett. Az $N_1/2\sigma$ hányadost visszanyerhető nyírásnak hívják és polimereknél (így hidrogél rendszerekben is) gyakran 0,5-nél nagyobb érték [15, 1].

Legismertebb tapasztalati példa N_1 hatására a Weissenberg-hatásként ismert jelenség. Egy rugalmas folyadékot tartalmazó edénybe egy forgó rúd merül. Newtoni folyadékoknál ilyen esetben a folyadék az edény falánál megemelkedik, bizonyos viszkoelasztikus folyadékok esetében viszont jól láthatóan a rúdra kúszik fel az anyag. Ezt a jelenséget σ_{xx} normálfeszültség, mint a rúd körül kialakuló gyűrűfeszültség közvetlen hatásának tekinthetjük. Ha a rudat mindkét végén nyitott csővel helyettesítjük, a folyadék felfelé igyekszik a csőben, egészen addig, amíg a normálerő és a gravitációs erő egyensúlyba nem kerülnek.

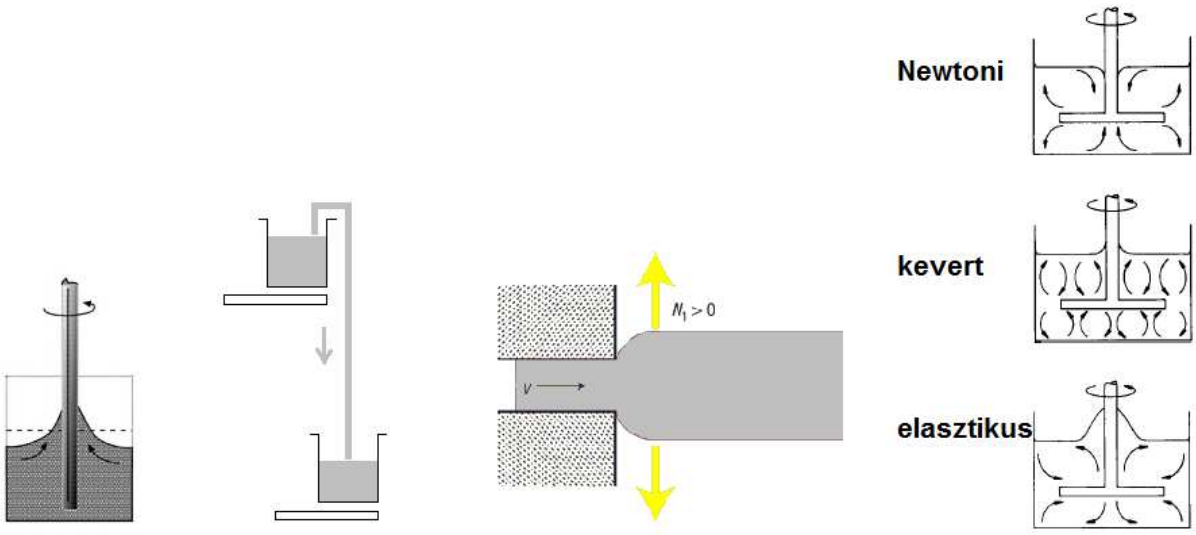
A nyitott szifon hatás is az előbbit példázza. PEO 0,5%-os vizes oldata átönthető egyik pohárból a másikba, anélkül hogy teljesen megdöntenénk a poharat. A 8 milliós móltömegű molekulák ilyen látványos és szokatlan folyását gyöngysor szerű modellel is szokták szemléltetni (9. ábra) [1,14].



9. ábra: makromolekulák orientációja a folyás során [13]

Gyártási és töltési szempontból fontos következmény a kifolyást követő duzzadás vagy Barus-effektus. A csőből sajtolt rugalmas folyadék akár a nyílás háromszorosára is duzzadhat, hosszú láncait akár szálak kötegeit képzelhetjük el [1].

Keverési műveletnél is fontos hatás mutatkozik. Azt, hogy milyen folyásminta típus alakul ki, az elasztikus és tehetetlenségi erők arányai határozzák meg és a Weissenberg- és Reynolds-számok arányával jellemezhető (10. ábra).



10. ábra: Weissenberg-, nyitott szifon hatás, sajtolási duzzadás és N_1 keverésre gyakorolt hatásai

3. Célkitűzés

Munkám során gyógyszerhordozóként is alkalmas vizes polimer rendszerek reológiai tulajdonságainak tanulmányozását tűztem ki célul.

Alapvetően arra a kérdésre kerestem a választ, hogy különböző gyógyszerészeti készítményekben használt hidrogél segédanyagok mellett lévő farmakon, hogyan befolyásolja a polimer térháló viszkózus és elasztikus tulajdonságait.

Ezen túlmenően egy hatóanyagleadás szempontjából is előnyös összetétel reológiai paramétereinek megállapítása volt munkám elsődleges célja.

A hidrogélek reológiai viselkedésének tanulmányozását egy modern, szoftveres vezérlésű Kinexus Pro, rotációs reométeren végeztem. A készülék a viszkozitás mérésén túl, az első és második normál feszültség különbségek mérését is lehetővé teszi. Oszcillációs módban, a komplex elasztikus modulus komponensei is meghatározhatók és ezek alapján a vizsgált rendszer rugalmas tulajdonságai is feltérképezhetőek.

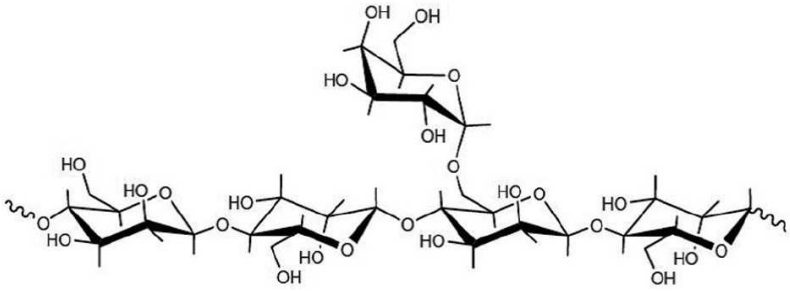
4. Kísérleti anyagok és módszerek

4.1. Gélek formulálási segédanyagai és a hatóanyag

4.1.1. Szentjánoskenyér gumi – LBG (Locust bean gum)

Az elmúlt évtizedek kutatásai szerint bizonyos poliszacharidok előnyösen alkalmazhatók gyógyszerészeti és orvosbiológiai területeken pl. sűrítő, szuszpendáló, emulgeáló és hidratáló szerként.

Az LBG a galaktomannán tipusú szénhidrát polimerek közé tartozik, melyekben a lineáris főláncot béta-(1,4)-glikozidos kötéssel egymáshoz kapcsolódó D-mannopiranozil egységek alkotják és minden 4. vagy 5. molekula a 6-os szénen egy D-galaktopiranozil oldalegységgel szubsztituált, mely alfa-(1,6)-glikozidos kötéssel kapcsolódik (11. ábra).



11. ábra: Az LBG szerkezete [35]

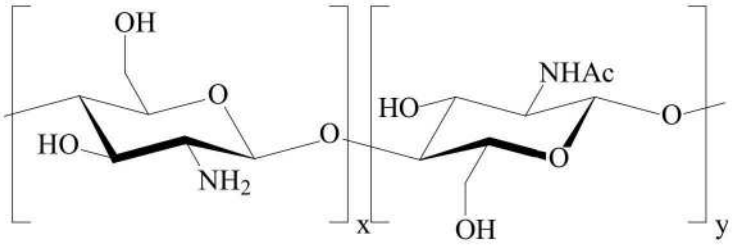
Teljesen csak meleg vízben oldható fel, majd hűlés közben alakul ki az áttetsző barnás gél. Készítésnél ügyelni kell, hogy a víz 80 ^{o}C alatt maradjon, mert magasabb hőmérsékleten depolimerizáció történik és ezzel a viszkozitás is csökken. pH 4 és 9 között gélesíthető.

Szenjános kenyérfa gyümölcsének magjából állítják elő kémiai vagy termomechanikus eljárással. Előbbi során kénsavval elszenesítik a magokat, majd az értékes belső részt elválasztják, mossák és szárítják. A másik eljárásnál kemencében végzik az elszenesítést, így nem áll fenn a kémiai szennyezés veszélye, viszont a termék sötétebb színű.

Az LBG egy biokompatibilis, biodegradábilis segédanyag. Mutagén vagy teratogén hatása nincs, bomlástermékei könnyen kiválasztódnak. Élelmiszeriparban széleskörűen alkalmazzák mint térfogatnövelő, sűrítő anyagot. Gyógyászatban az implantátumoktól az inhalációs szereken át az injekciós készítményekig szinte miden területen előfordul. Karragénnel és Xantan gumival kombinálják gyakran [24,25,26].

4.1.2 Kitozán

A kitozán egy kitin származék, melyet egyes források szerint már a középkor előtt ismertek. Előállítása kitin lúgos főzésével történik, és így részben vagy közel teljesen dezacetilezett származékok nyerhetőek (40-99%) (12. ábra). Kémiailag 2-amino-2-dezoxi-D-glükopiranóz és a béta-[1-4]-2-acetamido-2-dezoxi-D-glükopiranóz kopolimerje.



12. ábra: Kitozán polimerlánc részlet, egy dezacetilezett és egy acetamid egységgel [36]

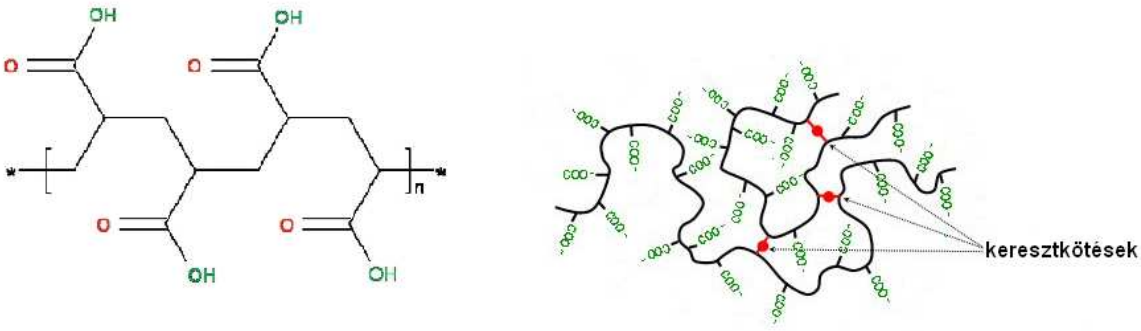
Elterjedését annak köszönheti, hogy nem csak biokompatibilis, de antibakteriális és biodegradábilis tulajdonságú is. Természetes, nagy mennyiségben hozzáférhető anyag. Hátránya hogy a legtöbb szerves oldószerben és vízben is oldhatatlan. Erősen savanyú közegben oldható csupán, primer amino csoportjai révén. Az intermolekuláris hidrogénkötéseknek köszönhetően könnyen képez filmet. Fizikai tulajdonságait nagyban befolyásolja a molekulatömege és a dezacetilezettség mértéke.

Kezdetben zsírmegkötő képessége folytán víztisztításra használták. A 90-es évek után került orvosi szempontból sok kutatócsoport látókörébe. Kationos jellege egyedülállóvá teszi a biológiailag lebontható polimerek közöt.

Gombaölő és antioxidáns tulajdonságai miatt az élelmiszeripar is használja. Az orvosbiológia implantátumok és hatóanyag leadó nanorészecskék formulálására is használja. Táplálék kiegészítőként is ismert [27,28]

4.1.3. Carbopol készítmények

A Carbomer néven is ismert anyagok poli-akrilsav láncok, poli alkenil éterekkel és/vagy divinil glikolal térhálósított polimerjei (13 ábra). 1957-ben szintetizáltak először ilyen makromolekulát, és még abban az évben szabadalom alá is vették.



13. ábra: poli-akril sav homopilmer lánca és a térhálósítás után kialakult struktúra anionos szerkezete [35, 23]

A vízfelvétel, duzzadás és gélesedés folyamata a hidrogélekre jellemző módon megy végbe, melyet az erre vonatkozó korábbi fejezetben tárgyaltam.

A gél képződéshez legkedvezőbb pH tartomány ~7 körül van, ez egyben azt is jelenti, hogy itt a legviszkózusabb a rendszer és itt a legtöbb a másodlagosan beépült vízmolekula, mely az elasztikus tulajdonságokért felelős, de 6-9 között jól használható. Ezen értékek alatt vagy fölött az egységes gélszerkezet nem tud kialakulni. 0,2-2%-os arányban alkalmazzák leggyakrabban.

A 17 forgalomban lévő különböző Carbopol készítmény (és az egyéb gyártóktól való nem teljesen analóg termékek) molekulatömegükben és leginkább a keresztkötések kopolimerjeinek mennyiségében és minőségében térnek el egymástól. A szintézis során különféle oldószereket használnak, különböző fizikai körülmények mellett.

Carbopol polimer	Alkalmazási javallatok	Polimerizációhoz használt oldószer	Polimer típusa	Keresztkötés sürüsége	Gél viszkozitás
971P NF	orális/lokális	etil-acetát	homopolimer	alacsony	alacsony
974P NF	orális/lokális	etil-acetát	homopolimer	közepes	közepes/magas
980 NF	lokális	koszolvens	homopolimer	magas	nagyon magas
5984 EP	lokális	koszolvens	homopolimer	közepes	közepes/magas
EDT 2020 NF	lokális	koszolvens	interpolimer	közepes	közepes/magas
Ultrez 10 NF	lokális	koszolvens	interpolimer	magas	nagyon magas

3. táblázat: néhány Carbopol termék és általános jellemzője

A vizsgált végső összetételben használt 71G NF kémiailag megegyezik a táblázatban feltüntetett 971 P NF típussal, annak egy granulált formája. Jó kifolyási tulajdonságai miatt direkt préseléses tablettázásra is alkalmas.

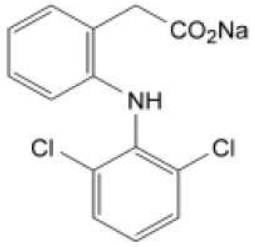
A Carbopol 934P-t benzolban allil szacharózzal polimerizálják, a 971P-, 974P típusoknál allil pentaerithritollt használnak etil-acetátban. A carbopol 971P-nél kisebb mennyiségben alkalmazzák a térhálósító szert, így a hasonló gyártás ellenére egy granuláltabb forma jön létre.

A gyógyszeripar számos helyen használja ezeket a polimereket. Bioadhezív tulajdonságuk miatt alkalmazzák bukkális-, szemészeti-, bél-, nazális-, vaginális- és rektális készítményekben egyaránt. Nyújtott vagy szabályozott hatóanyag leadású tabletták formulálására is kifejezetten előnyös. Kedvező folyási tulajdonságaik okán krémek, kenőcsök, orális vagy transzdermális szuszpenziók hatóanyagainak gyakori hordozója.

Toxikológiai szempontból biztonságosak és csak ritkán és csekély irritációt okozhatnak. A hatóanyagok biológiai aktivitását nem befolyásolják, inkompatibilitást sem mutatnak a legtöbb ható- és segédanyaggal. A bőrön át nem szívódnak fel. [29,30]

4.1.4. Diklofenák-nátrium

A Magyar Gyógyszerkönyvben (Ph Hg VIII.) Diclofenacum Natricum néven tárgyalt hatóanyag, a kémiailag 2-[2-(2,6-diklórfenil) aminofenil]etánsav (IUPAC) nátrium sója [24]. Az alapvegyületet 1965-ben szintetizálták a Ciba-Geigy kutatói, sóját 1973-ban alkalmazták először orális készítményként (14. ábra).



14. ábra: a diklofenák nátrium szerkezeti képlete

A két klór atom torzítja a gyűrű elektron szerkezetét és ez erős hatástani tulajdonságokat okoz. Nem szteroid típusú gyulladáscsökkentőként (NSAID) hármas hatással bír, gyulladás-, fájdalom- és lázcsillapító is egyben. Hatását a prosztaglandin szintézis gátlásával fejti ki, melyet a ciklooxigenáz enzimek gátlásával ér el.

Legfőbb mellékhatásai gasztrointesztinális jellegűek, hosszantartó nagy dózisú (150 mg/nap) alkalmazásnál gyomornyálkahártya-károsodás, vérzések, fekélyek alakulhatnak ki. Terheli a májat és vesebetegség esetén veseelégtelenséget okozhat.

A sónak jobb oldhatósága révén, mind orális mind dermális alkalmazás során jobb a biohasznosulása mint a szabad sav formának. Régóta használják krémek, gélek formájában rheumatoid jellegű megbetegedésekben [31,32].

4.1.5. A felhasznált kísérleti anyagok és eszközök jegyzéke

Anyagok:

Locust Bean Gum from ceratonia siliqua seeds, Sigma-Aldrich Chemie GmbH

Chitosan, Sigma-Aldrich Chemie GmbH

Carbopol 974P NF Lubrizol Advanced Materials BVBA

Carbopol 971P NF Lubrizol Advanced Materials BVBA

Carbopol 71G NF Lubrizol Advanced Materials BVBA

Carbopol 974P NF Lubrizol Advanced Materials BVB

Carbopol EDT 2020 NF Lubrizol Advanced Materials BVBA

Diclofenac Sodium Arch Pharmalabs Limited, India

Acidum Aceticum Glaciale Molar Chemicals Kft.

Acidum Lacticum Hungaropharma Zrt.

Foszforsav Molar Chemicals Kft.

Izopropil-mirisztát, Molar Chemicals Kft.

Eszközök:

Shimadzu UV-1650 PC UV-VIS Spektrofotométer (Shimadzu Co., Kyoto, Japán)

KinexusPro Rheoviscosimeter (Malven Instruments Ltd, MalvernWorcestershire, UK)

Mettler Toledo UMC2 mikroanalitikai mérleg (Mettler Toledo Co., Columbus, USA)

Mettler BD 601 gyorsmérleg (Mettler Toledo Co., Columbus, USA)

Orion Star pH mérő készülék (Thermo Scientific, Singapore)

Franz diffúziós cella (58-001-802, Hanson Research Corporation, USA)

4.2. Kísérleti módszerek

4.2.1 Gélek készítése

A különböző gélképzők analitikai pontossággal mért részleteit, kevertetett ioncserélt vízhez adtam. Homogén gél kialakulásáig kevertettem, majd 24 órán át szobahőmérsékleten hagytam, a teljes duzzadás érdekében (15. ábra).

15. ábra: Carbopol 71G NF és a Carbopol EDT 2020 NF

A dikofenák-nátriumot tartalmazó géleket, 2g/100ml hatóanyag koncentrációjú törzsoldatból készítettem, az analitikai pontossággal kimért segédanyagok hozzáadásával, az előzőekhez hasonlóan (16. ábra).

X.

16. ábra: Carbopol 71G NF és Carbopol EDT 2020 NF

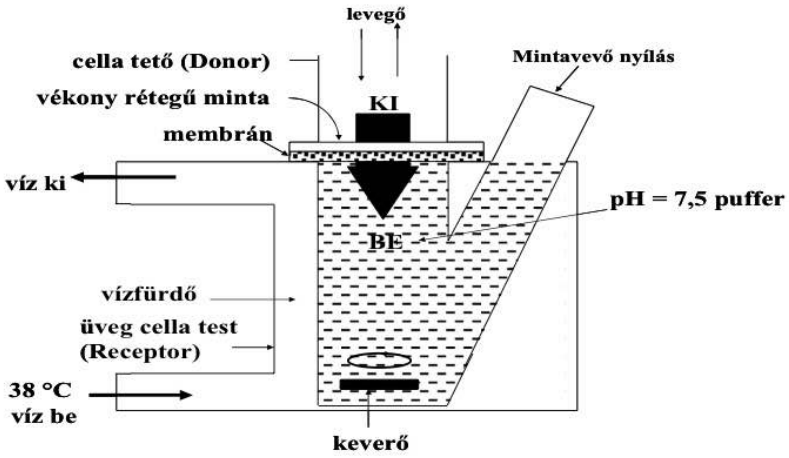
A különböző hatóanyag tartalmú gélek esetében is mindig a törzsoldatból higított részletekkel dolgoztam.

LBG-t is tartalmazó gélek esetében 40±1 °C-os vizet (vagy törzsoldatot) használtam és a gélképzőket egyszere mértem hozzá.

Kitozán-tartalmú gélek esetében is a fentiekkel megegyezően jártam el, a megfelelő savat vagy higított oldatát használva.

4.2.2. A hatóanyag felszabadulás in vitro vizsgálata Franz diffúziós cellával

A gélek és emulgélek hatóanyag leadását Franz diffúziós cellával vizsgáltam (17. ábra). A cellát 32°C-ra temperáltam, ezzel modellezve a bőr hőmérsékletét. A mg pontossággal lemért mintákat a készülék bőrt szimuláló 0,45 μm pórusátmérőjű *cellulóz-acetát* membránjára helyeztem, melyet előtte *izopropil-mirisztát* (Sartorius-féle lipofil) impregnáló folyadékkal impregnáltam. Akceptor közegként a szöveti pH-t szimuláló pH=7,4 puffer oldat szolgált, ez érintkezett közvetlen a membrán egyik felével. Végül a termosztáló közeg folyamatos keverése mellett elindítottam a mérést. Az akceptor közegből 0,5 ml mintát vettem a 15; 30; 45; 60; 120. percben és a 24. órában. A kivett mintát mindig az eredeti kioldóközeggel pótoltam. Spektrofotometriás abszorbancia méréssel meghatároztam a mintákban lévő hatóanyag mennyiségét a megfelelő hullámhosszon (λ=278,15 nm). A kvantitatív méréshez 4 illetve 40-szeresére higított 3-3 párhuzamos minta szolgált.



17. ábra: A Franz diffúziós cella sematikus ábrája [ ]

Számoltam a felültegységről időegység alatt felszabadult hatóanyag %-os mennyiségét (D)

$$D = \frac{Q^2 \pi}{t \cdot c_0^2 \cdot 4}$$

ahol D = diffúziós koefficiens (cm^2/perc),

Q = a felületegységről felszabadult %-os hatóanyag mennyiség (%/cm^2),

c_0 = a készítmény kiindulási hatóanyagtartalma (%).

4.2.3. Hatóanyag-mennyiség mérése spektrofotometriásan

A kvantitatív méréshez 4 illetve 40-szeresére higított 3-3 párhuzamos minta szolgált.
A spektrofotométert abszorbancia módban használtam, λ=278 nm-es hullámhosszon.
A Lambert-Beer összefüggés szerint számoltam a mintám hatóanyagát.

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot b$$

ahol ε a moláris abszorpciós koefficiens b a rétegvastagság centiméterben és c a koncentráció mol/literben.

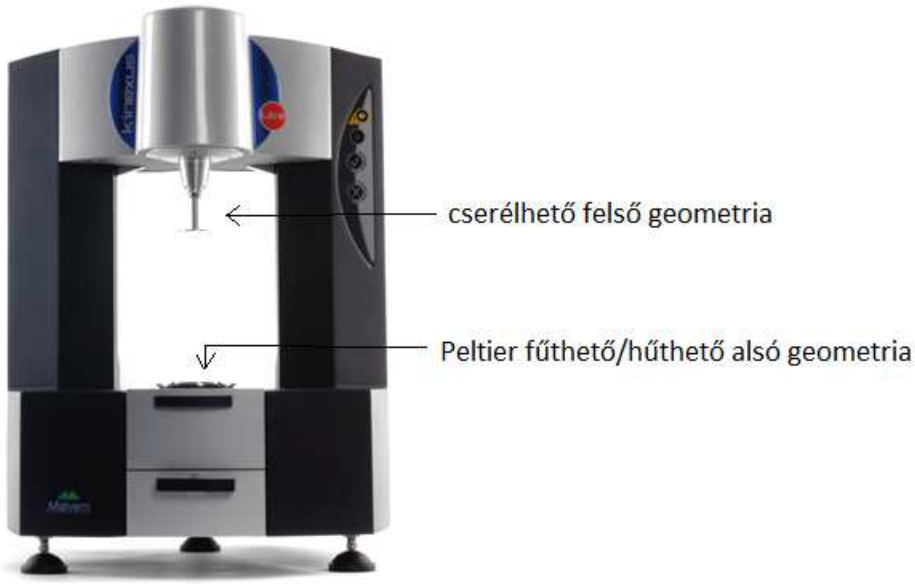
4.2.4. pH mérése oldatokban és gélekben

A pH meghatározásához ORION Star (Thermo Scientific) digitális mérőt és Hamilton kombinált üveg elektródot használtam. A minták 5-10 ml-es részleteit néztem és három párhuzamos mérés átlagát vettem.

4.2.5 Reológiai mérések

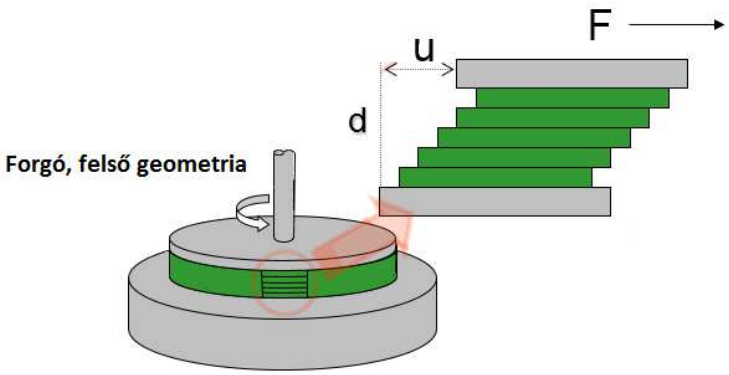
A reológiai mérések leggyakoribb célja, a folyási tulajdonság minél egyszerűbb jellemzése. η viszkozitási koefficiens a vizsgált tartományban független vagy függő változója lehet a nyírási igénybevételnek. Mivel a legtöbb anyag csak korlátozottan közelíthető a Newtoni modellel, η mellett megszokták adni a sebesség gradienst is (pl.: 20rpm, 100 s^{-1}). A reometria jelenkori lehetőségei túlmutatnak a viszkozitás meghatározásán. Az ún. normálfeszültség különbségek és a viszkoelasztikus jellemzők meghatározása egyre gyakoribb elvárás, mind a kutató laboratóriumok, mind pedig az ipar számára [1].

A klasszikus készülékek három fő csoportba sorolhatók: forgó elemes, eső súlyos és átfolyásos jellegű készülékek. Az első típusba sorolhatók a ma is népszerű és széles körben alkalmazott Brookfield viszkoziméterek, koncentrikus henger vagy kúp-lap viszkoziméterek. A második és harmadik típusra klasszikus példa a Höppler féle eső golyós illetve az Ostwald-rendszerű kapilláris viszkoziméterek. Utóbbihoz hasonló kapilláris vagy rés viszkoziméterek ma is elterjedtek, nagy nyomás alkalmazásával [19,1].



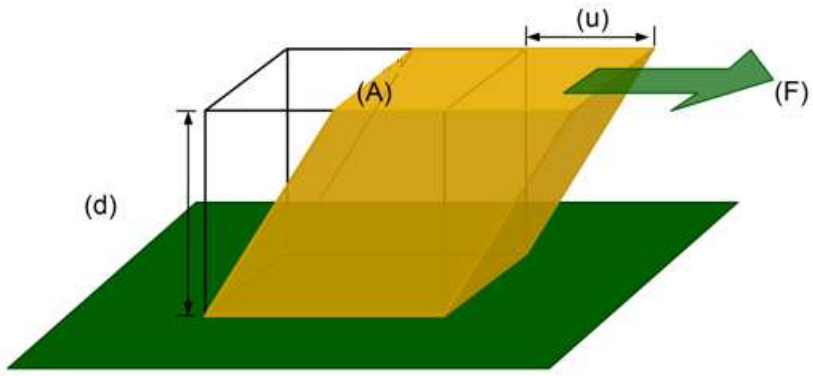
18. ábra: A Malvern Kinexus Pro készülék fotója

A mai legmodernebb műszerek nagy része rotációs elvű (18. ábra). Az egyszerű nyírási folyás létrehozásához, az anyaggal érintkező valamilyen forgó részt használnak (19. ábra). Méréstechnikai szempontból két változat valósítható meg. Az egyik estben a beállított nyírási sebesesség (sebesség gradiens) mellett mérik a forgatáshoz szükséges nyomatékot, vagy egy alkalmazott nyomatéknál mérik a létrejött sebességet. Sok készülék mindkét módban üzemeltethető, így az általam használt Kinexus Pro rheometer is.



19. ábra: rotációs reométer álló és forgó tányérja [20]

Az ébredő nyomatékot a hajtott vagy az álló tányéron is mérhetik. A Brookfield rendszerű és a Malvern gyártmányú gépek is az első típusba tartoznak [20,1]



20. az anyag egy kicsiny belső részének Hook-féle torzulása [21]

Rotációs mérés során az alábbi három változó valamelyike állítható (20. ábra):

$\sigma=F/A$ nyírófeszültség (Pa), ahol F az A felületet nyíró erő,

$\gamma=u/d$ nyírási igénybevétel (vagy deformáció, gyakran %-os értékként), ahol u az elmozdulás, d a réstávolság

$\gamma'=d\gamma/dt$ sebesség gradiens (1/s)

A készülék főbb paraméterei:

- 10 nNm – 200mNm forgatónyomaték
- 0,1 nNm forgatónyomaték érzékenység
- 0,5 mN normál erő érzékenység (50N-ig)
- 1 μHz – 150 Hz oszcillációs frekvencia tartomány
- 0,1 μm legkisebb réstávolság (max. 230mm)
- 40°C -200°C mérési tartomány, 0,01°C pontossággal [30]

A műszer felső és alsó geometriája a vizsgált mintáknak megfelelően cserélhető. A kúpos felső elem nagy nyomású légcsapágy által mozog, melynek legalább konstans 3 Bar nyomásra van szüksége. A réstávolságot szabályozó lift 5 Bar-t igényel. Ehhez nagy teljesítményű kompresszor szükséges.

Az előbbi paraméterek szerint, a legkülönfélébb anyagok szerkezet deformációs vizsgálatai végezhetőek el. A készülék alkalmas a hígan folyó olajok mérésére és a vulkanizált termékek rugalmasságának vizsgálatára is.

Három féle felső geometria állt rendelkezésemre, az alábbi táblázatban láthatóak a méretbeli tulajdonságok, a szükséges mintamennyiségekkel (4. táblázat).

kúpszög	**átmérő / mm**	**mintamennyiség /ml**
1°	50	0,57
4°	40	1,19
0°	20	0,35

4. táblázat: az általam használt három felső geomtria kúpszögeik szerint

Az 40 és 50 mm átmérőjű kúpok széles körben használhatóak, hígan folyó szuszpenziók mérésétől a határozottam elasztikus gélekig. A teljesen sík 20-as geomtria, magasabb nyírási sebességek mellet (γ'=10^4-10^5 s^{-1}) és gumirugalmas anyagok osszcillációs vizsgálatához előnyösebb, de az általam mért gélek viszkoelasztikus méréseire is a nagyobb átmérőjű geometriákkal megyegyező eredményt adtak [1,21]. Méréseim során az 50 mm-es elemet használtam.

Minden geometria azonosító IC-t tartalmaz. Csatlakozásnál a gép azt felismeri és automatikusan állítja be a megfelelő réstávolságot, amit módosítani is lehet, ha a vizsgált anyag úgy kívánja. Ha a résszög minimális, a nyírási sebesség az egész mintára nézve azonosnak tekinthető. Fontos, hogy a réstávolság hibája is minimális legyen, 10mm résváltozás közel 1% hibát jelenthet a nyírási sebességben.

Az általam is használt fontosabb mérési módok a következők:

- Folyásgörbe felvétele adott sebesség gradiens tartományban
- Folyáshatár vizsgálat nyíró erő intervallumának megadásával
- Tixotrópia vizsgálata három konstans sebesség gradiens megadásával
- Oszcillációs viszkoelasztikus vizsgálat adott frekvencián
- Viszkoelasztikus jelleg meghatározása adott frekvenciatartományban

Állandó $\gamma'=\Omega/\phi$ sebesség gradiens mellett, a kúpon mért nyomaték segítségével, a nyírófeszültség értéke és a viszkozitás:

$\sigma=(3C)/2\pi r^3$ $\eta=\sigma/\gamma'$

ahol a sebesség gradiens (γ') a szögsebesség(Ω) és a résszög(ϕ) hányadosaként adódik, illetve *C* a forgatónyomaték, *r* a geometria sugara, η pedig a viszkozitás.

az említett lapos geometriánál, ahol tehát $\phi = 0°$:

$\gamma' = r\Omega / h$

ahol r a geometria sugara, h pedig a réstávolság, melyből σ és η az előzőeknek megfelelően adódik.

A korábban már bevezetett első és második normál feszültség különbség (N_1, N_2) értékei a készülék axiális érzékenységének köszönhetően kimérhetőek. A műszer méri a lapokat egymástól távolító erőt:

$2F = (\pi a^2)N^1$

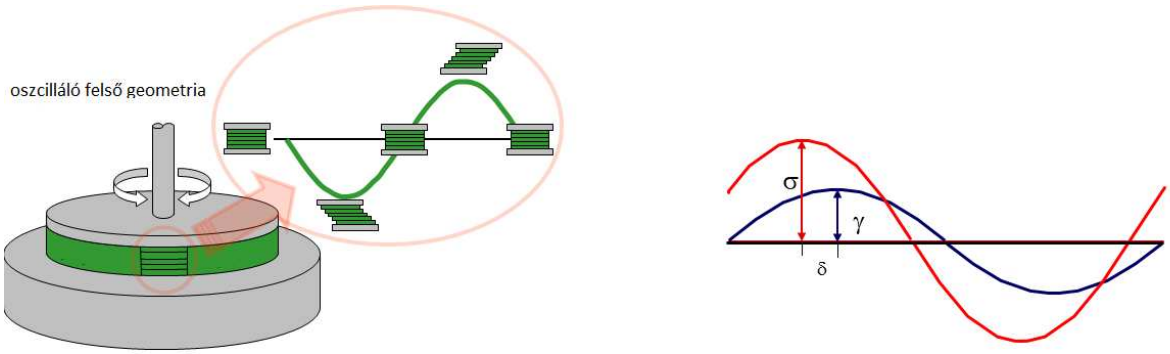
A modern software-vezérelt gép, különböző sorfejtéses és linearizáló eljárások segítségével nagy pontossággal számolja σ, η és N_1 értékeket [1, 22].

Oszcillációs nyírás esetén a G*, ún. komplex nyírási modulus meghatározása a cél (21. ábra).

$$\sigma(t) = G^*(\omega)\gamma(t) \quad \text{(x. egyenlet)}$$

Két összetevője van, melyeket tárolási és veszteségi vagy elasztikus és viszkózus modulusnak is hívunk.

$$G^* = g' + iG'' \quad \text{(x. egyenlet)}$$



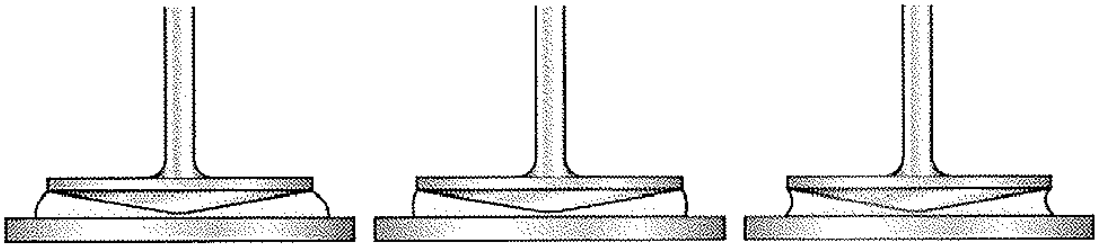
21. ábra: oszcillációs nyírás, a nyírás és a deformáció válaszfüggvénye

Ilyen kis amplitúdójú oszcillációs nyírásnál az adott nyírásra érkező deformáció válaszfüggvényét vesszük fel. Adott frekvencián, adott fázis eltérés mutatkozik, mely az anyag viszkoelasztikus tulajdonságára enged következtetni és G' valamint G'' számolására is alkalmas.

Empirikusan azt mondhatjuk, ha az érkező válasz közel egy fázisban van a nyírással, azaz d = ~0° akkor az anyag, elasztikus, szilárd jellegű. Ha a válasz a maximális 90°-hoz közelít

akkor pedig viszkózus, folyékony. Előbbi esetében G'>G", és fordítva. A gélek tipikus viszkoelasztikus anyagok ~45° körül adódik a fázisszög. [22, 1]

A minta nem megfelelő elhelyezése a tányéron, mérési hibát okozhat (22. ábra).



22. ábra: túltöltött, helyesen töltött és mintával alul töltött geometriák

A legtöbb reométert és viszkozimétert az elhelyezés után ellenőrizni és/vagy kalibrálni szükséges. Abban a szerencsés és megtisztelő lehetőségben volt részem, hogy az általam használt modern készülék üzembe helyezésénél a kalibrációs vizsgálatokat a fejlesztő és szerviz mérnökökkel együtt elvégezhettem. Ehhez megfelelő molekulatömegű, kevéssé illékony Newtoni olaj szolgál, 20-30 °C hőmérséklet tartományban mérve. A viszkoelasztikus standard egy poli-dimetil sziloxán gumi, három különböző frekvencián ismert G' és G" oszcillációs válasszal [1,21].

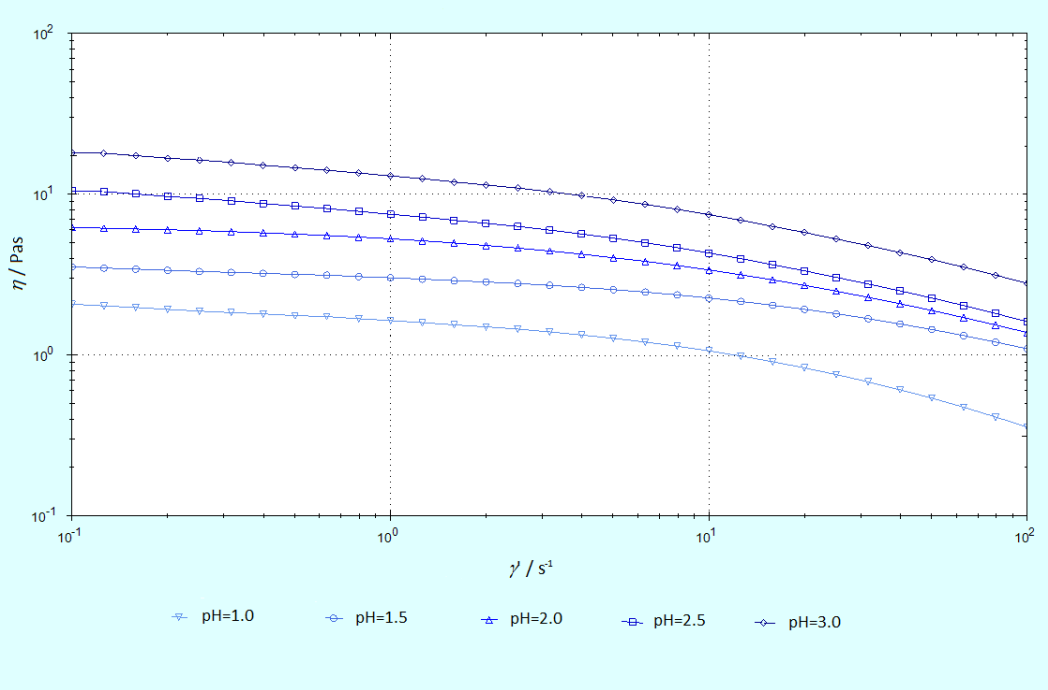
5. Eredmények és értékelésük

5.1. 2% kitozán tartalmú gélek viszkozitásának pH függése

Az 1; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 pH értékű ecetsavval készült gélek pH-ját a gélesedés utáni kész rendszerben is megmértem és úgy találtam, hogy ~1 nagyságrenddel csökkent a hidrogén ion koncentráció, így rendre 2,0; 2,6; 3,0; 3,6; 4,1 a mért érték adódott. A gélben való mérés során nehezen, lassan állt be az ionegyensúly a kombinált üvegelektród mérőelektródja és a gél között, ezért a mért értékek közelítő pontosságúak (a mintákat az oldószer pH-ja szerint jelöltem). pH=3.5 ecetsavban az általam használt közepes molekula tömegű kitozán már nem képez homogén gélt. Magasabb pH értéken az egyéb szerves savak, mint citromsav, tejsav esetében sem kaptam homogén gélt (5. táblázat).

Sav	Sav konc. (M)	Kitozán1% (g)	Sav (g)	pH (csak sav)	pH (kitozánnal)	Duzzadás
Citromsav	0,1	0,30	29,71	2,04	2,55	rendben
Tejsav	0,1	0,2969	29,71	2,40	3,61	rendben
Ecetsav	0,1	0,2957	29,62	2,95	4,09	nehezen, de jó
H_3PO_4	0,1	0,30	29,68	1,59	1,82	zavaros
Sav	**Sav konc. (M)**	**Kitozán2% (g)**	**Sav (g)**	**pH (csak sav)**	**pH (kitozánnal)**	**Duzzadás**

5. táblázat: 1% és 2% kitozán tartalmú gélek különböző 0,1M koncentrációjú savval



23. ábra: Különböző pH-jú ecetsavval készült kitozán gélek viszkozitás

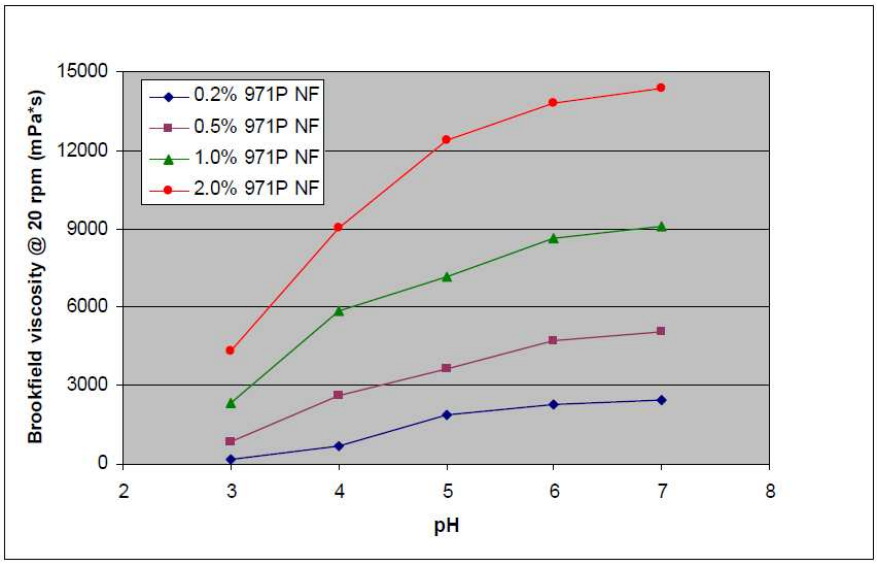
A diklofenák-nátrium 2g/100ml koncentrációjú törzsoldat pH-ja 7,7. A kitozán gélesedére alkalmas kémhatásnál a hatóanyag kicsapódik. Egyéb gél képző anyagok (LBG, Xantán gumi, Karragén, Carbopol) hozzáadásával sem sikerült homogén, hatóanyag vagy segédanyag kicsapódástól mentes rendszert készíteni.

Gyakorlatilag megállapíthatjuk, hogy 2,5-nél nagyobb pH értékű ecetsavval készült gél a felvett viszkozitás görbék alapján, jóval kisebb viszkozitást mutat, mint a legtöbb dermális hordozó (pl.: PEO, Carbopol, PEG). Ilyen rendszer tégelybe vagy tubusba való töltésre nem alkalmas (23. ábra). Megfelelő hatóanyag esetén a savasabb gélek viszont a bőrön való alkalmazhatóság terén jelenthetnek problémát.

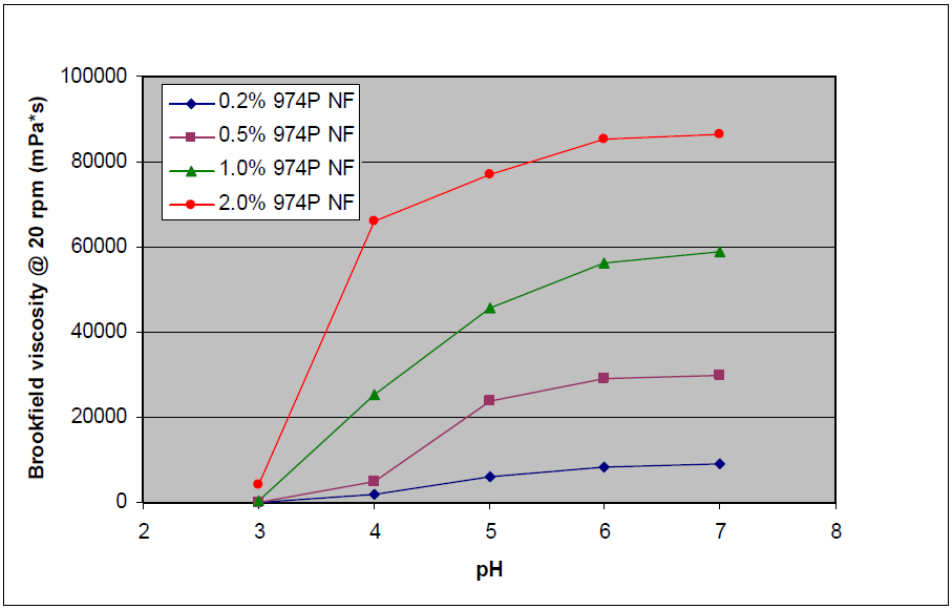
A hatóanyag enyhén lúgos oldódása miatt, olyan polimert kerestem, melynek ideális duzzadási pH tartománya ennek megfelel, ezért a Carbopol márkanéven elérhető szintetikus akrilsav kopolimerekkel végeztem további kísérleteimet.

5.2. Hatóanyag nélküli Carbopol gélek ideális pH tartománya

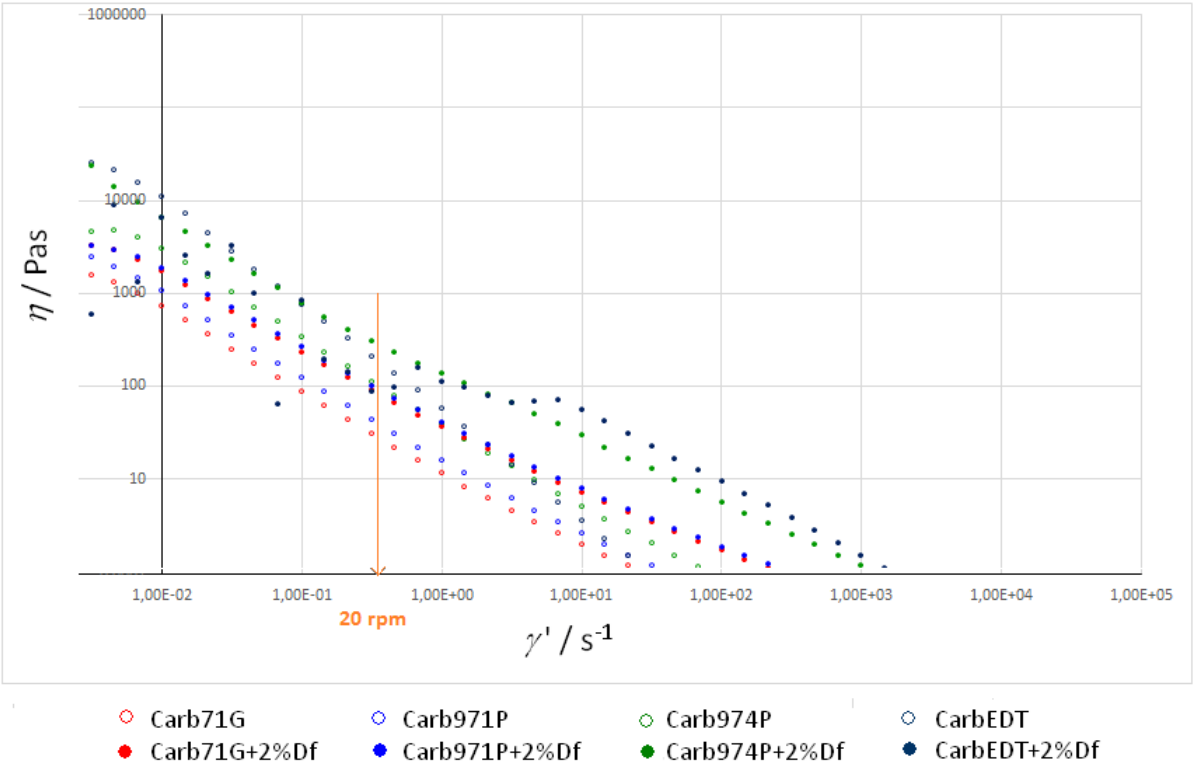
A gyártó által adott technikai leírás szerint az alkalmazhatóság ideális pH tartománya 5-9, és a javasolt koncentráció 0,2-2,0 w/w%. A lekötött savcsoportok számától és elhelyezkedésétől, valamint a kopolimer divinil-glikol vagy polialkenil egységek helyzetétől függően a különböző típusok viszkozitása a pH függvényében más és más (24, 25. ábra) [23].



24. ábra: Carbopol 971P NF viszkozitásának változása a pH-val, 0.333 s^{-1} sebesség gradiens mellett, különböző koncentrációk esetén [23]



25. ábra: Carbopol 971P NF viszkozitásának változása a pH-val, 0.333 s^{-1} sebesség gradiens mellett, különböző koncentrációk esetén [23]



26. ábra: Az általam készített 2%-os hatóanyag nélküli és hatóanyag tartalmú gélek viszkozitás görbéinek részlete

A megfelelő pH beállításához nem volt szükség segédanyag használatára, a 2g / 100ml koncentrációjú diklofenák-nátrium pH-ja ideális volt a gélesedéshez, a duzzadt, kész gélben sem volt tapasztalható hatóanyag kiválás.

A felvett viszkozitási görbékről a gyártó által is vizsgált 20rpm =1/3 s^{-1} sebesség gradiens értéknél leolvastam a viszkozitást (26. ábra). Az alábbi táblázatban hasonlítottam össze a gyári görbéről leolvasott értékekkel (6. táblázat).

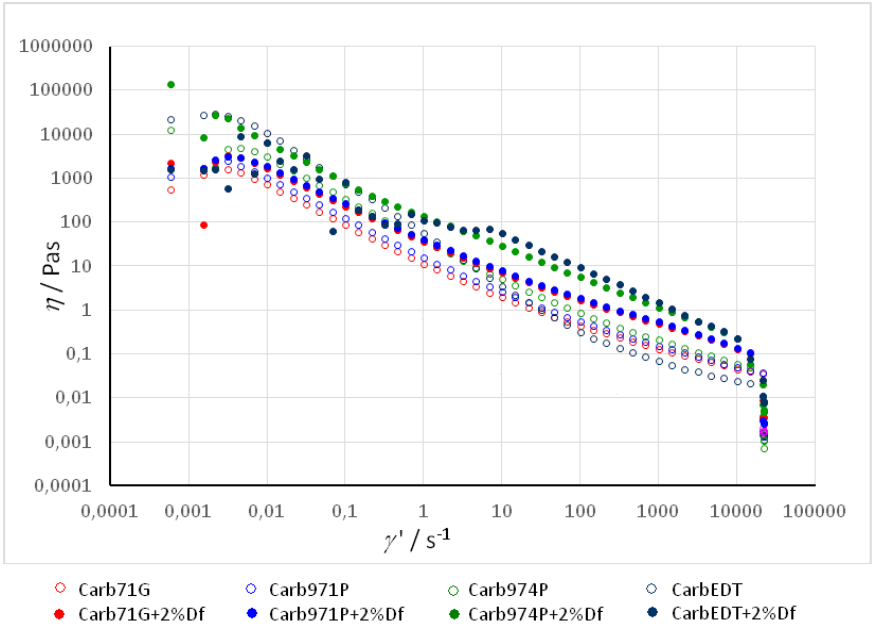
		Carbopol 971P NF	**Carbopol 974P NF**	**Carbopol ETD2020 NF**
gyári adat	η / Pas	14,5	85,5	106,5
mért érték	η / Pas	32,1	91,3	220,2

6. táblázat: gyári és mért viszkozitás értékek, 2%-os Carbopol gélekre, 20rpm mellett

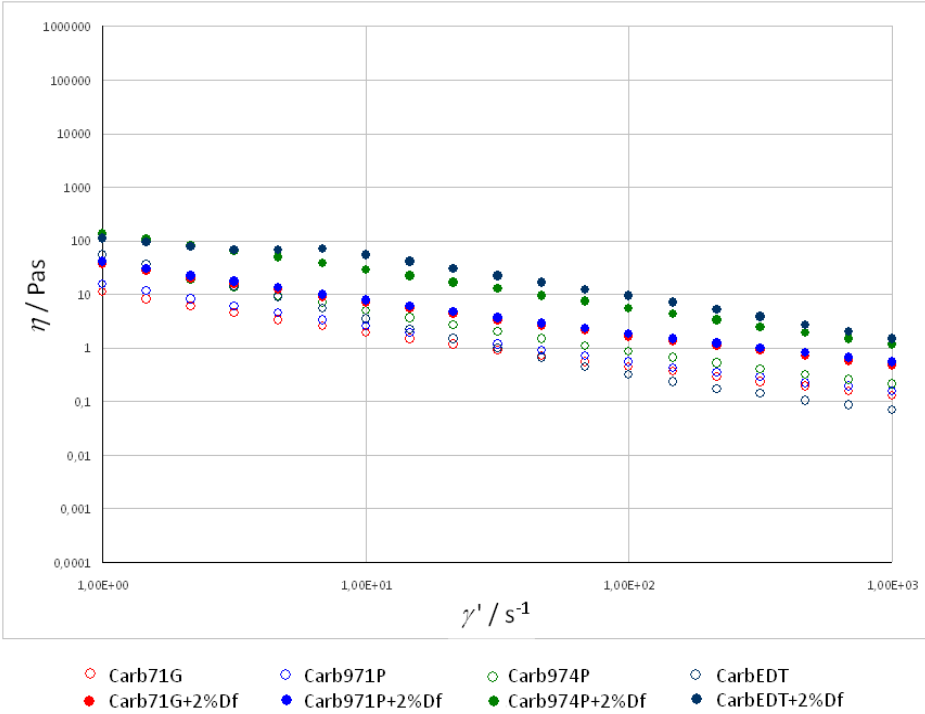
5.3. Hatóanyag nélküli és hatóanyag tartalmú gélek viszkozitás görbéi

A széles tartományban felvett viszkozitás görbék láthatóan nem mutatnak Newtoni folyásnak megfelelő szakaszokat, sem kisebb sem nagyobb sebesség gradiensnél. A legkisebb, ~10^{-3} és kisebb sebesség gradiens értékeknél mutatkozó, szórás a nagy relaxációs időkkel magyarázhatók. E fölött a Carbopol láncok a folyás irányába rendeződve mutatják a gélek gyakori, pszeudoplasztikus viselkedését (27. ábra).

A hatóanyag 2%-os jelenléte mindegyik rendszer viszkozitását növelte és a gélszerkezetbe zárva stabilnak bizonyult, magas nyírási értékeknél sem mutatkozott változás a folyási tulajdonságban (28. ábra).

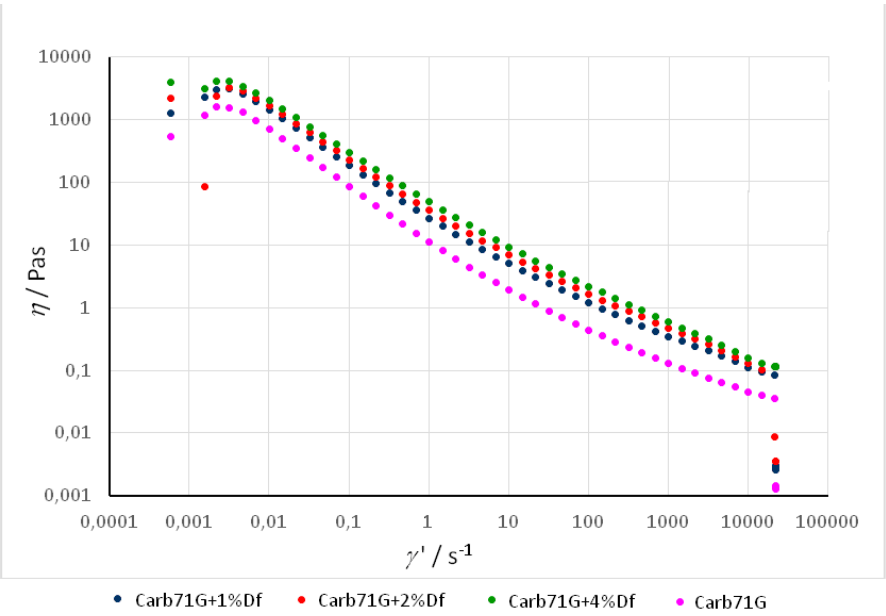


27. ábra: Viszkozitás változása a sebesség gradiens szerint, 2% hatóanyag tartalmú és hatóanyag nélküli Carbopol gélekre



28. ábra: Viszkozitás változása a sebesség gradiens függvényében, 2% hatóanyag tartalmú és hatóanyag nélküli Carbopol gélekre egy gyakori mérési tartományban

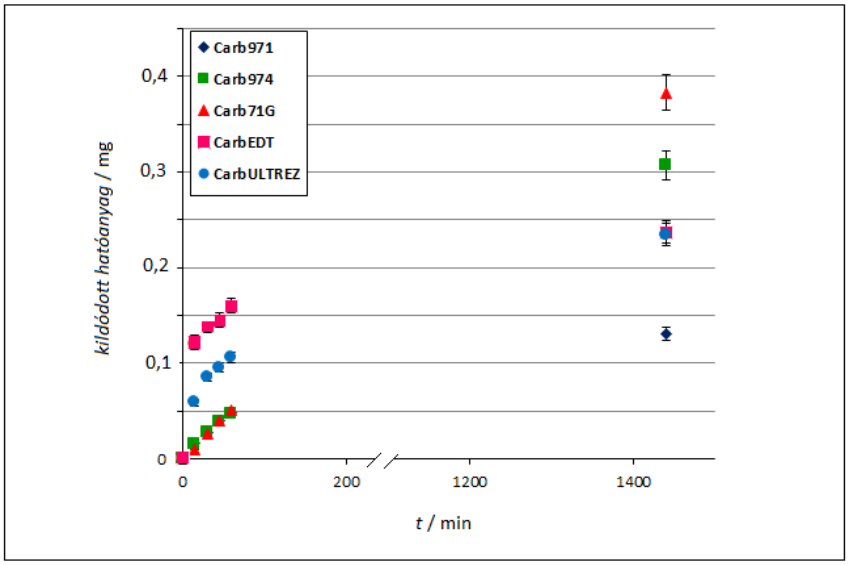
Magasabb diclofenac koncentrációknál, ismét az előbbi tendencia látható, 4%-ig emelve a hatóanyag koncentrációját, a viszkozitás növekszik, inhomogenitás vagy hatóanyag kiválásra utaló változás nem látszik (29. ábra).



29. ábra: Viszkozitás változása a sebesség gradiens függvényében, különböző hatóanyag koncentrációjú Carbopol 71G NF polimer esetén

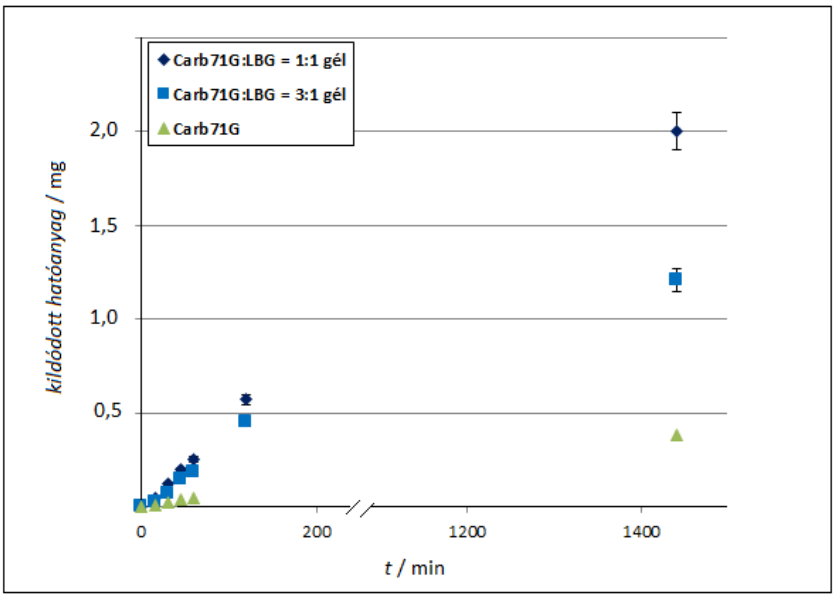
5.4. Kioldódott hatóanyag mennyisége különböző típusú gélek esetén

A Franz diffúziós cellával végzett hatóanyag felszabadulás modellezését 24 órás méréssel végeztük. A 2% gél képzőt és 2% hatóanyagot tartalmazó minták kioldódását ábrázoltam (29. ábra).



30. ábra: Kioldódás 2% hatóanyagot tartalmazó gélekből

A Carbopol nagy konzisztenciájú gélje visszafogta a hatóanyag felszabadulást, ezért LBG-vel kombináltam a legjobb kioldódási profilt mutató segédanyagot, majd ennek is megnéztem a hatóanyag leadását (31. ábra).

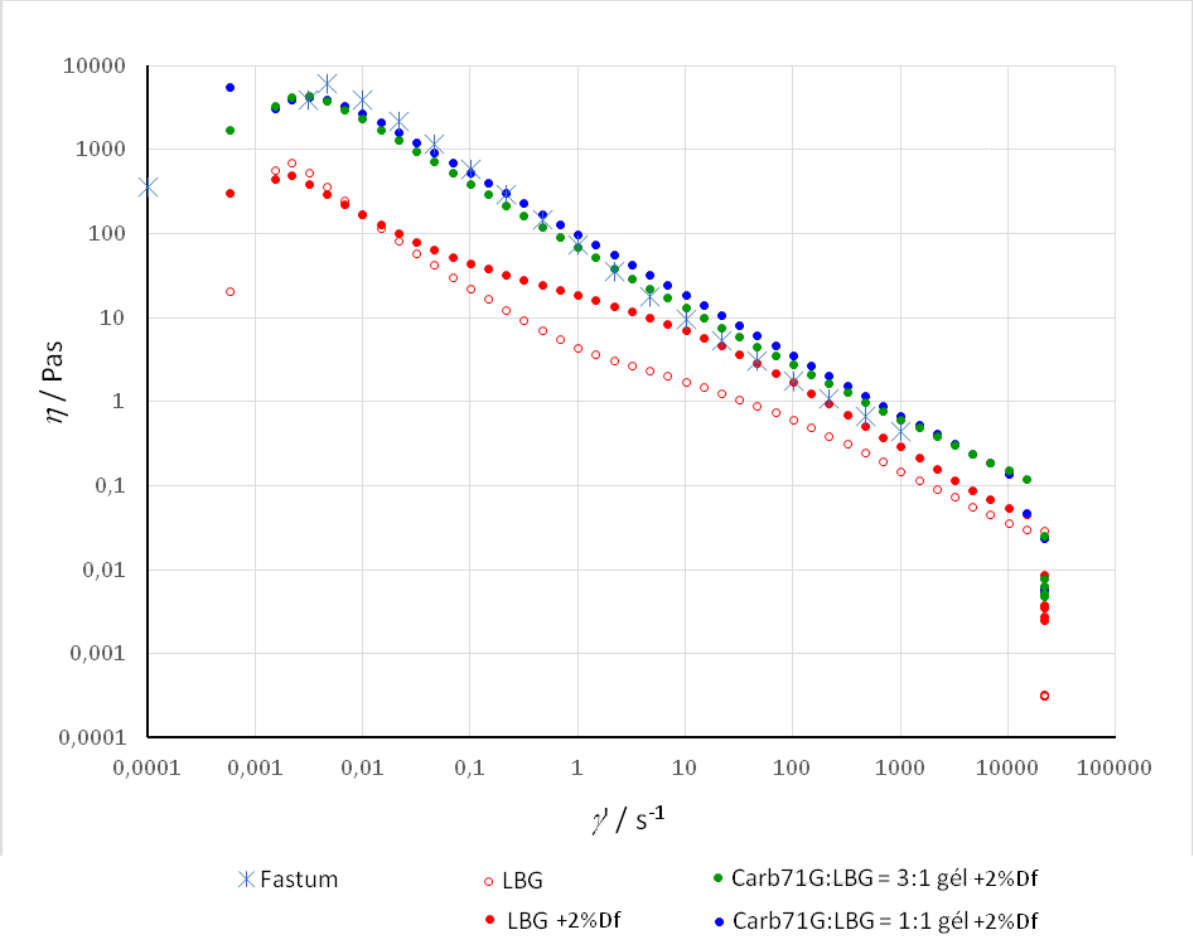


31. ábra: Kioldódás 2% hatóanyagot tartalmazó kombinált gélekből

Az LBG-t és Carbopolt 1:1 arányban tartalmazó gél hatóanyag leadása bizonyult legjobbnak. Láthatóan az LBG csökkentette a carbopol gélmátrix hatóanyag visszatartását. A következőkben azt vizsgáltam milyen hatással volt ez a reológiai sajátságokra, megmaradt-e a Carbopol elasztikus, koherens, alaktartó szerkezete.

5.5. Carbopol71G NF és LBG 1:1 arányú, 2% hatóanyag tartalmú gél elegy reológiai jellemzése

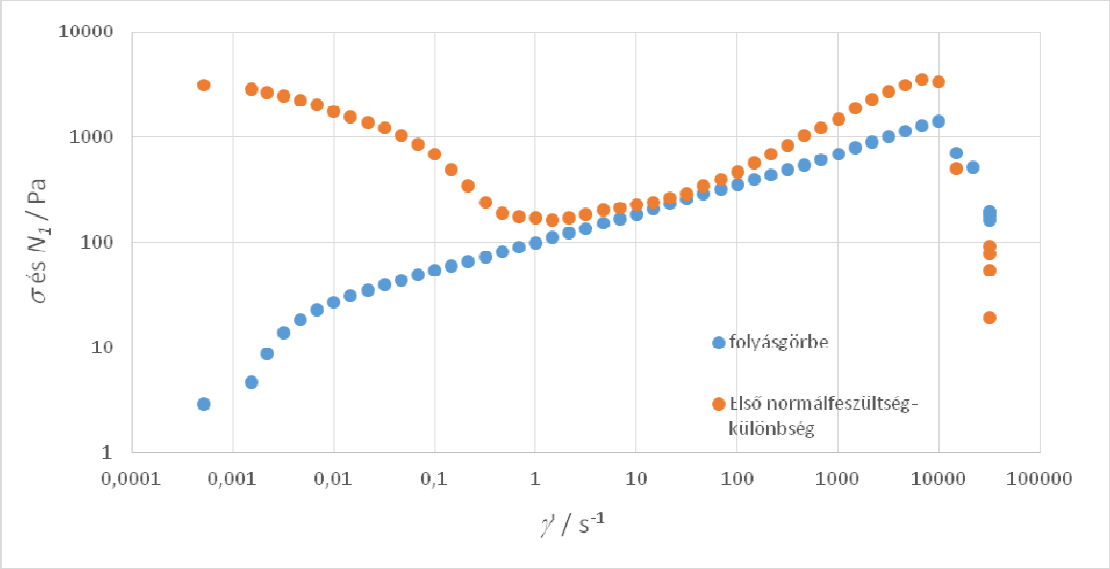
A kedvező hatóanyag felszabadulás alapján választott Carbopol 71G NF polimer különböző LBG arányú keverékét hatóanyag mellett gélesítve, egy gyári készítménnyel való összehasonlításban az alábbi viszkozitásgörbék adódtak (32. ábra).



32. ábra: Viszkozitás változása a sebesség gradiens szerint: 2% hatóanyag tartalmú gélek és egy gyári készítmény esetében

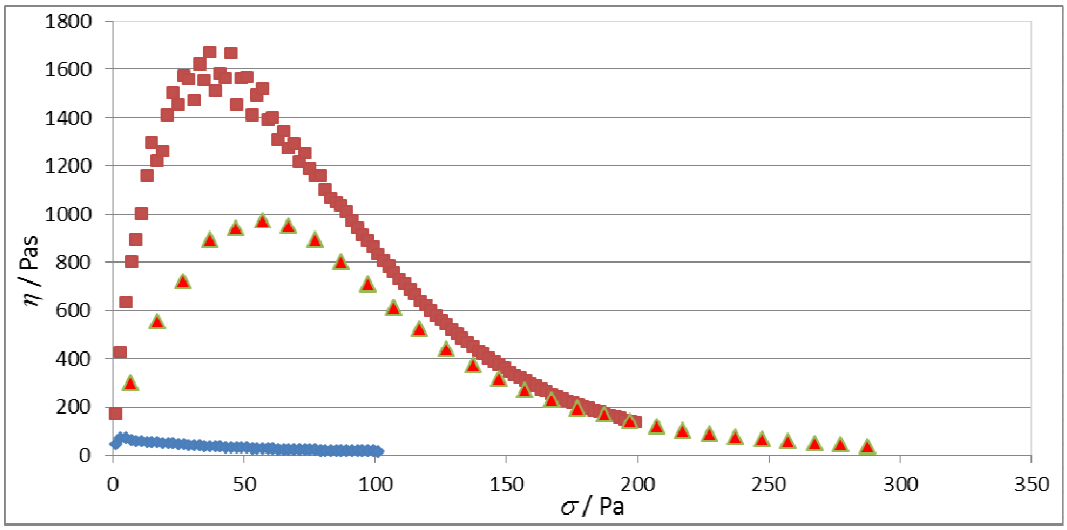
Mindkét kombinált gél viszkozitás görbéje hasonló lefutású a gyári gélhez képest. A következőkben az említett kedvező kioldódási adatok miatt az 1:1 arányú gélkombináció reológiai sajátságait mértem.

Az első normálfeszültség különbség értékek a teljes sebesség gradiens tartományban nagyobbak a mért nyírási feszültségeknél. Ez főleg polimereknél, géleknél jellemző, sajátság. A korábban már említett $N_1/2\sigma$ mindenhol nagyobb 0,5-nél illetve alacsony nyírási tartományban különösen rugalmas tulajdonságot mutat. 1-1000 s^{-1} között hatványmodellel jól közelíthető N_1 értéke (33. ábra.).



33. ábra: Folyásgörbe és az első normálfeszültség-különbség változása a sebesség gradiens függvényében

A folyási határ vizsgálata a legtöbb ipari alkalmazásban nélkülözhetetlen. A nyugalomban lévő rendszer folyékonyságáról kaphatunk információt. Ha alacsony nyírási feszültség mellett a viszkozitás kicsi, függőleges csőben saját súlya alatt folyik az anyag.



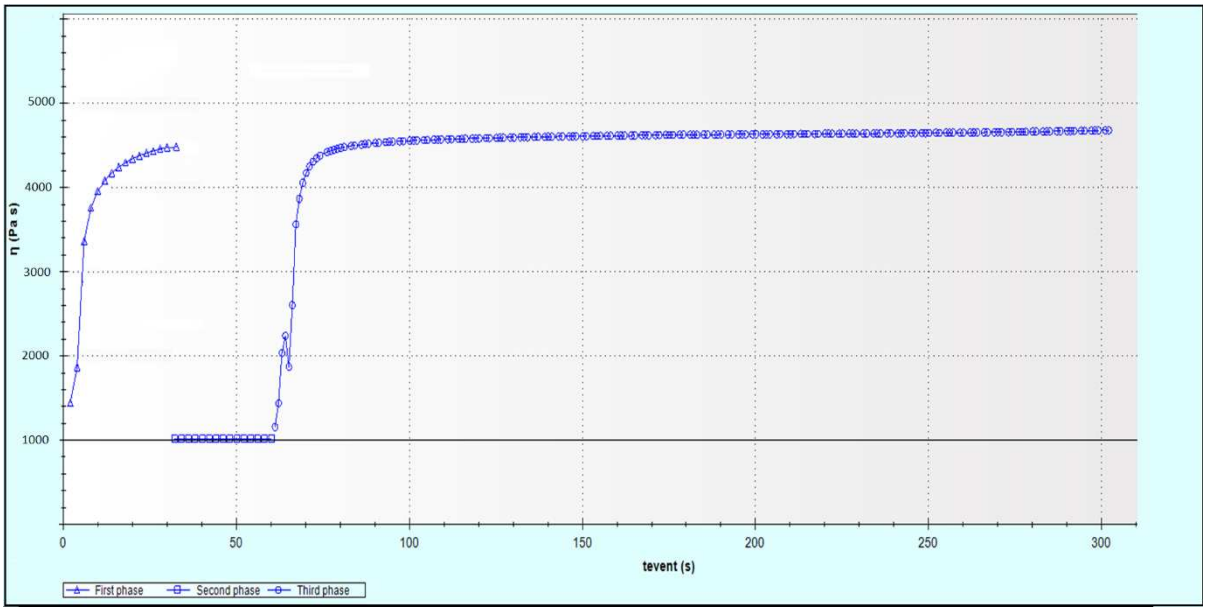
34. ábra: Folyási határ hatóanyag tartalmú és hatóanyag nélküli gélre, ill. segédanyagra

Az eredményekből arra következtethetünk, hogy ha a gél rendszerünk négy százaléknyi összes gél képzője csupán LBG, akkor gyakorlatilag a folyás „magától” megindul (34. ábra). A kombinált gél készítmény hatóanyag nélkül jóval magasabb folyáshatárt mutat, a tároló edényből sem folyik ki saját súlyánál fogva. A folyáshoz szükséges minimális feszültség a hatóanyag tartalmú rendszer esetében mutatkozott a legnagyobbnak, az ehhez tartozó viszkozitás érték viszont alacsonyabb a hatóanyag nélküli összetételnél. Az adatokat az alábbi táblázatban foglaltam össze (7. táblázat).

Minta neve	Folyáshatár (τ_0 / Pa)	Nyírási viszkozitás (η / Pas)
4% LBG	5,09	73,36
Carb:LBG 1:1	35,47	1576
Carb:LBG 1:1 + Df	57,57	973,8

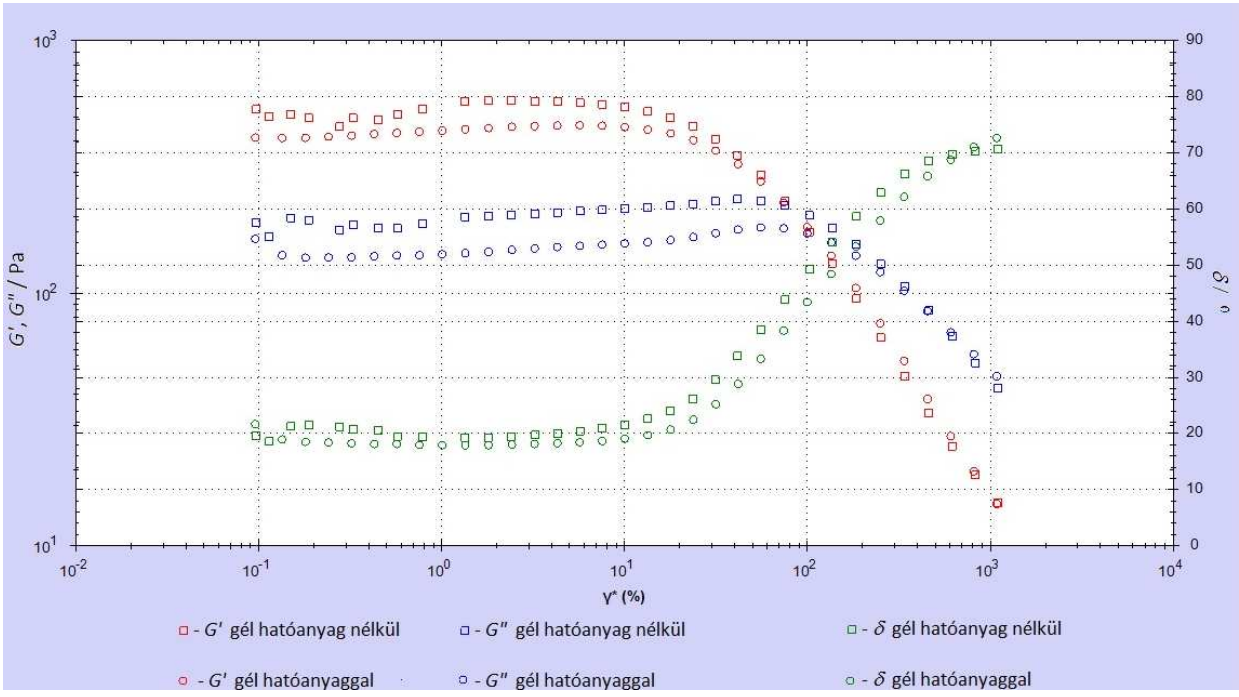
7. táblázat: folyáshatár tisztán LGB tartalmú-, Carbopol:LBG 1:1 és Carbopol:LBG 1:1 hatóanyag tartalmú gélre

A tixotrópia vizsgálata során azt tapasztaltam, hogy 2-3 percen belül visszarendeződött a fizikai gélszerkezet, még nagyobb nyírási sebesség után is. Az első és harmadik szakaszban ugyan azt a sebesség gradienst alkalmazva látszik, hogy a gél viszkozitása visszaáll a kiindulási értékre (35. ábra).



35. ábra: hatóanyag tartalmú gél tixotrópiája, 0,01; 1000 és 0,01 s^{-1} gradiens lépcsőknél

Az elasztikus (G') és viszkózus (G") modulusok (vagy más néven tárolási- és veszteségi modulusok) mérését oszcillációs üzemmódban végeztem. 1Hz oszcillációs frekvencia mellett az alábbi eredményeket kapta. A hosszú lineáris viszkoelasztikus régióban (LVR) G' jóval G" felett fut, tehát a rendszer nagyon elasztikusnak mondható, ahogy a rotációs mérés során kapott nagy értékű első normál feszültség különbség is jósolta (36.ábra).



36. ábra: tárolási- és veszteségi modulusok illetve a fázisszög a nyírási igénybevétel függvényében hatóanyag nélküli és hatóanyag tartalmú gélben

A fenti vizsgálatok alapján elmondhatjuk, hogy az előállított kombinált gél mind a hatóanyag felszabadulása, mind pedig a folyástani szempontokat figyelembe véve előnyös kombináció. A Carbopol gélek önmagukban túlzottan lelassítják, visszafogják a hatóanyag penetrációját, LBG hozzáadásával azonban a hatóanyag felszabadulás a huszonnégy órás mérések alapján megfelelően felgyorsul, ugyanakkor a gél elasztikussága és folyási ellenállása is megmarad. A készítmény tégelyből, tubusból nem folyik ki, csak erőhatásra. Ezt támasztják alá azok a mérések, melyek a megfelelő folyási határ és rugalmas jelleg meglétét igazolják.

Szakdolgozat összefoglaló

Hidrogél alapú gyógyszerhordozó rendszerek reológiai vizsgálata

Tóth Bence Dávid, kémia alapszakos hallgató

ELTE TTK Kémiai Intézet, Fizikai Kémiai Tanszék

Témavezető: **Dr. Antal István** egyetemi docens, intézetigazgató
Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészeti Intézet
Konzulens: **Dr. Csempesz Ferenc** egyetemi docens
ELTE, Fizikai Kémiai Tanszék

Dolgozati témám keretében gyógyszerhordozóként használt, vizes polimer rendszerek reológiai sajátságait vizsgáltam. A gyakran transzdermális készítményként alkalmazott, hatóanyag tartalmú gélek reológiai tulajdonságainak ismerete fontos az ipari és fejlesztési környezet számára egyaránt. A formulálási, töltési és anyagmozgatási műveleteken túl a reológiai viselkedés szoros összefüggésben áll a hatóanyag leadásával és a készítmény stabilitásával is. Ez utóbbi szempontok figyelembe vételével egy transzdermálisan gyakran alkalmazott hatóanyag, a diklofenák nátrium, gélformában történő folyástani vizsgálatait végeztem el. A 2% hatóanyag tartalmú készítmények kioldódását vizsgáltam és a legelőnyösebbnek egy Carbopol - LBG gélkombináció bizonyult

Az előnyösebb kioldódási profil okán ezt az összetételt reológiai szempontból részletesen megvizsgáltam.

A vizsgálatokat Kinexus Pro rotációs reométerrel végeztem ami egy nagy pontosságú, software-es irányítású készülék.

A felvett viszkozitási görbékből megállapítható, hogy mindegyik gél viszkozitása növekedett a hatóanyag hozzáadásával, a vizsgálat teljes sebesség gradiens tartományán nézve. A gyártó technikai adatlapon 20 rpm sebesség gradiens mellett mért viszkozitás értékeit az általam mértekkel összevetettem és jelentős eltérést nem tapasztaltam

Folyási határ mérés eredménye alapján megállapítottam, hogy a kombinált készítmény LBG tartalma a folyási határt csökkentette ugyan, de a Carbopolnak köszönhető alaktartó, koherens gélszerkezet megmaradt.

Tixotrópiai vizsgálat szerint a készítmény enyhén tixotrópnak bizonyult.

Az első normálfeszültség görbe lefutásából igen rugalmas anyagra következtethetünk. Ezt oszcillációs mérésekkel is sikerült alátámasztani.

A kis frekvenciájú oszcillációs nyírás során a hosszú lineáris viszkoelasztikus régió és az igen magas G’ értékek elasztikus gélszerkezetet igazoltak.

A készítmény tégelyből, tubusból nem folyik ki, csak erőhatásra. Ezt támasztják alá azok a mérések, melyek a megfelelő folyási határ és rugalmas jelleg meglétét igazolják.

Summary

Rheological investigation of hydrogel-based drug delivery systems

Mr Bence Dávid Tóth, BSc student in Chemistry

Place of diploma work: Semmelweis University, Department of Pharmaceutics

Place of defence: Physical Chemistry Department

Supervisor(s): **Dr. Antal István Ph.D.** Associate Professor, Head of Department
Semmelweis University, Department of Pharmaceutics
Consulent: **Dr. Csempesz Ferenc Ph.D.** Associate Professor
ELTE, Department of Physical Chemistry

As my diploma work topic, I have investigated the rheological properties of aqueous polymer systems used for drug delivery. Knowledge of the rheological properties of commonly used transdermal preparations and gels containing an active pharmaceutical ingredient is important for both industrial manufacture and development. In addition to the tasks of formulation, packaging, and transport of substances, rheological behavior is closely tied to the delivery of an active ingredient and to the stability of the preparation. Taking this perspective into account, I performed fracture tests on a non-steroidal anti-inflammatory drug substance used topically as diclofenac sodium gel. The the release of the active ingredient was investigated in the case of a gel containing 2% active substance. Regarding the release of the active substance, the most promising formulation seems to be a Carbopol-Locust Bean Gum (LBG) gel combination.

The rheology of this formulation was studied in comparison with the drug dissolution profile.

The tests were carried out using a Kinexus Pro rotational rheoviscometer, a high-accuracy device controlled by software.

The recorded viscosity curves showed that the viscosity of the gel increased with the amount of the active ingredient, along the whole range of shear rate gradients. There was no significant difference in viscosity compared to those reported in the manufacturer's technical data sheets for a 20 rpm shear rate gradient.

Based on the results of yield stress measurements, the LBG content reduced the yield strength of the combined preparation, but a shape-retaining, coherent gel structure was maintained due to the Carbopol.

The preparation was found to be slightly thixotropic, based on a thixotropic test.

A very flexible material was demonstrated by the deceleration of the first normal stress curve, which was also supported by oscillatory measurements.

An elastic gel structure was verified in a low-frequency oscillatory shear by a long linear viscoelastic region and very high values of G'.

The preparation does not flow out of a jar or a tube, but it comes out using a force. This behavior is supported by measurements which demonstrate an appropriate yield point and elastic characteristics.

Irodalomjegyzék

1. H. A. Barnes, J. F. Hutton, K. Walters: *Bevezetés a reológiába* (1998)
2. www.rheology.org (2015.03.22)
3. Tóth A: *Rugalmas alakváltozás* (kibővített óravázlat)
4. Y. Qiu, K. Park: *Environment-sensitive hydrogels for drug delivery*. Advanced Drug Delivery Reviews 53 (2001) 321-339
5. Kalpana R. Kamath and Kinam Park: *Biodegradable hydrogels in drug delivery*. Advanced Drug Delivery Reviews 11 (1993) 59-84
6. Farkas József, Kaposi Olivér, Mihályi László, Mika József, Riedel Miklós: Bevezetés a fizikai kémiai mérésekbe I., egyetemi segédkönyv 1988.
7. www.gcsescience.com (2015.03.29)
8. Allan S. Hoffman: *Hydrogels for biomedical applications*. Advanced Drug Delivery Reviews 54 (2002) 3-12
9. Gary W. Ashley, Jeff Henise, Ralph Reid and Daniel V. Santi: *Hydrogel drug delivery system with predictable and tunable drug release and degradation rates*. PNAS 2013
10. Frank Bierbrauer: Hydrogel Drug Delivery: Diffusion Models. School of Mathematics and Applied Statistics, University of Wollongong NSW, 2522, Australia
11. Bindu Sri. M., Ashok. V and Arkendu chatterjee: *As A Review on Hydrogels as Drug Deliveri int he Pharmaceutical Field*. International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences
12. Prabagar Balakrishnan, Eun-Kyoung Park, Chung-Kil Song, Hyun-Jeong Ko, Tae-Wook Hahn, Ki-Won Song and Hyun-Jong Cho: *Carbopol-Incorporated Thermoreversible Gel for Intranasal Drug Delivery*. Molecules 2015
13. Pukánszky Béla, Móczó János (lektorálta: Zsuga Miklós): *Műanyagok*. Egyetemi tananyag, BME 2011
14. R. Keiller, „Modellin of tehe extesional flow pf the m1 fluid with the oldroyd equation," Journal of Non.Newtonian Fluid Mechanics 42, 49 (1992)

15. Susanne E. Mall-Geissle, Wolfgang Gleissle, Gareth H. McKinley, Hans Buggisch: *The normal stress behaviour of suspensions with viscoelastic matrix fluids*. Rheol Acta (2002) 41: 61-76. Springer-Verlag 2002
16. Dinya Mariann, Antal István: Intelligens *polimerek a gyógyszer-technológiában: I. Általános fogalmak, alkalmazási lehetőségek*. Gyógyszerészet, 2002. 46. évf. 2. sz., p. 67-71.
17. Antal István, Dinya Mariann: *Intelligens polimerek a gyógyszer-technológiában: II. A hatóanyagleadás szabályozására alkalmas mechanizmusok*. Gyógyszerészet, 2002. 46. évf. 3. sz., p. 141-145.
18. O. Wichterle, D. Lim: Hydrophilic gels in biologic use. Nature 185 (1960) 117.
19. Nagy Roland: *Reológia*. Pannon Egyetem 2012
20. John Duffy: *Intro to Rheology*. Malvern Instruments
21. Adrian Hill: Introduction to Rheology. Malvern Instruments
22. Lisbeth Illum: *Chitosan and Its Use as a Pharmaceutical Excipient*. Pharmaceutical Research, Vol. 15., No. 9., 1998.
23. www.lubrizol.com (2015.03.29)
24. Sheweta Barak, Deepak Mudgil. Locust bean gum: *Processing, properties and food applications—A review*. International Journal of Biological Macromolecules. 2014.február, Vol. 66, pp. 78-80.
25. Vipul D. Prajapati, Girish K. Jani,, Naresh G. Moradiya, Narayan P. Randeria, Bhanu J. Nagar: *Locust bean gum: A versatile biopolymer*. Carbohydrate Polymers. 2013.február, Vol. 94, pp. 814-821.
26. María D. Torres, Ramón Moreiraa, Francisco Chenloa, María J. Vázquez: *Water adsorption isotherms of carboxymethyl cellulose, guar, locust bean,tragacanth and xanthan gums*. Carbohydrate Polymers. 2012. március, Vol. 89, 2, pp. 592-598.
27. Steven H. Neau, Michelle Y. Chow, Manzer J. Durrani: *Fabrication and characterization of extruded and spheronized beads containing Carbopol ® 974P, NF resin*. International Journal of Pharmaceutics. 1996. április, Vol. 131, 1, pp. 47-55.
28. Soós Gyöngyvér Dr., Erős István Dr. Transzdermális gyógyszerbevitel. Gyógyszereink. 2002. június, 52, pp. 58-63.

29. Sinkó Bálint, Takácsné Novák Krisztina. A transzdermális gyógyszerfelszívódás vizsgálatának in-vitro módszerei: a bőr-PAMPA (Skin PAMPATM) modell. Acta Pharmaceutica Hungarica. 2012. április, 82, pp. 1-10.

30. www.malvern.com (2015.03.20.)

31. Choon Fu Goh, Majella E. Lane: *Formulation of diclofenac for dermal delivery*. International Journal of Pharmaceutics. 2014. augusztus, Vol. 473, pp. 607-616.

32. Dr. Fenyvesi Zsófia: *Módosított hatóanyag-leadású diklofenák-nátrium tartalmú gyógyszerkészítmények formulálása és vizsgálata*. Doktori értekezés. Semmelweis Egyetem, Budapest : Gyógyszerésztudományok Doktori Iskola, 2010.

33. Dévay Attila, Antal István: *A gyógyszeres terápia biofarmáciai alapjai*. Medicina Könyvkiadó Zrt., 2009.

34. http://hu.wikipedia.org/wiki/Bőr_anatómia (2015.04.10)

35. Az LBG szerkezete. www.jpbsonline.org. (2015.04.10)

36. Magdolna, Bodnár. Biopolimer alapú nanorendszerek előállítása és vizsgálata, Doktori értekezés. Debrecen : Debreceni Egyetem Kolloid- és Környezetkémiai Tanszék, 2008.