

Debreceni Egyetem
Természettudományi és Technológiai Kar



**Boroszilikát–alginát kompozit aero- és xerogélek
előállítása és felhasználása gyógyszerhordozóként**

TDK dolgozat

Tátrai Marcell

3. évf. Vegyészmérnök B.Sc.

Témavezetők: Dr. Kalmár József, Balogh Zoltán

Debreceni Egyetem, TTK, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék

Debrecen, 2024.

Tartalom

1. Bevezetés és célkitűzés	1
2. Irodalmi áttekintés.....	2
2.1. Aerogélekről általánosan.....	2
2.2. Szol-gél szintézis és szárítás.....	3
2.3. Szilika és szilika alapú hibrid/kompozit gélek szintézise	5
2.4. Szilika alapú hibrid és kompozit gélek orvosbiológiai alkalmazása	7
2.5. Aerogélek impregnálási lehetőségei	10
2.6. Gyógyszerhatóanyag kioldódásának vizsgálata az aerogélekből	12
3. Kísérleti körülmények.....	13
3.1. Felhasznált anyagok	13
3.2. Kompozit gélek szintézise	13
3.3. Szerkezetvizsgálat.....	18
3.3.1. Pásztázó elektronmikroszkópia (SEM) és energiadisperzív röntgenfluoreszcencia spektroszkópia (EDX) vizsgálatok.....	18
3.3.2. N ₂ gáz adszorpciós-deszorpciós porozimetria.....	18
3.3.3. Röntgendiffrakciós vizsgálat (XRD)	18
3.3.4. Infravörös spektroszkópia (IR)	19
3.3.5. Zéta-potenciál	19
3.4. Kioldódásvizsgálat.....	20
3.4.1. Teljes hatóanyagmennyiség meghatározása	20
3.4.2. Hatóanyag kioldódása különböző közegekben	20
4. Eredmények és értékelésük	21
4.1. Szerkezetvizsgálat eredményei	21
4.1.1. Pásztázó elektronmikroszkópia (SEM) és energiadisperzív röntgenfluoreszcencia spektroszkópia (EDX)	21
4.1.2. N ₂ gáz adszorpciós-deszorpciós porozimetria.....	23
4.1.3. Röntgendiffrakciós vizsgálat (XRD)	26
4.1.4. Infravörös spektroszkópia (IR)	27
4.1.5. Zéta-potenciál	29
4.2. Hatóanyag kioldódása	30
4.2.1. Kvantitatív UV-vis mérések nikotinsav-koncentráció meghatározásra	30
4.2.2. Teljes hatóanyag-mennyiség meghatározása	31
4.2.3. Hatóanyag kioldódása különböző közegekben	32
5. Összefoglalás	34

6. Summary.....	35
7. Köszönetnyilvánítás	36
8. Irodalmi hivatkozások	37

1. Bevezetés és célkitűzés

Az aerogélek a világ legkisebb sűrűségű szilárd anyagai, amik nyitott és összefüggő mezopórusos szerkezettel rendelkeznek. 2022-ben az IUPAC által közzétett „Top Ten Emerging Technologies in Chemistry” listáján bekerültek a 10 legígéretesebb feltörekvő kémiai technológia közé. Ennek oka, hogy számos felhasználási területen innovatív megoldást kínál az alkalmazásuk. Ezek közé tartozik az űrkutatás, építőipar, és az orvosbiológiai alkalmazási területek. [1]

A szol-gél eljárásnak köszönhetően változatos 3D-s hálózati struktúrájú szerkezetet hozhatunk létre tisztán szervetlen, szerves vagy szervetlen és szerves anyagok együttes felhasználásával, amikből különböző szárítási módszerek alkalmazásával aerogéleket vagy xerogéleket kaphatunk. Ha a gélekben lévő oldószert légköri nyomáson elpárologtatjuk, tömörebb szerkezetű xerogélt tudunk előállítani. A szuperkritikus CO₂-vel végzett extrakció során viszont a szol-gél eljárással kialakult térszerkezetet képesek vagyunk megőrizni, ekkor aerogéleket kapunk. [2, 3]

Megfelelő prekursorok alkalmazásával előállíthatók biokompatibilis gélek, amik potenciálisan alkalmazhatóak az orvosbiológiai alkalmazásban, például gyógyszerhordozó anyagként. Kutatómunkánk során ennek megvalósítását tűztük ki célul boroszilikát-alginát kompozit aerogélek és xerogélek szintézisével. A gélekbe különböző impregnálási stratégiák alkalmazásával nikotinsavat, közismertebb nevén B₃-vitamint vittünk be. A szintézis és az impregnálás mellett az anyagok karakterizálása és a hatóanyag kioldódási profiljának vizsgálata is fontos feladatunk volt. Megvizsgáltuk a gélek morfológiáját pásztázó elektronmikroszkóppal (SEM), illetve és N₂-adszorpciós-deszorpciós porozimetriával. A mintákban lévő elemösszetételt energiadisperzív röntgenfluoreszcencia spektroszkópiával (EDX), kémiai szerkezetüket pedig infravörös spektroszkópiával (IR) vizsgáltuk meg. Vizsgáltuk továbbá az impregnált anyagok kristályosságát röntgendiffrakció (XRD) segítségével. A vizes szuszpenzióban Zéta-potenciál méréssel a hidratált felület elektromos töltési viszonyairól is információt kaptunk. A kioldódás-vizsgálatokat sósavban (pH = 2,0) és foszfáttal pufferelt sóoldatban (PBS pH = 7,4) végeztük, szimulálva az emberi emésztőrendszer különböző szerveiben jellemző körülményeket. Végezetül ezen mérések alapján kapott eredményekből következtetéseket vontunk le a különböző hatóanyag-formulálási módszerek előnyeiről és alkalmazhatóságról a gyógyszerhordozó anyagok területén.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Aerogélekről általánosan

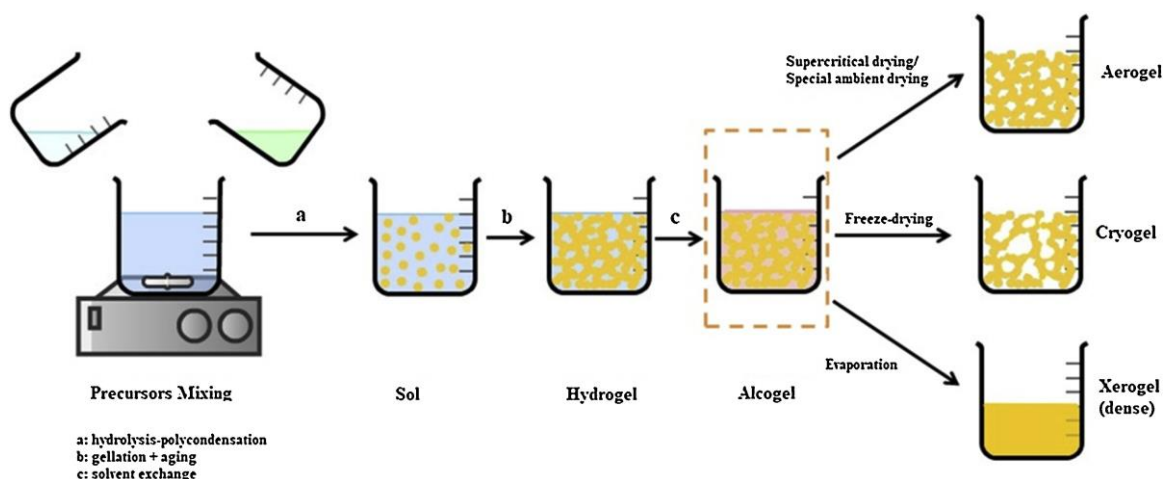
A ma ismert legkisebb sűrűségű szilárd anyagok a világon az aerogélek. Nincs olyan definíció, amely teljes mértékben leírná azokat az anyagokat, amiket a tudományos világban aerogéleknek neveznek, azonban közös tulajdonságaik alapján leírhatóak szilárd fázisú porózus anyagokként, amelyek nagyfokú porozitással és nyitott mezopórusos hálózattal rendelkeznek. A gélvázat valamilyen gáz, például levegő járja át, amelyből adódóan az aerogélek száraz anyagok, megkülönböztetve őket az olyan gélektől, mint a hidrogélek és alkogélek, amiknek a pórushálózatát teljes mértékben folyadék járja át. [2]

Az első aerogéleket Steven Kistler alkotta meg 1931-ben. Kistlert érdekelte, hogy a gélben lévő folyadékot gázzal lehet-e helyettesíteni anélkül, hogy a gél szilárd összetevője megbomlana, és váza összeesne. Korábban megfigyelte, hogy a szolvatált gélekből a folyadék elpárologtatása után szétesett, összezsugorodott vázat kapott, amit xerogéleknek nevezünk. Ehelyett szuperkritikus szárítási technikát alkalmazott egy nyomástartó edényben, aminek segítségével a folyadékot szuperkritikus fluidummá alakította át, amit a nyomás csökkentésével gáz formájában el tudott távolítani a gélekből. Ennek a módszernek köszönhetően egy olyan kis sűrűségű szilárd anyagot kapott, aminek a mérete és vázszerkezete lényegében megegyezett az eredeti gélével. [2]

Az aerogélek felhasználási területe összetételüktől függően változatos. Előnyös tulajdonságaiknak köszönhetően alkalmazhatóak hő- és hangszigetelő anyagokként, gyógyszerhatóanyag-hordozóként, csont- illetve szövetpótló anyagokként. Napjainkban a szerteágazó lehetőségeit kihasználva alkalmazásra kerültek a kőolaj- és földgáz iparban, az űrkutatásban, az építőiparban, de már felhasználják ezeket az anyagokat ismert ruházati és szépségápolási márkák is. A modern aerogél anyagok már 2001 óta kereskedelmi forgalomban elérhetőek és a gyártók száma folyamatosan növekszik. [2]

2.2. Szol-gél szintézis és szárítás

Az aerogélek szintézisében a legfontosabb tényező a 3 dimenziós nagy porozitású és stabilitású gélváz előállítása. Ezt a 3D-s hálózati struktúrát létrehozhatjuk tisztán szervetlen, szerves vagy szervetlen és szerves anyagok együttes felhasználásával, amelyek gélállapotba hozhatók ellenőrzött reakciókörülmények között. A gélváz kialakítása úgynevezett szol-gél eljárással valósítható meg. [3] A szintézis általános lépéseit az 1. ábra mutatja be. [4]

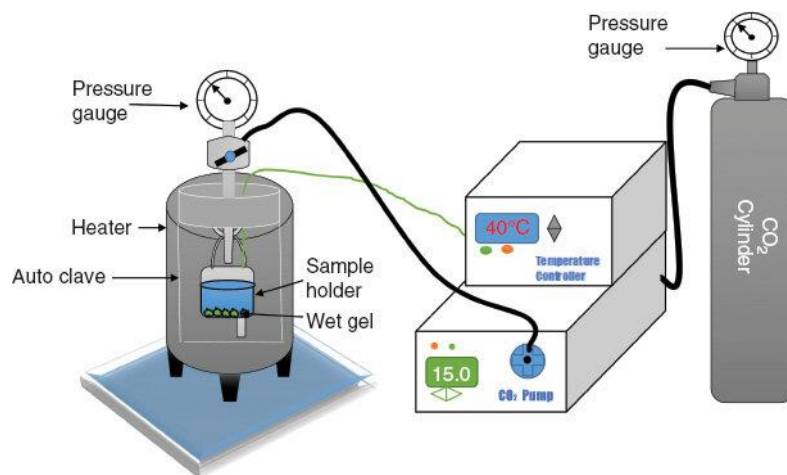


1. ábra Aerogélek, xerogélek és kriogélek előállításának általános lépései. [4]

Az első lépésben a gélvázat állítjuk elő prekursorok, oldószer és katalizátor oldatából, amelyet jellemzően kémiai térhálósító anyaggal, vagy a reakció fizikai körülményeinek változtatásával érünk el. Így kapjuk meg a szolvatált gél, amit, ha a pórusokat kitöltő folyadék víz, akkor hidrogélnak, míg alkohol esetén alkogélnak nevezünk. A következő lépés az oldószercsere. Hidrogél esetében a pórusokban lévő vizet általában valamilyen alkohollal vagy acetonnal cseréljük ki. Ezt a műveletet többször végrehajtva eltávolítjuk a még el nem reagált prekursorokat, illetve erősíthetjük a 3D-s szerkezetet. Ahhoz, hogy aerogéleket kapjunk, a gélvázban lévő folyadékot szupercritikus szárítással, vagy extrakcióval távolítjuk el. [3]

A szupercritikus szárítás a leggyakoribb módja az aerogélek előállításának. A két alapvető stratégia a magas hőmérsékletű (HT) és az alacsony hőmérsékletű (LT) szárítás. A HT eljárás során a nyomás emelése után az oldószert a kritikus pontja felé melegítik. Mivel a leggyakoribb szerves oldószerek kritikus pontja 200°C feletti és a kritikus nyomása 40-80 bar közötti, viszonylag könnyen elérhetőek a szupercritikus körülmények. Ez az eljárás és a szükséges műszerezettség is egyszerű, viszont a szerves oldószerek tűzveszélyessége miatt kevésbé ajánlott, továbbá a nagy hőmérséklet károsíthatja a hőérzékeny anyagokat. Az LT

eljárást szívesebben alkalmazzák, ugyanis ebben az esetben szuperkritikus szén-dioxiddal történik az extrakció, amelynek kicsi a kritikus hőmérséklete (31 °C), továbbá környezetbarát és nem gyúlékony. A folyamat során a szolvatált géleket periodikusan vagy folyamatosan szuperkritikus CO₂-vel öblítik, míg az összes oldószert el nem távolítják. Mind a két esetben szükség van azonban hőcserélőre és szuperkritikus CO₂ pumpára. Létezik azonban olyan LT eljárás is, amelyet szuperkritikus pumpa alkalmazása nélkül is meg lehet valósítani. Ebben az esetben először a szolvatált gélekből az oldószert folyékony CO₂-dal extraháljuk. Utána lezárjuk a rendszert és elkezdjük felfűteni úgy, hogy a nyomás és a hőmérséklet is a kritikus pont felé menjen. Ezt követően 2-3 órát várunk, míg a szuperkritikus CO₂ átjárja a pórusokat, végül pedig lassú dekompresziót alkalmazva eltávolítjuk a CO₂-t. [5] A szuperkritikus CO₂ pumpa segítségével megvalósítható LT szárítási eljárás sematikus technológiai rajzát a 2. ábra mutatja be. [6]



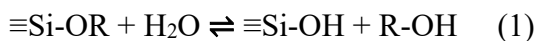
2. ábra A szuperkritikus szárítás sematikus ábrája LT eljárás alkalmazásával szuperkritikus CO₂ pumpa segítségével. [6]

A szolvatált gélek szárítására másik kettő módszer is ismert. Fagyasztásos szárítás (лиофилизация) esetén a pórusrendszerben lévő oldószert megfagyasztjuk, majd vákuum alatt elszublimáltatjuk. Ilyen esetben kriogéleket kapunk, amelyek gélváza eltérő az eredeti hálózathoz képest, hiszen a fagyasztáskor képződő jégkristályok deformálják azt. A másik módszer az egyszerű párologtatás. Amikor nem alkalmazunk speciális felületi kezelést, akkor az előállított végtermék jelentősen összezsugorodik, és a kiindulási anyaghoz képest megváltozik az eredeti pórusszerkezet. Az így képződött anyagot xerogélnak nevezzük. Abban az esetben, ha speciális felületi kezelést végzünk a géleken és azok felületét hidrofobizáljuk, akkor a párologtatás során elkerülhető a jelentős méretzsugorodás. Az így előállított anyagok aerogélszerű tulajdonságokkal rendelkeznek. [7]

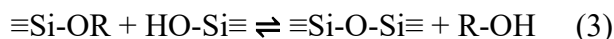
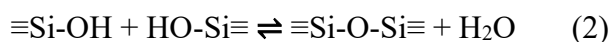
2.3. Szilika és szilika alapú hibrid/kompozit gélek szintézise

A szilika aerogélek a legismertebbek az aerogélek között. Két különböző kísérleti útvonalat alkalmaznak előállításukra: az egyik vízüvegből indul ki, amely már az amorf szilícium-oxid részecskék kolloid diszperziója, a másik pedig alkoxi-szilánokat használ. [8]

A gélek alkoxi-szilán prekursorokból történő előállításának első lépése annak víz és alkohol elegyében való feloldása, majd az oldat pH értékének savval vagy bázissal való beállítása. Így bekövetkezik a prekursor hidrolízise és a polikondenzációja. Az első folyamat az alkoxidok vízzel való reakciója, amit a következő egyenlet ír le:

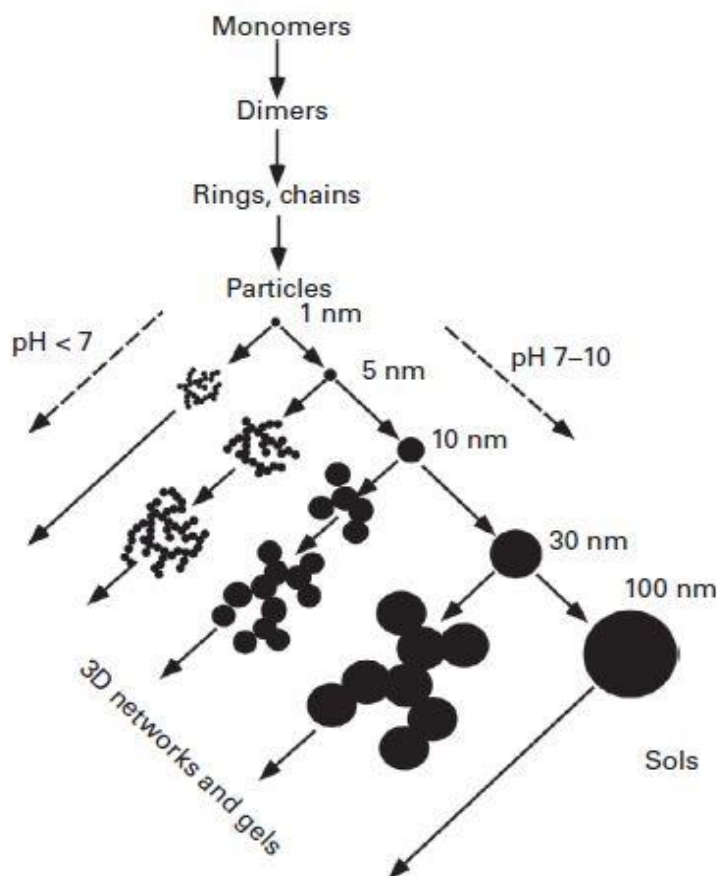


A bal oldalról indulva a reakció a hidrolízis, a vele ellentétes irányú folyamat pedig észterképződésnek. Amikor kialakul egy $\equiv\text{Si-OH}$ kötés, az képes reagálni bármely másik szilán prekursorral sziloxánhidakat kialakítva. Ezt a folyamatot polikondenzációnak nevezzük, ami történhet víz- (2) vagy alkoholkilépéssel (3):



Az említett folyamatokat több tényező is befolyásolhatja. Ilyen például a pH, amit a szakirodalomban a sav- vagy báziskatalizátor mennyiségként is említene. A reakciókat befolyásolja még a prekursorok típusa, a víz-alkoxid arány, a felhasznált oldószer, a hígítási arány, a hozzáadott egyéb oldott anyagok, valamint a hőmérséklet. [8]

A 3. számú ábra szemlélteti a pH hatását a kialakuló szilikagél szerkezetére. Savas körülmények között a monomerekből a reakciók során kisebb részecskék, oligomerek, végezetül a részecskék nyílt hálózata alakul ki. Bázikus körülmények között viszont a nagyobb részecskék kialakulása kedvezményezett, amik szintén aggregálódnak, ezáltal nyílt porózus hálózatokat létrehozva. [8]



3. ábra A szilika gélek vázrendszerének kialakulása különböző pH tartományokban. [8]

Ennek oka, hogy a savkatalizált rendszerekben a hidrolízis gyorsabb, mint a kondenzáció, míg a báziskatalizált szolokban fordított tendencia figyelhető meg. Savas körülmények között az elektrofil szilíciumatom nagyobb reakcióképessége miatt a -Si-O-Si- kötések növekedésével a láncszerűbb szerkezetek kialakulásának kedvez, míg bázikus körülmények között elágazó és kötöttebb szilícium-dioxid-szerkezetek jönnek létre. [8]

A szilika gélek szerkezeti sajátosságait a hibridizálás szintén megváltoztatja. A mechanikai sajátságokat jelentősen képes javítani, ha szerves alkotókat építünk be a szervesetlen vázba. A szilika váz térhálósítása polimerrel a legelegánsabb módszer a szilika gélek megerősítésére. Ilyen módon megelőzhetőek a szolvatált gélek repedezési problémái a szuperkritikus szárítás során. A polimerekkel keresztkötött aerogéleket kompozitoknak vagy hibrideknek nevezzük, attól függően, hogy a gélvázat alkotó komponensek mennyire különíthetők el egymástól. Hibridek esetén az alkotó komponensek molekuláris szinten olyan mértékben keverednek össze, hogy a nanométeres tartományban már nem különböztethetők meg egymástól, míg kompozitok esetén az egyes alkotók külön fázisokat alkotnak. [9]

2.4. Szilika alapú hibrid és kompozit gélek orvosi biológiai alkalmazása

A biokompatibilis aerogélek nagy porozitásuk és fajlagos felületük, valamint biológiai lebonthatóságuk miatt nagy érdeklődést váltottak ki a biotechnológia és az orvosi biológiai célú kutatások területén. Az aerogél alapú bioanyagok kiváló biológiai funkciókat képesek mutatni, kedvezők a sejtadhéziós tulajdonságaik, valamint elősegítik a sejtek szaporodását és differenciálódását, továbbá szabályozott szerkezetű pórusrendszerüknek köszönhetően ígéretes jövővel rendelkeznek a gyógyszerhatóanyag-szállítás, illetve leadás területén is. [10]

A szintetikusan előállított csontpótló anyagok jó alternatívák lehetnek az autograftok kiváltására. A szintetikus pótlóanyagnak számos kritériumnak meg kell felelnie az élő szervezetben való alkalmazáshoz, mint például a biokompatibilitás, megfelelő nanoszerkezetű morfológia és fizikai stabilitás a sejtek rögzítéséhez. Az aerogélek a mezopórusos gélek egy speciális osztályát alkotják, amelyek alkalmasak lehetnek a csontregeneráció elősegítésében. Kutatócsoportunk tagjai korábban különböző kalcium-forrásokat tartalmazó polivinil-alkohollal hibridizált boroszilikát aerogéleket állítottak elő csontregeneráció céljából. [11]

Azt tapasztalták, hogy a hibrid aerogélek a Ca(II)-ionok gélvázba való beépülése után is megőrizték a jellemző kémiai és morfológiai sajátosságaikat. *In vitro* biológiai kísérletek bizonyították, hogy a hibrid gélek szuszpendált formában nem citotoxikusok, továbbá a sejtadhézió szempontjából kedvezőek. A sejtek a vizsgálatok során a gél részecskéket mikronizálták és sikeresen beépítették a regenerált monorétegbe. Megfigyelték továbbá, hogy a Ca(II)-tartalom növelése kedvezően hat a sejt-monoréteg kialakulására. [11]

A különböző szerkezetű tisztán szilika aerogélek gyógyszerhordozóként való alkalmazhatóságát számos kutatás alaposan vizsgálta. Ezeknek a rendszereknek az egyik fő hátránya, hogy a hatóanyagok szilika mátrixból való kioldódását nehéz finomhangolni. A felszabadulásuk sebességét is nehéz meghatározni ilyen esetben, hiszen gyakran kontrollálatlanul, robbanásszerűen kezdődik a hatóanyag felszabadulása. Emiatt fókuszba kerültek a különböző hibrid/kompozit aerogélek kioldódási mechanizmusának felkutatása. A biopolimer aerogélek esetében az összetétel, pórusszerkezet és a hidrofilitás számos alapvető tulajdonságot határoznak meg a gyógyszeradagolási alkalmazásokban, mint például a megkötött hatóanyag fázisát (kristályos vagy amorf), a szilárd hatóanyag eloszlását az aerogél mátrixban, valamint a szilárd hatóanyag hozzáférhetőségét az oldószer számára a felszabadulás során. Ezek a tulajdonságok együttesen határozzák meg a hatóanyagok hordozórendszerből

való kioldódási profilját (deszorpciós kinetikáját). Kutatások bizonyították, hogy a különböző biopolimerekkel keresztkötött szilika aerogélek, mint például a szilika-zselatin, szilika-pektin aerogélek előnyös tulajdonságokkal rendelkeznek, beleértve a bioaktivitást, biológiai lebonthatóságot, valamint a gélesedési és stabilizáló képességeket. Ezekből a sajátságokból kifolyólag kiváló jelöltek lehetnek a kontrollált gyógyszerhatóanyag-leadás területén. Ezeknek a géleknek a funkcionalizálása aktív hatóanyagokkal a gyógyszerek hatékonyságának és biohasznosulásának fokozásához vezethet. [12, 13]

Sophie Groult és társai olyan szilika-pektin kompozit aerogéleket készítettek különböző szintéziskörülmények alkalmazásával (szilika-szol típusa, kalciummal keresztkötött pektin vagy kalcium hozzáadása nélküli gél), amiket teofilinnel impregnáltak. A hatóanyag kioldódását szimulált gyomorfoliadékban és bélfolyadékban követték egy órán keresztül. Az előállított kompozit gélek többsége szétesett vizes közegben, azonban, amikor PEDS-t használták szilán reagensként és Ca^{2+} ionokkal térhálósították a pektin tartalmat, akkor az előállított aerogél nagyfokú stabilitást és lassú pektin oldódást mutatott a hatóanyag kontrollált kioldódása mellett. A kompozit aerogélek hatóanyagleadási ideje háromszorosa volt a tiszta pektinből származó aerogélékéhez képest és szinte teljesen követték a Fick-féle diffúziós törvényt. [12]

Egy másik kutatásban Veres Péter és társai fő célja az volt, hogy megértsék a szilika-zselatin hibrid aerogélek hatóanyag-leadási tulajdonságainak hátterét ibuprofén és ketoprofén modellhatóanyagok felhasználásával. A hatóanyagok kioldódása egy nagyságrenddel gyorsabb volt a szilika-zselatin géleknél, mint a tisztán szilika társaiknál (pH=2,0-es sósav és pH=7,4-es PBS oldatban egyaránt). A két aerogél közötti szerkezeti különbségek, amelyeket a SEM képek és N_2 porozimetriás mérések bizonyítottak, nem adnak teljes magyarázatot a különböző kioldódási tulajdonságokra. NMR mérések azonban kimutatták, hogy a tisztán szilika és a szilika-zselatin aerogéleknek eltérő hidratációs tulajdonságai van. A nedves szilika-zselatin aerogél erős hidratációs burkot alakít ki, míg a szilika aerogél szétesik, de a pórusszerkezete érintetlen marad. Következtetésük szerint az erős hidratáció a kulcstényező, amely jelentősen felgyorsítja a gyógyszerek deszorpcióját és kioldódását a szilika-zselatin aerogélből kis zselatin-tartalom esetén. A tiszta szilika alapuló hordozórendszerekben nem figyelhető meg ilyen erős hidratációs hatás. [14]

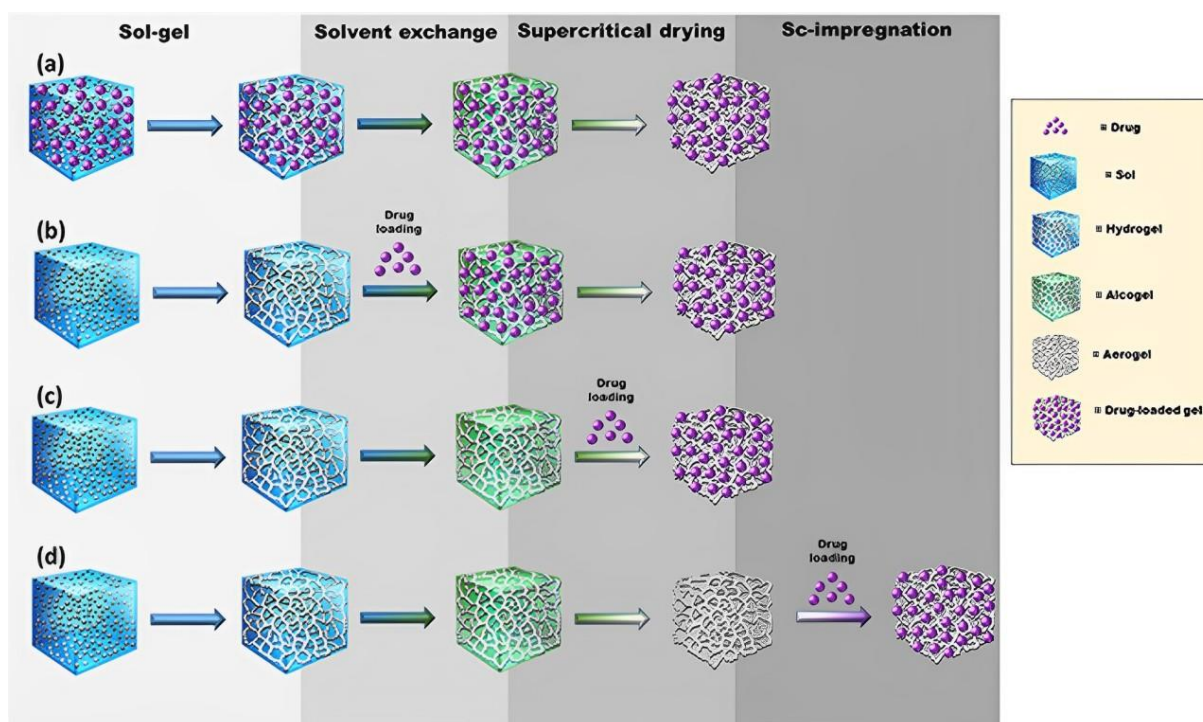
A szilika-zselatin hibrid aerogéleknél gyors és késleltetett hatóanyag-leadás egyaránt elérhető, aminek a kinetikáját a hordozó zselatin tartalma határozza meg. A kicsi zselatin tartalmú aerogélek (4-11 m/m%) tipikusan erodáló hordozók, amelyek gyorsan leadják a hatóanyagot. A nagy zselatin tartalmú hordozókból (18-24 m/m%) lényegesen lassabb a hatóanyag felszabadulása, úgynevezett retard tulajdonságokat mutatnak. Míg az összes aerogél megközelítőleg azonos porozitással és hasonló morfológia tulajdonságokkal rendelkezik száraz állapotban, továbbá közelítőleg azonos méretű mikrorészecskékre bomlanak szét vízben, ezeknek a hidratált részecskéknél eltérő a pórusszerkezete. A kicsi zselatintartalmú aerogélek ugyanis vízben is megőrzik a nyitott pórusszerkezetüket, de a nagy zselatintartalmúak pórusai a hibrid váz könnyebb hidratációja miatt könnyen összeomlanak, ami sűrű hidrogél szerkezetet eredményez. Ez a duzzadt gélváz magába zárja a gyógyszermolekulákat, ami így diffúziós gátat jelent a hatóanyag felszabadításában. [15]

Nagy Gábor és társai az egyes daganatos és autoimmun betegségek kezelésére használt metotrexáttal (MTX) funkcionizálták ezeket a szilika-zselatin aerogéleket. A metotrexátot amidkötéssel kapcsolták a hibrid gélváz polipeptid makromolekuláihoz. A funkcionizált aerogélek nedves őrlésével sejtméretű ($d = 10\text{-}20\ \mu\text{m}$) részecskéket kaptak, amelyeknek a tumoros sejtvonalak elleni citotoxicitása példátlanul magas, közel megegyezik a szabad (oldott) hatóanyag hatásával, amit *in vitro* kísérletek is bizonyítottak. Az MTX csak a tumorsejtek közelében szabadult fel enzimatis hasítás következtében, különböző pH-jú pufferekben viszont nem. Ebből következően a funkcionizált aerogél jó hordozónak bizonyult, hiszen ugyanazt a helyi terápiás hatást képes biztosítani, mint a szabad MTX, de jóval kisebb a szervezet egészére kifejtett toxikus hatása. [13]

2.5. Aerogélek impregnálási lehetőségei

Számos eljárást kidolgoztak már gyógyszerhatóanyagok impregnálására az aerogélekben. Általánosan két különböző megközelítés érhető el. Az első, *in situ* megközelítés a hatóanyag hozzáadása a szol-gél szintézis folyamán. A másik, *ex situ* megközelítés során a hatóanyag hozzáadása a gélváz kialakítása után történik. [16]

A hatóanyagok impregnálásának lehetőségeit az aerogélek pórusrendszerébe az 4. ábra mutatja be. [17]



4. ábra A hatóanyagok impregnálásának lehetőségei az aerogélekbe. Az egyes lehetőségek szöveges kifejtését a törzsszöveg tartalmazza. [17]

(a) Az első és legegyszerűbb stratégia az, hogy a hatóanyagot a gél prekursor oldatához adagoljuk. Ez esetben olyan hatóanyagok használhatók, amelyek a gélesedési körülmények között stabilak és rosszul oldódnak mind az oldószercseréhez használt szerves oldószerekben, mind a szárításhoz használt szuperkritikus folyadékban, így elkerülhető a hatóanyag idő előtti kioldódása. [17]

(b) Alternatív megoldásként az alkoholokban vagy acetonban jól oldódó, viszont a szuperkritikus szén-dioxidban nem, vagy rosszul oldódó hatóanyagok esetében a gélvázat állítják elő előbb, majd azokat a hatóanyaggal telített oldatban áztatják. Az ezt követő szuperkritikus szárítás során az oldószer eltávolítása a hatóanyag kicsapódásához vezet az aerogél pórusaiban. A hatóanyag betöltési folyamata azonban időigényes (különösen a belső pórusokban), és kis hatékonyságú lehet. [17]

(c) A szokásos oldószerekre érzékeny, de szuperkritikus szén-dioxidban jól oldódó hatóanyagok (pl. acetilszalicilsav vagy illóolajok) az aerogél előállítása során a szuperkritikus szárítási lépésben tölthetők be. [17]

(d) A negyedik lehetőség, hogy a hatóanyagokat előre elkészített aerogélekbe impregnálják, ami azt jelenti, hogy a kész aerogélt ki kell tenni a hatóanyagot tartalmazó fluidumnak, amely a pórushálózaton keresztül diffundál annak belsejébe. A szuperkritikus CO₂-ot előnyös tulajdonságai miatt előszeretettel alkalmazzák erre a célra, mivel kicsi toxicitású, újrahasznosítható, valamint a szuperkritikus állapot kicsi nyomás (7,4 MPa) és hőmérséklet (31,1 °C) mellett elérhető, ami gazdaságilag kedvezőbbé teszi az eljárást, más szuperkritikus folyadékokhoz képest. További előnye, hogy a szuperkritikus CO₂ hőmérsékletén még nem bomlanak a hőérzékeny terápiás anyagok. A hatóanyag oldhatósága növelhető a nyomás növelésével vagy segédoldószerek (pl. aceton, metanol vagy etanol) hozzáadásával. Az impregnálás után a CO₂ teljes mértékben távozik a rendszerből, és az aerogélben nem maradnak oldószernyomok. [17]

2.6. Gyógyszerhatóanyag kioldódásának vizsgálata az aerogélekből

A hatóanyagok hordozókból való kioldódási mechanizmusát napjainkban *in vivo* állatokon vagy *in vitro*, gyógyszeriparban gyakran alkalmazott közegekkel, fiziológiás pufferekkel követik. Az *in vivo* hatóanyag-felszabadulás értékelésével járó munka és költségek miatt egyre nagyobb jelentőséget kapnak a 37°C-on (fiziológiás hőmérsékleten) végzett *in vitro* hatóanyag-felszabadulási vizsgálatok. Ezekkel a kioldóközegekkel sikeresen képesek szimulálni a különböző testnedveket a vizsgálatok során. [18]

Amikor a hatóanyag az aerogél részecskék felületén és pórusaiban diszpergálódik, a hatóanyag-felszabadulás két fő lépésre osztható. Az első lépés a hatóanyag kioldódása, amelyet a hatóanyagnak a kioldódás helyétől az oldódási közegbe történő szállítása követ. Mindkét folyamatot számos fizikai-kémiai tényező szabályozza, amelyek meghatározzák a mechanizmus határlépését, és végül a hatóanyag-felszabadulás sebességét. A legfontosabb tényezők a következők: a leadott hatóanyag és a hordozómátrix hidratációs jellemzői, beleértve az eróziót és a duzzadást; az aerogélváz és a hatóanyag-molekulák közötti specifikus kölcsönhatások; illetve a tömegtranszport folyamatok, amik hatékonyak a hidratált hordozórendszereken. [17, 19]

3. Kísérleti körülmények

3.1. Felhasznált anyagok

Az aerogélek szintéziséhez és oldószercseréjéhez felhasznált vegyszerek a következők: tetrametil-ortoszilikát (TMOS) (Merck), bórsav (Merck), nátrium-alginát (Sigma-Aldrich (Merck); katalógusszám: 71238; ~100-200 kDa; G/M arány: ~1:1 [20]), ammónium-fluorid (Merck), aceton (VWR), sósav (37%) (VWR). A felhasznált modellhatóanyag, a nikotinsav ($\geq 98\%$) a Sigma-Aldrich (Merck) cégtől származik.

A kinetikai vizsgálatokhoz elkészített 7,4-es pH értékű PBS oldathoz az alábbi vegyszereket használtuk fel: nátrium-klorid (Molar Chemicals Kft.), kálium-klorid (Merck), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (VWR), KH_2PO_4 (Merck).

A vizes oldatokat kétszeresen ioncserélt és ultraszűrt vízzel (ELGA PureLab classic rendszer) készítettünk.

Az aerogélek szárításához használt (Biogon-C, 99,95%) merülőcsöves CO_2 gázpalackot a Linde biztosította.

3.2. Kompozit gélek szintézise

Ötféle boroszilikát-alginát kompozit gélét szintetizáltunk egymással párhuzamosan. A szintézisük alapvetően azonos volt, az eltérés közöttük a nikotinsav bevitelében, illetve annak módjában, továbbá a szárítás típusában jelenik meg, amit az 1. táblázat részletez. Az előállított mintákhoz kódneveket rendeltünk, ahol mindegyik névben az „A” aerogél, „X” a xerogél jellegre utal. A következő betű jelöli a nikotinsav tartalmat, „N” esetén tartalmaz, „0” esetében nem tartalmaz hatóanyagot. A nikotinsav tartalmú gélek esetében a harmadik betű a nikotinsav beviteli módjára utal, „O” esetén az oldószerből, „S” esetén pedig a szintézis során, a gélesedés folyamatában vittük be a hatóanyagot.

1. táblázat A szintetizált aero- és xerogélek kódnevei és az előállításuk során alkalmazott különböző körülmények.

Kódnév	Pórusokat kitöltő folyadék szárítás előtt	Szárítás módja	Nikotinsav bevétele
A0	aceton	szuperkritikus CO ₂	-
ANO	nikotinsavval telített aceton	szuperkritikus CO ₂	oldószercsere során
XNO	nikotinsavval telített aceton	légköri	oldószercsere során
X0	anyalúg	légköri	-
XNS	anyalúg	légköri	szintézis során

A szintézis első lépése során minden esetben 4,4 ml ioncserélt vízbe 100 µl 0,1 M sósavat mértünk, majd 6,83 ml tetrametil-ortoszilikátot (TMOS) adtunk hozzá és 10 percig kevertettük. Ebben az elegyben a prekursor hidrolizál, amit a sósav katalizál. A következő lépésben kialakítottuk a kompozit szerkezetet. 30-30 ml 5 m/m%-os bórsav és nátrium-alginát vizes oldatait adagoltuk a reakcióelegyhez, majd tovább kevertettük 1 órán keresztül.

Az XNS minta esetében a szintézis során vittük be a nikotinsavat a gélbe. A nikotinsav oldhatósága vízben 25°C-on 1,67 g/100ml. [21] A szintézis második lépésében már 64,5 ml víz van az elegyünkben, és az elméletileg oldható nikotinsav-mennyiség pedig 1,08 g tiszta vízre számolva. Az általunk bevitt mennyiség 0,900 g volt, ami az elméletileg maximálisan oldható mennyiség 83,3%-ának felel meg. A nikotinsav hozzáadása a bórsav és a nátrium-alginát oldatok hozzáadását követően fél órával történt, majd még fél órán keresztül kevertettük a reakcióelegyet.

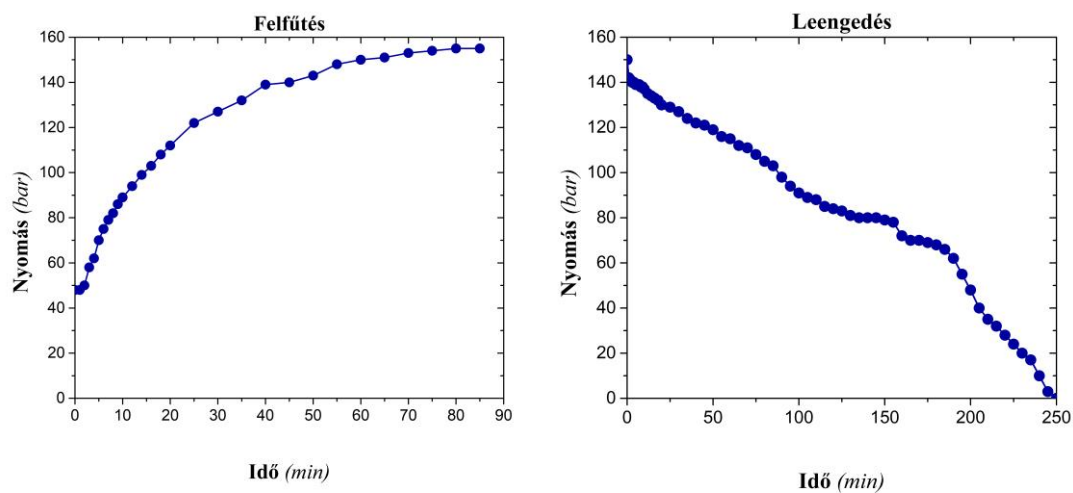
A harmadik lépésben mindegyik mintához 1 ml 1 M NH₄F bázis katalizátort adtunk, ezzel elősegítve a gélesedést. Ezután rögtön PVC csőből készült öntőformába öntöttük a reakcióelegyeket, amiket parafilmmel lefedtünk és egy napig állni hagytunk, míg végbement teljesen a gélesedés.

A gélesedés befejezte után, az X0 és XNS minták kivételével, az öntőformákból perforált alumíniumlemezről készült tárolókba helyeztük a géleket, amiket acetonnal feltöltött üvegekbe helyeztünk, úgy, hogy az színig ellepje a géleket. Ezt követően további két

alkalommal helyeztük át a géleket tiszta acetonnal feltöltött üvegekbe. Minden egyes oldószercserre lépés során legalább 24 órán keresztül áztak a gélek az oldószerben. Az ANO, illetve XNO minták impregnálása a hatóanyaggal ebben a fázisban zajlott. Ezeket a mintákat a háromszoros tiszta acetonnal történő oldószercserre után acetonban oldott nikotinsavban ~ 90 órán keresztül áztattuk, így juttatva a hatóanyagot a gélekbe. A nikotinsav elméleti oldhatósága acetonban 25°C-on 0,37g/100 ml. [22] Kísérletünk során azonban azt tapasztaltuk, hogy az elméleti nikotinsav mennyiségének csak a ~68% oldható ténylegesen. Így a géleket 1,27 g nikotinsavat tartalmazó, összesen 500 ml térfogatú aceton oldatban áztattuk.

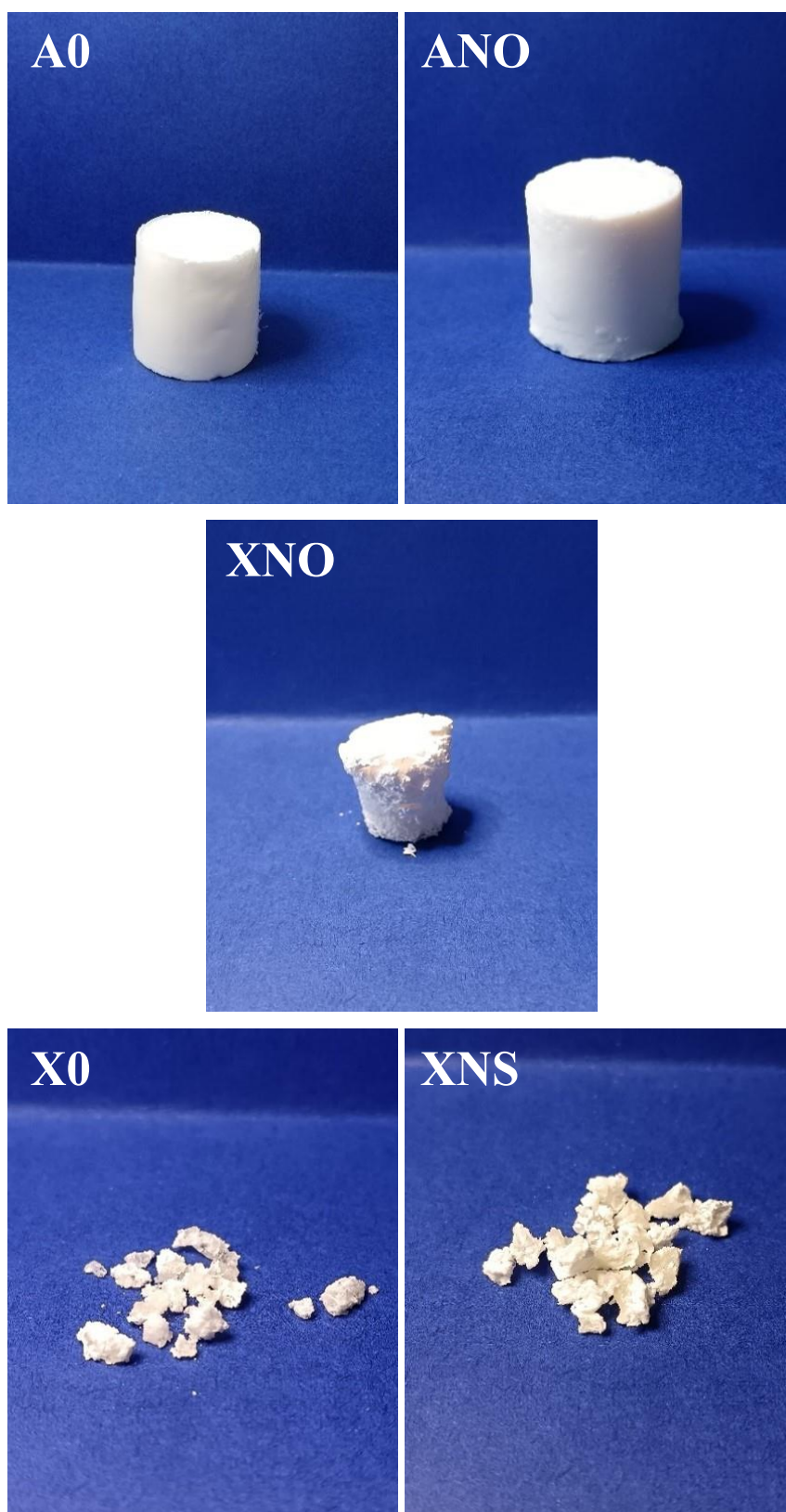
Ezután a gélek szárítása következett. Az XNO mintát 7 órán keresztül 40°C-on szárítószekrényben szárítottuk. Az X0 és XNS monolitokat a szintézist követően másnap szintén szárítószekrényben 50°C-on ~29 órán keresztül szárítottuk.

Az A0 és ANO gélek esetében a szuperkritikus szárítás következett, ami a 2.2 pontban leírt pumpa nélküli LT módszer alapján történt. [5] A reaktort az A0 gélek esetén először feltöltöttük acetonnal, az ANO gélek esetén pedig az impregnáláshoz alkalmazott nikotinsavat tartalmazó acetonnal, majd behelyeztük a géleket. Miután lezártuk a rendszert és csatlakoztattuk hozzá a merülőcsöves CO₂ palackot, bevezettük a folyékony CO₂-t a reaktorba, kiszorítva ezzel a bemért acetont, ami a leengedő szelepen keresztül távozott. Miután a reaktorteret kitöltő aceton távozott a rendszerből, elzártuk a kivezetőcsövet és folyékony CO₂-dal teljesen feltöltöttük a belső teret, aminek következtében megnőtt a nyomás. A gélek pórusaiban lévő maradék acetont a folyékony CO₂ diffúzió útján kiszorítja. Az így extrahált acetont a leengedő szelep időnkénti megnyitásával eltávolítottuk a rendszerből. Ezt egészen addig folytattuk, amíg az összes aceton távozott a reaktorból, majd termosztát segítségével kb. 16°C-ra hűtöttük a rendszert, amelynek következtében a CO₂ palackból további CO₂ áramlott a reaktortérbe. Kb. 20 perc hűtést követően teljesen lezártuk a reaktort és elkezdtük felmelegíteni azt 50°C-ra, amelynek során a nyomás is emelkedni kezdett (5. ábra, bal oldal). Amikor elértük a szén-dioxid szuperkritikus állapotához szükséges hőmérséklet és nyomás értékeket, és beállt a rendszerünk egy állandó nyomásra, 2-3 órán át ebben az egyensúlyi állapotban hagytuk a reaktort. Ez azért szükséges, hogy a gélváz belsejét, a pórusokat is biztosan kitöltse a szuperkritikus CO₂. Ezután kezdetét vette a leengedés, amikor a CO₂-t egy szelepen keresztül kiveztük a reaktorból úgy, hogy a nyomásesés átlagosan 0,5-2 bar/min sebesség közé essen (5. ábra, jobb oldal). Ezt a műveletet manuálisan szabályoztuk. Az összes CO₂ leengedése, azaz a légköri nyomás elérése után az aerogélek elkészültek. A felfűtési és a leengedési nyomásprofilokat az 5. ábra mutatja be.



5. ábra A szuperkritikus szárítás során mért nyomásértékek időbeli változása.

Bal oldali ábra: Felfűtés esetén. **Jobb oldali ábra:** Leengedés esetén.



6. ábra: A szintetizált aerogélek és xerogélek képei.

3.3. Szerkezetvizsgálat

3.3.1. Pásztázó elektronmikroszkópia (SEM) és energiadisperzív röntgenfluoreszcencia spektroszkópia (EDX) vizsgálatok

A pásztázó elektronmikroszkóp felvételek elkészítését és az energiadisperzív röntgenfluoreszcencia spektroszkópia vizsgálatokat Vecsei Gergő, a Debreceni Egyetem Szilárdtest Fizikai Tanszék PhD hallgatója végezte el. Az aerogélek morfológiájának tanulmányozására kisfeszültségű pásztázó elektronmikroszkópiát (LV SEM) használtuk. A képeket egy ThermoFisher Scientific Scios 2 műszerben készítettük alacsony gyorsítófeszültség és kis elektronsugár-áram alkalmazásával, kiküszöbölve az aerogél minták töltési hatásait. [23] A mérési körülmények lehetővé tették az aerogélek friss törési felületeinek vizsgálatát érintetlen állapotukban. Az aerogélek vákuumálló szénszalaggal voltak rögzítve, további mintaelőkészítést nem történt. A mikroszkópot egy eltávolítható Bruker QUANTAX energiadisperzív röntgen (EDX) detektorral (Billerica, Massachusetts, USA) szerelték fel. Az EDX-elemzés 10 kV-os gyorsítófeszültség használatával, hosszú mérési idő alkalmazásával a jel/zaj arány javítása érdekében lett elvégezve.

3.3.2. N₂ gáz adszorpció-deszorpció porozimetria

A N₂-adszorpció-deszorpció izotermákat Quantachrome Nova 2000e műszerrel rögzítettük 77 K-en. A porított mintákat a mérések előtt 24 órán keresztül 80 °C-on vákuumban kondicionáltuk. A mért izotermák alapján a fajlagos felületet, a pórusméret-eloszlását és a gélek pórustérfogatát számoltuk ki. A $p/p_0 = 0,05 - 0,30$ tartományt használtuk a többpontos Brunauer-Emmett-Teller (BET) módszer bemeneti adataként a fajlagos felület kiszámításához, továbbá a pórusméreteloszlást és a pórustérfogatot Barrett-Joyner-Halenda (BJH) módszerrel határoztuk meg a műszert vezérlő NovaWin szoftver segítségével.

3.3.3. Röntgendiffrakciós vizsgálat (XRD)

A röntgendiffrakciós méréseket Dr. Csík Attila a HUN-REN Atommagkutató Intézet tudományos főmunkatársa végezte el. A porított minták diffrakciós spektrumainak felvétele Cu-K α besugárzás ($K\alpha_1 = 1,54059 \text{ \AA}$) alkalmazásával, Rigaku SmartLab 9,0 kW-os röntgendiffraktométer (XRD) segítségével történtek. A mérések Bragg-Brentano geometria alkalmazásával, 5 és 90 (2θ) között, 5,0 fok/perc olvasási sebességgel lettek meghatározva.

3.3.4. Infravörös spektroszkópia (IR)

A gélek infravörös spektrumát Agilent Cary 630 FT-IR spektrométerrel mértük, univerzális ATR-fej alkalmazásával. A méréseket porított gél mintákon végeztük további minta előkészítés nélkül. A minták IR-spektrumát 8 szkennelés átlagolásával vettük fel a 650-4000 cm^{-1} hullámszám tartományban.

3.3.5. Zéta-potenciál

A porított gél mintákból Potter-Elvehjem homogenizátorral 1,0 mg/ml vizes szuszpenziókat készítettünk. A szuszpenziók pH-ját HCl vagy NaOH adagolásával állítottuk be. A szuszpenziók Zéta-potenciálját pH = 2,0 és 8,0 közötti tartományban határoztuk meg MALVERN Zetasizer Nano ZS műszerrel. A műszer hagyományos beállítását követően a Zéta-potenciál értékeket a műszer vezérlő szoftvere számította ki a nyers adatokból Smoluchowski-közelítés alapján.

3.4. Kioldódásvizsgálat

3.4.1. Teljes hatóanyagmennyiség meghatározása

A nikotinsav vízben jól oldódó gyenge sav, amelynek pK_a értéke 4,82. [24] Kb. 1 mg hatóanyaggal impregnált aerogélt/xerogélt 10 ml pH=2,0-es sósavban, illetve pH=7,4-es PBS oldatban szuszpendáltunk és 20 percen át szonikáltattunk, majd kb. 20 órán keresztül kevertettünk. A kevertetés után a mintákat 20 percen keresztül 4700 rpm sebességgel centrifugáltattuk, majd a felülúszót elválasztottuk. A felülúszóban lévő hatóanyag koncentrációját spektrofotometriásan határoztuk meg, 261 nm (pH=2,0; protonált forma) és 263 nm (pH=7,4; deprotonált forma) hullámhosszon. A nikotinsav moláris abszorbanciájának ismeretében határoztuk meg a teljes hatóanyag mennyiségét, amit az egyes kioldódó közegekben felvett kalibrációs sorok alapján számítottunk.

3.4.2. Hatóanyag kioldódása különböző közegekben

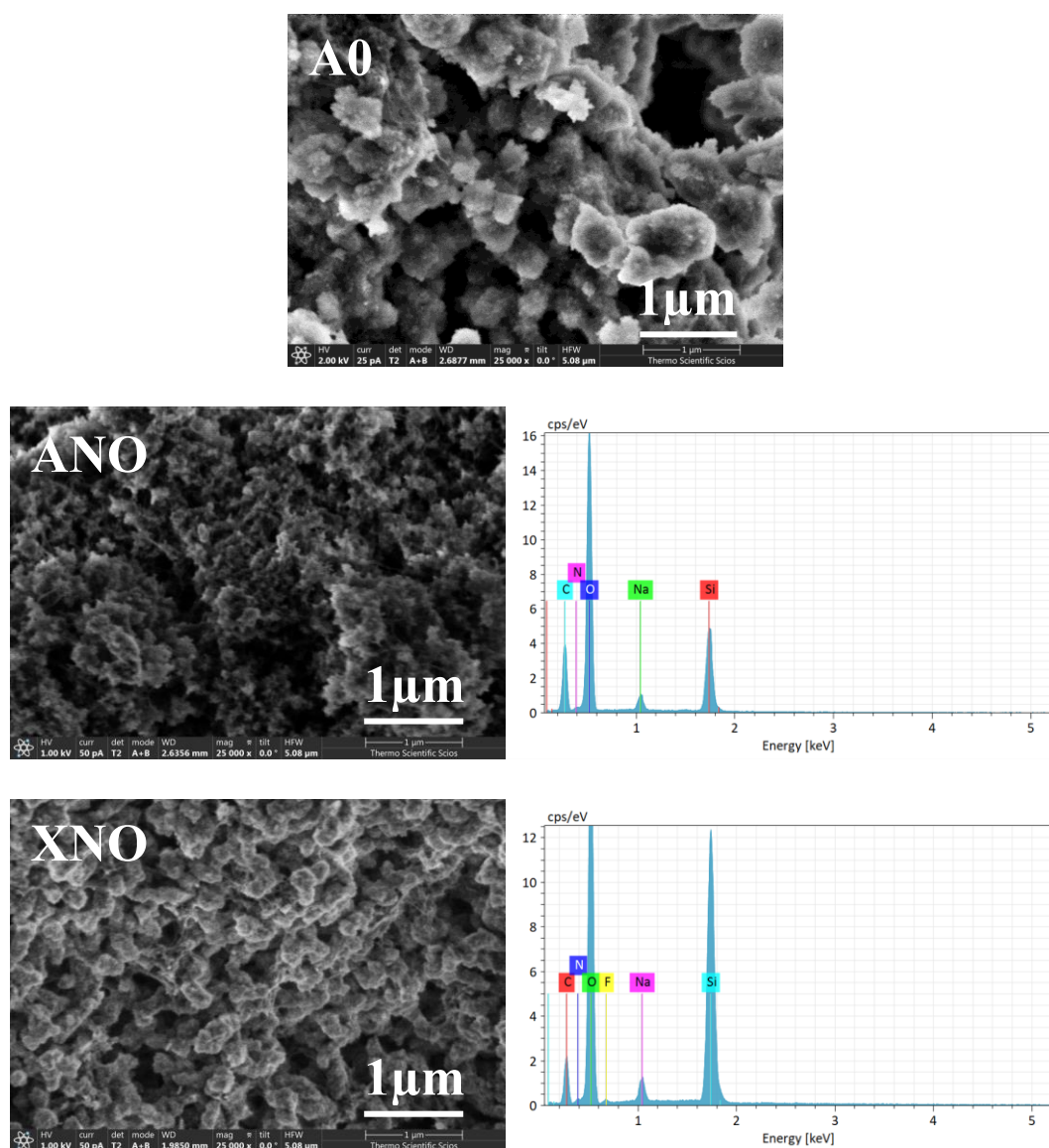
A nikotinsav hatóanyag kioldódását időben spektrofotometriásan követtük az Agilent 8453 UV-vis spektrofotométer segítségével. Az impregnált aerogélből/xerogélből 0,5-1,2 mg közötti mennyiséget mértünk be 1,0 cm × 1,0 cm-es küvettába. A kioldódó közegekkel az emberi test különböző szerveiben történő kioldódást próbáltuk szimulálni, így a két választott oldatunk a PBS-oldat (pH=7,4), illetve a pH=2,0-es HCl-oldat. A küvettába bemért impregnált anyaghoz 3,0 ml kioldóközeget adagoltunk, és megkezdjük a detektálást a 200 – 800 nm-es tartományban. 300 rpm-es folyamatos kevertetés mellett 37°C-on fél órán keresztül 20 másodpercenként rögzítettük a kioldódott hatóanyag spektrumát az idő függvényében. a koncentrációkat a 261 nm-es (pH=2,0) és a 263 nm-es (pH=7,4) abszorbanciák alapján számítottuk. A gél részecskék okozta fényszórást a 300 nm-en mért abszorbancia értékek kivonásával korrigáltuk. Ezen a hullámhosszon a fényszórás okozta abszorbancia-emelkedés megegyezik a 261 és 263 nm-en bekövetkező abszorbancia-emelkedéssel.

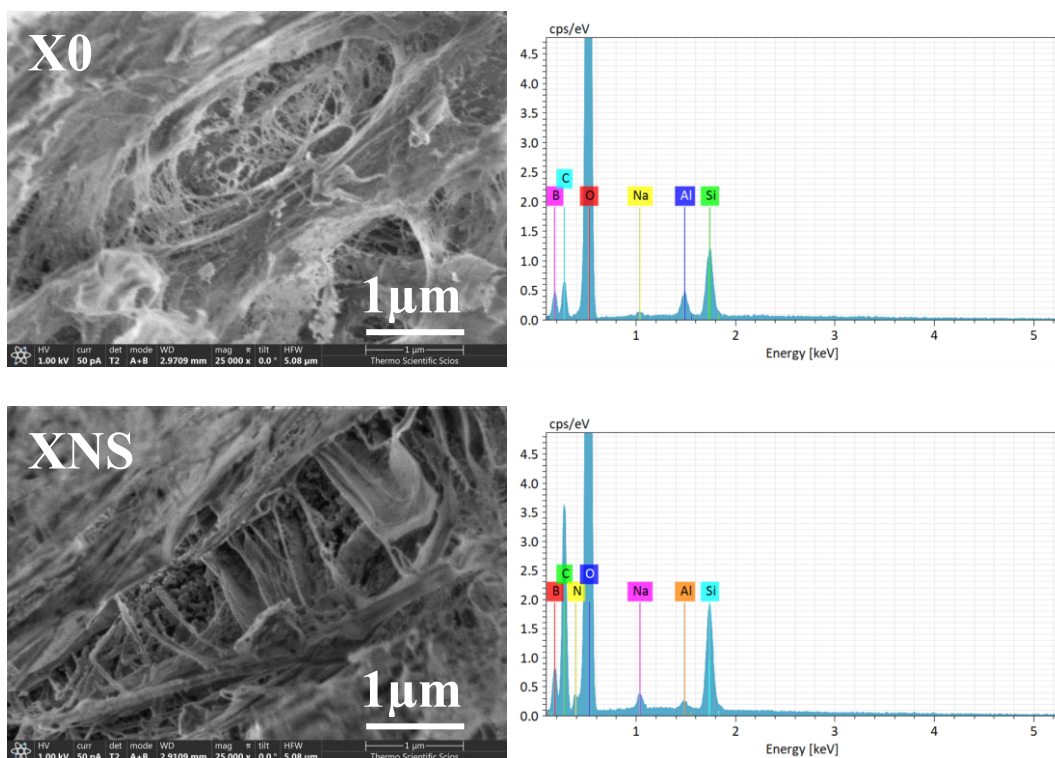
4. Eredmények és értékelésük

4.1. Szerkezetvizsgálat eredményei

4.1.1. Pásztázó elektronmikroszkópia (SEM) és energiadisperzív röntgenfluoreszcencia spektroszkópia (EDX)

Az előállított aero- és xerogelekről készült pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) felvételeket és az energiadisperzív röntgenfluoreszcencia spektroszkópia (EDX) vizsgálatok eredményeit a 7. ábra mutatja be.





7. ábra: A szilárd gélek SEM képei (bal) és EDX mérések alapján azonosított elemek spektruma (jobb).

A SEM képeken az A0 és ANO minta esetében a tiszta szilika aerogélekre jellemző szerkezet figyelhető meg. A primer gömbi nanorészecskékből álló nanostrukturált rendszerek nagyobb aggregátumokat képeznek, továbbá jól látható makropórusok is jelen vannak. Helyenként az alginát gélekre jellemző szálás szerkezet is megfigyelhető, ami a szerves és szervetlen fázisok részleges szétválására utal. Az XNO minta esetében hasonló morfológia figyelhető meg, de tömörebb szerkezettel.

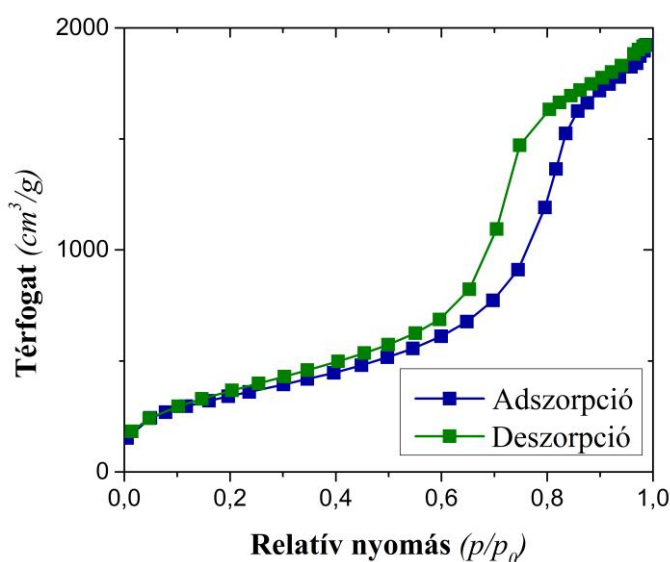
Az X0 és XNS minták más morfológiai sajátosságokkal rendelkeznek, esetükben a szilika gélekre jellemző gömbi nanorészecskékből álló szerkezet nem figyelhető meg. Az X0 mintánál egy inkább szálás-hálós szerkezet figyelhető meg, ami inkább az alginát gélekre jellemző. Az XNS minta esetében is inkább egy szálás szerkezet látható, ugyanakkor nagyobb aggregátumok is megfigyelhetők, amelyek egyfajta fázisszeparációra utalnak a szervetlen és szerves vázalkotók között.

Az EDX spektrumok alapján jól látszik, hogy a szintetizált aerogélek és xerogélek elemi összetétele a vártak megfelel. Megfigyelhetők az alapvázat alkotó elemek, azaz a szén, szilícium, nátrium és az oxigén, amik a TMOS és nátrium-alginát prekursorokból származnak. Az anyalúgból szárított X0 és XNS esetében a bórsav prekursorból származó bór is megjelenik.

A bór ezzel a technikával nehezen kimutatható, de a xerogélek tömör szerkezete lehetőséget ad a bór lokális dúsulására, így feltételezhetően a vizsgált térfogat nagyobb bórtartalma miatt detektálható. Az impregnált minták spektrumában megjelent a nitrogén is, ami a nikotinsav sikeres beépülését jelzi. Egyes esetekben az alumínium és fluor is kimutatható, amik szennyezőként jelennek meg.

4.1.2. N₂ gáz adszorpciós-deszorpciós porozimetria

A porozimetriás mérésünk segítségével meghatároztuk a szintetizált A0 aerogél fajlagos felületét (BET módszer), jellemző pórusátmérőjét, pórusméret-eloszlását és a teljes pórustérfogatát (BJH módszer). A mérés során kapott N₂ adszorpciós-deszorpciós izotermát a 8. ábra mutatja be.

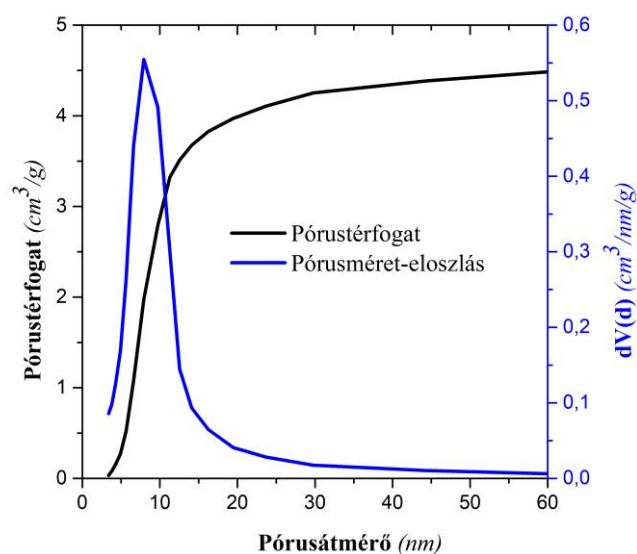


8. ábra: A0 minta N₂ adszorpciós (kék) – deszorpciós (zöld) izotermája.

Az izoterma alakja az IUPAC besorolás szerinti IV(a) típusú, ami a H2(b) és H3 hiszterézis hurkok ötvözetét tartalmazza. A IV(a) típusú izoterma azt jelenti, hogy az A0 aerogél jellemzően mezopórusos. A kompozit aerogél azonban, ahogyan azt a SEM képen (7. ábra) is láttuk, tartalmaz mikropórusokat és makropórusokat is. A mezopórusokban az adszorpciós viselkedést az adszorbens-adszorbátum kölcsönhatásai, valamint a kondenzált állapotban lévő molekulák közötti kölcsönhatások határozzák meg. Ebben az esetben a mezopórusok falán lejátszódó kezdeti egy- illetve többrétegű adszorpciót, kondenzáció követi a pórusokban. A póruskondenzáció az a jelenség, amikor egy gáz a pórusban folyadékszerű fázissá kondenzálódik egy olyan p nyomáson, amely kisebb, mint a p_0 telítési nyomása. A IV. típusú

izotermák tipikus jellemzője egy változó hosszúságú (néha egyszerű inflexiós pontra redukált) végső telítési plató, amit azon a relatív nyomáson érünk el, amelyen már a pórusok telítettek a kondenzátummal. A mi esetünkben ez a plató nem figyelhető meg, ami azzal magyarázható, hogy az aerogél makropórusokat is tartalmaz, amiket a N_2 nem tud telíteni. A IV(a) típusú izotermák esetében a kapilláris kondenzációt hiszterézis kíséri a deszorpciós ágban. Ez akkor következik be, amikor a pórusszélesség meghalad egy bizonyos kritikus szélességet, amely az adszorpciós rendszertől és a hőmérséklettől függ. A H2 típusú hiszterézishurkok esetén „tintasüveg” alakú pórusok figyelhetők meg, ami esetén a kondenzátum póruselzáródást okoz. A H2(b) típusú hiszterézishurok esetén a „tintasüveg” nyakszélességének méreteloszlása sokkal nagyobb, mint a H2(a) típus esetén, amelynek következtében a deszorpciós ág egy elnyújtottabb csökkenést mutat, mint a H2(a) esetén. A H3 típusú hiszterézishurok a már említett plató hiányával jár, ami a makropórusok jelenlétére utal. [25]

A pórusméret-eloszlást és a teljes pórustérfogatot a 9. ábra, az egyéb számított szerkezeti jellemzőket pedig a 2. táblázat mutatja be. A kapott értékek alapján jól látható, hogy az A0 minta az aerogélekre jellemző nagy fajlagos felülettel ($1229 \text{ m}^2/\text{g}$) és főként mezopórusos szerkezettel rendelkezik.



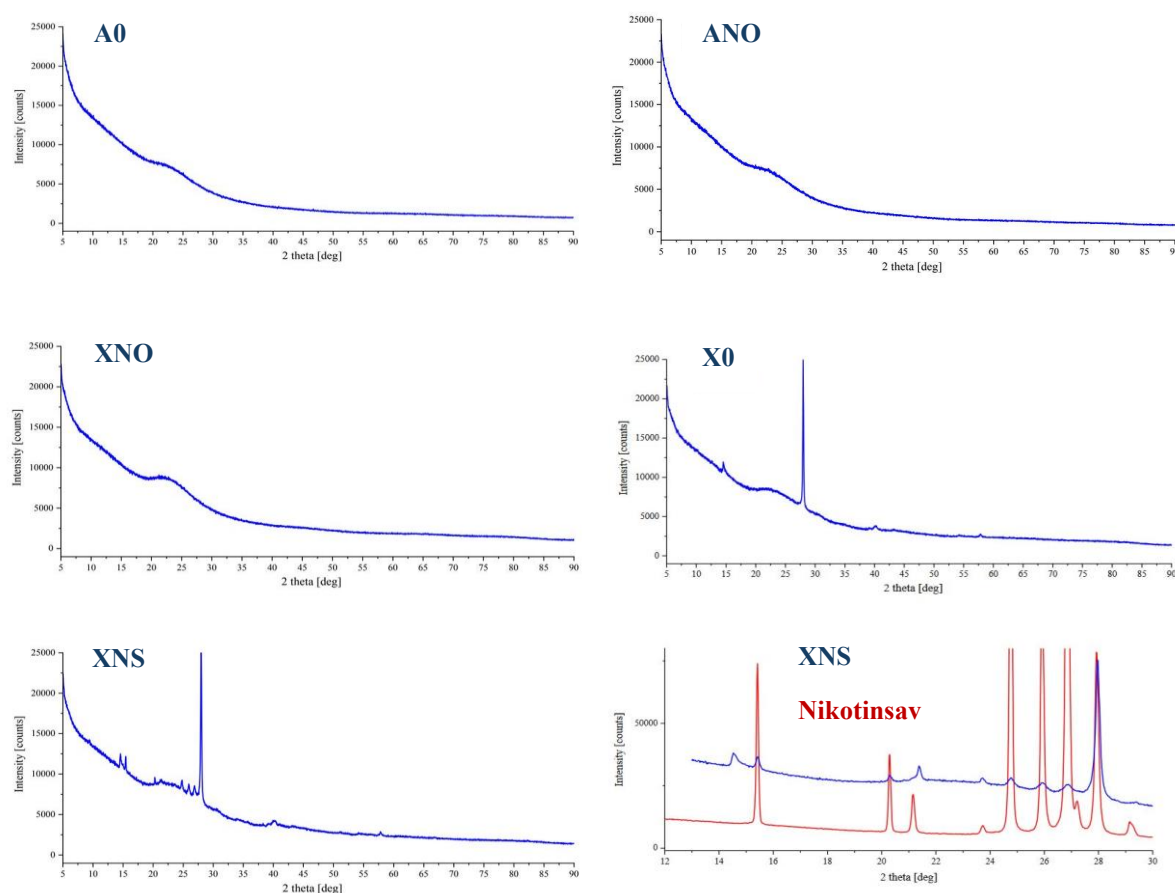
9. ábra: Az A0 aerogél pórustérfogata (fekete) és pórusméret-eloszlása (kék) a N₂-szorpciós mérés deszorpciós ágából BJH módszerrel számolva.

2. táblázat: A0 minta szerkezeti jellemzői a N₂-szorpciós mérések alapján.

Információ	Kiértékelés módja	Számított érték
Fajlagos felület (m ² /g)	BET	1229
Jellemző pórusátmérő (nm)	BJH	6,6
Teljes pórustérfogat (cm ³ /g)	BJH	2,99

4.1.3. Röntgendiffrakciós vizsgálat (XRD)

Az XRD mérés eredményeit a 10. ábra mutatja be. A mért XRD spektrumok alapján az A0, ANO és XNO minták amorf szerkezetűek, míg az X0 és XNS minták kristályos részeket tartalmaznak. Irodalmi adatokkal összehasonlítva megállapítható, hogy az X0 és XNS minták kristályos bórsavat tartalmaznak. [26] Az XNS mintánál továbbá megfigyelhető a nikotinsavra jellemző diffrakciós csúcsok megjelenése is, ami a sikeres impregnálás mellett a nikotinsav kristályos formában történő beépülését jelzi.



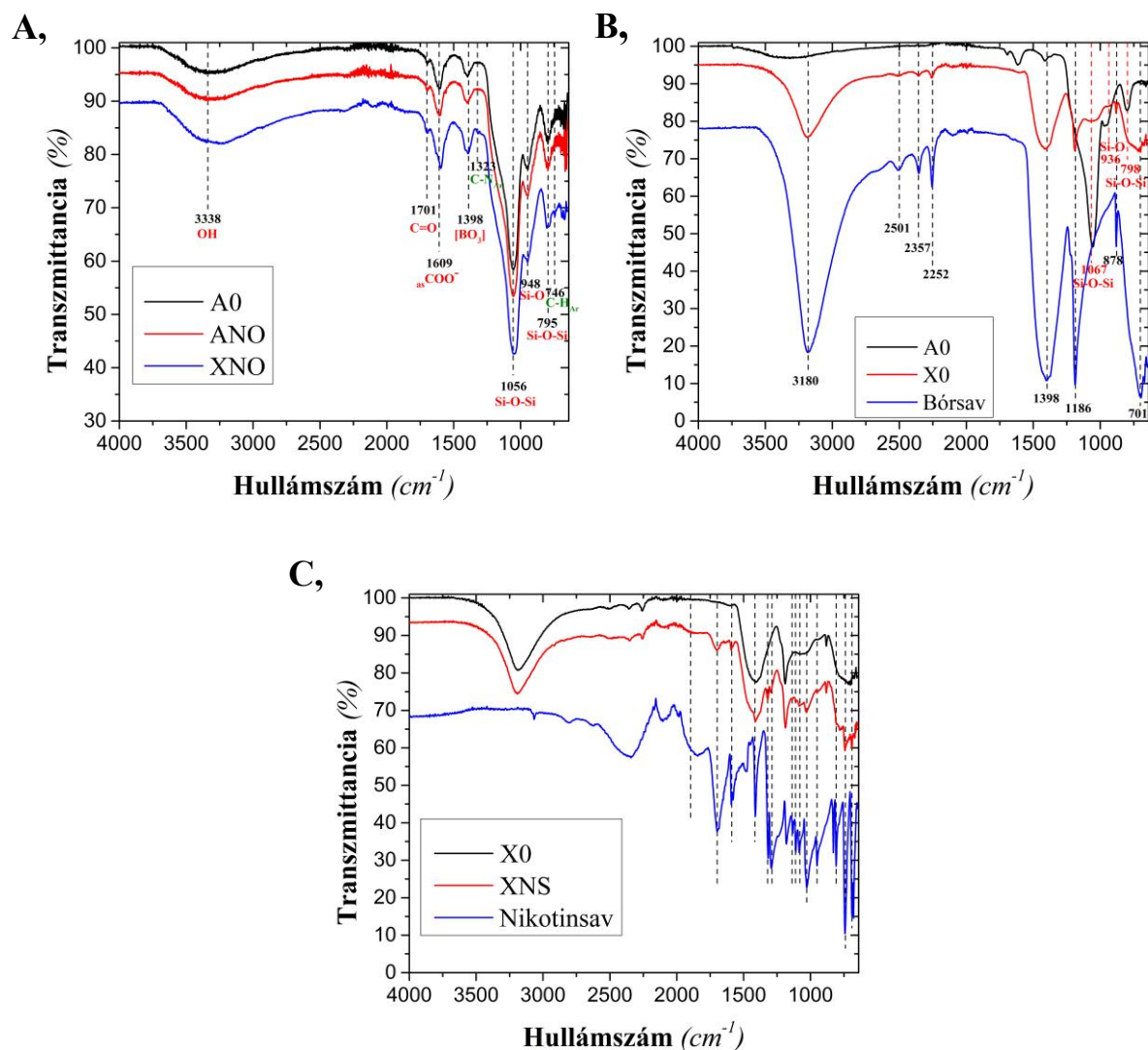
10. ábra: A nyers és a hatóanyaggal impregnált szilárd gélek, valamint a nikotinsav XRD diffraktogramja.

4.1.4. Infravörös spektroszkópia (IR)

A szilárd gélek IR spektrumát a 11. ábra mutatja be. Az „A” grafikon az A0, X0 és XNO minták spektrumait tartalmazza. A hibrid gélek komponenseinek IR jelei jól azonosíthatók. Megfigyelhető a Si-O kötésre jellemző vegyértékrezgés ($\sim 948\text{ cm}^{-1}$), valamint a Si-O-Si aszimmetrikus és szimmetrikus vegyértékrezgések ($\sim 1056\text{ cm}^{-1}$ és $\sim 795\text{ cm}^{-1}$). [27, 28] A $[\text{BO}_3]$ csoport B-O kötéseire jellemző antiszimmetrikus vegyértékrezgés is megfigyelhető 1398 cm^{-1} hullámszámnál. [29, 30] 3300 cm^{-1} környékén látható egy széles csúcs, ami az -OH csoportokra jellemző vegyértékrezgésekre utal (Si-OH, C-OH, B-OH). [31] $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ -nél a C=O kötésre jellemző vegyértékrezgés, míg $\sim 1610\text{ cm}^{-1}$ hullámszámnál a COO^- csoportra jellemző asszimmetrikus rezgés látható. [31] 1323 cm^{-1} -nél az aromás C-N kötésre, 746 cm^{-1} -nél pedig az aromás C-H kötésre jellemző nyújtórezgések figyelhetők meg. [31] Ez a két csúcs együtt a nikotinsav beépülését jelzi a XNO minta esetén. A másik két mintánál a felsorolt IR jelek alapján a szilika, bórsav és nátrium alginát jelenléte mutatható ki.

A „B” grafikonon az A0 és X0 minták és a kristályos bórsav spektrumai láthatóak. Megfigyelhető, hogy a kristályos bórsav jelei az X0 mintában nagyon intenzívek, emiatt ez a legtöbb jelet elnyomja, egyedül az Si-O és Si-O-Si kötésekre jellemző csúcsok figyelhetők meg. Az előző fejezetben bemutattuk az XRD mérések eredményeit, amik kimutatták, hogy az X0 és XNS minták kristályos bórsavat tartalmaznak, viszont A0, ANO és XNO esetében teljesen amorf szerkezet volt megfigyelhető. A kristályos anyagoknak sokkal intenzívebb és erősebb a jele az IR mérésekben, míg az amorf anyagokra szélesebb csúcsok jellemzőek, így emiatt feltételezhető, hogy a kristályos bórsav elnyomja a többi komponens jelét az X0 mintában. [32]

A „C” grafikonon X0, XNS minták és nikotinsav spektrumai találhatók. Az XNS minta spektrumában X0-hoz képest fellelhető egyéb csúcsok a nikotinsav jelenlétére utalnak. A kimutathatósága a hatóanyagnak azért ilyen jó, mert a nikotinsav ebben az esetben kristályos formában épül be a gélbe.

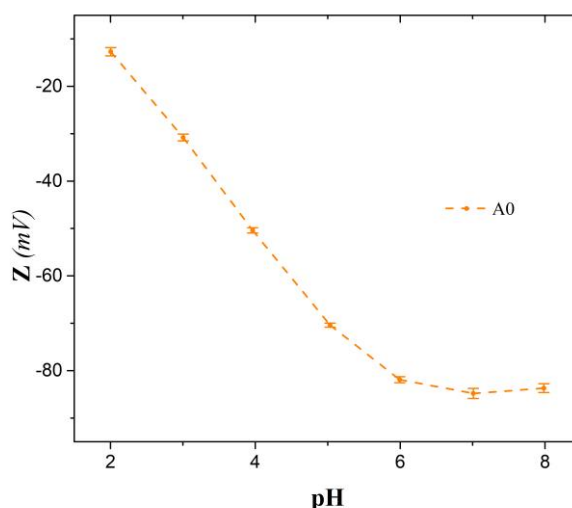


11. ábra: A szilárd gélek, valamint a bórsav és a nikotinsav IR spektrumai. Az egyes minták spektrumai a grafikonokon vertikálisan eltolva szerepelnek a könnyebb értelmezhetőség érdekében.

A grafikon: A0, ANO, XNO; **B grafikon:** A0, X0, bórsav; **C grafikon:** X0, XNS, nikotinsav.

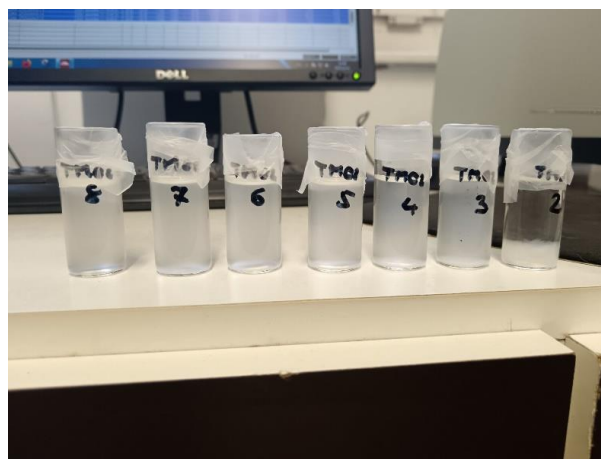
4.1.5. Zéta-potenciál

Zéta-potenciál mérést csak az A0 mintán végeztünk. Az aerogélt nedves őrléssel szuszpendáltuk a megfelelő pH értékű vizes közegben. A kapott eredményeket a 12. ábra mutatja be.



12. ábra: Az A0 minta szuszpenzióinak Zéta-potenciál értékei a pH függvényében.

A 12. ábra alapján megállapítható, hogy a hidratált részecskék töltése még kicsi pH-n is negatív, ami a pH növekedésével egyre negatívabb lesz. Ennek az oka az lehet, hogy minél nagyobb pH-értéknél vizsgáltuk a szuszpenziókat, az alginát karboxilcsoportjai annál jobban deprotonálódtak (nátrium-alginát: $pK_a \sim 3,2 - 4,4$ [33]). A 13. ábrán különböző pH értékeken készített töményebb aerogél szuszpenziók láthatók. Megfigyelhető, hogy a pH csökkenésével a szuszpenzió tömörödik, ülepszik. Ennek oka az, hogy pH=2-nél már 0 mV körüli Zéta-potenciál értéket mértünk, aminél a szuszpenzió nem stabil.

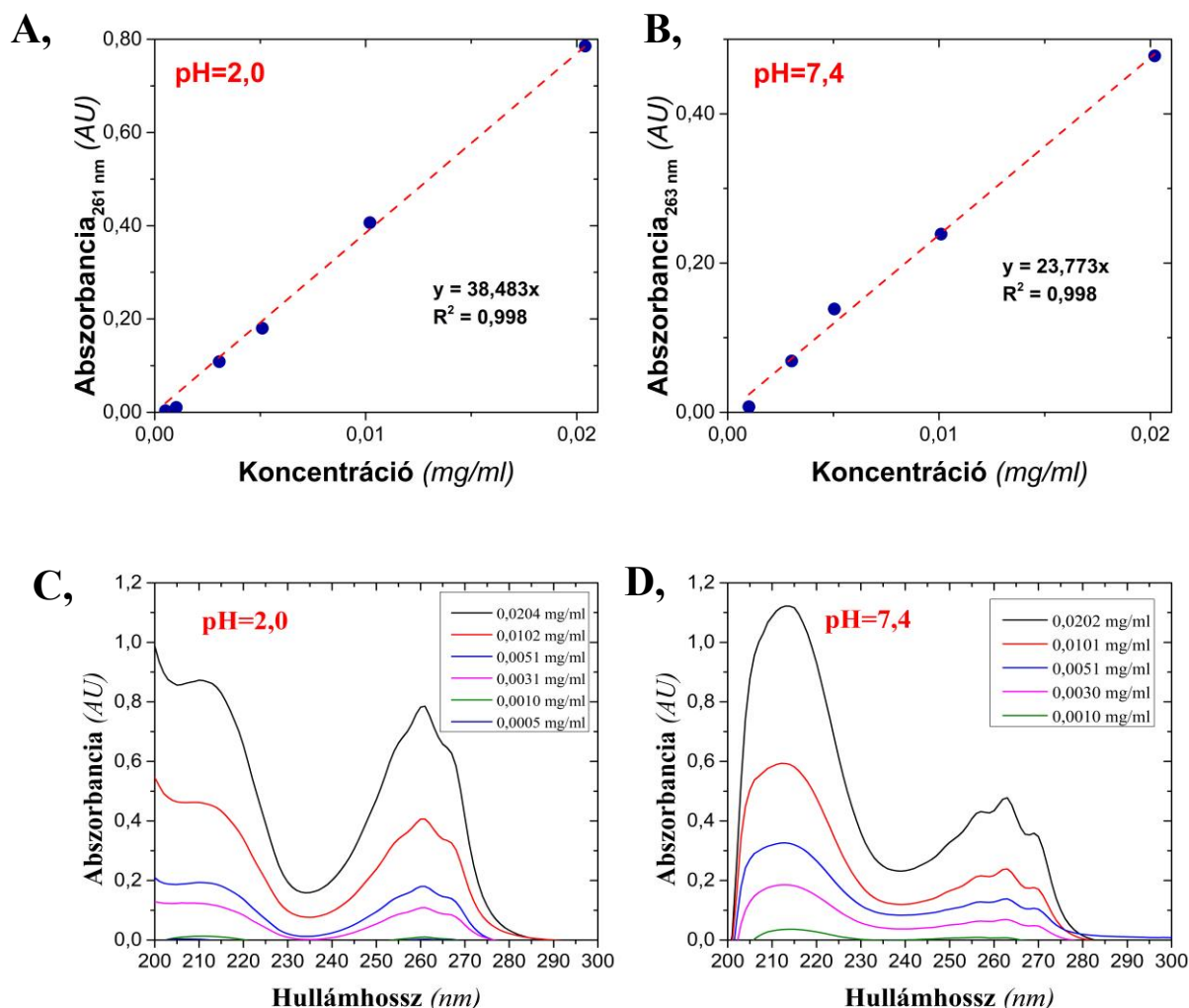


13. ábra: Aerogél szuszpenziók különböző pH értékeken.

4.2. Hatóanyag kioldódása

4.2.1. Kvantitatív UV-vis mérések nikotinsav-koncentráció meghatározásra

A dinamikus kioldódási profilok értelmezéséhez és a teljes hatóanyagmennyiség meghatározásához UV-vis spektrofotometriás kalibráló sorokat készítettünk pH=2,0-n és pH=7,4-en. A nikotinsav-koncentrációt az előbbi esetben a 261 nm-en, míg az utóbbi esetben a 263 nm-en mért abszorbancia értékekből számoltuk (14. ábra).



14. ábra: A nikotinsav Uv-vis spektrofotometriás kalibráló sorai pH=2,0-n (A) és pH=7,4-en (B), valamint a teljes spektrumok pH=2,0-n (C) és pH=7,4-en (D).

4.2.2. Teljes hatóanyag-mennyiség meghatározása

A teljes hatóanyagtartalom meghatározásához a vizsgált mintákat a kioldóközegben szonikáltuk és hosszan kevertettük. A felülúszókban UV-vis spektrofotometriásan határoztuk meg a nikotinsav koncentrációját, és ebből kiszámoltuk az impregnált gélek hatóanyag-tartalmát, valamint az impregnálási eljárás hatásfokát, amiket a 3. táblázat mutat be.

3. táblázat: Az impregnált aerogélek/xerogélek teljes hatóanyag-tartalma és az impregnálási eljárás hatásfoka.

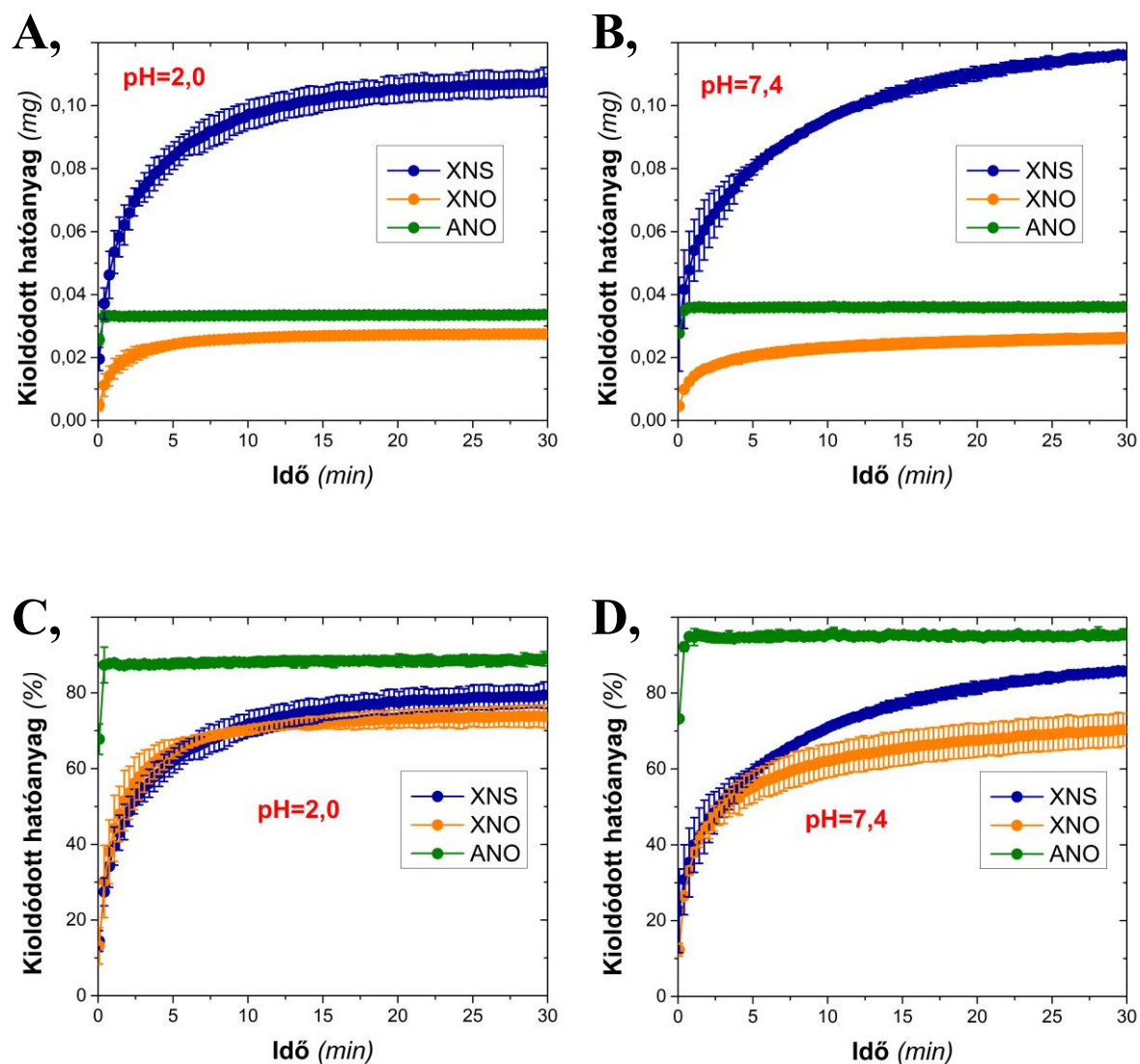
ANO	XNO	XNS
Nikotinsav tartalom pH=2 (m/m%)		
3,78 ± 0,37	3,27 ± 0,11	13,17 ± 0,11
Nikotinsav tartalom pH=7,4 (m/m%)		
3,78 ± 0,27	3,72 ± 0,24	13,53 ± 1,04
Impregnálási hatásfok (%)		
~16,22	~15,95	100

Az eredmények azt mutatják, hogy a száraz gélekben a legnagyobb hatóanyag-tartalmat, akkor tudjuk elérni, amikor a szintézis során visszük be a nikotinsavat, majd oldószercsere nélkül légköri nyomáson szárítjuk ki a gélét. Ennek köszönhetően nem történik veszteség a hatóanyag bevitelénél, így az impregnálási hatásfok közel 100%. Az ANO és XNO minták egy sarzsból készültek és a szárítási eljárások során nem történt veszteség. Az impregnálási hatásfokot esetükben a következő módon számítottuk. A száraz gélek elméleti számított tömege 5,23 g, feltételezve, hogy azok szervesetlen része SiO_2 és B_2O_3 egységekből áll, a nátrium-alginát pedig változatlan kémiai szerkezettel épül be a vázba. Ismerjük továbbá a feloldott összes nikotinsav mennyiségét, ami 1,27 g. A fotometriával mért hatóanyagtartalom alapján így kiszámítottuk az impregnálási hatásfokot (3. táblázat).

4.2.3. Hatóanyag kioldódása különböző közegekben

A fotometriásan mért hatóanyag-kioldódási görbék a 15. ábrán láthatók. Az összehasonlíthatóság érdekében a kioldódási profilokat minden mintára vetítve egységesen 1,0 mg bemért tömeg esetén ábrázoltuk. A felső 2 grafikon („A” és „B”) azt mutatja meg, hogy időben követve mekkora mennyiségű hatóanyag oldódik ki a gélekből a két kioldóközegben. A legnagyobb nikotinsav mennyiség az XNS esetében oldódott ki. A profilok azt mutatják, hogy az aerogél esetében robbanásszerűen kioldódik a hatóanyag, míg a xerogélek esetében nyújtott kioldódás figyelhető meg. Az XNS esetén a leghosszabb a kioldódás. Ez azzal magyarázható, hogy ebben a gélben a nikotinsav kristályos formában van jelen, ami egy elnyújtottabb hatóanyag-felszabadulást eredményez. A másik két gél esetében amorf formában volt jelen a hatóanyag, ami gyorsabb kioldódást eredményez. A két kioldódó közeg közül a PBS (pH=7,4) oldatban tudtuk elérni a nagyobb hatóanyag-leadást a vizsgált időtartamban. Ennek oka az lehet, hogy a közegben a nikotinsav deprotonált formában volt jelen, illetve a Zéta-potenciál mérés alapján a gél hordozó is negatívan töltött, ami elősegíti a hatóanyag deszorpcióját a hordozó felületéről. Továbbá pH=7,4-en a xerogélek esetén egy még inkább elnyújtottabb hatóanyag-leadás figyelhető meg a pH=2,0-n mért görbékkel összehasonlítva.

A 15. ábra alsó 2 grafikonja („C” és „D”) azt mutatja meg, hogy az impregnált nikotinsav (lásd 3. táblázat) mennyiségének hány százaléka oldódott ki a gélekből a vizsgált időtartam alatt. Az figyelhető meg, hogy az aerogél esetében szabadul fel legnagyobb hatékonysággal a hatóanyag, míg a xerogélek esetében kisebb kioldódási arány jellemző. Ennek a jelenségnek morfológiai okai lehetnek, amit a SEM képek és a porozimetriás vizsgálatok is alátámasztanak. Az aerogél nyitottabb hálózatu, nagyobb méretű pórusokkal rendelkezik, ezáltal az impregnált nikotinsav könnyen képes kioldódni a vizes közegbe, míg a xerogél minták tömörebb, zártabb szerkezetűek, ezáltal a kioldódás is gátoltabb.



15. ábra: A hatóanyag-kioldódása az impregnált gélekből pH=2,0-n (A, C) és pH=7,4-en (B, D). A, B: 1,0 mg gélből kioldódott hatóanyag-mennyiség az idő függvényében. C, D: Nikotinsav százalékos kioldódása az idő függvényében.

5. Összefoglalás

Kutatómunkánk során sikeresen szintetizáltunk boroszilikát-alginát kompozit géleket, amikből különböző szárítási módszerekkel xerogéleket és aerogéleket állítottunk elő. Ezekbe a mintákba különböző impregnálási stratégiákkal sikeresen bevittünk nikotinsav modell-hatóanyagot. Vizsgáltuk a szilárd gélek kémiai összetételét infravörös spektroszkópiával, a morfológiájukat pásztázó elektronmikroszkóppal és N_2 adszorpciós-deszorpciós porozimetriával, továbbá XRD mérések segítségével kristályosságukról is információt szereztünk. Aerogéleknél alapvetően primer gömbi részecskékből felépülő nanostrukturált szerkezet figyelhető meg, de elszórtan alginát biopolimer szálak is láthatók. Összességében mezopórusos szerkezet jellemző az aerogélekre, de jelen vannak makro- illetve mikropórusok is. Az acetontól szárított xerogél esetén hasonló morfológiai tulajdonságok figyelhetők meg, de tömörebb a szerkezet, míg az anyalúgból szárított xerogélek teljesen más morfológiai jellemzőket mutatnak. A bór egyedül X0 és XNS minták esetén volt kimutatható, ami a bór-tartalom lokális dúsulásával magyarázható. Az IR az impregnálás sikerességét mutatják, és XRD méréssel megállapítottuk, hogy a szintéziskor történő impregnálás során kristályos formában épül be a hatóanyag, míg a többinél amorf formában. A Zéta-potenciál mérés alapján a hidratált aerogél részecskék felülete pH=2-8 tartományban végig negatívan töltött és a lúgos tartomány felé haladva ez a negatív töltöttség egyre nagyobb, feltételezhetően a deprotonált karboxil csoportok megjelenésének köszönhetően.

Az impregnált mintákat spektrofotometriásan vizsgáltuk az emberi test különböző szerveiben történő hatóanyag-kioldódást szimulálva PBS-ben (pH=7,4) és sósavban (pH=2,0). A kapott mérési eredményeket ábrázolva megkaptuk a kioldódási profilokat, amiket ezután a gélek tulajdonságai alapján elemeztünk. Megállapítottuk, hogy a különböző formulálási technológiákkal más-más eredmény érhető el az aero-/xerogélek gyógyszerhordozó-rendszerekként való alkalmazásában. Aerogél esetében a hatóanyag amorf formában impregnálható, ami a nagyméretű pórusokkal kiegészülve gyors és nagy hatékonyságú leadást eredményez, amely vízben rosszul oldódó hatóanyagok esetén kedvező lehet. Az acetontól szárított xerogélekből elnyújtottabb és gátoltabb a leadás. Előnye, hogy a gélben nincsenek visszamaradt szennyezők az acetonnal végzett oldószer-csere miatt. Az anyalúgból szárított xerogélben értük el a legnagyobb hatóanyag dózist, illetve a kristályos hatóanyag forma és a xerogél tömörebb szerkezete az elnyújtott leadást segíti. Hátránya ennek a módszernek az, hogy anyalúgból visszamaradt szennyezőket tartalmazhat a minta.

6. Summary

In our research, we have successfully synthesized borosilicate-alginate composite gels, from which xerogels and aerogels were prepared by different drying methods. The model drug, nicotinic acid was successfully impregnated into these samples by different impregnation strategies. The chemical composition of the solid gels was investigated by infrared spectroscopy, their morphology by scanning electron microscopy and N₂ adsorption-desorption porosimetry, and information on their crystallinity was obtained by XRD measurements. The nanostructure of aerogels is mainly built up by primary spherical particles, but biopolymer fibers are also observed. Overall, a mesoporous structure is characteristic for the aerogels, but macro- and micropores are also present. Similar morphological features are observed for xerogels dried by acetone, but with a denser structure, while completely different morphological features are observed for xerogels dried from mother liquor. Boron was detected only in the X0 and XNS samples by EDX, which can be explained by the local enrichment of boron content. IR and XRD measurements proved the presence of nicotinic acid in impregnated gels, which supports the success of the impregnation strategies. Furthermore, by XRD measurements, it was found that the drug is incorporated in crystalline form during the impregnation process of the synthesis, while in the others it is incorporated in amorphous form. Zeta-potential measurement showed that the surface of the hydrated aerogel particles is negatively charged throughout the pH=2-8 range and that this negative charge increases towards the alkaline range, presumably due to the appearance of deprotonated carboxyl groups.

The release of nicotinic acid from impregnated samples was investigated using spectrophotometry in PBS (pH = 7.4) and hydrochloric acid (pH = 2.0) to simulate drug release characteristics in physiological and gastric environments of the human body. The results obtained were plotted and the release profiles were then analyzed. Based on the measurements performed and analyzed, it was concluded that different formulation technologies can give different results in the study of aero-/xerogels as drug delivery systems. For aerogels, the drug can be impregnated in an amorphous form, which, in combination with large pores, results in rapid and highly efficient release, which can be beneficial for poorly water-soluble drugs. The release from xerogels dried from acetone is more prolonged and inhibited. It has the advantage that there are no residual contaminants in the gel due to solvent exchange with acetone. The xerogels dried from the mother liquor have the highest dosage and the crystalline form and denser structure of the xerogels promote a prolonged release. The disadvantage of this method is that the sample contains residual contaminants, which may be unreacted precursors.

7. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani mindazoknak, akik támogattak és hozzájárultak TDK dolgozatom elkészítéséhez.

Köszönettel tartozom a közös munkáért és a rengeteg segítségért *Balogh Zoltánnak*, aki időt nem sajnálva mindig nagy türelemmel segített bármilyen kérdésemben, köszönöm a rengeteg hasznos tudást és szakmai tapasztalatot, amit az együtt töltött munka során átadott.

Köszönöm *Dr. Kalmár Józsefnek* a szakmai támogatását és iránymutatását, segítő tanácsait. Hálával tartozom, hogy meghívásának köszönhetően részt vehetek kutatócsoportjának munkájában, és egy nagyszerű és támogató közösség tagja lehetek.

Hálásan köszönöm *Prof. Dr. Fábián István* egyetemi tanárnak, hogy a HUN-REN-DE Összetett Homogén és Heterogén Fázisú Kémiai Reakciók Mechanizmusa Kutatócsoport tagja lehetek és kutatómunkát végezhetek.

Köszönöm *Dr. Csík Attilának* az XRD mérések elvégzését és *Vecsei Gergőnek* a SEM képek elkészítését és az EDX spektrumok felvételét.

Köszönetemet szeretném kifejezni a kutatócsoport összes tagjának, akikhez a labormunka során bizalommal fordulhattam bármilyen kérdéssel.

Végül, de nem utolsó sorban végtelenül hálás vagyok *Szüleimnek, a Családomnak és Nagypapámnak*, akivel már sajnos nem oszthatom meg eredményeimet, amikre mindig nagyon büszke volt. Köszönöm nekik a sok szeretetet, biztatást és végtelen támogatást.

8. Irodalmi hivatkozások

1. Gomollón-Bel, F., *IUPAC Top Ten Emerging Technologies in Chemistry 2022: Discover the innovations that will transform energy, health, and materials science, to tackle the most urgent societal challenges and catalyse sustainable development*. Chemistry International, 2022. **44**(4): p. 4-13.
2. Aegerter, M.A., et al., *Springer handbook of aerogels*. 2023: Springer Nature.
3. Maleki, H., et al., *Synthesis and biomedical applications of aerogels: Possibilities and challenges*. Advances in colloid and interface science, 2016. **236**: p. 1-27.
4. Soorbaghi, F.P., et al., *Bioaerogels: Synthesis approaches, cellular uptake, and the biomedical applications*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019. **111**: p. 964-975.
5. Lázár, I. and I. Fábián, *A continuous extraction and pumpless supercritical CO₂ drying system for laboratory-scale aerogel production*, Gels 2 (2016) 26.
6. Verma, N.K., P. Khare, and N. Verma, *Synthesis of iron-doped resorcinol formaldehyde-based aerogels for the removal of Cr (VI) from water*. Green Processing and Synthesis, 2015. **4**(1): p. 37-46.
7. Maleki, H., L. Durães, and A. Portugal, *An overview on silica aerogels synthesis and different mechanical reinforcing strategies*. Journal of Non-Crystalline Solids, 2014. **385**: p. 55-74.
8. Ratke, L. and P. Gurikov, *The chemistry and physics of aerogels: synthesis, processing, and properties*. 2021: Cambridge University Press.
9. Meti, P., et al., *Overview of organic–inorganic hybrid silica aerogels: Progress and perspectives*. Materials & Design, 2022. **222**: p. 111091.
10. Zheng, L., et al., *Engineering of aerogel-based biomaterials for biomedical applications*. International Journal of Nanomedicine, 2020: p. 2363-2378.
11. Balogh, Z., et al., *Nanoscale Structural Characteristics and In Vitro Bioactivity of Borosilicate–Poly (vinyl alcohol)(PVA) Hybrid Aerogels for Bone Regeneration*. ACS Applied Nano Materials, 2024. **7**(4): p. 4092-4102.
12. Groult, S., S. Buwalda, and T. Budtova, *Tuning bio-aerogel properties. Part 3: Exploring silica-pectin composite aerogels for drug delivery*. Biomaterials Advances, 2024. **163**: p. 213954.

13. Nagy, G., et al., *Controlled release of methotrexate from functionalized silica-gelatin aerogel microparticles applied against tumor cell growth*. International journal of pharmaceutics, 2019. **558**: p. 396-403.
14. Veres, P., et al., *Mechanism of drug release from silica-gelatin aerogel—Relationship between matrix structure and release kinetics*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2017. **152**: p. 229-237.
15. Kéri, M., et al., *Gelatin content governs hydration induced structural changes in silica-gelatin hybrid aerogels—Implications in drug delivery*. Acta biomaterialia, 2020. **105**: p. 131-145.
16. Stergar, J. and U. Maver, *Review of aerogel-based materials in biomedical applications*. Journal of Sol-Gel Science and Technology, 2016. **77**: p. 738-752.
17. García-González, C.A., et al., *Aerogels in drug delivery: From design to application*. Journal of Controlled Release, 2021. **332**: p. 40-63.
18. Okada, H. and H. Toguchi, *Biodegradable microspheres in drug delivery*. Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1995. **12**(1).
19. Siepmann, J. and F. Siepmann, *Modeling of diffusion controlled drug delivery*. Journal of controlled release, 2012. **161**(2): p. 351-362.
20. Forgács, A., et al., *Mechanism of hydration and hydration induced structural changes of calcium alginate aerogel*. ACS applied materials & interfaces, 2021. **13**(2): p. 2997-3010.
21. Veronovski, A., Z. Novak, and Ž. Knez, *Synthesis and use of organic biodegradable aerogels as drug carriers*. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, 2012. **23**(7): p. 873-886.
22. Gonçalves, E.M. and M.E.M. Da Piedade, *Solubility of nicotinic acid in water, ethanol, acetone, diethyl ether, acetonitrile, and dimethyl sulfoxide*. The Journal of Chemical Thermodynamics, 2012. **47**: p. 362-371.
23. Juhász, L., et al., *False morphology of aerogels caused by gold coating for SEM imaging*. Polymers, 2021. **13**(4): p. 588.
24. Gritti, F. and G. Guiochon, *Characteristics of the adsorption mechanism of acido-basic compounds with two pKa in reversed-phase liquid chromatography*. Journal of Chromatography A, 2009. **1216**(41): p. 6917-6930.
25. Thommes, M., et al., *Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report)*. Pure and applied chemistry, 2015. **87**(9-10): p. 1051-1069.

26. Bingöl, M.S. and M. Çopur, *Determination of optimum conditions for boric acid production from colemanite by using co2 in high-pressure reactor*. Journal of CO2 Utilization, 2019. **29**: p. 29-35.
27. Al-Oweini, R. and H. El-Rassy, *Synthesis and characterization by FTIR spectroscopy of silica aerogels prepared using several Si (OR) 4 and R'' Si (OR') 3 precursors*. Journal of Molecular Structure, 2009. **919**(1-3): p. 140-145.
28. Innocenzi, P., *Infrared spectroscopy of sol–gel derived silica-based films: a spectral-microstructure overview*. Journal of non-crystalline solids, 2003. **316**(2-3): p. 309-319.
29. Shao, G., et al., *Thermal shock behavior and infrared radiation property of integrative insulations consisting of MoSi2/borosilicate glass coating and fibrous ZrO2 ceramic substrate*. Surface and Coatings Technology, 2015. **270**: p. 154-163.
30. Wan, J., J. Cheng, and P. Lu, *The coordination state of B and Al of borosilicate glass by IR spectra*. Journal of Wuhan University of Technology-Mater. Sci. Ed., 2008. **23**: p. 419-421.
31. Socrates, G., *Infrared and Raman characteristic group frequencies: tables and charts*. 2004: John Wiley & Sons.
32. Larkin, P., *Infrared and Raman spectroscopy: principles and spectral interpretation*. 2017: Elsevier.
33. Cao, P., Z.P. Xu, and L. Li, *Tailoring functional nanoparticles for oral vaccine delivery: recent advances and future perspectives*. Composites Part B: Engineering, 2022. **236**: p. 109826.