

Innovatív in vitro kioldódás vizsgálatok különböző
gyógyszerformákból és VIS képalkotás mesterséges
neurális hálózatokkal

Doktori értekezés

Kakuk Melinda

Semmelweis Egyetem Doktori Iskola

Gyógyszertudományok és Egészségügyi Technológiák Tagozat



Témavezető: Kállai-Szabó Nikolett, Ph.D.

Hivatalos bírálók: Mirzahosseini Arash, Ph.D.
Gieszinger Péter, Ph.D.

Komplex vizsga szakmai bizottság:

Elnök: Zelkó Romána, D.Sc.
Tagok: Kovácsné Bácskay Ildikó, D.Sc.
Klebovich Imre, D.Sc.

Budapest
2025

1 Bevezetés

A gyógyszeriparban a kioldódás vizsgálatokat a várható biohasznosulás előrejelzésére és minőségellenőrzési célokra használják. A gyógyszerformákból történő hatóanyag felszabadulás vizsgálatát a termékfejlesztés során használják, így a kutatásban a gyártási paraméterek hatásainak értékelésére, továbbá a segédanyagok minőségének és mennyiségének vizsgálatára. A minőségellenőrzés már a fejlesztés korai szakaszától jelen van és biztosítja, hogy a termék minden gyártási lépésben megfeleljen az előírt specifikációknak. A minőségellenőrzési vizsgálatok során alkalmazott módszerek egyszerűek, standardizáltak és a gyógyszerhatóságok által jól szabályozottak. Ezek a vizsgálatok segítenek ellenőrizni például a tabletták hatóanyagtartalmát, szétesési idejét és hatóanyagfelszabadulás profilját. Mindezek mellett a tabletták stabilitásvizsgálata is fontos szerepet játszik, amely során meghatározott körülmények között és ideig tárolt gyógyszerek minőségét hasonlítják össze az eredeti minták kioldódás profiljával.

A hatóanyaghordozó rendszerből történő in vivo biológiai hozzáférhetőség pontos előrejelzése az emésztőrendszer hatékony modellezését igényli. A kioldódási módszereknek szimulálni kell a biológiai környezetet, ahol a gyógyszerforma változó pH-jú, ionerősségű és epesavtartalmú közegben mozog. A fiziológiás körülmények laboratóriumi szimulálása különösen fontos például a gyomornedv ellenálló bevonattal ellátott készítmények esetében, ahol a gyomorban való hatóanyagfelszabadulás nem kívánatos. Per os adagolás esetében a gyógyszer bevitelének első állomása a szájüreg és bizonyos esetekben (pl. nyelv alatti tabletták) a hatóanyag felszívódásának is a helye. A szájüreget követően az emésztőrendszer három fő részből áll: a gyomorból, a vékonybélből és a vastagbélből. Az emésztőrendszer változatos körülményei jelentősen befolyásolják a gyógyszerhatóanyag (API) in vivo kioldódási profilját, hiszen különféle anyagokat választ ki, például vizet, enzimeket, felületaktív anyagokat és sósavat, amelyek befolyásolják a kémhatást, a pufferkapacitást és a molaritást. Ezek a tényezők együttesen befolyásolják az API feloldódását és felszívódását. Míg a gyomor és a vékonybél alapvető szerepet játszik a kioldódási folyamatban, a vékonybél jellemzően a felszívódás elsődleges helye. Bár a felszívódás előfordulhat a vastagbélben, de ennek szerepe kevésbé jelentős.

A gasztrointesztinális környezetet számos tényezőn túl (betegségek, egyéb gyógyszerek stb.) jelentősen befolyásolja a táplálék és a folyadékbevitel, ezért az in vitro

biohasznosulási vizsgálatokat szabványos körülmények között végezzük. Az Európai Gyógyszerügynökség (EMA) iránymutatásai szerint a bioekvivalencia (BE) vizsgálatokat általában éhgyomorra végzik, mivel ez tekinthető a legérzékenyebb állapotnak a készítmények közötti különbségek kimutatására. Hasonlóképpen, az Amerikai Egyesült Államok Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hatósága (FDA) éhgyomri vizsgálatokat ír elő a bioekvivalencia bizonyítására. A vizsgálatban résztvevők általában 8 órán át éheznek a hatóanyag hordozó rendszer beadása előtt, majd a teszt- és referenciakészítményeket standard mennyiségű vízzel (240 ml) adják be. Az adagolás után legalább 4 órán keresztül tilos ételt fogyasztani.

Számos hatóanyag esetében azonban a hagyományos felszabadulási profillal rendelkező orális adagolási formák biológiai hozzáférhetősége részben korlátozott a gyors gyomorürülési idő következtében. Sok aktív molekulának előnyös, ha hosszabb ideig a gyomorban marad. A gyomorban való tartózkodási idő meghosszabbítására opcionális megoldást a gasztroretentív gyógyszer szállító rendszerek (GRDDS) biztosítanak. Számos technológiát (például úszó rendszereket, duzzadó rendszereket stb.) fejlesztettek ki a szállítórendszer gyomorban való tartózkodási idejének növelésére.

2 Célkitűzések

Kutatómunkám során elsőként céлом volt a különböző kioldódási közegek hatását elemezni, figyelembe véve azok szerepét a hatóanyag-leadás szempontjából.

Ezt követően a gasztroretentív úszó gyógyszerformák jelentőségére koncentráltam. Az úszóképességet és annak időbeli alakulását koffein tartalmú úszótabletták in vitro kioldódás vizsgálatai során követtem nyomon, lehetőséget teremtve a kioldódás és az úszási tulajdonság közötti összefüggések feltárására. Ehhez a kísérletek során céлом volt különböző préserőkkel végzett közvetlen préselési technikával készíteni azonos összetételű tablettákat, melyek keménységéből következtetni kívántam a készítmények úszási tulajdonságaira, valamint a kioldódás sebességére. Ennek alátámasztása érdekében a tabletták fizikai paramétereiből (alakja, magassága, tömege) sűrűséget számoltam. A munka során ezen tabletták felületéről mikroszkópos felvételek készültek, amely során céлом volt összefüggésbe hozni a felület fényességét a készítmény keménységével. A vizsgálat legfőbb célja volt, hogy ezek alapján a tabletták fizikai paramétereinek meghatározása mellett az úszási viselkedésüket is egy mikroszkópos kép segítségével a készítményről prediktálni lehessen és ezzel együtt a kioldódási profiljának sebességét is. Ez a módszer egy gyors, nondestruktív eljárás, mely az úszótabletták minőségellenőrzésére megfelelő lehet a gyártási folyamat során. Ezt követően a különböző préserővel készült minták osztályozása volt a cél a felületük és az úszási tulajdonságaik alapján VIS képalkotáson alapuló gépi látással, neurális hálózatokra épülő program segítségével.

Munkám során céлом volt továbbá vizsgálni az ICP-OES alkalmazhatóságát in vitro kioldódás vizsgáló készülékkel összekapcsolva. Ezen kísérlet során modell vegyületként ibuprofén-nátrium pelletet kívántam alkalmazni abból a célból, hogy meghatározzam egyidejűleg, in-line a hatóanyag sójának koncentrációját és a hatóanyag kioldódás profilját. A későbbiekben a pelleteket szívószálba töltöttem annak érdekében, hogy szimuláljam a készítmény innovatív bevételi lehetőségét.

3 Módszerek

3.1 Gasztroretentív gyógyszerforma vizsgálata

Tömegegységesség

Az előállított koffein tabletták tömegegységességének meghatározására 20 tabletta tömegét analitikai mérlegen (Kern ABJ-NM/ABS-N, Kern&Sohn GmbH, Németország) mértem meg. A bevonat nélküli tabletták 330 mg-osak. A gyógyszerkönyvi követelmények kimondják, hogy az egyedileg lemerő 20 tablettából legfeljebb 2 tömeg térhet el az átlagos tömegtől több, mint $\pm 5\%$ -kal, de egyetlen tabletta sem térhet el az átlagos tömegtől $\pm 10\%$ -nál nagyobb mértékben.

Törési szilárdság

A tabletták töréssel szembeni ellenállásának (N) meghatározására Erweka törési szilárdság-mérő készüléket (Erweka GmbH, Németország) használtam. A vizsgálat során 10 tablettát vizsgáltam. Eredményként az átlagot és a hozzá tartozó szórásértékeket tüntettem fel.

Kopási vizsgálat

A kopást Erweka friabilitás vizsgálóval határoztam meg (Offenbach/Main, Németország). A teszt során a készülék dobját 25 fordulat/perc sebességgel forgattam 4 percig a 20 tablettával. A tabletták tömegét a vizsgálat előtt és után mértem, pormentes állapotban, analitikai mérlegen (Kern ABJ-NM/ABS-N, Kern&Sohn GmbH, Németország). A gyógyszerkönyvi követelmények szerint a kopási vizsgálat során a maximális tömegveszteség nem haladhatja meg az 1%-ot.

A tabletták magassága és sűrűsége

A tabletta magasságok (vastagság) elemzéséhez a képek digitális mikroszkóppal készültek el (Keyence VHX-970F; Keyence Corp., Osaka, Japán) és ImageJ szoftverrel készült az elemzés (Wayne Rasband, National Institute of Health, USA). Figyelembe véve a tabletta magasságát, formáját (kerek, lapos, átmérő: 10 mm) és tömegét, meghatároztam a tabletták sűrűségét a következő egyenlet szerint (1. egyenlet):

$$\rho = \frac{m(g)}{V(cm^3)} \quad (1)$$

ahol m a tabletta tömege és V a tabletta térfogata.

A tabletták térfogatának számításához (2. egyenlet) pedig felhasználtam a tabletták r sugarát és h magasságát:

$$V = r^2 * \pi * h \quad (2)$$

Hatóanyagtartalom egységessége

A hatóanyagtartalom egységességének meghatározásához 10 adagolási egységből, individuálisan mérést végeztem minden esetben. Mind a 10 esetben 1 tablettát 100 ml-es lombikba helyeztem. A lombikot megtöltöttem oldószerrel (tisztított víz pH 1.2-re állítva cc. HCl-dal) és 60 percig mágneseskeverőn 600 fordulat/perc sebességgel kevertettem. Ezután homogenizáltam és 4000 fordulat/perc sebességgel centrifugáltam 10 percig. A keverést MIX 15 eco 2 core típusú mágneses keverővel, a centrifugálást Thermo Science Megafuge 16 típusú centrifugával végeztem. Végül mindegyik mintát oldószerrel 100 µg/ml koncentrációra hígítottam. Az oldatokat 273 nm-en detektáltam Thermo Scientific UV spektrofotométerrel.

In vitro kioldódás vizsgálat

A kioldódás vizsgálat - 11. Európai Gyógyszerkönyv, 2.9.3. módszer (Szilárd gyógyszerformák kioldódási vizsgálata) - forgó lapátos berendezésben (Varian VK 7025 típusú), offline UV spektrofotométerrel történt (Mettler Toledo UV7, gysz.: B951794301). Az alkalmazott kioldási módszer paraméterei a következők voltak: 900 ml pH 1,2 HCl (gázmentesített tisztított víz pH 1.2-re állítva cc. HCl-dal), 75 rpm, normál edény, 10 µm-es mintavevőszűrő. A levett minta mennyisége 2 ml volt. A közeg hőmérséklete $37,0 \pm 0,5$ °C volt. A mintavételi idő 15, 30, 60, 90, 120, 240, 360 perc volt. A mintákat a mintavételt követően 100 µg/ml koncentrációra hígítottam az alkalmazott közeggel. A detektálást 10 mm-es küvettával mértem 273 nm-en. A kioldódási vizsgálatot három párhuzamos mintán végeztem el.

Úszási tulajdonság vizsgálata gépi látással

A kioldódási vizsgálat során a mintavételi pontokon képek készültek Olympus OM-D E-M10 Mark II fényképezőgéppel (Olympus Corp., Tokió, Japán). A kamera helyzete nem változott a kísérletek során. A képfeldolgozás és elemzés a MATLAB R2020a szoftver segítségével történt (MathWorks, Natick, MA, USA). A képek importálása után a következő lépés a háttér eltávolítása volt, melynek célja a kioldóedényt tartalmazó régiók kijelölése. Ezután a B (kék) komponens használatával binarizálás történt. A képek

előkezelésének további lépésében a keverőt is el kellett távolítani a bináris képről, hogy ne zavarja a felismerésben a programot. Ezt a lépést követte a minta kijelölése egy befoglaló keret segítségével. A mérések előtt a kioldódény hosszát pixelben kellett meghatározni a készített képek felhasználásával. A minta függőleges irányú helyzete az edényben, a különböző mintavételi pontokra vonatkozó értékek alapján százalékban lettek kiszámolva.

Mikroszkópos képfelvételek

Egy Canon 650D DSLR fényképezőgép és egy Canon EFS 18–55 mm-es objektív (Canon Inc., Tokió, Japán) került alkalmazásra. Az objektív fordítógyűrűvel illeszkedett a kameravázhoz. A kamera USB 3.0 interfészen keresztül csatlakozott egy laptopozhoz. A képalkotáshoz a megvilágítást egy három soros fénykibocsátó diódával ellátott kör lámpa (Apokromát KFT, Budapest, Magyarország) adta. Ahhoz, hogy megszűnjön a környezeti fény behatolása, fekete dobozban történt a fényképezés. Ezzel a képfelvételi elrendezéssel a minták mindkét oldalát sikerült megvizsgálni, ami összesen 360 képet eredményezett.

Minták osztályozása VIS képalkotás alapú gépi látás segítségével

A képfeldolgozás és elemzés MATLAB R2020a szoftver segítségével történt (MathWorks, Natick, MA, USA). Wavelet Toolbox 5.4 (MathWorks, Natick, MA, USA) segítségével a többváltozós waveleteken alapuló textúra elemzésére volt lehetőség (Multivariate Wavelet Texture Analysis - MWTA) a mintákon. Az osztályozás egy olyan feladat, amely mintafelismerő neurális hálózatokra támaszkodik, a Deep Learning Toolbox 14.0 (MathWorks, Natick, MA, USA) került alkalmazásra. A K-közép osztályozási módszer a Statistics és a Machine Learning Toolbox 11.7 segítségével valósult meg.

Az importált képeket 50%-kal át kellett méretezni az algoritmus futásidejének optimalizálása érdekében. A képeket az R (piros) komponensen volt szükséges binarizálni, majd a Hough-transzformációval történt a szükséges terület (a minta) azonosítása és a háttér megszüntetése. Ezt követően kontraszt és fényerő emelése volt fontos a felületi struktúráltság kiemelésére.

A további lépések végrehajtásához a képek G (zöld) komponense és kétféle wavelet használata volt szükséges. Az MWTA lehetővé tette a tabletta felületének vizsgálatát és a bemeneti adatkészlet létrehozását a törésszilárdság és az úszási tulajdonság alapján történő osztályozáshoz. Az MWTA használatával az alkalmazott wavelet jelként

dolgozza fel a képet és generálja az eredeti wavelet átskálázott és eltolts változatait. Az egyszintű wavelet dekompozíció két lépésben lett végrehajtva. Kezdetben a Daubechies2 wavelet alkalmazása történt, majd egymást követő második és harmadik dekompozíció volt szükséges Meyer szűrőkkel. Ezután történt a hisztogramok létrehozása a kapott közelítési együtthatókból.

A mintázatfelismerő neurális hálózatok optimalizálása magába foglalta a rejtett rétegben lévő neuronok számának 1-től 10-ig történő változtatását. A kimeneti rétegben a softmax átviteli függvény alkalmazására került sor, a hálózat tanítása során pedig skálázott konjugált gradiens visszaterjesztés tette lehetővé a mérést. A validációs ellenőrzések számának elérése meghatározta a tanítási folyamat végét. Minden egyes különböző préserővel előállított tabletta esetében a minták 70 %-a alkotta a tanító, 15 %-a validáló és 15 %-a a teszt adatkészletet. Az osztályok a mért törésszilárdság vagy úszóképesség alapján mátrixokban lettek meghatározva. A hálózat teljesítményének értékeléséhez keresztentrópia és az átlagos négyzetes hiba gyöke került számolásra, továbbá tévesztéses mátrixok alkalmazása volt jelentős. A minták úszási tulajdonságuk alapján is osztályozhatók voltak a magasságuk felhasználásával. Ehhez a feladathoz egy K-közép alapú módszer használata volt fontos, amely az Euklideszi távolságot alkalmazta a minták három osztályba sorolásához. Ehhez az adatok felosztására került sor, mely során a minták 70 %-a a tanító készlethez, 30 %-a pedig tesztkészlethez lett rendelve.

3.2.2 ICP-OES alkalmazása in vitro kioldódás vizsgálatnál

Az ibuprofén-nátrium tartalmú pelletek kioldódási profilját Hanson Vision Elite 8 készülékben (Hanson Research, USA) lapátos módszerrel vizsgáltam. 900 ml, $37 \pm 0,5$ °C-os tisztított vizet tartalmazó kioldóközegben történt a vizsgálat. A kioldódás további paraméterei: 75 rpm, normál edény. A kioldódott hatóanyag koncentrációjának in situ meghatározására Pion Rainbow száloptikai spektrofotométert (Pion Inc., USA) használtam. Erre a célra egy 5 mm-es szondával felszerelt fejet alkalmaztam. Az abszorbanciát 273 nm-en detektáltam.

A nátrium-koncentráció meghatározásához Spectro Genesis induktív csatolású plazma optikai emissziós spektroszkóp (ICP-OES) (Spectro Anal. Ins. GmbH; Germany) alkalmazása történt.

A szájon át történő bevételezés szimulálására gyógyszeres szívószálat alkalmaztam, melyet 250 ml tisztított vízbe helyeztem és a folyadék a szívószálon keresztül

perisztaltikus pumpával (Locost Kft., Tiszaalpár, Magyarország) 250 ml sósavas közegbe (pH 1,2 (gázmentesített tisztított víz pH 1.2-re állítva cc. HCl-dal); 37 °C) lett áramoltatva 5 percen keresztül 15.6 Hz pumpa áramlási sebességgel a gyomor körülményeit szimulálva. Az ibuprofén és a nátrium koncentrációját ugyanazokkal a műszerekkel és beállításokkal határoztam meg, mint amelyeket az ebben a közegben történő pellet-felszabadulás elemzéséhez használtam.

4 Eredmények

4.1 Az úszótabletták in vitro kioldódási és úszási tulajdonságainak eredményei

4.1.1 A tabletták fizikai tulajdonságai és hatóanyagtartalmának egységessége

A vizsgálathoz a koffeint tartalmazó gasztroretentív úszótablettákat direkt préseléssel (DC – direct compression) állítottam elő hat különböző préserővel (10N=T/I, 30N=T/II, 45N=T/III, 75N=T/IV, 100N=T/V, 170N=T/VI). A tabletták készítmények jelentős mennyiségű direkt préselési segédanyagot (Kollidon®SR és galenIQ™ 721) tartalmaztak. A 11. Európai Gyógyszerkönyv 2.9.5. módszere szerint a tabletták megfeleltek, mivel egyedi tömegük átlaga ($n = 20$) az elfogadható tartományba esett (313,50–346,5 mg). A vártak megfelelően a gyártás során alkalmazott nagyobb préserő növelte a tabletták mechanikai szilárdságát. A keményebb tablettákat magasabb törési érték jellemezte, továbbá a T/1 és T/2 kivételével megfeleltek az Európai Gyógyszerkönyv előírásainak (2.9.7.), mivel 1% alatti friabilitási értékkel rendelkeztek. Az alkalmazott préserő nagysága befolyásolta a tabletták sűrűségét is. Az 1. táblázatban jól látható, hogy a préserő növekedésével a tabletták sűrűsége nőtt.

1. táblázat A tabletták fizikai jellemzői (átl. $\pm$ SD, n.a.: nem elfogadható)

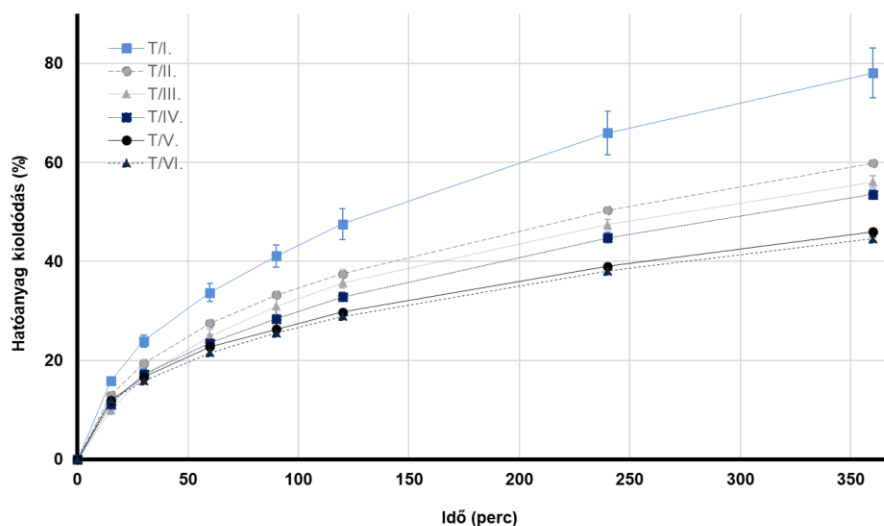
	Egyedi tömeg (mg)	Préserő (N)	Friabilitás (%)	Tabletta magasság (mm)	Sűrűség (g/cm ³)	Hatóanyag-tartalom (%)
T/I.	335,7 $\pm$ 2,2	13,0 $\pm$ 2,5	n,a, (6,53)	4,93	0,87	90,4 $\pm$ 1,3
T/II.	328,8 $\pm$ 1,6	44,5 $\pm$ 3,2	n,a, (1,20)	4,42	0,95	89,2 $\pm$ 1,7
T/III.	333,6 $\pm$ 1,8	65,2 $\pm$ 3,5	0,88	4,25	1,00	89,7 $\pm$ 1,1
T/IV.	333,5 $\pm$ 2,6	95,0 $\pm$ 6,6	0,52	4,02	1,06	89,5 $\pm$ 0,9
T/V.	331,0 $\pm$ 2,0	127,3 $\pm$ 9,7	0,17	3,91	1,08	87,1 $\pm$ 1,7
T/VI.	337,0 $\pm$ 6,6	204,0 $\pm$ 13,6	0,03	3,70	1,16	92,9 $\pm$ 3,9

A legalacsonyabb préserővel előállított tabletták sűrűsége 0,87 g/cm³, míg a legnagyobb préserővel előállított tablettáké 1,16 g/cm³. A tabletták felhajtóerejének határa közel 1 g/cm³. A modelltablettáim közül 3 sarzs (T/IV., T/V, T/VI) ezen a határon felül volt.

A koffeintartalom meghatározásának eredményei alapján elmondható, hogy a hatóanyagtartalom a különböző erővel préselt tabletták közül minden esetben megfelelő volt. A hatóanyagtartalom egységesség az általam mért különböző erősségű tabletták esetén 87,1–92,9%, amit az 1. táblázatban foglaltam össze. Az eredmények azt mutatják, hogy a tablettázási premix homogén volt, minden vizsgálati minta megfelelt a gyógyszerkönyvi előírásoknak a tartalom egységességére vonatkozóan.

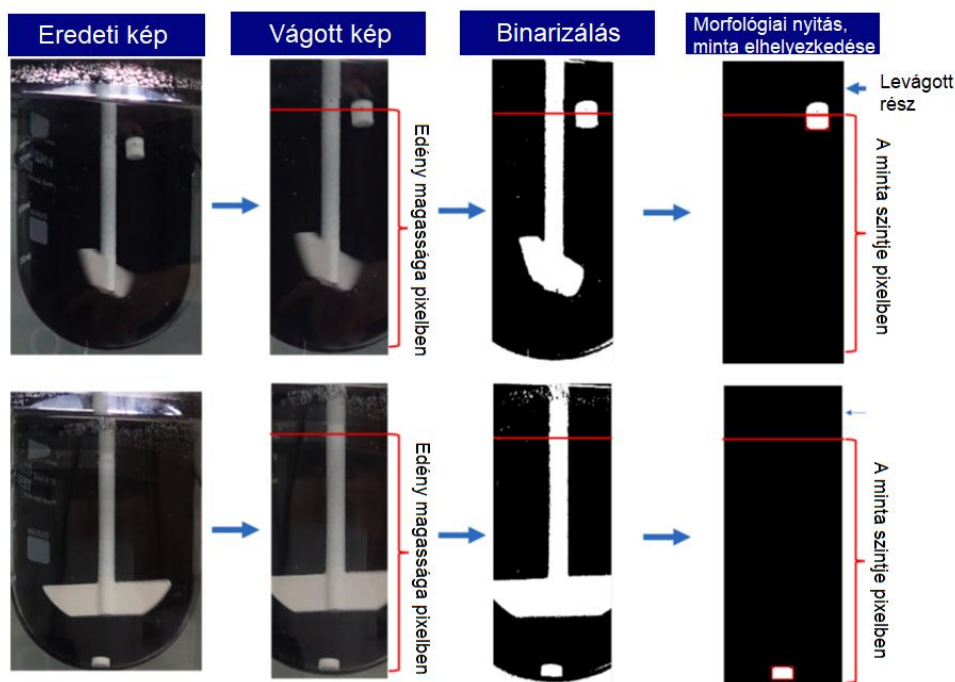
4.1.2 In vitro hatóanyag felszabadulás és a gépi látással történő úszási tulajdonság meghatározása

Mátrixképző segédanyagként a Kollidon®SR-t használtam a gasztroretentív úszótabletták elkészítéséhez, amely körülbelül 450 000 molekulatömegű, 80% vízben oldhatatlan poli(vinil-acetát)-ból és 19% vízoldható poli(vinil-pirrolidon)-ból áll. Az 1. ábra alapján megfigyelhető, hogy a hatóanyag felszabadulása az úszó rendszerből nem minden esetben történt meg 100%-osan. Minél nagyobb volt a préselő, annál lassabb volt a hatóanyag kioldódása. Ezt bizonyítja, hogy a legnagyobb préselő mellett (130N) hat óra alatt kb. 40%-os hatóanyagkioldódás történt, míg a legkisebb préselő mellett (10N) ugyan annyi idő alatt kb. 80%-a kioldódott a hatóanyagnak. A kioldódás során megfigyelhető volt az is, hogy a tabletták a közeggel érintkezve megduzzadtak.



1. ábra Különböző préselővel készült tabletták kioldódási profilja (átlag $\pm$ SD; $n=3$)

Az in vitro gyógyszerkioldódás vizsgálata során az úszó rendszerekből kamerával rögzítettem a tabletták helyzetét. A mérés során rögzített képek segítségével gépi látással határoztam meg a tabletták helyzetét a közegben. A kapott képeket és a gépi látási műveletet a 2. ábra szemlélteti, amely megmutatja a tabletták helyzetét a kioldóközegben. Az úszási tulajdonságra vonatkozó képelemzés eredményeit az 1. táblázat foglalja össze.



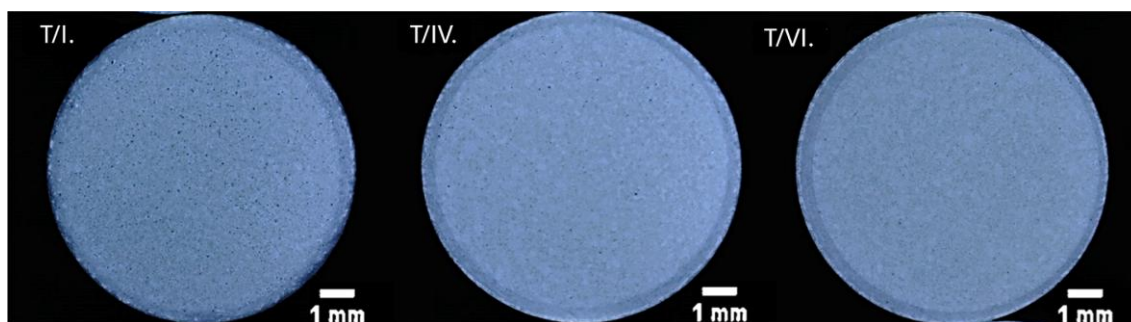
2. ábra Az úszás értékelése gépi látásmóddal

1. táblázat Az elkészített tabletták úszóképessége (%; átlag $\pm$ SD)

Idő (perc)	T/I.	T/II.	T/III.	T/IV.	T/V.	T/VI.
0	98,1 $\pm$ 1,1	95,0 $\pm$ 1,5	94,4 $\pm$ 0,8	8,1 $\pm$ 1,6	9,4 $\pm$ 2,4	5,0 $\pm$ 0,7
15	98,7 $\pm$ 2,0	96,0 $\pm$ 0,7	95,3 $\pm$ 2,8	9,6 $\pm$ 0,8	16,9 $\pm$ 7,1	6,2 $\pm$ 1,7
30	96,8 $\pm$ 1,2	94,9 $\pm$ 0,7	94,6 $\pm$ 1,5	11,2 $\pm$ 1,4	14,5 $\pm$ 4,9	4,8 $\pm$ 0,2
60	98,5 $\pm$ 1,1	95,3 $\pm$ 1,2	93,0 $\pm$ 0,8	17,1 $\pm$ 8,0	67,2 $\pm$ 27,3	5,9 $\pm$ 1,5
120	98,2 $\pm$ 0,8	98,0 $\pm$ 0,7	97,8 $\pm$ 2,5	34,8 $\pm$ 25,7	86,4 $\pm$ 12,8	5,7 $\pm$ 1,0
240	98,1 $\pm$ 0,9	95,7 $\pm$ 0,6	94,9 $\pm$ 1,9	90,4 $\pm$ 5,2	92,1 $\pm$ 4,3	10,5 $\pm$ 0,7
360	99,3 $\pm$ 0,6	98,0 $\pm$ 0,4	96,6 $\pm$ 2,8	96,4 $\pm$ 3,5	97,0 $\pm$ 2,7	10,4 $\pm$ 0,7

Az eredményekből megfigyelhető, hogy az alacsony préserővel készített tabletták (T/I, T/II és T/III) a közeg felső régiójában maradtak gyakorlatilag a vizsgálat teljes időtartama alatt. Ezzel szemben a magasabb préserő alkalmazásával előállított T/IV tabletta mozgást mutatott a hatóanyag kioldódási vizsgálat 1. órájában, úszott az alkalmazott közegben, majd a 6. órában a felszínre került. A T/V a T/IV-hez hasonlóan viselkedett, míg a legnagyobb préserővel előállított T/VI tabletta gyakorlatilag mozdulatlan maradt az edény alján a kioldódási vizsgálat alatt.

A különböző préserővel készített minták felszínéről készült képeket a 3. ábra mutatja. A felületen különböző árnyalatú régiók jelennek meg, amelyek a minták összetételéből adódnak. Ezek a tényezők azonban nem befolyásolták a minták osztályozását. Ezt a koffein, mint hatóanyag és a specifikus segédanyagok okozták. A felületen enyhe textúráltságbeli különbségek jelentek meg 10N, 45 N, 75 N és 170 N között. A 3. ábrán bemutatott minták között enyhe eltérések vannak, amelyek szabad szemmel is láthatóak. A felületi textúra elemzése, lehetővé teszi a minták törésszilárdságának és préserejének kimutatását. Ennek eredményeként a préseltségtől függő paraméterek kiértékelése közvetett módon elvégezhető felületi textúráltságának VIS-képek segítségével történő elemzésével. Következésképpen, a gépi látás alapú megközelítés alkalmazható lehet a minták úszási tulajdonságainak felmérésére. Az említett megfigyelések alapján ezen minták osztályozása azonban kihívást jelenthet.



3. ábra Felvett VIS képek a T/I, T/IV és a T/VI

4.1.3. Osztályozás törésszilárdság és úszóképesség alapján

Képfeldolgozó algoritmusok és neurális hálózatok alkalmazása során osztályozásra kerültek a minták a törési szilárdság és úszási tulajdonságaik alapján. A bemeneti adatkészlet kizárólag a felvett képek alapján került kialakításra. A mért törési szilárdsági értékek felhasználásával meghatározhatóak voltak a célosztályok, így 6 került

alkalmazásra. Az osztályozási feladat bonyolulttá vált a nagy számú csoport jelenléte és a minimális felületi különbségek miatt. A kapott különböző tévesztési mátrixokat a 4. ábra mutatja be.

		Tanító készlet						
Kimeneti osztály	10N	48 19.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	100% 0.0%
	30N	0 0.0%	40 15.9%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	100% 0.0%
	45N	0 0.0%	0 0.0%	46 18.3%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	100% 0.0%
	75N	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	40 15.9%	0 0.0%	0 0.0%	100% 0.0%
	100N	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	40 15.9%	1 0.4%	97.6% 2.4%
	170N	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	37 14.7%	100% 0.0%
		100% 0.0%	100% 0.0%	100% 0.0%	100% 0.0%	100% 0.0%	97.4% 2.6%	99.6% 0.4%
		10N	30N	45N	75N	100N	170N	

Cél osztály

		Validáló készlet						
Kimeneti osztály	10N	3 5.6%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	100% 0.0%
	30N	0 0.0%	13 24.1%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	100% 0.0%
	45N	0 0.0%	0 0.0%	6 11.1%	1 1.9%	0 0.0%	0 0.0%	85.7% 14.3%
	75N	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	11 20.4%	1 1.9%	0 0.0%	91.7% 8.3%
	100N	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	8 14.8%	0 0.0%	100% 0.0%
	170N	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	1 1.9%	0 0.0%	10 18.5%	90.9% 9.1%
		100% 0.0%	100% 0.0%	100% 0.0%	84.6% 15.4%	88.9% 11.1%	100% 0.0%	94.4% 5.6%
		10N	30N	45N	75N	100N	170N	

Cél osztály

Teszt készlet							
Kimeneti osztály	10N	30N	45N	75N	100N	170N	
	9 16.7%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	1 1.9%	0 0.0%	90.0% 10.0%
	0 0.0%	6 11.1%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	100% 0.0%
	0 0.0%	1 1.9%	8 14.8%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	88.9% 11.1%
	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	7 13.0%	1 1.9%	0 0.0%	87.5% 12.5%
	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	9 16.7%	0 0.0%	100% 0.0%
	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	12 22.2%	100% 0.0%
		10N	30N	45N	75N	100N	170N
		Cél osztály					
		100% 0.0%	85.7% 14.3%	100% 0.0%	100% 0.0%	81.8% 18.2%	100% 0.0%
		94.4% 5.6%					

4. ábra A kapott tanító, validáló és tesztelési mátrixok a törésszilárdságon alapuló osztályozásra

A hibás osztályokba sorolt minták százalékos arányát a CE és RMSE értékeket figyelembe véve a képek alapján létrehozott adatkészlet alkalmazható a valószínűségi visszacsatolt neurális hálózat (PRNN - Probabilistic Recurrent Neural Network) betanítására. A rejtett rétegben 15 neuron került kiválasztásra, melynél a CE és az RMSE alacsony értéken érhető el. A tévesztési mátrixok alapján a tanító halmazból csak 1 minta, a validáló és a tesztkészletből 3-3 minta volt a nem megfelelő osztályba sorolva. A fent említett hét minta a teljes adatkészlet nagyjából 2%-át tette ki. A hibás osztályba sorolt minták aránya a tesztkészletben körülbelül 6% volt. Az eredmények azt mutatják, hogy a VIS-alapú gépi látás a mintafelismerő neurális hálózatokkal kombinálva felhasználható ezen minták osztályozására a törésszilárdság alapján.

A gépi látási rendszer képes lehet az előkészített minták úszási képességét osztályozni az említett jósági paraméterek alapján. Az optimalizálási folyamatot követően a PRNN rejtett rétege 13 neuronból állt. A mátrixokban (5. ábra) sikerült megállapítani, hogy a tesztkészletben csak két minta került a nem megfelelő osztályba, ami 0,6%-os hibát eredményezett a teljes adatkészletet tekintve. Tesztkészleten belül a hibás osztályba sorolt minták aránya körülbelül 3%. A VIS alapú gépi látás mintafelismerő neurális

hálózatokkal párosulva ezen eredmények alapján felhasználható ezeknek a mintáknak az úszási tulajdonságaik szempontjából történő osztályozására.

Tanító készlet			
Kimeneti osztály	1	2	3
	124 49.2%	0 0.0%	0 0.0%
	0 0.0%	85 33.7%	0 0.0%
	0 0.0%	0 0.0%	43 17.1%
Cél osztály			
	1	2	3

Validáló készlet			
Kimeneti osztály	1	2	3
	30 55.6%	0 0.0%	0 0.0%
	0 0.0%	14 25.9%	0 0.0%
	0 0.0%	0 0.0%	10 18.5%
Cél osztály			
	1	2	3

		Teszt készlet			
Kimeneti osztály	1	25 46.3%	0 0.0%	0 0.0%	100% 0.0%
	2	1 1.9%	20 37.0%	0 0.0%	95.2% 4.8%
	3	0 0.0%	1 1.9%	7 13.0%	87.5% 12.5%
		96.2% 3.8%	95.2% 4.8%	100% 0.0%	96.3% 3.7%
		Cél osztály			

5. ábra A kapott tanító, validáló és tesztelési mátrixok az úszási tulajdonságon alapuló osztályozásra

A minták magasságából létrehozott bemeneti adatkészleten alapuló osztályozás a K-közép klaszterezés segítségével történt. Ennek alapján négy csoport alakult, amelyek a 10 N (T/I.), 30-45 N (T/II.), 75-100 N (T/III.) és 170 N (T/V.) mintákat foglalják magukban. A magasság, mint változó alkalmazásával lehetővé válik egy olyan modell kidolgozása, amely képes osztályozni a mintákat úszási tulajdonságaik szerint. A bemeneti adathalmazként mért magasságok alapján kapott mátrixokat a 6. ábra mutatja be. A tesztkészlet mintának 100%-a a megfelelő osztályba került, míg a tanítókészlet 98,4%-os értéket ért el.

		Tanító készlet		
Cél osztály	1	63	0	0
	2	0	38	2
	3	0	0	23
		1	2	3
		Prediktált osztály		

		Teszt készlet		
Cél osztály	1	27	0	0
	2	0	20	0
	3	0	0	7
		1	2	3
		Prediktált osztály		

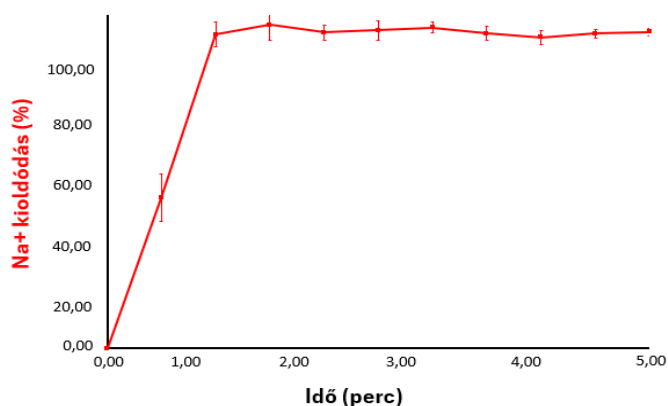
6. ábra A kapott úszási tulajdonságon alapuló tévesztési mátrixok

Az úszási tulajdonságok előrejelzésének pontossága megközelítőleg 100 %-os volt, összehasonlítva a mért magasság és a képalkotásból és képfeldolgozásból származó adatokon alapuló modellek eredményeivel. Végző soron mindkét megközelítés felhasználható az adott érték előrejelzésére.

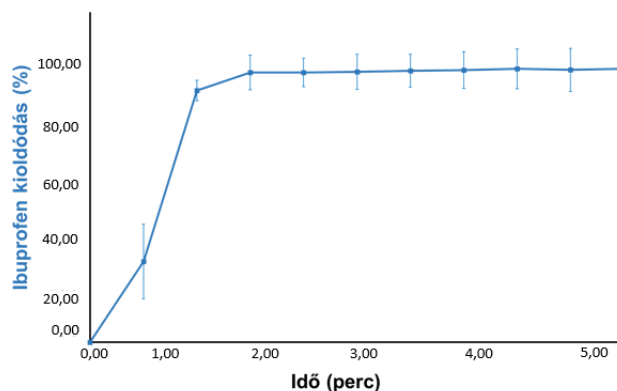
4.2 ICP-OES alkalmazhatóságának eredménye in vitro gyógyszerfelszabadulási vizsgálatban

Modellkészítményként ibuprofén-nátrium tartalmú pelleteket alkalmaztam. Mivel filmbevonattal nem rendelkeztek a pelletek, ezért a hatóanyagfelszabadulási profilt a hatóanyag oldhatósága határozta meg. Az eredmények azt mutatják, hogy a két mérési módszer (egy kioldókészülék (Apparátus II) és egy nagy érzékenységű ICP-OES berendezés) hasonló eredményt adott azonnali felszabadulású pelletek esetében (7. és 8.

ábra). Jól látható, hogy mindkét módszer mellett 1 perc elteltével több, mint 85%-os kioldódás tapasztalható.



7. ábra Na^+ kioldódás mérése ICP-OES készülékkel.



8. ábra Ibuprofén kioldódás mérése optikai szálak UV spektroszkópiával.

A szájon át történő gyógyszerbevitel szimulálására egy innovatív gyógyszerformát alkalmaztam. Annak érdekében, hogy a kísérleti körülmények minél jobban közelítsenek az emberi szervezetben zajló folyamatokhoz, perisztaltikus pumpa segítségével szimuláltam a gyomorban tapasztalható folyamatos folyadékáramlást, valamint a pH-viszonyok időbeli változását. A vizsgálathoz a pelleteteket gyógyszeres szívószálba töltöttem, és ezen keresztül áramoltattam a megfelelő közeget. Közel hasonló eredményeket értem el, mint a korábbi mérés során, mely alapján megállapítható, hogy az ICP-OES in situ mintaszondázás és az In-Situ Fiber Optic UV System egyformán hatékony módszer az innovatív gyógyszerformák, például gyógyszeres szívószálakból történő sókoncentráció és hatóanyagtartalom meghatározására.

5 Következtetések

1. Sikertelt összefüggést találok az általam különböző préserével készített koffein tartalmú tabletták kioldódási és úszási tulajdonságai között [II].
2. Az elkészült gasztroretentív úszótabletták keménységéből következtetni tudtam a készítmények úszási tulajdonságaira és a hatóanyag kioldódás sebességére [II].
3. A tabletták felületének fényességéből mikroszkópos felvételek alapján lehetőségem nyílt megállapítani a tabletták keménységét [II].
4. Mindezek alapján bebizonyítottam, hogy egy korszerű képelemző technikával a tabletták fizikai tulajdonságai mellett lehetőség nyílik az úszótabletták viselkedésének pontos nyomonkövetésére, valamint az úszási tulajdonság előrejelzésére [II].
5. Sikeresen osztályozásra kerültek a tabletták törési szilárdságuk, úszási tulajdonságaik és magasságuk alapján képfeldolgozó algoritmusok és neurális hálózatok segítségével [II].
6. Az ICP-OES készüléket sikertelt egyijelűleg alkalmaznom in vitro kioldódás vizsgálat mellett azonnali felszabadulású ibuprofén-nátrium pelletmagok esetében. A két módszer közötti eredmények hasonlósága megerősíti, hogy az ICP-OES alkalmazásával sikeresen meghatározható a sókoncentráció, így ez a technika jól alkalmazható módszert jelenthet a hagyományos kioldódási vizsgálati módszerek mellett [III].
7. Sikertelt szimulálnom egy innovatív gyógyszerbeviteli lehetőséget szívószálba töltött ibuprofén-nátrium pelletekkel, mellyel bebizonyítottam, hogy az ICP-OES alkalmazásával és az optikai szál UV spektroszkópiával egyaránt hatékonyan végezhetők vizsgálatok innovatív gyógyszerforma esetében is [III].

6 Saját publikációk jegyzete

6.1 Disszertáció alapját képező közlemények

- [I] **Kakuk M**, Farkas D, Antal I, Kállai-Szabó N. Advances in drug release investigations Trends and developments for dissolution test. *Acta Pharmaceutica Hungarica*. 2020 Jul 17; 90:155-169. DOI: 10.33892/aph.2020.90.155-169.
- [II] **Kakuk M**, Mészáros LA, Farkas D, Tonka-Nagy P, Tóth B, Nagy ZsK, Antal I, Kállai-Szabó N. Evaluation of floatability characteristics of gastroretentive tablets using VIS imaging with artificial neural networks. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2024 Sept 6; 90:155-169. DOI: 10.1016/j.ejpb.2024.114493.
- [III] **Kakuk M**, Farkas D, Kállai-Szabó B, Pencz K, Mészáros LA, Tonka-Nagy P, Kállai-Szabó N, Antal I. Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES): Exploring Versatile Applications in Industrial and Analytical Fields. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*. 2025 Jun 12. DOI: <https://doi.org/10.3311/PPch.40025>.

6.2 Disszertációhoz nem kapcsolódó publikációk

Katona MT, **Kakuk M**, Szabó R, Tonka-Nagy P, Takács-Novák K, Borbás E. Towards a Better Understanding of the Post-Gastric Behavior of Enteric-Coated Formulations. *Pharmaceutical Research*. 2022 Jan 18; DOI: 10.1007/s11095-021-03163-0.