

### **Ciprofloxacín étel-interakciójának in vitro vizsgálata**

Gyógyszer-étel interakció számos mechanizmus eredményeként alakulhat ki és befolyásolhatja a hatóanyagok felszívódásának mértékét, egyes gyógyszerek farmakokinetikai tulajdonságait. A hatóanyag felszívódott hányadát jelentősen módosíthatja a táplálék összetétel. A folyamat okozhatja fizikai-kémiai paraméterek (pl.: oldékonyság) ill. biokémiai (pl. enzim indukció révén) folyamatok megváltozását is. A bekövetkező kölcsönhatások végső soron a farmakon klinikai felhasználását befolyásolhatják.

Hazánkban a bakteriális klinikai infekciók egyik leggyakrabban alkalmazott antibiotikumaként a ciprofloxacín, amely a tejben található fémionokkal (pl. alumínium, magnézium, cink, kalcium) alacsony oldékonyságú komplexet képez. Az így keletkezett ciprofloxacín-kelát komplexek akadályozzák a hatóanyag felszívódását és eljutását a hatás helyére. Irodalmi adatok alapján felmerült annak a lehetősége is, hogy ennek oka nem csak komplexképződés, hanem részben más élelmiszer alkotók, részben pedig a keletkezett komplex vegyületek egyéb tulajdonságai.

Munkánk során Ciprinol® 500 mg-os filmtabletta viselkedését vizsgáltuk zsírban gazdag és zsírszegény élelmiszerekkel modellezett közegben in vitro kioldódás vizsgálat segítségével. A gasztrointesztinális rendszer egyes szakaszait a pH értékek (gyomor 1,2; bélrendszer 4,5 és 6,8) figyelembevételével modelleztük. Az elfogyasztott táplálékot megfelelő mennyiségű fehérjével, szénhidráttal, olajjal helyettesítettük a kioldóközegekben. A minták szabad ciprofloxacín tartalmát szilárd fázisú extrakciós minta előkészítés után nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiával kapcsolt tömegspektrometriával, LC-MS módszerrel, határoztuk meg.

Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy zsírban gazdag közegben a kioldódási profil jelentős eltérést mutat a zsírszegény modellrendszerhez képest, kisebb mennyiségű CPFX oldódik ki a filmtablettából pH-tól függően, mint a zsírszegény közeg esetében. Ennek feltételezően az lehet az oka, hogy a zsírban gazdag reggeli fehérjetartalma magasabb, mint a zsírszegény reggelié, ami nagyobb mértékű fehérje felületi adszorpciót tesz lehetővé. Vizsgálataink bizonyítják, hogy a fehérje és a zsír jelenléte, valamint mennyisége a kioldóközegben nagyobb hatással van a CPFX biológiai hasznosíthatóságára, mint a kalciummal történő komplexképzés.

Témavezető: Dr. Ludányi Krisztina, Pápai Katalin

**Gyetzvai László GYTK IV. évf.**

Semmelweis Egyetem Gyógyszerügyi Szervezési Intézet Egyetemi Gyógyszertár<sup>1</sup>  
Semmelweis Egyetem II. Sz. Gyermekgyógyászati Klinika<sup>2</sup>

### **Gyermekkori medulloblasztoma egészség-gazdaságtani aspektusai**

A daganatos megbetegedések súlyos problémát jelentenek mind a magyar társadalomban, mind más fejlett országok társadalmaiban. A rákos megbetegedések kevesebb mint 1%-a jelentkezik gyermekkorban, jelentőségük mégis kiemelkedő. Az egészségügy korlátozott erőforrásai miatt egyre inkább a szolgáltatók kötelességévé válik a terápiák szakmai szempontjai mellett azok költségeinek figyelembevétele is, így nem meglepő, hogy az egészség-gazdaságtani elemzések egyik fő területe az egészségügyi programok költség-elemzése.

Kiemelt figyelmet kell fordítani a nem fertőző, krónikus megbetegedésekre, e csoporton belül a jelen tanulmány a gyermekkori medulloblasztoma daganatos megbetegedés költség elemzését végezte el. Mivel ilyen hazai elemzés még nem készült, eredményeinket a jelenlegi finanszírozási szint függvényében kívántuk elemezni, továbbá meghatározni a betegség kezelésének költségvetési kihatását.

A rákgyógyítás társadalmi költségét direkt és indirekt költségek csoportjába lehet sorolni. Elemzésünkben 2008. évi költségadatokat figyelembe véve határoztuk meg a direkt költség-elemeken belül a gyógyszeres terápia és egyéb orvosi költségeket az OEP nézőpontjából. Munkám célja, hogy bemutassa a betegség globális direkt költségeit, a beteg kórházba kerülésétől kezdődően. Munkámat a II. sz. Gyermekgyógyászati Klinika adatainak felhasználásával végeztem.

A gyermekkori medulloblasztoma költség-hatékonyságával kapcsolatosan témavezetőim eddig még sem hazai, sem nemzetközi szakirodalomban nem publikáltak.

Témavezetők: Dr. Mészáros Ágnes<sup>1</sup>, Dr. Garami Miklós<sup>2</sup>

**Horváth Zsuzsa GYTK V. évf.**

Semmelweis Egyetem Egyetemi Gyógyszertár Gyógyszerügyi Szervezési Intézet

### **Antibiotikum felhasználás vizsgálata 2005-2008 között**

Napjainkban a gyógyszerfelhasználás nem pusztán egészségügyi, hanem egyben gazdasági és fontos stratégiai kérdés is. Tekintve, hogy az egészségügy pénzügyi forrásai limitáltak, a helyes terápiaválasztás jelentősége egyre nő.

Az antibiotikum felhasználás szabályozása két okból is kiemelt jelentőségű. Egyrészt komoly anyagi terhet ró mind a lakosságra, mind a társadalomra, másrészt a gyógyszercsoport nem megfelelő alkalmazása – elsősorban rezisztens törzsek kialakulása folytán –, súlyos közegészségügyi veszélyt jelent.

A helyzetfelméréshez és a helyes stratégia kidolgozásához elengedhetetlen a jelenlegi antibiotikum-felhasználás megismerése, melynek fő eszközét a gyógyszer utilizációs vizsgálatok jelentik. Ezen vizsgálatok célja a gyógyszerhasználat jelenlegi helyzetfelmérése és időbeli változásának követése, a hatékony, biztonságos ugyanakkor gazdaságos gyógyszerterápia elősegítésére.

Munkám során a különböző antibiotikum-csoportok felhasználását elemeztem a Semmelweis Egyetem klinikáin 2005-2008 között, az eredményeket összevettem a közforgalomban megjelenő eladási adatokkal. A lakosság antibiotikum-szedésével kapcsolatos ismereteiről kérdőíves felmérés formájában gyűjtöttem adatokat, 72 beteg megkérdezésével; mivel Európai Unió tapasztalatok bizonyítják, hogy a felhasználás racionalizálásában a lakosságnak szóló ismertető kampány a sikeres antibiotikum-stratégia része lehet.

Az antibiotikum felhasználással kapcsolatosan témavezetőm eddig, még nem publikált.

Témavezető: Dr. Mészáros Ágnes

### Antituberkulotikus hatékonyságot fokozó peptid konjugátumok és új molekulák hatékonyságának vizsgálata modellmembránon

A *M. tuberculosis* obligát aerob, intracelluláris kórokozó, amely (bár más sejtet is képes megfertőzni) a tüdő alveoláris makrofágokban él, kivédve a sejtek anyagcsere termékeinek baktericid hatását. A betegség kezelésében alkalmazott vegyületek bejutása az érintett makrofágba elsősorban diffúzió révén történhet, korlátozott mértékben. Alkalmazásuk során számolni kell mellékhatásaikkal is. Új kemoterápiás szerek keresése mellett fontos új irányzat a meglévő szerek hatékonyságának növelése. A hordozó molekulák alkalmazása csökkentheti a terápiás szerek mellékhatásait, javíthatja oldékonyságukat, valamint lehetőséget kínál a hatóanyagok sejt-, illetve szövetspecifikus célbajuttatására. A hatóanyagok célba juttathatóak peptidokkal és fehérjékkel, amit számtalan irodalmi példa bizonyít. Munkánk során olyan konjugátumot használtunk, melyekben az *izoniazid* hatóanyagot (*INH*) egy peptid típusú egységhez kapcsolták.

Munkánk célja az új konjugátumok és *in silico* kiválasztott molekulák hatásmechanizmusának vizsgálata modellmembránon, és biológia hatékonyságának összehasonlító jellemzése. Membrán modellként kis unilamelláris dimirisztoil-foszfátidilkolin (DMPC) liposzómát használtunk. A liposzómák méreteloszlását fényszórásméréssel állapítottuk meg.

A hatóanyagok membránbeli elhelyezkedését fluoreszcens jelzőmolekulák segítségével határoztuk meg. A liposzómák felszínének jelzésére anilino-naftalinszulfonsavat (ANS), a szénláncok jelzésére difenil-hexatriént (DPH) használtunk. Az ANS és a DPH hőmérséklettől függő anizotrópiáját mértük meg a hatóanyag - liposzóma kölcsönhatását követően.

Megállapítottuk, hogy a peptid hordozó megváltoztatja az *INH* molekula membránon belüli lokalizációját. Míg a szabad *INH* a poláros fejcsoporti régióban lokalizálódik, a konjugátumok a szénláncok szerkezeti stabilitását is befolyásolják.

Az *in silico* kiválasztott DUT44 molekula jelentősen befolyásolja mind a szénláncok mind a fejcsoportok közötti kooperativitást.

Az új vegyületek antituberkulotikus hatását MIC értékének meghatározásával *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>RV törzs szuszpenzió, valamint *M. kansasii* és *M. avium-intracellulare* telepeken vizsgáltuk. Eredményeink azt mutatják, hogy mind a hordozók bevezetése, mind az új molekulák alkalmazása fokozhatja a biológiai hatékonyságot.

Témavezetők: Dr. Csík Gabriella, Dr. Voszka István

### **Géntranszformált *Rubia tinctorum* L. antrakinon komponenseinek vizsgálata kromatográfiai módszerekkel**

A festőbuzér (*Rubia tinctorum* L.) a buzérfélék (*Rubiaceae*) családjába tartozó kétszikű növény. Természetes festékanyagok forrása, gyökerében és gyökértörzsében számos antrakinon pigmentet termel. Fő tartalmi anyagai di- és trihidroxiantrakinonok: alizarin, purpurin, valamint ezek származékai (ruberitrinsav, pszeudopurpurin, munjisztin, lucidin-primverozid). A növény kivonata baktericid, gombaellenes, spazmolitikus hatású, és elősegíti a kalcium- és magnézium foszfát tartalmú vesekövek feloldódását. Újabb irodalmi források szerint egyes aglikonok (alizarin és purpurin) antigenotoxikus hatással rendelkeznek [1].

Munkánk során géntranszformált *Rubia tinctorum* hairy root kultúrákat vizsgáltunk, melyeket *Agrobacterium rhizogenes* (R-1601 törzs) mikroinjektálásával hoztuk létre. A géntranszformáció során az *Agrobacterium rhizogenes* Ri-plazmidjának részét képező T-DNS szakasz integrálódott a növényi genomba. A géntranszformált hairy root klónokat izoláltuk, és baktérium mentesítést követően folyékony 1/2 NMS [2] valamint B5 [3] táptalajon tenyésztettük.

A Flash kromatográfia növényi kivonatok tisztítására jól alkalmazható preparatív elválasztási módszer. 5 g liofilizált B5 folyékony táptalajon tenyésztett szövetet elporítottunk, és 3 × 150 mL metanollal ultrahangfürdőben kivonatot készítettünk. A kivonatot Flash Master II készülékkel, FlashPack SIL 20g (70mL) oszlopon szeparáltuk. Eluensként hexán : 2-propanol (2 % ecetsav) : metanol oldószereket használtunk lépcsős gradiens módszerrel (100:0:0; 70:30:0; 30:70:0; 0:100:0; 0:0:100). Az áramlási sebesség 10 mL/perc, a detektálás hullámhossza 254 nm, a frakciók maximális térfogata 25 mL volt. Az eljárás során 14 frakciót gyűjtöttünk, melyek három fő csoportot alkottak. További analitikai vizsgálatok céljából az egyes frakciókat szárazra pároltuk és 3 mL metanolban oldottuk.

A mintákat tízszeres hígítást követően fordított fázisú HPLC módszerrel vizsgáltuk Spectra Physics készüléken, LUNA C-8 (250 × 4.6 mm) analitikai oszlopon, FOCUS Scanning UV-VIS detektorral [4]. Eluensként acetonitril : 0.1 % TFA lineáris gradiensét alkalmaztuk. Jellemző UV spektrumaik alapján pszeudopurpurint, lucidin-primverozidot, ruberitrinsavat, lucidint azonosítottunk.

A frakciók további tisztítása folyamatban van, és tervezzük azok LC-MS-MS analízisét.

1. Takahashi E, Marczylo TH, Watanabe T, Nagai S, Hayatsu H, Negishi T (2001) Mutat Res 480-481: 139-145.
2. Kuzovkina IN, Mantrova OV, Al'terman IE, Yakimov SA (1996) Rus J Pl Phys 43 (2): 291-298.
3. Gamborg OK, Miller RA, Ojima K (1968) Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exptl Cell Res* 50: 151-158.
4. Bányai P, Kuzovkina IN, Kursinszki L, Szőke É (2006) HPLC Analysis of alizarin and purpurin produced by *Rubia tinctorum* L. hairy root cultures. *Chromatographia* 63: S111-S114.

Témavezető: Bányai Péter

### A mátrix acidifikáció szerepének újraértelmezése a szétkapcsolószerek által előidézett mitokondriális $\text{Ca}^{2+}$ -ion felszabadulásban

A mitokondriumok a  $\text{Ca}^{2+}$ -ionok raktározása és kontrollált felszabadítása által jelentős szerepet töltenek be a sejtek jelátviteli folyamataiban. Ez a belső mitokondriális membrán influx és efflux mechanizmusainak összehangolt működésén keresztül érhető el. Ilyen például a  $\text{Ca}^{2+}$ -uniporter, a permeabilitási tranzíciós pórus, a  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -kicserélő, diacilglicerol-érzékeny kation csatornák és egyéb, kevésbé részletesen leírt transzporterek. A mitokondriális mátrix nagy mennyiségű  $\text{Ca}^{2+}$ -iont képes felhalmozni a benne található foszfát-ionokkal történő komplexáció révén. Olyan feltételek mellett, amikor a mitokondriális  $\text{Ca}^{2+}$ -uniporter tekinthető a legfontosabb efflux mechanizmusnak, a protonofór szétkapcsolószerek által előidézett,  $\text{Ca}^{2+}$ -felszabadulás mindig kimutatható. Ezt nemrég még a mátrix acidifikációjának tulajdonították és a pH csökkenése miatt bekövetkező  $\text{Ca}^{2+}$ -foszfát komplex disszociációjával magyarázták. Jelen tanulmányban összehasonlítottuk a  $\text{Ca}^{2+}$ -ionokkal előterhelt, energetizált patkány máj mitokondriumok fokozatos depolarizációjának hatását a  $\text{Ca}^{2+}$ -felszabadulásra, foszfát-ionok jelenlétében, a komplex III inhibitor stigmatellin, vagy egy szétkapcsolószerek által,  $\text{pH}_0=6,8$  és  $7,8$ -on. Mindkét mérget vizsgáltuk oligomycin jelenlétében és hiányában is. A  $\text{Ca}^{2+}$ -terhelés előtt a mitokondriumok  $0,5$  mM ADP-t foszforilálhattak. A permeabilitási tranzíciós pórus nyitását cyclosporin A-val gátoltuk. Megfigyeléseinket a mitokondriumok fényelnyelésének változásán keresztül követtük. A mitokondriális membránpotenciál ( $\Delta\Psi_m$ ), a  $[\text{Ca}^{2+}]_0$  és a mitokondriális mátrix pH ( $\text{pH}_i$ ) meghatározásához fluoreszcens spektroszkópiát; a foszfát transzport méréséhez pedig spektrofotometriát használtunk. A  $\text{Na}^+$ -ionokat kizártuk a közegből, így téve működésképtelenné bármilyen direkt vagy indirekt  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -ioncsere mechanizmust. A  $\Delta\text{pH}$  a mátrix és a környezete között mindkét  $\text{pH}_0$  esetén a  $0,11$ - $0,15$  tartományon belül volt. Oligomycinnel és anélkül végzett szétkapcsolás okozta teljes depolarizáció  $\sim 0,05$  pH értékű savas eltolódást okozott, hasonló változás stigmatellin plusz oligomycin esetében nem fordult elő.  $\text{pH}_0=6,8$ -on és oligomycin jelenlétében a szétkapcsolószerek okozta  $\text{Ca}^{2+}$ -felszabadulás tartománya  $-[80-50]$  mV-on belüli, míg oligomycin hiányában ugyanez  $-15$  mV körüli érték volt. A stigmatellin csupán oligomycin jelenlétében indukált egy  $-4$  mV körül kezdődő, nagyon kismértékű  $\text{Ca}^{2+}$ -felszabadulást.  $\text{pH}_0=7,8$ -on a szétkapcsolószerek kiváltotta  $\text{Ca}^{2+}$ -felszabadulás  $-11$  mV környékén kezdődött, és ezt az oligomycin jelenléte vagy hiánya nem befolyásolta. Váratlan eredmény, hogy ilyen alkalikus kémhatás mellett és oligomycin jelenlétében a stigmatellin  $-10$  mV körül induló, nagymértékű  $\text{Ca}^{2+}$ -felszabadulást indukált. Úgy gondoltuk, ha valóban a mátrix acidifikációja az alapja a  $\text{Ca}^{2+}$ -foszfát komplex disszociációjának, akkor savas pH-n ( $\text{pH}_0=6,8$ ) a légzési lánc kombinált gátlása által előidézett teljes depolarizáció, plusz az  $\text{F}_0\text{-F}_1$  ATPáz visszafordítása ugyanezt a hatást idézné elő. Ugyanígy, lúgos pH-n ( $\text{pH}_0=7,8$ ) a szétkapcsolás okozta teljes depolarizáció gátolná ezen komplex disszociációját, és gyengítené a mátrixban tárolt  $\text{Ca}^{2+}$ -ionok felszabadulását. Ráadásul, lúgos pH-n ( $\text{pH}_0=7,8$ ) a légzési lánc kombinált gátlása által előidézett teljes depolarizáció, plusz az  $\text{F}_0\text{-F}_1$  ATPáz visszafordítása nem lenne szabad, hogy a mátrixban tárolt  $\text{Ca}^{2+}$ -ionok felszabadulást okozza. Belátható, hogy az itt bemutatott kísérleti eredmények nem támogatják a korábban leírt feltételezéseket, így arra következtethetünk, hogy a szétkapcsolószerek által előidézett mátrix acidifikáció nem lehet az egyedüli magyarázata a mitokondriumban tárolt  $\text{Ca}^{2+}$ -ionok felszabadulásának. Jelen előadás témájában még nem jelent meg publikáció.

Témavezető: Dr. Christos Chinopoulos.

**Lázár József, GYTK V.**

Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészeti Intézet

### **Oxitetraciklin tartalmú liposzomális szemcsepp formulálása**

A hatóanyagok liposzómába zárása a terápiás index növelésének és a mellékhatások csökkentésének a lehetőségét kínálja a konvencionális gyógyszerformákkal szemben. A hagyományos szemcseppek a legalacsonyabb biohasznosíthatóságú készítmények közé sorolhatók, így esetükben kiemelten fontosak a hatékonyság növelésére irányuló kutatások.

A gyógyszerári és ipari méretekben történő szemcsepp-készítés egyik fő kihívása az oxitetraciklin (OTC) tartalmú szemcseppek előállítása. A tetraciklin típusú antibiotikum a természetes készítmények támasztotta speciális körülmények között bomlást szenved, és az instabilitás a tárolás és az alkalmazás során egyaránt problémákhoz vezethet.

Munkánk során vékonyréteg-hidratációs technikával OTC-t tartalmazó, különböző lipidösszetételű (lecitin, illetve dipalmitoil-foszfátidilkolin) multilamelláris liposzómákat állítottunk elő, amiket a természetben alkalmazott oldatokkal, pufferekkel (0,14 %-os polivinil-alkohol oldat, acetát puffer stb.) hidráltunk.

Az elkészített szemcseppeket 30 napon át 25 °C-on, illetve 40 °C-on tároltuk. Spektrofotometriás módszerrel vizsgáltuk, hogy milyen hatással van az OTC stabilitására a liposzómákba zárás, és mennyiben növeli meg az a hatóanyag stabilitását az OTC-t szabad formában tartalmazó szemcseppekkel összehasonlítva.

*In vitro* membrándiffúziós módszerrel tanulmányoztuk a hatóanyag-felszabadulás kinetikáját az OTC-t szabad és liposzomális formában tartalmazó természetes készítményeknél.

Mérési eredményeink alapján a lipidvezikulákba zárás oxitetraciklin (OTC) esetén *i.*) az *in vitro* hatóanyag-felszabadulási profil javulásához és *ii.*) a bezárt hatóanyag stabilitásának szignifikáns növekedéséhez vezet.

Az OTC liposzómába zárásának példája a természetben alkalmazható nanoszállítórendszerek kínálta lehetőségekre hívja fel a figyelmet.

Témavezető: Dr. Budai Marianna

### **A gyógyszerreklámok hatása a lakosság gyógyszer-ismeretére**

Magyarországon a vény nélküli gyógyszerek piacán látványos változások történtek az elmúlt években. A készítmények száma ugrásszerűen megemelkedett. A betegek egyre több információhoz jutnak a termékekről. A gyógyszerek reklámozása és forgalmazása a liberalizáció felé halad, aminek eredményeképpen a reklámozás engedélyezett, és egyes készítményeknél lehetővé tették a gyógyszerháron kívüli hozzáférhetőséget is. Ezek a változások hatással vannak a gyógyszerészek és a gyógyszerárban dolgozók mindennapos tevékenységére, ezen keresztül pedig a betegek gyógyulására, egészségmegőrzésére, életminőségére is.

A TDK-munkám egy összehasonlító elemzésen alapul, mely két részből áll:

1. Reklámadatbázis (, mely 459 darabból áll). A gyógyszerreklámokat 37 napon át gyűjtöttem különböző országos lefedettséggel rendelkező- és egyéb helyi, ill. kábeltévéshálózatból elérhető csatornákon szereplő reklámokból.
2. Közvélemény-kutatás, mely 85 család, mindösszesen 255 ember megkérdezésével készült. Az otthon tartott gyógyszerekre irányult és a reklámadatbázis lezárása után egy hónappal készült.

Az adatbázisok kiértékelését a következő szempontok szerint csoportosítottam: reklámozott gyógyszerek és ezek hatóanyagai, forgalmazói, ATC kód szerinti besorolásuk, valamint rendelkezésük. A felmérésből kiderült, hogy bár a fogyasztókra hatnak a különféle gyógyszerreklámok, ám a jól rögzült szokások és tapasztalatok megváltoztatásához még hosszú időnek kell eltelnie (erre jó példa, hogy a legnépszerűbb otthon tartott szer, a mára már csak vényre kapható Algopyrin, a családok 49,41%-nál megtalálhatóbb volt, míg a legtöbbet reklámozott Béres porcerő csak a háztartások 1,18%-nál fordult elő).

A gyógyszerész véleménye döntő lehet a recept nélkül kapható gyógyszerek vásárlásakor. Fontosnak tartjuk, hogy a gyógyszerész tisztában legyen azzal, hogy a cégek mit, mikor és milyen indikációval hirdetnek. Ebben a cégeknek is feladatuk és felelőségük van: a vény nélküli gyógyszereik kampányaiba be kell vonni az orvosokat és a gyógyszerészeket. A szakemberek továbbképzése is fontos. Ennek hiánya negatívan hathat a termék forgalmazására. A gyógyszerreklámok veszélyeinek elkerülésében fontos szerepük lehet az orvosoknak és a gyógyszerészeknek, valamint együttműködésüknek.

A témavezető és csapata publikációi a témában:

- Simon T. (2000) A tévéreklámok hatása a házipatikákra. Gyógyszerészi Hírlap 11: 34
- Simon T. (2006) A házipatikákban található felesleges, összegyűjthető orvosságok. Egészségfejlesztés 47: 31-35
- Keserű K. (2002) A felnőtt lakosság gyógyszerismeretének felmérése. Egészségnevelés 43: 152-156.

Jelen előadás a fentieket csak annyiban haladja meg, hogy a TV-reklámokra vonatkozó adatok részletesebbek, így több csoport összehasonlítása valósulhatott meg, ezáltal konkrétabbak.

**Témavezető: Prof. Dr. Simon Tamás**



**Marosi Attila GyTK III.**

Semmelweis Egyetem Gyógyszerészi Kémiai Intézet, Budapest

### **Többfunkciós molekulák sav-bázis és konformációs jellemzőinek vizsgálata NMR spektroszkópiával**

Gyógyszermolekulák abszorpciós és disztribúciós tulajdonságainak, esetleges mellékhatásaiknak vagy azok hiányának értelmezéséhez, illetve megjósolásához rendkívül fontos a sav-bázis tulajdonságaik ismerete. Ez többszoportos molekulák esetében megkívánja mikrospeciációjukat, míg a konformáció többek között a receptorkötés szempontjából meghatározó.

Egyik vizsgált molekulánk, az antihisztaminként széles körben használt cetirizin három protonálható csoporttal rendelkezik. A sav-bázis tulajdonságait tárgyaló forrásokban egyrészt sok állandó hiányával, másrészt egy, a báziscentrumok egymásra hatását leíró paraméterben - a kölcsönhatási tényezőben - komoly ellentmondásokkal találkozhatunk. Érdekes továbbá, hogy a molekula mérsékelt szedatív mellékhatásai azt mutatják, hogy átjutása a vér- vagy gáton korlátozott, ugyanakkor jó felszívódása arra utal, hogy megfelelő körülmények között képes gyorsan átjutni a lipidmembránokon. A másik vizsgált molekulánk egy amerikai kutatócsoport által tervezett pH-függő ionreceptor, amelynek részletes sav-bázis vizsgálata szintén hasznos eredményeket ígér.

A munka során széleskörűen támaszkodtunk  $^1\text{H}$ -NMR titrálásokra, üvegelektrod és indikátor molekulák alkalmazása mellett. Meghatározásaink több modellmolekulát is igényeltek, a cetirizin esetében két szimmetrikus piperazinszármazékot, valamint hidroxizint és a molekula metilészterét, míg az ionreceptorhoz a tirozint és annak metilészterét. Ezek szerkezetét 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) és 2D (HSQC, HMBC) NMR kísérletekkel igazoltuk. Minden vegyület protonálódási makroállandóját nemlineáris többváltozós paraméterillesztéssel az Opium programmal határoztuk meg, a kémiai eltolódás – pH profilok alapján. A cetirizin mikroállandóinak meghatározásához felhasználtuk a hidroxizin illetve az észter mikroállandóit. Emellett azonban szükség volt a két amincsoport közötti kölcsönhatási tényezőre is. Ezt szimmetrikus molekulák protonálódási állandóiból nyertük, alkalmazhatóságukat NMR-eltolódásokon alapuló közelítéssel is igazoltuk. A molekulán belüli távolságok és így a konformációs viszonyok tanulmányozására a 2D NOESY kísérletek szolgálnak alapul.

Eddigi munkánkat folytatva elvégeztük a cetirizin teljes mikrospeciációját, ennek alapján pontosan meghatároztuk az egyes mikrorészecskék eloszlását a test egyes farmakokinetikailag fontos részeinek megfelelő pH-értékeken. Vizsgálataink során még megfigyeltük a cetirizin egyik szimmetrikus piperazin modellvegyületének cserélhető amidprotonjait vizes közegben, illetve nyomon követtük a cetirizin metil-észter lúgos hidrolízisét is. Az eredmények pótolják a molekula sav-bázis tulajdonságairól fellelhető irodalmi források hiányosságait illetve feloldják a bennük fellelhető ellentmondásokat. A molekula kiváló abszorpciós tulajdonságai a meghatározott mikrorészecske-eloszlással látszólag ellentétben állnak, ugyanis minden pH-értéken a poláris részecskék dominanciája figyelhető meg. Ezt az ellentmondást a pH-függő konformációs viszonyok vizsgálata oldhatja fel. Hasonló vizsgálatok segítenek megérteni az ionok megkötésének mechanizmusát a pH-függő ionreceptor esetében.

Témavezetők: Dr. Kovács Zsuzsanna, Dr. Béni Szabolcs, Dr. Noszál Béla

## Miszori Veronika GYTK II.

ELTE, Természettudományi Kar, Biológiai Intézet, Növény szervezettani Tanszék, Budapest

### *Forsythia x intermedia* in vitro kultúráinak lignán tartalma

A lignánok, a növényi fenoloidok egyik jelentős, biológiailag aktív csoportja, amelyek a sejtfalat alkotó lignin előanyagainak rokonvegyületei. Szerkezetük két fenilpropán egység dimerizációjával alakul ki.

A lignánok gyógyászati hatása jól ismert, különösen tumor ellenes hatásuk. Jelentősek azok a megfigyelések is, melyek szerint az élelmiszernövények, különösen a friss zöldségek, bogyós gyümölcsök és a gabonafélék lignánjai pl. a matairesinol és glikozidja a bélbaktériumok közreműködésével „emlős lignánokká” (enterolakton, enterodiol) alakulnak át. Ez utóbbiak, a fitoösztrogén hatásuk miatt, gátolják a hormonfüggő daganatok kialakulását. Az utóbbi években két butirolakton lignán, az arctigenin és közvetlen előanyaga a matairesinol farmakológiai aktivitását több kutatólaboratóriumban vizsgálták. Rákellenes és antivirális (anti-HIV) hatásuk bizonyított, emellett az arctigenin neuro-protéktív tulajdonságát is igazolta egy koreai kutatócsoport.

A fentiekhez kapcsolódóan, az irodalomban jól ismert *Forsythia x intermedia* (aranyfa) lignánjait tanulmányoztuk, így az arctigenint, és glikozidját az arctiint, valamint a matairesinolt és glikozidját a matairesinosidot. Az eddig vizsgált növények közül ez a *Forsythia* hibrid a leghatékonyabb lignántermelő. A növény leveleiből *in vitro* szövet- és sejt-kultúrát hoztunk létre, melyeket az általunk módosított hormontartalmú Murashige & Skoog (MSA) tápközegen tartottunk fenn. A 2 mg/l 2,4-diklórfenoxiacetsavat (2,4-D) és 0,2 mg/l kinetint tartalmazó MSA közegen a kultúrák jól növekednek, de már bizonyos fokú citodifferenciáció is megfigyelhető, amely előnyösen befolyásolja a metabolitok, így a lignánok képződését.

Munkánk során célul tűztük ki, hogy jól szaporodó és jól termelő *in vitro* kultúrákat hozzunk létre a tápközeg összetételének változtatásával. Ennek érdekében a táptalaj ásványi anyagait 1/2-ére és 1/3-ára csökkentettük, emellett a cukor mennyiségét duplájára (60 g/l), illetve háromszorosára (90 g/l) emeltük. A havonta, illetve kéthetente vett sejt-kultúra mintákat liofilizáltuk, majd a metanolos kivonatok lignánjait HPLC-vel mértük.

Eredményeink alapján elmondható, hogy a cukor-kísérletben a 60 g/l cukrot tartalmazó MSA tápközegen nevelt szuszpenziós kultúra összlignántartalma a kísérlet negyedik hetére háromszorosára, míg a 90 g/l cukrot tartalmazó táptalaj esetében 3,6-szeresére nőtt a kontroll 30 g/l cukrot tartalmazó tápközeg eredményeihez képest. A tápközeg makro- és mikro-elemeik mennyiségi csökkentése a kísérlet második hónapjára növelte meg maximálisan a sejtenyészet hatóanyag tartalmát. Az 1/2-es csökkentésnél 3,5-szörösére, míg 1/3-osnál 7,5-szörösére emelkedett az összlignántartalom a kontrollhoz képest. A különböző módosítások eltérő mértékben befolyásolták az egyes lignán összetevők mennyiségét. A további kísérletek fogják eldönteni, hogy a kétféle tápközeg módosítás együttes alkalmazása milyen mértékű lignántartalom növekedést eredményez.

Megállapítható, hogy a Murashige & Skoog tápközeg cukor, illetve makro- és mikro-elemeinek mennyiségi megváltoztatásával hatékony lignán termelő *Forsythia x intermedia* sejt-kultúrákat hoztunk létre, melynek háttérében a sejtek differenciációja húzódik meg.

Témavezető: Dr. Gyurján István

### **Filmbevonó rendszerek stabilitását befolyásoló tényezők vizsgálata**

Szabályozott hatóanyagleadású gyógyszerkészítmények előállítására széles körben alkalmazzák a filmbevonást. A gyógyszer technológiai kutatás egyik fontos területévé vált a bevonó polimer rendszerek tulajdonságainak vizsgálata tárolás és terhelés során (hőmérséklet, idő, RH). A polimerfilm működését és stabilitását alapvetően befolyásolják a bevonási paraméterek. Nemcsak a bevonó polimer mennyisége meghatározó, hanem a makromolekulából kialakuló filmréteg egyenletessége. Az interakciók gyakori megnyilvánulási formája, hogy a hatóanyag és segédanyagok migráció révén belépnek a bevonat rétegébe és megváltoztatják a membrán permeabilitását. Az instabilitás forrása leggyakrabban a polimer és segédanyag közötti kölcsönhatás, e tekintetben döntő jelentőségük van az alkalmazott lágyítószernek [1]. A lágyítószer migrációját általában nem észlelték, ha az ajánlott mennyiségben kerültek felhasználásra. A hatóanyag és segédanyagok illetve utóbbiak egymás közötti interakcióinak illetve a végbemenő bomlási folyamatoknak a vizsgálatára előnyösen alkalmazhatók a termoanalitikai módszerek kiegészítve infravörös spektroszkópiás mérésekkel. A polimer tulajdonságait meghatározó funkcionális csoportok mint lehetséges reakciópartnerek szerepelnek a kompatibilitás vonatkozásában. Ilyen típusú interakciók jól követhetők differenciál pásztázó kalorimetriás (DSC) vizsgálatokkal, az üvegesedési átmenet meghatározása több gyógyszerforma (polimer kötőanyagot tartalmazó tableta, filmtabletta, bevont pellet, stb.) formulálása során nyújthat értékes információkat. Mivel a polimerek kisebb reakcióképességgel rendelkeznek mint az alacsonyabb molekulatömegű anyagok, a segédanyagok e csoportja általában ritkábban vesz részt kémiai bomlásban, szemben a cellulózéterekkel. A gyakorlatban metakrilátok esetében nem kell számolni a hőhatásra bekövetkező bomlással sem, mivel az oldallánc bomlása 150 °C felett illetve a főlánc depolimerizációja vagy kereszt-térhálósodása csak 180 °C felett kezdődik, amely hőmérsékletek túllépik a hosszútávú és terheléses vizsgálatok feltételeit.

Eddigi munkám során polimerekből és lágyítószerekből állítottam elő bevonó diszperziókat, amelyekből két módszerrel (öntéses és porlasztásos eljárás) készítettem ú.n. szabadfilm mintákat. Filmképző polimerként Eudragit L 30D 55, Eudragit RL 30D, Kollicoat SR 30D és Aquacoat diszperziókat, lágyítószerként trietilcitrátot, dibutil szebakátot és polietilén-glikolt használtam. Vizsgálatokat végeztem a bevonó diszperziókkal és a szabadfilm mintákkal is. A diszperziók határfelületi tulajdonságait – felületi feszültségét, nedvesedési peremszögét, kohéziós és adhéziós energiáját – határoztam meg [2]. A határfelületi tulajdonságok vizsgálata alkalmazhatónak bizonyult a lágyítók pórusformáló képességének kimutatására. A szabadfilm mintákkal ezen túlmenően DSC és NIR-reflektancia spektroszkópiás vizsgálatokat, valamint vízadszorpciós méréseket végeztem. A minták stabilitását változó tárolási paraméterek (hőmérséklet, idő, nedvesség-tartalom) mellett vizsgálom. A tárolt mintákkal a fenti vizsgálatokat megismételve az eredmények a stabilitásról kielégítő információt nyújtanak.

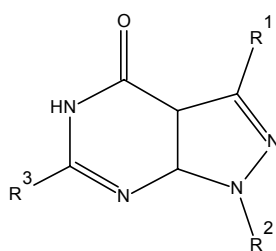
1. Dredán J., Zelkó R., Dávid Á. Z., Antal I.: Quantitative estimation of film forming polymer-plasticizer interactions by the Lorentz-Lorenz law, *Int. J. Pharm.* 310:1, 25-30, 2006
2. J. Dredán, I. Antal, I. Rácz and S. Marton: Interfacial behaviour of pharmaceutical excipients, *Book Series Progress in Colloid and Polymer Science*, Publisher Springer Berlin / Heidelberg, Volume 125/2004 *Book From Colloids to Nanotechnology*;

Témavezető: Dredán Judit PhD

### **Gazdasejt jelátviteli folyamatait gátló vegyületek, mint potenciális antivirális szerek**

A HIV vírus világszerte több mint 40 millió fertőzött beteggel és évi 3 millió halálos áldozattal, korunk egyik meghatározó betegsége. Igazán hatásos gyógyszer még nem született ellene. A standard farmakológiai protokoll az ún. direkt antivirális terápia, mely a vírus-replikációban résztvevő HIV proteinek ellen irányul. Az erős mellékhatások és a rezisztens törzsek megjelenése miatt új hatásmechanizmusú hatóanyagok kifejlesztése került előtérbe. Az új, ún. indirekt megközelítés a HIV vírus által megszállt gazdasejtben működő, a vírus által felhasznált jelátviteli folyamatokat ("szignál transzdukciós mechanizmusokat") próbálja befolyásolni. A ciklin dependens kináz 9 (CDK9) enzim, mint a vírus replikációhoz elengedhetetlen gazdasejt-komponens, a validált célpontok közé tartozik. A szelektív CDK9 inhibitorok egyik nagy előnye lehet a terápiás hatások mellett a kialakuló rezisztencia hiánya.

Munkánk során pirazolo-pirimidon vázas vegyületeket szintetizáltunk, mint potenciálisan szelektív CDK9 inhibitorokat. A szintetizált vegyületek kiemelkedően jó biológiai hatást mutattak.



**Témavezető: Dr. Órfi László**  
**Konzulens: Wácsek Frigyes**

**Póczy Dorottya GYTK, IV.**

ELTE Növény szerkezettani Tanszék

### **A tejedények vizsgálata a vérehulló fecskefű (*Chelidonium majus* L.) hajtásában fluoreszcens technikákkal**

A vérehulló fecskefű (*Chelidonium majus* L.) szerveiben tejedények találhatóak, az ebben tárolt hatóanyagok gyógyszerészi felhasználása ismert. Nem ismeretes viszont, hogy a hatóanyagok összetétele és mennyisége hogyan változik az egyedfejlődés alatt vagy az élőhelyi sajátosságok hatására és a begyűjtött anyag tárolása során.

Munkánkban a tejnedvben található protoberberin alkaloidok fluoreszcenciáját kihasználva különböző nem invazív módszerekkel (fluoreszcencia mikroszkópia, fluoreszcencia leképezés és UV-gerjesztéses gélmegfigyelő kamera) tanulmányoztuk a tejedények lokalizációját. Extrahált tejnedv és szövetdarabok fluoreszcencia spektroszkópiáját használtuk a tejnedv mennyiségi és minőségi változásának nyomon követésére.

Eredményeink azt mutatják, hogy jelentős különbségek vannak a különböző élőhelyekről származó, különböző korú növények tejnedv tartalmában; sőt ez a begyűjtés utáni tárolás alatt is jelentősen változik. Az itt alkalmazott módszerek lehetővé teszik, hogy nyomon kövessük a vérehulló fecskefű fejlődési állapotait, meghatározzuk egy ismeretlen növény korát, felhasználási értékét. Ezek a módszerek más, fluoreszkáló hatóanyagokat tartalmazó növények tanulmányozására is alkalmasak. A fluoreszcencia spektroszkópia más analitikai módszerekkel kombinálva fontos eszköze lehet a növényi tejnedv kémiai leírásához is.

A témavezető más vegyületek fluoreszcencia spektroszkópiái vizsgálatában publikált fontosabb módszertani cikkei:

B. Böddi, et al. (1992) J. Photochem. Photobiol- 12, 389-401; B. Böddi, et al. (1993) J. Photochem. Photobiol. 21, 125-133; A. Szenzenstein, A. Kósa and B. Böddi (2008) J. Photochem. Photobiol. 90, 88-94

Prof. Dr. Böddi Béla

**Diszacharid cukorrészt tartalmazó növényi glikozidok hidroláz aktivitásának tanulmányozása**

A növényi hatóanyagok jelentős csoportját képezik a glikozidok. Szerkezetükre jellemző, hogy egy aglikon részből és az ehhez kapcsoló cukor molekulá(k)ból épülnek fel. A glikozidokat felépítő cukrok között mono- és diszacharidokat találunk a leggyakrabban. A glikozidokat tartalmazó növények gyakran tartalmaznak a glikozidjaik hidrolízisére hidroláz enzimeket. A növényi termékek fermentációval történő előállításakor ezen enzimeknek kulcsfontosságú szerepe van számos anyagcseretermék, mint íz- és aromaanyagok felszabadításában pl. a tea, dohány fermentációs technológiával történő feldolgozása során. Bár a glikozidázok élelmiszeripari felhasználása széleskörű, a hidrolízis szubsztrát specifikusságáról keveset tudunk. A glikozidok mennyiségi és minőségi meghatározása sok esetben problémát jelent, ezért gyakran hidrolízisük után történik, külön azonosítva az aglikon és a cukor komponens. Savas közegben végzett hidrolízisük az aglikon és a cukor közötti glikozidos kötés felhasadásán túl sokszor az aglikon nem kívánatos bomlását is eredményezi. A diszacharidot tartalmazó glikozidok savas hidrolízisekor további problémát jelent, hogy a diszacharid monoszacharidjaira bomlik; a diszacharid tényleges szerkezete ezáltal nem állapítható meg. Az enzim hidrolízis előnye, hogy az instabil aglikonokat sem károsítja, ezáltal analízisük elvégezhető, és a keletkező diszacharid is vizsgálható.

**Célok:** **1.:** Különleges diszacharid tartalmú glikozidok saját, és más növényi glikozidokkal történő hidrolízis-specifikusságának meghatározása. **2.:** Olyan enzim hidrolízisen alapuló módszer kidolgozása instabil glikozidok analitikai vizsgálatára, mellyel mind a keletkező aglikon mind pedig a diszacharid mérhető. **3.:** A keletkezett különleges diszacharidok gázkromatográfiás (GC) analitikai vizsgálata.

**Módszerek:** A hidrolízis kivitelezésekor az enzimet tartalmazó növény vízzel készült szuszpenzióját az izolált glikoziddal inkubáltuk különböző ideig. A termékeket trimetilszilil származékként GC-MS és közvetlenül HPLC módszerekkel vizsgáltuk.

**Új eredmények:** **1.:** Kidolgoztunk egy olyan kéméletes enzimátikus hidrolízis módszert, mellyel a festő- és gyógynövényként is jelentős *Rubia tinctorum* könnyen bomló glikozid szín- és hatóanyagait kvantitatív mértékben elbonthatók, majd a keletkezett diszacharid (primveróz) és aglikon (lucidin, alizarin) azonosítható. **2.:** Öt ritka diszacharidot (primveróz, rutinóz, vicianóz, akuminóz, sambubióz) tartalmazó glikozid hidrolízisspecifitását határoztuk meg hat növényfaj (*Primula veris*, *Rubia tinctorum*, *Sophora japonica*, *Vicia angustifolia*, *Viburnum furcatum*, *Hibiscus sabdariffa*) esetében. **3.:** A keletkezett diszacharidok GC-MS azonosítására alkalmas specifikus fragmentációját tudomásunk szerint elsőként tanulmányoztuk. **4.:** Az enzimátikus hidrolízissel végzett vizsgálataink során egy új akuminozid tartalmú glikozidot mutattunk ki a *Viburnum furcatum* levelében.

Füzfai Zs, Boldizsár I, Molnár-Perl I.

Characteristic fragmentation patterns of the trimethylsilyl and trimethylsilyl-oxime derivatives of various saccharides as obtained by gas chromatography coupled to ion-trap mass spectrometry.

Journal of Chromatography A, 2008 1177(1):183-9.

I. Boldizsár, Z. Szűcs, Zs. Füzfai and I. Molnár-Perl

Identification and quantification of the constituents of madder root by gas chromatography and high-performance liquid chromatography

Journal of Chromatography A, 2006 1133:259-274

Témavezető: Dr. Boldizsár Imre

### A bokrosgomba (*Grifola frondosa*) gyógyászati jelentősége

A bokrosgomba (*Grifola frondosa* /Dicks.:Fr./S.F.Gray) a bazídiumos taplógombák Polyporales rendjébe tartozó fehérkorhasztó gomba, melyet gyógyhatásai miatt a Távol-Keleten már évszázadok óta igen nagy becsben tartanak. Ez a kozmopolita faj Európában általánosan előfordul ugyanúgy, mint Japán, Kína és Észak-Amerika mérsékelt égövi lombhullató erdeiben tölgyön, gyertyánon, juharon, gesztenyén és túlevelűeken egyaránt. Évente megjelenő, hatalmasra növő termőteste nem közvetlenül a fa törzsén található, hanem az élő fa gyökeréből nő ki, és onnét von el tápanyagokat. Külleme lombos bokorhoz hasonlít, a húsos, sima tönk elágazó, az ágak lapos levélben vagy legyezőszerűen végződnek. A kalap színe barnászürkés, felülete hosszanti irányban ráncos. A gomba fiatalon ehető, de igazi értékét a gyógyászati jelentősége adja. Gyógyhatású vegyületei főleg a poliszacharidok közé tartoznak, de megtalálhatók benne még fémkötéses proteinek, lektinek és telítetlen zsírsavak is. A növényi és gomba eredetű poliszacharidok természetes eredetű immunstimulánsként ismertek, melyek többek között növelik a fagocitózist, aktiválják a makrofágokat, elősegítik az interferonképződést és serkentik a T-limfociták és a T-helper sejtek képződését. A bazídiumos gombák sejtfalát főként kitin alkotja, de glukán típusú poliszacharidok is előfordulnak benne. Az immunmoduláció szempontjából a legjelentősebbek az ún.  $\beta$ -glukánok. Ezek elágazó poliszacharidok, melyek glükóz monomerekből állnak. A *Grifola frondosa* poliszacharidjaiból különféle kivonatokat készítenek (Grifolan, Maitake-D-frakció, stb.), melyeket kutatási célból, illetve különféle készítményekben klinikai vizsgálatokban és terápiás célból is felhasználnak. A gomba komponenseinek rendkívül sokféle hatását írták már le kísérleti állatokon és emberen. Leginkább a poliszacharidok viselkedése kutatott, melyek hatásmechanizmusához tartozik, hogy a szervezetbe jutva a receptorok felismerik őket és „nem saját molekula”-ként stimulálják az immunrendszert. Számos ilyen receptor ismert. Az immunrendszer stimulálásával a  $\beta$ -glukánok megakadályozhatják a tumor növekedését a kezdeti stádiumban, az anti-angiogenezis hatáson keresztül csökkenthetik a tumor proliferációt, megelőzve az áttétek képződését, adjuváns anyagként a rák kemo- vagy radioterápiájában használva, pozitív szerepet játszanak a haematopoesis helyreállításában, a csontvelő sérülését követően. Patkányokban indukált májkárosodás esetén hatásos májvédő szernek bizonyultak, mint protektív anyagok a kemikáliák által kiváltott hepatotoxicitás ellen. Hatásos szerek lehetnek a cukorbetegségben is, mivel a gomba kivonata igazoltan növeli a sejtek inzulinérzékenységét. Az antibakteriális és antivirális hatásuk valószínűleg az immunrendszer modulációja révén érvényesül. A gombát és kivonatait a mai napig sokan vizsgálják, mivel sem komponenseinek pontos szerkezete, sem a hatásmechanizmus még nem tisztázott teljesen, így terápiás alkalmazása egyelőre korlátozott.

Dolgozatomban a szakirodalmi adatok alapján megpróbálom bemutatni, hogy milyen vizsgálatokat végeztek a gombával kapcsolatban és ezekből milyen következtetések vonhatók le, különös tekintettel a gyógyhatásokra és azok lehetséges mechanizmusaira.

Témavezető: Dr. Jakucs Erzsébet

### **Kinázgátlók izomériájának vizsgálata**

A rák kezelésében az utóbbi években előretörték a célzott terápiát lehetővé tevő kinázgátló gyógyszerek. Jelenleg tíz kináz inhibitor gyógyszer ismert a piacon, melyeket különféle típusú daganatos betegségek kemoterápiájában alkalmaznak. Ezek közül a Sutent (sunitinib) az első, amelynek egyidejűleg két alkalmazási indikációja is van, egyaránt alkalmas vese és gasztrointesztinális solid tumorok (GIST) kezelésére. A gyógyszert 2006 januárjában hozták forgalomba. Szerkezete alapján Z-E izomerek létezése várható, de a szakirodalomban csak egyféle szerkezetről tesznek említést, melyben az oldallánc pirrol gyűrűjének NH csoportja az oxindol gyűrű keto csoportjával van térközben. Célkitűzésünk, hogy megvizsgáljuk, különböző sutent analógok esetében fellép-e az izoméria, az izomer arányok befolyásolhatóak-e a hőmérséklet, oldószer vagy a pH változtatásával, ill. hogy a sunitinib esetében igazolható-e a Z izomert stabilizáló hidrogénhid megléte. Ezeket a tulajdonságokat kutatócsoportunk eddig nem vizsgálta, és a szakirodalomban sincs ilyen jellegű közlemény.

Az E-Z izoméria viszonyokat, azok átalakulásait NMR spektroszkópia segítségével vizsgáltuk. A szerkezetvizsgáló módszerek közül az NMR spektroszkópia az egyik legalkalmasabb módszer a geometriai izomerek átalakulásainak nyomon követésére. Munkánk során a benzilidén-oxindolok és pirrolil-metilén-oxindolok E-Z izomer átalakulásait vizsgáltuk. A két alapstruktúra közötti lényeges különbség egy, a Z izomert stabilizálni képes hidrogénhid létrejötte a pirrolil-metilén származékok esetén. A különböző szubsztituensekkel rendelkező vegyületek esetén összehasonlító elemzéseket végeztünk az izomerarányt befolyásoló tényezőkről. A vizsgálatokba bevont vegyületek teljes  $^1\text{H}$  asszignációját 1D ill. 2D (COSY, NOESY) NMR spektrumok alapján végeztük el.

**Dr. Órfi László, Dr Béni Szabolcs**



## **Biogyógyszerek gyógyszerforma tervezési lehetőségei**

A biogyógyszerek a gyógyszerek egy speciális csoportját alkotják, amely többek között magában foglalja, pl. a proteineket, peptideket, nukleinsavakat, vakcinákat stb.

A fehérje hatóanyagot tartalmazó, noninvazív adagolású gyógyszerformák tervezésekor figyelembe kell venni, hogy a fehérjék szerkezetében bármilyen kis változás, melyet pl. a hőmérséklet, pH változása, oldószerek, egyéb környezeti tényezők okozhatnak, a farmakológiai hatás elvesztését eredményezheti. További problémát jelent, hogy a gyártási művelet során biztosítani kell a fehérjék stabilitását.

Az első biogyógyszernek, az inzulinak az adagolása az elmúlt években hatalmas változásokon ment keresztül. A hagyományos invazív módon történő szervezetbe juttatás az adagoló eszközök fejlődése ellenére sem problémamentes. Folyamatos kutatás folyik annak érdekében, hogy milyen alternatív – noninvazív - módon lehetne az inzulint bejuttatni a szervezetbe. A kutatási eredményektől egyrészt az várható, hogy utánozható lesz az endogén hormon-felszabadulás kinetikája, másrészt könnyebb lesz a kezelés a betegek számára. Az inzulin felszívódásának mértékét és ütemét pontosan kell szabályozni, mert a nem megfelelő mennyiségű inzulinszint esetén a betegek hipo vagy hiperglikémia miatt akár súlyos, életveszélyes állapotba is kerülhetnek.

**Munkám célja:** az inzulin noninvazív szervezetbe juttatására alkalmas nazális, transzdermális és rektális gyógyszerformák előállítására és in vitro vizsgálata volt.

Modellvegyületként kétfázisú izofán inzulin készítményeket alkalmaztam, melyekben 20 ill. 30 % volt az oldható inzulin és 70 ill. 80 % az izofán inzulin.

Valamennyi gyógyszerforma esetében különböző segédanyag -kombinációk alkalmazásával (pl. komplexképzők, felületaktív anyagok, polimerek), igyekeztem növelni a készítmények egyenletes hatóanyag-leadását, biohasznosíthatóságát ill. célom volt, hogy a segédanyagok az alkalmazás helyén segítsék a biológiai membránokon a nagymolekulájú inzulin átjutását.

### **Vizsgálataim kiterjedtek:**

- a hatóanyag és a gyógyszerforma kémiai és fizikai kompatibilitásának,
- a hatóanyag-leadás hőmérséklet és pH függésének tanulmányozására,
- annak tanulmányozására, hogy az inzulin a fiziológiás pH tartományban milyen mértékben szívódik fel, mennyire őrzi meg stabilitását,
- dózis-membrántranszport- biohasznosíthatóság összefüggések elemzésére.

A hatóanyag meghatározása az oldhatatlan komponensek esetében gravimetriás módszerrel, az oldott inzulin esetében fordított fázisú folyadékkromatográfiás módszerrel történt.

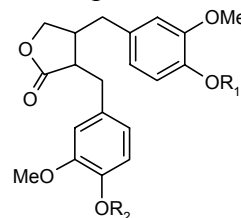
**Összefoglalva** elmondható, hogy természetesen még csak a munka kezdeti fázisában vagyunk, de az látható, hogy néhány segédanyag-kombináció ( pl. ciklodextrinek, polietilén-glikolok, felületaktív anyagok ) alkalmazása kedvezően befolyásolja az inzulin membrántranszportját, egyes esetekben előnyös farmakokinetikai viselkedés várható.

A kapott eredmények jó kiindulási alapját képezik további fejlesztési lehetőségeknek.

### Neuroprotektív hatású lignánok azonosítása *Arctium*–*bojtorján*, *Centaurea*–*imola* fajokban

A lignánok a növényi fenoloidok egyik jelentős csoportja, melyeknek több típusa ismert. Közülük mi a butirolakton alapvázúakkal foglalkoztunk.

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
arctigenin	–CH <sub>3</sub>	–H
arctiin	–CH <sub>3</sub>	–glükóz
matairesinol	–H	–H
matairesinosid	–H	–glükóz



Jelentőségüket antivirális, daganatgátló és neuroprotektív hatásaik adják. Kutatásainkban a neuroprotektív aktivitásukat tanulmányoztuk. Ezen lignánokat irodalmi adatok szerint az *Arctium* lappa, és a *Centaurea scabiosa* termési tartalmazzák nagyobb mennyiségben.

Célunk volt: **1.** a fenti két faj néhány közeli rokonának több termőhelyről begyűjtött mintáiban a lignánok összetételének meghatározása a legnagyobb hatóanyag-tartalmú kiválasztására; **2.** a termés különböző részeiben a hatóanyag-összetétel vizsgálata a lehető legnagyobb lignán-tartalmú minta meghatározására; **3.** a legnagyobb lignántartalmú mintákból az összetevők izolálása hatástani vizsgálatokhoz; **4.** a nagy mennyiségben lévő glikozidok átalakítása a hatékonyabb aglikonokká; **5.** a hatékonyság és molekulaszervezet közötti kapcsolat vizsgálata.

Alkalmazott módszerek: A lignán összetételt gázkromatográfiás és nagyhatékonyságú folyadék-kromatográfiás (HPLC) módszerekkel mértük, az izoláláshoz preparatív HPLC-t használtunk. Az aglikonok glikozidokból történő előállításához a termésekből desztillált vízzel szuszpenziót készítettünk, majd ezt különböző ideig inkubáltuk. Arctigeninből metil-jodiddal végzett származékkészítéssel állítottunk elő metil-arctigenint, melyet preparatív HPLC módszerrel tisztítottunk.

Új eredmények: **1.** Vizsgálataink során három *Arctium* faj 17 különböző termőhelyről és öt *Centaurea* faj hét helyről gyűjtött terméseinek lignán-összetételét határoztuk meg. Az *Arctium* fajokban volt a legnagyobb hatóanyag-tartalom (7,9-3,8% (m/m) között), melynek fő összetevője az arctiin volt (7,7-3,3%). Ezzel szemben a *C. scabiosa* és a *C. sadleriana* termései főként matairesinosidot (4,9-2,5%) tartalmaztak. **2.** A terméskor nem, csak a mag tartalmazza a hatóanyagokat. **3.** Tudomásunk szerint elsőként határoztuk meg a lignán összetételét a *C. sadleriana*, *C. micranthos*, *C. pannonica*, *C. indutrata* fajoknak. **4.** Megállapítottuk, hogy mindegyik faj termése rendelkezik a bennük lévő glikozid hidrolíziséhez szükséges enzimmel. Ennek segítségével a kvantitatív mértékben átalakíthatók a glikozidok a megfelelő aglikonokká. Ez azért fontos, mert irodalmi adatok szerint az aglikonok hatékonyabbak, mint a glikozidok. **5.** Az aglikonok között az apolárisabb, csak egy szabad hidroxil csoportot tartalmazó arctigenin hatékonyabb, mint a matairesinol. Ebből a megállapításból kiindulva, feltevézzük, hogy a hidroxil csoportok helyett metoxi csoportokat tartalmazó metil-arctigenin még erőteljesebb neuroprotektív lehet, mint az arctigenin. Ennek vizsgálatára arctigeninből kiindulva előállítottuk a metil-arctigenint, melynek hatásvizsgálata folyamatban van.

É. Sedlák, I. Boldizsár, L. Borsodi, Zs. Füzfai, I. Molnár-Perl, É. Preininger, I. Gyurján: Identification and Quantification of Lignans, Carboxylic Acids and Sugars in the Leaves of *Forsythia* Species and Cultivars *Chromatographia*, (2008) 68, S35-S41

Témavezető: Dr. Boldizsár Imre

### Jódtartalmú morfin- és kodeinszármazékok előállítása és jellemzése

Gyógyszervegyületek jódtartalmú származékainak előállítása lehetőséget ad szerkezetbeni viselkedésük kiterjedtebb tanulmányozására. Radioaktív jódizotóppal való szubsztitúció, valamint a jódatom tríciumra való cseréje lehetővé teszi ezen vegyületek in vivo követését radioaktív nyomjelzéses vizsgálattal. A halogénatomot tartalmazó származékok továbbá kiindulási vegyületeként szerepelhetnek szubsztitúciós reakciókban, lehetővé téve új vegyületek előállítását.

Korábban kutatócsoportunk számos új bróm- és klórszubsztituált morfin- és kodeinszármazékot állított elő, és vizsgálta ezen vegyületek reakcióit, tulajdonságait<sup>1,2</sup>.

Munkánk elsődleges célja különféle jódtartalmú morfin- és kodeinszármazékok szintézise és vizsgálata volt. Kidolgoztunk olyan eljárásokat, melyekkel ezek a vegyületek gyorsan és jó kitermeléssel előállíthatók. Híg savas közegben klóramin-T és nátrium-jodid alkalmazásával hajtottuk végre a reakciókat. Ez a reakció a kodein és dihidrokodein esetében a várt vegyületeket eredményezte, az 1-jód-morfint közvetett módszerrel állítottuk elő, kloroformos oldatban bróm-tribromiddal O-demetileztük az 1-jód-kodeint. Közvetlenül 1-jód-morfinhoz jutottunk, a morfin és az elemi jód-morfolin komplex reakciójával. Ezeket a módszereket alkalmazva előállítottuk más opioidok C-1 helyzetben jóddal szubsztituált származékait is, melyek tisztaságát vékonyréteg-kromatográfiával, szerkezetüket NMR spektroszkópiával igazoltuk.

A jódszubsztituált kodeinszármazékok esetében további reakciókat is végeztünk. Megoldottuk N-demetilezésüket klórhangyasav- $\alpha$ -klóretilészterrel, ezután elvégeztük a kapott N-norkodeinszármazékok N-alkilezését. Az 1-jód-kodein metánszulfonsavas átrendeződésével állítottuk elő a 8-jód-apokodeint.

Aromás vegyületeket halogénnel szubsztituálva a halogénatomok erős elektronszívó tulajdonságuknál fogva jelentősen megváltoztathatják a molekulák elektroneloszlását. A morfinszármazékok két olyan funkciós csoporttal rendelkeznek, melyek sav-bázis tulajdonságait befolyásolhatja az aromás gyűrű halogénszubsztitúciója. Ennek kapcsán vizsgáltuk a jódszubsztituált morfin és a kodein protonálódási tulajdonságait. Összehasonlításuképpen előállítottuk a C-1 helyzetben klórt és brómot tartalmazó származékokat is, majd meghatároztuk a vegyületek protonálódási állandóit.

Korábban megjelent kapcsolódó közlemények:

1, Hosztafi, S., Makleit, S. Synthesis of New Morphine Derivatives Containing Halogen in the Aromatic Ring Synth. Commun., **24**, 3031-3045, 1994.

2, Hosztafi, S., Makleit, S. Synthesis of New Apomorphine Derivatives Containing Halogen (Cl and Br) in Ring-D Synth. Commun., **26**, 3909-3918, 1996.

Témavezető: Dr. Hosztafi Sándor