

ACTA

PHARMACEUTICA HUNGARICA

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság tudományos folyóirata

4.

2015

APHGAO 85, (043) 113–144. (2015)



ACTA PHARMACEUTICA HUNGARICA

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság folyóirata

Főszerkesztő:

Noszál Béla, Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet
1092 Budapest, Högyes E. u. 9.
Tel.: 217-0891;
E-mail: nosbel@hogyes.sote.hu

Felelős szerkesztő:

Zelkó Romána, Semmelweis Egyetem, Egyetemi Gyógyszertár,
Gyógyszerügyi Szervezési Intézet,
1092 Budapest, Högyes E. u. 7–9.
Tel.: 217-0927;
E-mail: zelrom@hogyes.sote.hu

A szerkesztőbizottság tagjai:

Báthori Mária, Erős István, Gunda Tamás, Perjési Pál,
Tóthfalusi László

A szerkesztőség címe – Correspondence:

Acta Pharmaceutica Hungarica
1092 Budapest, Högyes Endre u. 9.

A főszerkesztő munkatársa:

Hankó Zoltán MGYT,
1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16.
Tel.: 235-0999; fax: 235-0998

TARTALOM

Horvát Gabriella, Budai-Sziűcs Mária, Berkó Szilvia, Szabó-Révész Piroska, Gyarmati Benjámin, Szilágyi Barnabás Áron, Szilágyi András, Csányi Erzsébet: Egy új típusú polimer, az in situ gélesedő tiolált poliaszparaginsav alkalmazása szemészeti gyógyszerhordozóként 115

Orgován Gábor, Noszál Béla: A rezveratrol gyógyszerészi kémiája 123

Szabó Péter, Kovács-Kiss Dorottya, Zelkó Romána: Nőgyógyászati célra szánt, hormontartalmú implantátumok fejlesztési lehetőségeinek áttekintése: irodalmi áttekintés 131

Kovács Georgina, Varga Dávid, Sebe István, Hajdú Mária, Szabó Péter, Ostorházi Eszter, Antal István: Korszerű tartósítási módszer fejlesztése magisztrálisan előállítható műkönnyhöz 139

CONTENTS

<i>Horvát G., Budai-Szűcs M., Berkó Sz., Szabó-Révész P., Gyarmati B., Szilágyi B. Á., Szilágyi A., Csányi E.:</i> Application of in situ gelling mucoadhesive thiolated poly(aspartic acid) in ophthalmic drug delivery	115
<i>Orgován G., Noszál B.:</i> Resveratrol in Pharmaceutical Chemistry	123
<i>Szabó, P., Kovács-Kiss, D., Zelkó, R.:</i> Development possibilities of hormone-containing implants for gynecological application: A review	131
<i>Kovács G., Varga D., Sebe I., Hajdú M., Szabó P., Orosházi E., Antal I.:</i> Development of new magistral method for the preparation of artificial tears.	139

Acta Pharmaceutica Hungarica: www.mgyt.hu

„Acta Pharmaceutica Hungarica” a Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság tudományos folyóirata
Kiadja a Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság, 1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16. Telefon: 235-09-99; E-mail: szerkesztoseg@mgyt.hu

Felelős kiadó: Prof. Dr. Szőke Éva

Előfizethető: Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság, 1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16., belföldi postautalványon vagy átutalással
az MGYT átutalási számlájára: OTP VIII. kerületi fiók, Budapest, József krt. 33.

MGYT elszámolási számla sz. 11708001–20530530

Adószám: 19000754–2–42

Előfizetési díj egész évre: 6000 Ft + 300 Ft áfa

Megjelenik negyedévenként. Példányszám: 700 db

Tördelőszerkesztő: *Oláh Csaba*

Sokszorosítás: Print Invest Magyarország-H Zrt., 1053 Budapest, Papnövelde út 8. II. em. 26.

Felelős vezető: Ványik László ügyvezető igazgató

Egy új típusú polimer, az *in situ* gélesedő tiolált poliaszparaginsav alkalmazása szemészeti gyógyszerhordozóként

HORVÁT GABRIELLA¹, BUDAI-SZŰCS MÁRIA¹, BERKÓ SZILVIA¹,
SZABÓNÉ RÉVÉSZ PIROSKA¹, GYARMATI BENJÁMIN², SZILÁGYI BARNABÁS ÁRON²,
SZILÁGYI ANDRÁS², CSÁNYI ERZSÉBET^{1*}

¹Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszertechnológiai Intézet, 6720 Szeged, Eötvös u. 6.

²Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar, Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék, Lágyműanyagok Kutatócsoport, 1111 Budapest, Budafoki út 8.

Levelező szerző: *csanyi@pharm.u-szeged.hu

Summary

HORVÁT G.¹, BUDAI-SZŰCS M.¹, BERKÓ SZ.¹, SZABÓ-RÉVÉSZ P.¹, GYARMATI B.², SZILÁGYI B. Á.², SZILÁGYI A.², CSÁNYI E.^{1*}:
Application of *in situ* gelling mucoadhesive thiolated poly(aspartic acid) in ophthalmic drug delivery

The bioavailability of drugs used on mucosal surfaces can be increased by the use of mucoadhesive polymers. A new type of mucoadhesive polymers is the group of thiolated polymers with thiol group containing side chains. These polymers are able to form covalent bonds (disulphide linkages) with the mucin glycoproteins. For the formulation of an ocular drug delivery system (DDS) thiolated poly(aspartic acid) polymer (ThioPASP) was used. Our aim was to determine their biocompatibility, mucoadhesion and drug release property. According to the results it can be established that the thiolated poly(aspartic acid) polymers can be a potential vehicle of an ocular drug delivery system due to their biocompatibility, good mucoadhesive property and drug release profile. Thanks to their properties controlled drug delivery can be achieved and bioavailability of the ophthalmic formulation can be increased, while the usage frequency can be decreased.

Keywords: thiolated polymers, ocular drug delivery system, mucoadhesion, rheology, cytotoxicity

Összefoglaló

A nyálkahártyán alkalmazott készítményekben a hatóanyagok biohasznosíthatóságának javítása érdekében egyre szélesebb körben alkalmaznak mukoadhezív polimereket. Ezek egyik legújabb csoportját a tiolált polimerek képezik. A tiolált polimerek ismétlődő egységei legalább részben tiol csoportokat tartalmaznak, melyek a nyálkahártyán található mucin tiol csoportjaival kovalens kötést létesítve növelhetik a készítmény tartózkodási idejét (mukoadhezivitását) az alkalmazási területen. Kutatómunkánkban egy szemészeti hatóanyag hordozó rendszer fejlesztéséhez tiolált poliaszparaginsavat alkalmaztunk. Célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk a polimerek biokompatibilitását, mukoadhézióját és hatóanyag diffúzióját gélekből. Eredményeink alapján a tiolált poliaszparaginsav polimer kedvező mukoadhezív tulajdonságának és hatóanyag diffúziós képességének köszönhetően szemészeti hatóanyag hordozó rendszer lehet, amellyel szabályozott hatóanyag leadás érhető el és az alkalmazott hatóanyag biológiai hasznosíthatósága javítható.

Kulcsszavak: tiolált polimerek, szemészeti hatóanyag hordozó rendszer, mukoadhézió, reológia, citotoxicitás

1. Bevezetés

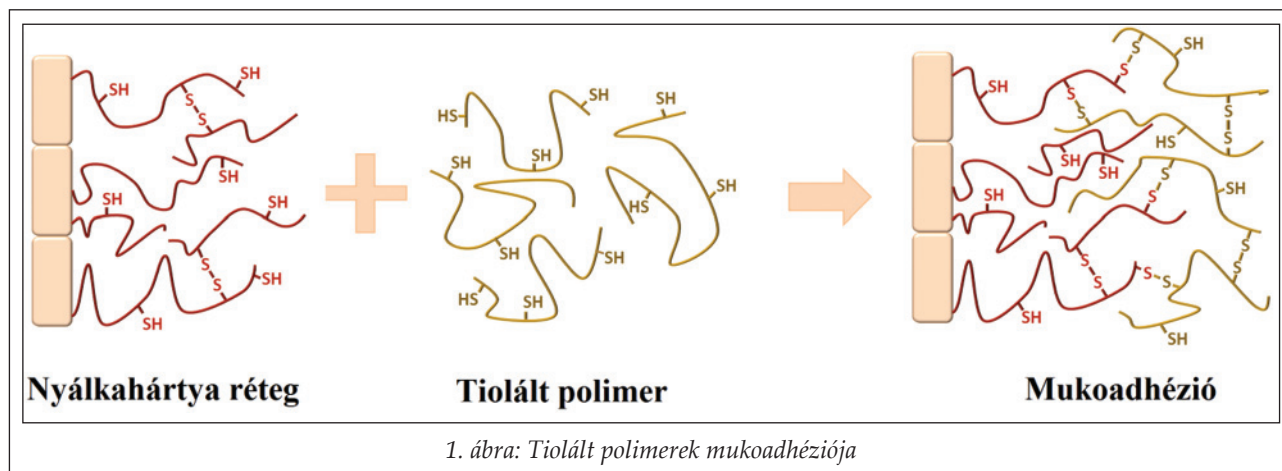
Öregedő társadalmunkban az idős korról összefüggésbe hozható szemészeti betegségek hatásos kezelése utáni igény egyre fontosabbá válik. Az időskori makula degeneráció, glaukóma, diabéteszes retinopátia és szemészeti gyulladásos betegségek jobb és hatékonyabb innovatív kezelést igényelnek.

A jelenleg forgalomban lévő szemészeti készítményekben a hatóanyagok igen alacsony, kevesebb, mint 2%-os biohasznosulással rendelkeznek. A biológiai hasznosíthatóság javítható olyan készítmények fejlesztésével, amelyek nyújtott hatást biztosítanak a szemén, ezzel együtt pedig akár ala-

csonyabb hatóanyag dózis, és a ritkább alkalmazás is megvalósítható. Ennek egyik lehetősége mukoadhezív polimerek alkalmazása [1].

Mukoadhézió során fizikai és kémiai kölcsönhatások jönnek létre a gyógyszerhordozó rendszer és a biológiai szövet, azaz nyálkahártya között. A kölcsönhatások erősségét jelentősen befolyásolják az alkalmazott polimer tulajdonságai (koncentrációja, molekulatömege, funkciós csoportok száma és tulajdonsága, lánc flexibilitása) [2, 3, 4].

A mukoadhezív polimereket két nagy csoportra oszthatjuk: első és második generációs mukoadhezív polimerekre. Az első generációs polimerek jellemzője, hogy elsősorban gyengébb, másodlagos kötéseket képesek létrehozni a nyálkahártyával, és



az egyik fő komponensével a mucinnal. Az első generációs mukoadhézió polimerok tovább csoportosíthatók anionos, kationos és nemionos polimerekre [1, 2, 3, 5, 6].

A jelenleg ismert második generációs polimerok egyik csoportja tiol és/vagy diszulfid csoportot tartalmaz, és legtöbbször első generációs mukoadhézió polimerok módosításával állítják elő őket. E polimerok elsőrendű, kovalens kötést alakítanak ki a mucinnal. A legfontosabb képviselőik jelenleg az ismétlődő egységeikben tiol csoportot tartalmazó polimerok, röviden tiomerek. A tiomerek a nyálkahártyán jelenlévő mucin ciszteinben gazdag részeivel diszulfid hidat alakítanak ki, utána ezzel a glikoprotein természetes mechanizmusait (1., 2. ábra) [1, 5, 7, 8].

A tiolált polimerok tiol csoportjai nemcsak a glikoproteinekkel hoznak létre kötéseket, hanem keresztkötéseken keresztül önmagukban is térhálót képeznek, amely vizes közegben hidrogél kialakulását jelentheti [1, 5, 7].

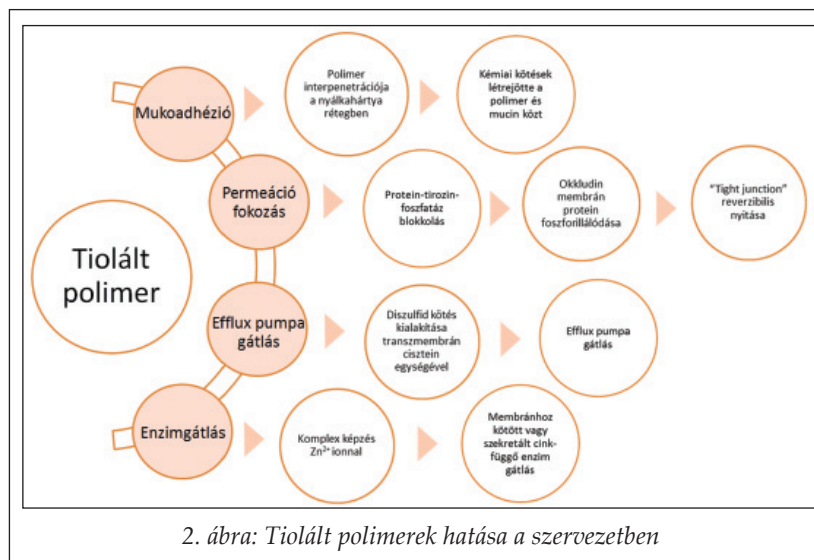
A tiol oldalcsoportoknak köszönhetően a tiolált polimerok permeabilitás fokozó tulajdonsággal is rendelkeznek. A tiomerek blokkolják a protein-tirozin-foszfatazt, melynek hatására az okkludin membrán protein foszforillálódik. Ez a glutation koncentráció növekedése a sejtek közötti szoros kötések (tight junction) reverzibilis nyitására vezet (2. ábra). Ugyanezt a hatást az oxidált glutation redukcióján keresztül közvetlenül is kifejtik [1, 9, 10].

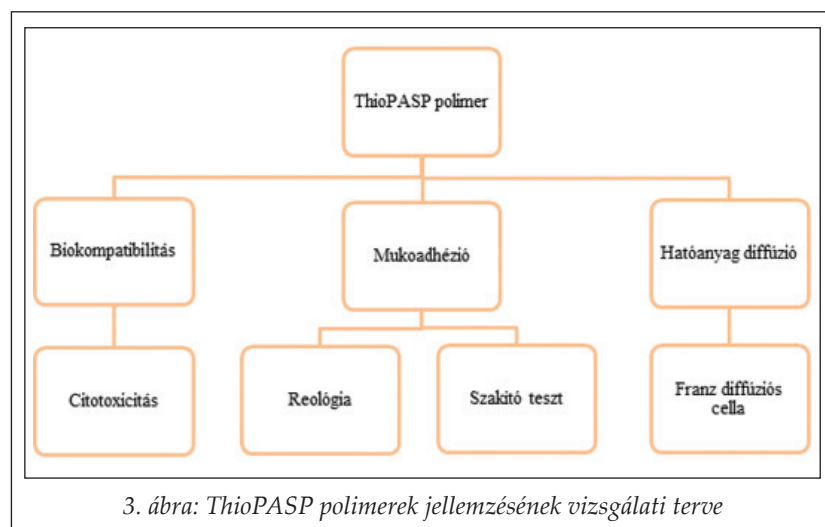
A tiomerek további gyógyászati felhasználásának alapja a sejtbeli efflux pumpa gátló hatásuk (2. ábra). A P-glikoprotein 12 csatornakepző transzmembrán egységből áll, melyek közül kettő cisztein egység. A tiolált polimerok diszulfid kötést képeznek az egyik, vagy mindkét cisztein egységgel, amely az efflux pumpa (P-glikoprotein (P-gp), multidrug rezisztens protein (MDR)) blokkolásához vezet [11, 12, 13].

Végül a tiol csoportok képesek komplexálni a Zn^{2+} ionokat, ez pedig a membránhoz kötött vagy szekretált cink-függő enzimek (többek között a proteáz enzimek) gátlásához vezet (2. ábra) [14].

A tiolált polimerok is 3 fő csoportba sorolhatók, kationos (kitozán), anionos (alginát, hialuronsav) és nemionos (hidroxietil-cellulóz, polietilén-glikol) tiomerek [2, 5, 15].

Kutatómunkánk során újonnan szintetizált tiolált poliaszparaginsavat (ThioPASP) vizsgáltunk [16, 17, 18, 19], amely az aminosav ismétlődő egységeinek köszönhetően feltételezhetően biokompatibilis, biodegradálható és nem toxikus polimer [20, 21, 22]. A természetes alkalmazásra szánt ThioPASP polimere





ket 3 fő szempont szerint vizsgáltuk (3. ábra): biokompatibilitás, mukoadhézió és a hatóanyag diffúzió.

A ThioPASP oldatok biokompatibilitását nyúl szaruhártya epitél sejteken mért citotoxicitás tesztekkel határoztuk meg. A ThioPASP polimerek oxidáció hatására *in situ* gélesednek [16], a gélesedés idejét a szem felszínén jelenlévő mucin jelenlétében és anélkül is meghatároztuk. A ThioPASP polimerek mukoadhézióvizitását reológiai és szakító tesztekkel (*in vitro* és *ex vivo*) jellemeztük. A polimerek térhálósításával előállított gél-mátrixból történő hatóanyag diffúzió vizsgálatához Franz diffúziós cellát alkalmaztunk.

2. Anyagok és módszerek

2.1. Anyagok

Kutatómunkánk során ciszteaminnal módosított tiolált poliaszparaginsav polimert (ThioPASP) vizsgáltunk (a módosítás mértéke $7 \pm 0,2$ mol% volt) [16]. A polimer oldatok készítéséhez foszfát puffert alkalmaztunk (PBS, pH = 7,4). A mukoadhézió méréséhez mucint (II típusú, sertés gyomorból kivont mucin), a citotoxicitás meghatározásához MTT-t (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromid), HBSS-t (Hank's Buffered Salt Solution, pH 7,4) és dimetil szulfoxidot (DMSO), valamint a hatóanyag diffúziós vizsgálatokhoz diklofenák-nátriumot használtunk. A szakító teszt során alkalmazott mesterséges könnyfolyadék összetétele: $2,2 \text{ g/dm}^3 \text{ NaHCO}_3$, $6,26 \text{ g/dm}^3 \text{ NaCl}$, $1,79 \text{ g/dm}^3 \text{ KCl}$, $96,4 \text{ mg/dm}^3 \text{ MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ és $73,5 \text{ mg/dm}^3 \text{ CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ desztillált vízben, a pH-t 1 M HCl-dal állítottuk 7,4-re [19]. Modell oxidálószerként 1M NaBrO₃ oldatot alkalmaztunk.

2.2. Citotoxicitás

A ThioPASP oldatok citotoxicitását MTT teszttel vizsgáltuk. A vizsgálat azon alapszik, hogy az élő sejtek redukáló anyagai a sárga színű MTT festéket lila színű formazánná alakítják, amely koncentrációja fotometriásan meghatározható. A tesztet nyúl szaruhártya epitél sejtvonalon (RCE) végeztük. A sejteket 96-lyukú $0,34 \text{ cm}^2$ területű tálcán tenyésztettük 10^5 sejt/ cm^2 sűrűségben, 37°C -on, 5% CO₂ tartalom mellett, 24 óráig.

A ThioPASP polimerből 5; 7 és 10%-os oldatokat készítettünk és $100 \mu\text{l}$ mennyiségű polimer oldatot adtunk a sejtekhez, majd $100 \mu\text{l}$ HBSS-t. A mintákat 3 órás inkubálást követően eltávolítottuk, majd $50 \mu\text{l}$ $0,25 \text{ g ml}^{-1}$ koncentrációjú MTT és $150 \mu\text{l}$ HBSS oldatot adtunk a sejtekhez. A festékanyagot 3 óráig, 37°C -on és 5%-os CO₂ atmoszféra mellett hagytuk a sejteken, majd eltávolítottuk. A sejtekhez, mosást követően, $100 \mu\text{l}$ /lyuk DMSO-t adtunk a sejtfal megbontására, így felszabadítva ezzel a lila színű formazánt. A formazán oldat abszorbanciáját 60 másodperces rázatást követően 570 nm-en mértük, 690 nm referencia hullámhossznál ELISA tálca olvasóval (Microplate Absorbance ReaderiMARKTM, Bio-Rad Laboratories Srl, Olaszország). A kapott eredményeket a kontroll sejteknél (HBSS-t helyeztünk a sejtekre) mért abszorbanciához viszonyítottuk. Minden koncentrációnál 8 párhuzamos mérést végeztünk [23, 24].

2.3. Reológia

A vizsgálatokat Physica MCR101 reométerrel (Anton Paar, Ausztria) végeztük kúp-lap mérőfejjel (25 mm átmérőjű mérőtest, résmagasság a mérőfej közepénél $0,046 \text{ mm}$, kúpszög 1°). A reométer mérőlapján a ThioPASP oldatokhoz közvetlenül mérés előtt adtuk hozzá az oxidálószer. A végső polimer oldat koncentrációk 5; 7 és 10% voltak, az oxidálószeré pedig 20%. A mukoadhéziós vizsgálatokhoz mucint adtunk a polimer oldathoz (mucin koncentráció a keverékben 5% volt). A gélesedési időt 25°C -on, állandó $1,0 \text{ s}^{-1}$ szögsebesség és 1%-os deformáció mellett mértük. A polimer gélek viszkoelasztikus jellegét a teljes gélesedést követően, frekvenciasöpréssel határoztuk meg. 25°C -on 1%-os deformáció mellett követtük a

tárolási (G'), veszteségi (G'') moduluszok változását mucin hozzáadása után 0,1 - 100 s^{-1} frekvenciatartományban. Minden oszcillációs mérés a lineáris-viszkoelaszticitási tartományon belül történt [19].

2.4. Szakító teszt

A reológiai módszerek mellett szakító tesztekkel is jellemeztük a 3; 5; 7 és 10%-os ThioPASP oldatokból előállított rendszerek (20% oxidálószer) mukoadhézióját. A mérésekhez TA-XT Plus (Texture analyser (ENCO, Spinea, I)) készüléket használtunk 1 kg-os mérőcellával és 1 cm átmérőjű hengeres próbatesttel. A ThioPASP mintákat a hengeres próbatesthez rögzítettük, majd összepréseltük mucin diszperzióval vagy mucin mentes mesterséges könnyfolyadékkal. Az alsó és a felső egységet 2500 mN erővel 3 percig préseltük össze, majd a felső egységet 2,5 mm/min-es sebességgel emelve szétválasztottuk a felületeket. Az erő-út görbe maximuma az adhezív erő. Az erő-út görbe alatti területből az adhezív munkát határoztuk meg. 10 párhuzamos mérést végeztünk minden összetétel esetén [19, 23, 25].

2.5. Hatóanyag diffúziós vizsgálat

A diffúziós vizsgálatokat vertikális Franz diffúziós cellával (Hanson Microette TM Topical & Transdermal Diffusion Cell System, Hanson Research Corporation, USA) végeztük. 0,30 g 7%-os polimer oldatot, 0,1% diklofenák-nátriumot és 20% oxidálószer oldatot tartalmazó ThioPASP gélt helyeztünk donor fázisként a szintetikus membránra (Porafil membrán, cellulóz-acetát, pórusátmérő: 0,45 μm). Akceptor fázisként $35 \pm 0,5$ °C-ra termosztált foszfát puffert (PBS pH = $7,4 \pm 0,15$) alkalmaztunk. A vizsgálatot 24 óráig végeztük. Adott időpontokban 0,8 ml mintát vettünk automata mintavevővel az akceptor fázisból, és friss PBS-sel helyettesítettük. A diffundált diklofenák-nátrium mennyiségét 275 nm-en UV-spektrofotométerrel határoztuk meg [19, 26].

3. Eredmények

3.1. Citotoxicitási teszt

Az Európai Tanács szemészeti készítmények lokális toxicitásának és szem irritációjának meghatározására több protokollt is ismertet, ide tartozik többek között a nyúl szaruhártya sejteken végzett

I. táblázat

ThioPASP oldatok biokompatibilitása

	Élő sejtek (%)	SD
Kontroll	96	15
5%	98	11
7%	88	14
10%	89	13

MTT teszt [27]. Az 5; 7 és 10%-os ThioPASP oldatok mellett kontroll mintaként HBSS-t alkalmaztunk. A kapott eredményeket az I. táblázat foglalja össze.

Az MTT tesztek eredménye alapján megállapítható, hogy a ThioPASP oldat nem toxikus nyúl szaruhártya sejtekre, mivel az élő sejtek közel 90%-os arányban életképesek maradtak még a legnagyobb vizsgált polimer koncentráció esetében is.

3.2. Mukoadhézió

3.2.1. Reológia

A polimerek mukoadhezivitását reológiai szinergista paraméterek számításával jellemeztük, amelynek alapja a tárolási (G') modulusz változásának követése a mucin-polimer kölcsönhatás kialakulásával. A reológiai szinergista paraméterek és a relatív reológiai szinergista paraméterek a következő összefüggés alapján számíthatóak:

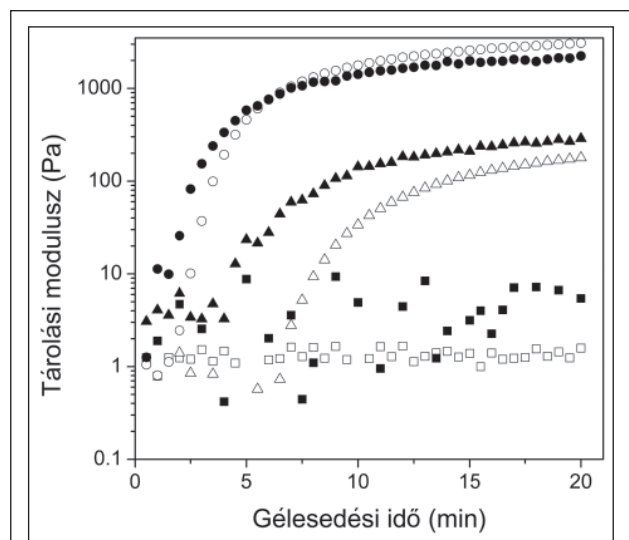
$$\Delta G' = G'_{(\text{keverék})} - (G'_{(\text{polimer})} + G'_{(\text{mucin})}) \quad (1)$$

$$\Delta G'_{\text{rel}} = \Delta G' / (G'_{(\text{polimer})} + G'_{(\text{mucin})}) \quad (2)$$

ahol G' a tárolási modulusz [28, 29, 30].

A mukoadhézió jellemzésére meghatároztuk az 5; 7 és 10%-os ThioPASP oldatok gélesedési idejét mucin nélkül és mucin jelenlétében (4. ábra).

A legkisebb, 5%-os ThioPASP koncentráció esetén nem tapasztaltunk gélesedést, amit a reológiai mérések során a tárolási modulusz állandósága támaszt alá. 7%-os koncentráció esetében már megfigyelhető volt a minták gélesedése, amit a tárolási modulusz nagymértékű növekedése mutat. Mucin jelenlétében gyorsabb gélesedést tapasztaltunk, melyet a modulusz korábbi emelkedése jellemez és a keletkező gél merevsége is nagyobb (magasabb G' értékek a plató fázisban). Ez az eredmény előrevetíti, hogy szemészeti alkalmazás során, a becseppentést követően a szem mucin rétegével való találkozás után gyorsabb gélesedés várható. 10%-os ThioPASP koncentráció

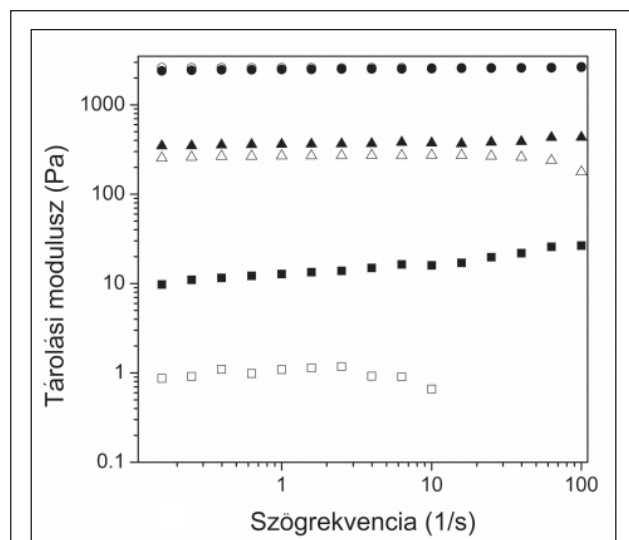


4. ábra: A tárolási modulusz (G') változása 5 (■), 7 (▲) és 10%-os (●) ThioPASP polimer oldatok esetében mucin nélkül (üres szimbólum) és mucinnal (teli szimbólum)

esetében a 7%-os koncentrációhoz viszonyítva még gyorsabb gélesedést tapasztaltunk, de ebben az esetben a mucin jelenléte nem volt mérhető hatással sem a gélesedés idejére, sem a keletkező gél moduluszára.

A keletkező gélek viszkoelasztikus tulajdonságait frekvenciaspektrummal jellemeztük (5. ábra), majd a mukoadhézitás jellemzésére kiszámítottuk a $\Delta G'$ és a $\Delta G'_{rel}$ értékeket 1 s^{-1} szögfrekvenciánál.

Kis ThioPASP koncentrációnál (5 és 7%) mucin hatására nőttek a tárolási modulusz értékek, amely mucin-polimer kölcsönhatás kialakulására utal.



5. ábra: 5 (■), 7 (▲) és 10%-os (●) ThioPASP gélek (üres szimbólum) és a ThioPASP gél-mucin keverékek (teli szimbólum) frekvenciaspektruma

II. táblázat

A számított $\Delta G'$ és $\Delta G'_{rel}$ értékek 5, 7 és 10%-os ThioPASP koncentrációnál

ThioPASP koncentráció (%)	$\Delta G'$	$\Delta G'_{rel}$
5	11,7	10,7
7	93	0,4
10	-100	≈ 0

10%-os ThioPASP koncentrációnál nincs mérhető különbség a mucinnal és mucin nélkül készült minták tárolási modulusz értékei között. Valószínűsíthető, hogy ilyen nagy koncentráció esetén már merev gél keletkezik önmagában a ThioPASP polimerből, és a mucin korlátozott interpenetrációja miatt nem jön létre jelentős mennyiségű új kölcsönhatás a polimer és a mucin között.

A számított $\Delta G'$ és $\Delta G'_{rel}$ értékek a II. táblázatban láthatóak.

A II. táblázat adatai is a polimer és a mucin közötti interpenetráció és kölcsönhatások kialakulására utalnak a kis polimer koncentrációk esetében (5 és 7%). A számított relatív értékek alapján az 5%-os rendszer rendelkezik a legjobb mukoadhézív tulajdonsággal, míg a 10%-os gélnél kapott negatív értékek elhanyagolható mértékű mukoadhéziót mutatnak. A 7%-os koncentráció alkalmazása célravezetőbb a további fejlesztésben, mivel az 5%-os ThioPASP oldat esetén gélesedés nem történik, így a szem eliminációs folyamatainak (pislogás, könnyezés) várhatóan kevésbé áll ellen.

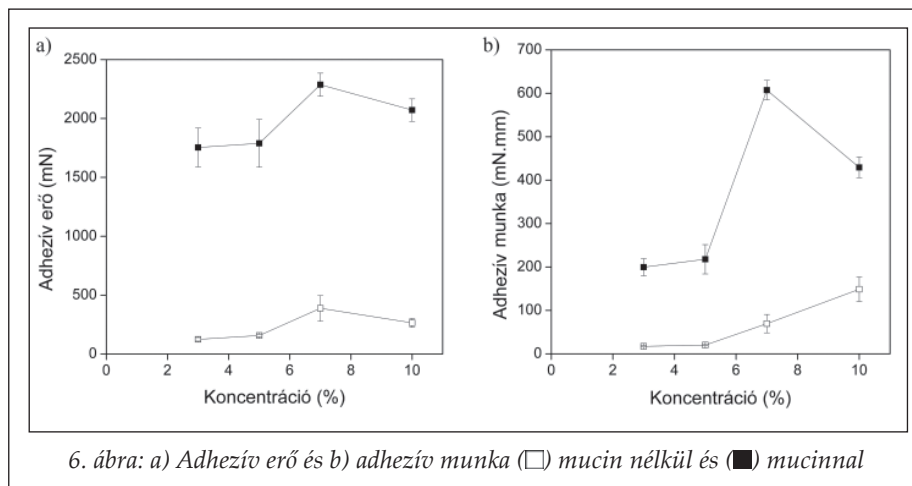
A reológiai eredmények alapján megállapítható, hogy a 7%-os ThioPASP összetételek rendelkeznek olyan szerkezettel, amely már gél képez, és lehetőséget biztosít a mucinnal történő kölcsönhatások kialakítására is.

3.2.2. Szakító teszt

A ThioPASP gélek mukoadhézitását szakító teszttel is meghatároztuk. A vizsgálat során mucinnal és műkönnnyel mért (a) adhézív erőt és (b) az erő-út görbéből számított adhézív munkát a 6. ábra szemlélteti.

A 3; 5; 7 és 10%-os ThioPASP összetételek rendelkeznek kimutatható mukoadhézív tulajdonsággal, az adhézív erő és a munka értékek jelentősen nagyobbak voltak a mucinnal végzett kísérletek esetében, a mucin mentes mintákhoz viszonyítva.

A mucinnal végzett vizsgálat során, a kapott adhézív erő értékek alapján megállapítható, hogy a ThioPASP koncentráció növelésével növekszik az adhézív erő értéke a 7%-os ThioPASP koncentrációig. E koncentráció felett az erő értéke csök-



6. ábra: a) Adhézióerő és b) adhéziómunka (□) mucin nélkül és (■) mucinnal

ken. Ugyanezt a tendenciát tapasztaltuk az adhézió munka esetében is. Mindezek alapján megállapítható, hogy 10%-os ThioPASP koncentrációnál a gél mukoadhézió szempontjából a 7%-os gélhez képest már nem megfelelő gél szerkezettel rendelkezik, mivel feltételezhetően mind a mucin láncok interpenetrációja, mind a kémiai kötés kialakítása a polimer és a mucin között gátolt, ahogy azt a reológiai mukoadhéziós vizsgálat is alátámasztotta.

A 7%-os ThioPASP gél esetében tapasztaltuk a legnagyobb adhézióerő és munka értéket, amely megerősíti a reológiai mérések eredményeit. A reológiai és a szakító teszt esetében is, a mukoadhézió szempontjából optimális gél szerkezettel a 7%-os ThioPASP gél rendelkezett az adott módosítási arány esetén. Eredményeink alapján a ThioPASP rendszerek várhatóan a szem *in situ* gélesednek és jó mukoadhézió tulajdonságuknak köszönhetően, a hagyományos készítményekhez

képezt, használatukkal növelhető a tartózkodási idő, így javítható a készítményekben alkalmazott hatóanyagok biológiai használhatósága.

3.3. Hatóanyag diffúziós vizsgálat

A mukoadhéziós vizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy a 7%-os ThioPASP gél megfelelő mukoadhézió tulajdonságú hatóanyag hor-

dozó lehet, ezért ezen összetétel esetén vizsgáltuk modell hatóanyag (diklofenák-nátrium) gélből történő diffúzióját. A vizsgálatot vertikális Franz diffúziós cellán végeztük 24 órán keresztül (7. ábra).

A hatóanyag diffúziós vizsgálat eredményei azt mutatják, hogy a diklofenák-nátrium 20%-a 10 perc, míg közel 60%-a 5 óra alatt kidiffundál a gélből az akceptor fázisba. A kezdeti gyors hatóanyag felszabadulás előnyös szemészeti terápia során, mert a terápiás tartomány gyorsan elérhető. A további folyamatos, lassú hatóanyag felszabadulás pedig lehetővé teszi a terápiás hatás fenntartását.

A ThioPASP polimerek hatóanyag-leadását a gél mátrix duzzadása is befolyásolja, a hatóanyag diffúziójának kinetikája a következő összefüggés alapján számítható:

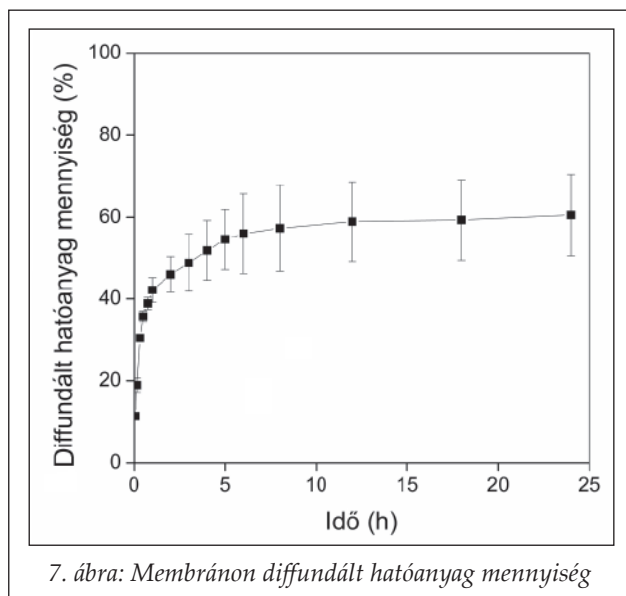
$$\frac{M_t}{M_\infty} = k t^n \quad (3)$$

ahol M_t a t időben felszabadult hatóanyag mennyisége, M_∞ a végtelen időben felszabadult hatóanyag mennyisége, k a sebességi állandó, n a diffúzió transzportját jellemző hatványkitevő [31].

A hatványkitevő értéke alapján megállapítható, hogy nem-Fick diffúzió szerint történik a hatóanyag felszabadulása. Az n értéke 0,5 és 1 közötti, $n = 0,5775$ ($R^2 = 0,9689$). Az ilyen típusú kinetikára jellemző, hogy a Fick diffúzió mellett esetenként a polimer láncok relaxációja és eróziója is befolyásoló hatással lehet a hatóanyag diffúziójára [31, 32, 33].

4. Összefoglalás

Kutatómunkánk során ciszteaminnal módosított poliaszparaginsav polimert (ThioPASP) vizsgáltunk azzal a céllal, hogy rámutassunk szemészeti



7. ábra: Membránon diffundált hatóanyag mennyiség

alkalmazásuk lehetőségére. Nyúl szaruhártya epitél sejteken végzett citotoxicitás teszttel igazoltuk a ThioPASP oldatok (5; 7 és 10%) biokompatibilitását. A várható mukoadhéziós sajátságokat oszcillációs reológiával vizsgáltuk. A ThioPASP oldatok (5; 7 és 10%) alkalmazása során az *in situ* gélesedés gyorsabban bekövetkezik mucin jelenlétében. Mukoadhézió szempontjából az *in vitro* mérések alapján a 7%-os ThioPASP oldatokból készült gél rendelkezik optimális szerkezettel, amelynél az interpenetráció mellett erős diszulfid kötések jönnek létre a ThioPASP polimer tiol csoportjai és a mucin glikoproteinjei között, biztosítva ezzel a jó mukoadhezivitást. A szakító teszt eredményei is alátámasztották megállapításainkat.

A hatóanyag diffúziós vizsgálatokat 7% -os ThioPASP géllel végeztük. Kezdeti gyors hatóanyag (diklofenák-nátrium) diffúziót követően egy lassú, nyújtott hatóanyag-leadást tapasztaltunk, amely hosszantartó terápiás hatást tesz lehetővé.

A kapott eredmények alapján megállapítható, hogy a 7%-os ThioPASP polimert tartalmazó rendszerek ideális szemészeti hatóanyag hordozók lehetnek, alkalmazásukkal szabályozott hatóanyag leadás és várhatóan jobb biológiai hasznosíthatóság érhető el.

5. Köszönetnyilvánítás

Köszönetünket szeretnénk kifejezni a Páviai Tudományegyetem *prof. Carla Caramella* által vezetett kutatócsoport dolgozóinak, hogy lehetőséget biztosítottak a citotoxicitási és szakító teszt elvégzéséhez.

IRODALOM

- Ludwig, A.: Adv. Drug Deliver. Rev. 57, 1595-1639 (2005).
- Andrews, G.P., Laverty, T.P., Jones, D.S.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 71, 505-518 (2009).
- Leitner, V.M., Marschütz, M.K., Bernkop-Schnürch, A.: Eur. J. Pharm. Sci. 18, 89-96 (2003).
- Leung, S.H., Robinson, J.R.: J. Control. Release 12, 187-194 (1990).
- Kumar, R., Sinha, V.R.: React. Funct. Polym. 73, 1156-1166 (2013).
- Chickering, III D.E., Mathiowitz, E.: Definitions, mechanisms, and theories of bioadhesion. In: Mathiowitz, E., Chickering, III D.E., Lehr, C.M., Bioadhesive Drug Delivery Systems; Fundamentals, Novel Approaches and Development. Marcel Dekker Inc., 1999. pp 1-10
- Bernkop-Schnürch, A.: Drug Discovery Today: Technologies 2(1), 83-87 (2005).
- Bernkop-Schnürch, A.: Adv. Drug Deliver. Rev. 57, 1569-1582 (2005).
- Gradauer, K., Dünnhaupt, S., Vonach, C., Szöllösi, H., Pali-Schöll, I., Mangge, H., Jensen-Jarolim, E., Bernkop-Schnürch, A., Prassl, R.: J. Control. Release 165, 207-215 (2013).
- Clausen, A.E., Kast, C.E., Bernkop-Schnürch, A.: Pharm. Res. 19(5), 602-608 (2002).
- Bernkop-Schnürch, A., Grabovac, V.: Am. J. Drug Del. 4, 263-272 (2006).
- Iqbal, J., Sakloetsakun, D., Bernkop-Schnürch, A.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 78, 361-365 (2011).
- Rahmat, D., Sakloetsakun, D., Shahnaz, G., Sarti, F., Lafleur, F., Bernkop-Schnürch, A.: Int. J. Pharm. 422, 40-46 (2012).
- Bernkop-Schnürch, A., Thaler, S.CH.: J. Pharm. Sci. 89(7), 901-909 (2000).
- Serra, L., Doménech, J., Peppas, N.A.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 71, 519-528 (2009).
- Gyarmati, B.; Vajna, B.; Némethy, Á.; László, K.; Szilágyi, A.: Macromol. Biosci. 13, 633-640 (2013).
- Gyenes, T., Torma, V., Gyarmati, B., Zrínyi, M.: Acta Biomater. 4, 733-744 (2008).
- Gyarmati, B., Mészár, E.Z., Kiss, L., Deli, M.A., László, K., Szilágyi, A.: Acta Biomater. 22, 32-38 (2015).
- Horvát, G., Gyarmati, B., Berkó, Sz., Szabó-Révész, P., Szilágyi, B.Á., Szilágyi, A., Soós, J., Sandri, G., Bonferoni, M.C., Rossi, S., Ferrari, F., Caramella, C., Csányi, E., Budai-Szűcs, M.: Eur. J. Pharm. Sci. 67, 1-11 (2015).
- Lu, Y., Chau, M., Boyle, A.J., Liu, P., Niehoff, A., Weinrich, D., Reilly, R.M., Winnik, M.A.: Biomacromolecules 13(5), 1296-1306 (2012).
- Roveton, S., Huang, S.J., Swift, G.: J Environ Polym Degr. 5(3), 175-181 (1997).
- Nakato, T., Yoshitake, M., Matsubara, K., Tomida, M., Kakuchi, T.: Macromolecules 31(7), 2107-2113 (1998).
- Sandri, G., Bonferoni, M.C., Rossi, S., Ferrari, F., Mori, M., Del Fante, C., Perotti, C., Caramella, C.: Int. J. Pharm. 426, 1-6 (2012).
- Mori, M., Rossi, S., Bonferoni, M.C., Ferrari, F., Sandri, G., Riva, F., Del Fante, C., Perotti, C., Caramella, C.: Int. J. Pharm. 461(1-2), 505-513 (2014).
- Sandri, G., Bonferoni, M.C., Chetoni, P., Rossi, S., Ferrari, F., Ronchi, C., Caramella, C.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 62, 59-69 (2006).
- Csizmazia, E., Erős, G., Berkesi, O., Berkó, S., Szabó-Révész, P., Csányi, E.: J. Drug Del. Sci. Tech. 21(5), 411-415 (2011).
- <http://ecvam-dbalm.jrc.ec.europa.eu/> [2015. 09. 14.] DataBase service on Alternative Methods to animal experimentation (DB-ALM), MTT Assay-Summary Method
- Caramella, C.M., Rossi, S., Bonferoni, M.C.: A rheological approach to explain the mucoadhesive behavior of polymer hydrogels. In: Mathiowitz, E., Chickering, III D.E., Lehr, C.M., Bioadhesive Drug Delivery Systems; Fundamentals, Novel Approaches and Development. Marcel Dekker Inc., 1999. pp 25-65
- Hassan, E.E., Gallo, J.M.: Pharm. Res. 7(5), 491-495 (1990).
- Madsen, F., Eberth, K., Smart, J.D.: J. Control. Release 50, 167-178 (1998).
- Peppas, N.A., Bures, P., Leobandung, W., Ichikawa, H.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 50, 27-46 (2000).
- Baumgartner, S., Planinšek, O., Srčič, S., Kristl, J.: Eur. J. Pharm. Sci. 27, 375-383 (2006).
- Park, C.R., Munday, D.L.: Int. J. Pharm. 237, 215-226 (2002).

A rezveratrol gyógyszerészi kémiaja

ORGOVÁN GÁBOR, NOSZÁL BÉLA

Semmelweis Egyetem Gyógyszerészi Kémiai Intézet, Budapest, Hőgyes E. u. 9. – 1092
Levelezési cím: orgovan.gabor@pharma.semmelweis-univ.hu

Summary

ORGOVÁN G., NOSZÁL B.: **Resveratrol in Pharmaceutical Chemistry**

Resveratrol is a polyphenol that can be found in various plants, including grapes. Wines therefore also contain this compound. The famous phenomenon, named "French paradox" is considered to be an effect of resveratrol: the regular, modest consumption of red wine causes low incidence of cardiovascular diseases. Resveratrol is also reported to have anti-carcinogenic, anti-inflammatory, neuroprotective, and several further beneficial effects.

As yet, resveratrol is not a registered drug in Hungary; nevertheless it is a common food supplement. Paradoxically, this is the very danger of its use: it can have harmful side-effects with several drugs.

The bioavailability of resveratrol is, however, not favorable, due to its poor water-solubility and extensive metabolism.

Our current knowledge is still far from being sufficient to understand its mode of action at a molecular level. Only a few of the most important physicochemical properties has been determined so far. The two major directions of pharmaceutical research of resveratrol are the elaboration of formulation systems that can improve the water solubility; the other is the development of analogous agents of enhanced effects.

Összefoglalás

A rezveratrol számos növényfajban, többek között szőlőben, így a borban is megtalálható polifenol. A rezveratrolnak tulajdonítható a „francia paradox” jelenség, melynek köszönhető a mérsékelt, de rendszeres vörösborfogyasztás, valamint a szív- és érrendszeri megbetegedések alacsony előfordulása közötti összefüggés. A molekula ezen kívül számos jótékony hatással rendelkezik, többek között rákellenes, gyulladáscsökkentő, neuroprotektív hatásokról is beszámoltak.

A rezveratrol, mint növényi eredetű, régóta ismert hatóanyag gyógyszerként nincs forgalomban Magyarországon, azonban számos étrendkiegészítő készítményben megtalálható. Ennek megfelelően, ellenőrizetlen alkalmazása nem kívánt kölcsönhatásokhoz vezethet.

A sokoldalú és rendkívül előnyös terápiás hatások azonban előnytelen farmakokinetikával párosulnak, mert a gyenge vízoldékonyság és az intenzív metabolizmus miatt igen csekély a biohasznosulása.

A rezveratrolra vonatkozó ismereteink azonban még közel sem teljesek, a molekula legfontosabb fizikai-kémiai paraméterei közül is csupán néhányat határoztak eddig meg. A vegyülettel kapcsolatos gyógyszerkémiai kutatások két legfontosabb iránya a vízoldékonyság növelése megfelelő hordozórendszerek segítségével, illetve olyan analógok, származékok előállítására, melyek erősebb, szelektívebb hatással rendelkeznek.

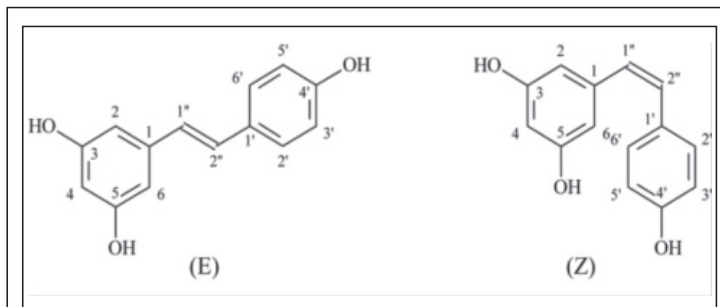
1. Bevezetés

A különböző növényi eredetű hatóanyagok számtalan gyógyszer, illetve étrend-kiegészítő készítmény összetevői között megtalálhatóak. Ezek hatásosságát a legtöbb esetben népgyógyászati tapasztalatok igazolják, egyelőre azonban ritkán találkozhatunk a hatás pontos, molekuláris szintű leírásával. Ennek egyik oka természetesen a drogok, növényi kivonatok rendkívüli összetettsége, akár ezerféle molekulát is tartalmazhatnak. Ilyen komplex mátrixokból csak igen ritka esetben lehet egy-egy vegyületet kiemelni, a rezveratrol azonban ezen kivételek közé tartozik. Az OÉTI által engedélyezett étrendkiegészítők közül nem kevesebb, mint 93 készítmény nevében fordul elő a „rezveratrol” kifejezés.

A rezveratrolt (5-(1E)2-(4-hidroxifenil)etenil-benzol-1,3-diol, *transz*-3,5,4'-trihidroxistilben) 1940-ben izolálta Takaoka a fe-

hér hunyor (*Veratrum Grandiflorum* Hoes. Fil.) gyökeréből [1]. A későbbiekben hetvennél is több növényfajban mutattak ki rezveratrolt; többek között szőlőben [2], erdei fenyőben, japánkeserűfűben, szójában, mogyoróban [3].

A rezveratrol molekula a polifenolok családjába tartozik, három fenolos hidroxilcsoportot tartalmaz (1. ábra). A vegyületnek kétféle geometriai izomerje létezik: az 1''-2'' kettős kötés mentén a szubsztituensek egymáshoz viszonyított helyzete



1. ábra: A *transz* ill. *cisz* rezveratrol szerkezete

alapján E (transz)- és Z (cisz)-rezveratrolról beszélhetünk.

Bioszintézisét többek között a stilbén-szintáz enzim végzi, amely egy *p*-kumaroil-CoA és három malonil-CoA kondenzációjával „állítja elő” a rezveratrolt [4]. A folyamatban kizárólag a transz-izomer keletkezik. A vörösborban található cisz-izomer kétféleképpen keletkezhet: UV-fény vagy a fermentáció során az élesztőben található izoméráz enzimek hatására [5, 6].

Funkcióját tekintve a fitoalexinek közé tartozik: különböző károsító ágensek hatására keletkezik (gombás, rizobakteriális fertőzés, UV-sugárzás, fém sók, stb.) és szerepet játszik a további káros hatások elleni védelemben.

A rezveratrol iránti érdeklődés az ún. „francia paradox” jelenség leírása után nőtt meg [7]. Franciaországban az egészségtelen táplálkozás, különösen a magas telített-zsírbevétel ellenére rendkívül alacsony a szív- és érrendszeri megbetegedések morbiditása és mortalitása. A látszólagos ellentmondást a rendszeres, kis mennyiségű vörösbor-fogyasztással magyarázták.

Bár a borban a rezveratrol koncentrációja alacsony [8, 9], és a szőlőben több mint 1600 féle vegyületet mutattak ki [10], mégis egyértelműen a rezveratrolnak tulajdonították a bor szérum lipidszint-csökkentő hatását.

1997-ben jelent meg az első közlemény a rezveratrol kemopreventív, rákellenes hatásáról. Az ezt követő években exponenciálisan nőtt a publikációk száma, 2008 óta évente több mint 1000 publikációban szerepel a rezveratrol [11].

2. Fizikai-kémiai jellemzés

A rezveratrol hatásainak, farmakokinetikájának pontos, molekuláris szintű megértéséhez elengedhetetlen a bioreleváns fizikai-kémiai paraméterek (sav-bázis tulajdonságok, lipofilitás, oldhatóság, stabilitás) ismerete. Jelenleg csak a transz-izomerre vonatkozóan állnak rendelkezésre irodalmi adatok, a cisz-rezveratrollal – tudomásunk szerint – semmilyen közlemény nem foglalkozik.

2.1 Sav-bázis tulajdonságok

A rezveratrol három fenolos hidroxilcsoporttal rendelkezik, így háromértékű gyenge savként viselkedik. Az irodalomban három, meglehetősen ellentmondásos közleményt találhatunk a savi disszociációs állandókról (*I. táblázat*).

Látható, hogy az első disszociációs állandóban

I. táblázat

A transz- rezveratrol savi disszociációs állandói

Hivatkozás	pK ₁	pK ₂	pK ₃
[12]	8.8	9.8	11.4
[13]	9.3	10.0	10.6
[14]	6.4	9.4	10.5

3 nagyságrend, míg a harmadikban 1 nagyságrend különbség van az egyes közleményekben megjelent értékek között. A molekula szerkezetét figyelembe véve a pK₁ értéke 9 körül várható, a *Stojanovic és mtsai* közleményében [14] található 6,4-es érték irreálisan alacsony. A szerkezet pH-ján tehát a vegyület túlnyomórészt semleges formában van jelen, azonban az enzimatis oxidációban valamelyik deprotonált részecske vesz részt [15].

2.2 Oldhatóság, lipofilitás

A rezveratrol meglehetősen apoláros molekula, így vízoldhatósága is alacsony. Az oldhatósági adatok is ellentmondásosak, nagyságrendnyi különbségek találhatunk közöttük: leírtak 19 µg/ml [16], 21 µg/ml [17], 60 µg/ml [18] és 390 µg/ml [19] értékeket is. E hatalmas eltérések azzal magyarázhatók, hogy a vegyület oldhatósága nyilvánvalóan nagyban függ az ionizáltsági (protonáltsági) állapotától, azaz – gyakorlati szempontból – a pH-tól.

A molekula (kiváltképp semleges formában) meglehetősen lipofil, az oktanol/víz megoszlási hányados értéke (logP) 3 körüli [20, 21].

2.3. Stabilitás

A transz- rezveratrol szilárd formában stabil, azonban oldatban kétféleképpen is bomlást szenvedhet: lúgos közegben könnyen és gyorsan oxidálódik, míg fény hatására cisz-izomerré alakul.

Az oxidáció sebessége a pH növekedésével gyorsul: míg erősen savas oldatban (pH=1,2) a rezveratrol felezési ideje kb. 300 nap, addig pH=10 oldatban már csak 3 perc [18].

Az izomerizáció is meglehetősen gyors folyamat, 1 óra besugárzás hatására 80%-os az átalakulás [22, 23].

3. Farmakológiai hatások

Az elmúlt évek intenzív kutatásai során sikerült a rezveratrol számos jótékony farmakológiai hatását kimutatni mind állatmodelleken, mind humán vizsgálatokban. Jelenleg a ClinicalTrials.gov oldal

alapján 103 klinikai vizsgálat folyik/fejeződött be [24], melyben a rezveratrol hatásait tanulmányozták, így a közeljövőben várhatóan még pontosabb képet kaphatunk a farmakológiai hatásokról. A hatásokat Park és Pezzuto közleménye részletesen összefoglalja [11]. Az alábbiakban leírt hatások kizárólag a transz izomerre vonatkoznak a cisz-rezveratrolról csak néhány tanulmányban találhatunk adatokat. Eszerint rendelkezik vazorelaxáns hatással, amely hasonló a transz izomerhez [25]. Ezen kívül még gátolja a ciklooxygenáz-2 (COX2) enzim expresszióját [26].

3.1 Daganatos megbetegedések

Rágcsáló modelleken leggyakrabban különböző poliaromás szénhidrogéneket (7,12-dimetilbenz[a]-antracén, benzo[a]-pirén, 12-O-tetradekanoilforbol-13-acetát) vagy UV-sugárzást alkalmaznak bőrrák kiváltására. Helyileg alkalmazott rezveratrol minden esetben csökkentette a tumorok előfordulását, térfogatát, valamint késleltette a daganatok kialakulását is. A tumor-eredetű biomarkerek vizsgálatával kimutatták, hogy a rezveratrol apoptózist indukált és csökkentette a gyulladásos folyamatokban résztvevő enzimek, fehérjék szintjét.

Szisztémás alkalmazása állatkísérletekben csökkentette a különféle daganatok (mell-, prosztatata-, vastagbél-, és májrák) előfordulását és növekedését. A hatás hátterében itt is a proapoptotikus faktorok expressziójának növekedése (kaspáz-3, Bax, glutation-reduktáz), a sejtproliferációhoz kötődő fehérjék (β -katenin, ciklin-D1) és a DNS-javító fehérjék (DNS-ligáz) expressziójának csökkenése állt.

Klinikai vizsgálatokon igazolták, hogy vastagbél-daganatok esetén csökkentette a tumorsejtek proliferációját.

3.2 Gyulladásos folyamatok

A rezveratrol kezelés csökkentette számos gyulladásos mediátor szintjét. Ilyen fehérjék például a tumor nekrosis faktor α (TNF- α), COX2, interleukin-1 β , -6, -23p19, indukálható nitrogén-monoxid-szintáz (iNOS) és prosztaglandin-E szintáz (PGES). Az endogén érfalösszehúzó hatású vegyületek (pl. angiotenzin-II, endotelin) plazmaszintje is jelentősen csökken rezveratrol-kezelés hatására.

A rezveratrol növelte a kísérleti állatok túlélését súlyos akut hasnyálmirigy-gyulladásos és nyombélgyulladásos modellekben. Ezekben túlmenően az ízületi gyulladások súlyosságát is csök-

kentette mind ízületbe injektálva, mind per os alkalmazva.

3.3 Kardiovaszkuláris hatások

A rezveratrol csökkenti az érszűkületek kialakulását, a szisztolés vérnyomást, és elősegíti az érfalak relaxációját. Ezekon kívül iszkémiás állapotokban, például miokardiális infarktus esetén is növelte a túlélést, csökkentette a testtömeg-indexet. Biomarker-szinten kimutatták, hogy az endotélben található NO-szintáz aktivitása megnő, míg az indukálható NO-szintázé csökken. Ezen kívül megnőtt a PPAR α (peroxiszóma proliferáció aktiválta receptor) és a SOD (szuperoxid-diszmutáz) szintje is.

Klinikai vizsgálatok szerint a rezveratrol kezelés két fő hatást vált ki: egyrészt javítja a balkamrai funkciókat és az endotélfunkciókat, másrészt csökkenti az LDL plazmaszintjét és a vérlemezke-aggregációt.

3.4 Diabétesz

A sztreptozotocin által kiváltott I-es típusú cukorbetegség esetén a rezveratrollal történő kezelés csökkentette a vércukor-szintet. A hatás mögött az áll, hogy megnőtt a májsejtek, az izomsejtek és az adipociták glukózfelvetele, valamint nőtt a májban a glikogénszintézis. Ezen kívül még a plazma triglicerid-szintjének csökkenését is leírták. A fentiekon kívül a cukorbetegségekre jellemző neuropátiás tünetek erősségét (polifágia, polidipszia, hiperalgémia, allodynia) is csökkentette.

Embereken végzett vizsgálatok szerint négyhetes rezveratrol kezelés csökkentette az inzulinrezisztenciát, valamint az étkezés utáni vércukor-szintet, az éhomi vércukorszintre viszont nem volt hatással. 2-es típusú diabéteszben szenvedő betegnél három hónapos kezelés hatására csökkent az A1c hemoglobin szintje, a szisztolés vérnyomás, a teljes és az LDL koleszterinszint, valamint a láb-szárfekélyek mérete is.

3.5 Obezitás

A rezveratrol-kezelés obezitásra gyakorolt hatása ellentmondásos. Néhány modellen (rhesus majom, mikrosertés, patkány) semmilyen hatást nem találtak, míg más vizsgálatokban (egér, mikrosertés) csökkent az állatok testtömege, javult a glukóz-tolerancia, és csökkent a szérum inzulinszint. Klinikai vizsgálatok alapján a rezveratrol érfalvédő hatást mutatott, javította a

hipertrigliceridémiát és a memóriafunkciókat, és kalóriamegvonás-szerű hatásokat okozott. A kalóriamegvonást tartják az obezitás-kezelés egyik leghatékonyabb módjának, hiszen itt a vitaminok és nyomelemek szükséges mennyiségének bevitelét biztosított, csak a szénhidrátok és zsírok mennyiségét csökkentik.

3.6 Központi idegrendszeri megbetegedések

A rezveratrol számos központi idegrendszeri megbetegedés állatkísérletes modelljében mutatott jótékony hatást. Egereken és patkányokon mind a farkon lógatásos (tail suspension), mind a kényszerített úszásteszt (forced swimming test) során csökkentette a mozdulatlanság időtartamát. Krónikus stressznek kitett állatokban a rezveratrol megakadályozta monoaminok (szerotonin, noradrenalin, dopamin) szintjének csökkenését a hippokampusban, a frontális kéregben és a hipotalamusban, míg a monoaminoxidáz A (MAO-A) enzim aktivitása is csökkent. Egészséges állatokon a kezelés hatására nőtt a monoaminok szintje és csökkent a MAO-A és MAO-B enzimek aktivitása. Szerotonin-antagonistával (4-klórifenilalanin) történő előkezelés a rezveratrol hatásának kialakulását megakadályozta, így valószínűsíthető a szerotonerg rendszer szerepe a rezveratrol antidepresszáns hatásában.

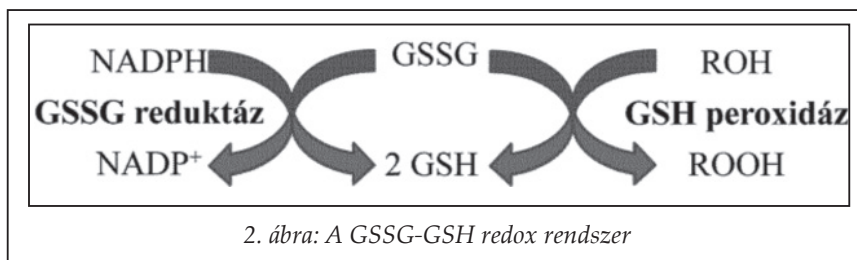
Epilepsziamodelleken is vizsgálták a rezveratrol hatását: a kezelés hatására csökkent az agyi sérülésre utaló biomarkerek mennyisége. Ezek a hatások csak felnőtt állatokon jelentkeztek, fiatal egyedeken nem sikerült kimutatni a rezveratrol neuroprotektív hatásait.

Neurodegeneratív betegségekben (Alzheimer-kór, Huntington-kór, Parkinson-kór) szintén kimutatták a megbetegedésekre jellemző biomarkerek szintjének csökkenését rezveratrol-kezelés hatására.

A memóriafunkciók javulását is leírták, itt a háttérben valószínűleg a szirtuin-enzimeken kifejtett hatás húzódik meg.

4. Receptorális szintű hatások

Mint polifenol, a rezveratrol is rendelkezik antioxidáns hatással. Ekkor a rezveratrol közvetlenül reagál a szuperoxid gyökökkel. A reakció sebessége meglehetősen nagy [27] ($k = 9,45 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$),



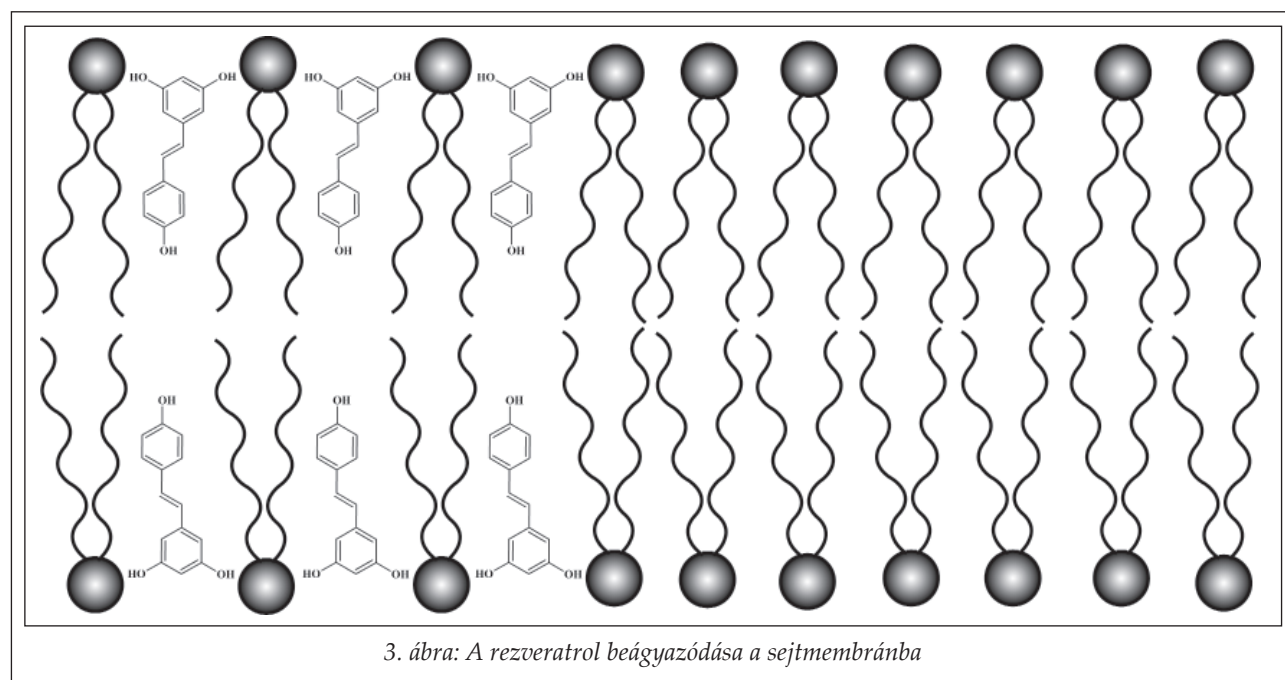
azonban egy nagyságrenddel kisebb, mint a „klasszikus” antioxidánsok (aszcorbinsav, ciszteín, glutation) reakciósebessége.

A közvetlen hatáson kívül azonban kimutatták, hogy a rezveratrol normalizálja a sejt legfontosabb redox-homeosztázisát biztosító rendszert, a redukált-oxidált glutation rendszert (2. ábra), nevezetesen a GSH-peroxidáz és a GSSG-reduktáz enzimeket [28].

A rezveratrol rendkívül összetett farmakológiai hatásainak kiváltásához természetesen nem elegendő ez az antioxidáns hatás, számos más módon is kölcsönhatásba lép a sejtekkel [29]. Ezek közül a legismertebb és legszélesebb körben vizsgált a szirtuin enzimeken kifejtett hatása. Ezek közül emlősökben a szirtuin 1 (SIRT1) expresszálódik legnagyobb mértékben. A SIRT1 legfontosabb biokémiai hatása az, hogy NAD^+ koncentrációjának emelkedésekor aktiválódik, és egyrészt a NAD^+ -ot hasítja nikotinsavra és 1-O-acetil-ADP-ribózra, másrészt különböző transzkripciós faktorokat dezacetilál. Így tehát tulajdonképpen egy metabolikus szenzornak tekinthető, amely a sejt metabolikus állapotának megfelelően „finomhangolja” a génexpressziót. A legújabb eredmények szerint a rezveratrol nem a szubsztrátkötőhelyen kapcsolódik a SIRT1-hez, hanem annak allosztérikus aktivátorra [30].

Mivel a rezveratrol hatásosnak bizonyult olyan egereken is, melyekben kiüttették a SIRT1-et kódoló gént, így feltételezhetően más módokon is befolyásolja a sejtek működését. Ezek közül a legjelentősebb az AMP-aktivált protein kináz (AMPK) aktiválása. Ez a fehérje az AMP/ATP arány növekedésekor aktiválódik, és gátolja az anabolikus folyamatokat (lipidszintézis, fehérjeszintézis) és fokozza az energiatermelő folyamatokat (glikolízis, lipolízis). A rezveratrol nem közvetlenül kötődik az AMPK-hoz, hanem a mitokondrium ATP-szintáz enzimét gátolja, más polifenolokhoz hasonlóan, így csökkenti az ATP termelését.

Számos más enzimmal, receptormal is kimutatták a kölcsönhatást (ciklooxygenáz, foszfodiészteráz, ösztrogén receptorok, stb.). Ezeket részlete-



sen összefoglalja Kulkarni és Cantó tanulmánya [29].

A legújabb vizsgálatok szerint valószínűsíthető, hogy a rezveratrol nem közvetlenül kötődik enyynyiféle receptorhoz, hanem nagy lipofilitásának köszönhetően beágyazódik a membránokba (3. ábra), megváltoztatva a fluiditást és a fázisátalakulási hőmérsékletet, egyúttal a membrán szerkezete is rendezettebbé válik [31].

A jelátviteli útvonalak szabályozásában a membránok is részt vesznek, hiszen a szerkezetük megváltozásával a bennük lévő receptorok konformációja is megváltozhat.

5. Farmakokinetika

Szájon át alkalmazva a rezveratrol 75%-a szívódik fel [32], valószínűleg passzív diffúzióval. A plazmában a csúcskoncentrációt kb. 0,5 – 1 óra után éri el, ennek értéke körülbelül 10 ng/ml. A szervezetbe jutva a rezveratrol igen gyorsan és nagymértékben metabolizálódik, a legfontosabb metabolitok a szulfát és glükuronid-konjugátumok, illetve az 1''-2'' kettős kötés telítésével keletkező dihidrorezveratrol és ennek konjugátumai [33]. A dihidro-származékok a bélben keletkeznek, a redukciót bélbaktériumok végzik.

Ezek a konjugátumok egyszerre tekinthetőek aktív metabolitnak és prodragnak. Bár *in vitro* aktivitásuk kisebb, mint a rezveratrolé, de a szervezetben található enzimek képesek őket rezveratrollá visszaalakítani [34]. A szulfát- és

glükuronid-származékok keletkezése telíthető kinetikát mutat, így más polifenolok, például kvercetin jelenlétében a szabad rezveratrol plazmaszintje jelentősen megnő [35], ezért a vörösbortban lévő rezveratrol lényegesen hatásosabb. A metabolitok vízben jól oldódnak, túlnyomórészt a vizelettel ürülnek ki a szervezetből.

Bár a rezveratrol maga nem rendelkezik mellékhatásokkal, azonban két enzimet indukál: a CYP3A4-et és a P-glikoproteint [36].

6. Összefoglalás

A farmakológiai hatások sokasága alapján a rezveratrol „csodaszernak” tűnhet, azonban fontos megjegyeznünk, hogy ezek a hatások, bár statisztikailag szignifikánsak, meglehetősen gyengék. Ennek megfelelően igen intenzív gyógyszerkémiai kutatások folynak olyan rezveratrol-analógok kifejlesztésére, melyek erősebb hatással rendelkeznek [37-42].

A kutatások másik fontos iránya olyan hordozórendszerek kifejlesztése, melyek növelik a rezveratrol vízdoldékonyságát. Ilyen rendszerek például a liposzómák [43], a polimer nanorészecskék [44], a ciklodextrin zárványkomplexek [45-47], az élesztősejtekbe zárás [16], illetve a pektinát-gyöngyök képzése [48, 49].

Bár Magyarországon gyógyszerként nincs forgalomban, számos étrend-kiegészítőben megtalálható. Éppen ebben rejlik az alkalmazásának veszé-

lye, hiszen számos gyógyszerrel léphet fel nem kívánt kölcsönhatás, például diklofenákkal [50], aripiprazollal [51], karbamazepinnel [52], fexofenadinnal [53].

A rezveratrolnak tehát helye lehet a legkülönbözőbb betegségek kiegészítő terápiájában, azonban ismereteink még közel sem elegendőek ahhoz, hogy megértsük pontos, szubmolekuláris szintű hatásmechanizmusát. Ehhez az első lépés a molekula fizikai-kémiai paramétereinek pontos meghatározása, ezek ismeretében találhatunk magyarázatot a rezveratrol szervezetbeni viselkedésére.

IRODALOM

- 1 Takaoka, M. J. Faculty Sci. Hokkaido Imperial University, 3, 1-16 (1940).
- 2 Langcake, P.; Pryce, R. J. *Phytochemistry*, 16, 1193-1196 (1977).
- 3 Burns, J.; Yokota, T.; Ashihara, H.; Lean, M. E. J.; Crozier, A. *J Agric Food Chem*, 50, 3337-3340 (2002).
- 4 Sterobo, U.; Vang, O.; Bonnesen, C. *Food Chem*, 101, 449-457 (2007).
- 5 Goldberg, D. M.; Tsang, E.; Karumanchiri, A.; Diamandis, E. P.; Soleas, G.; Ng, E. *Anal Chem*, 68, 1688-1694 (1996).
- 6 Chen, X.; He, H.; Wang, G.; Yang, B.; Ren, W.; Ma, L.; Yu, Q. *Biomed Chromatogr*, 21, 257-265 (2007).
- 7 Renaud, S.; de Lorgeril, M. *Lancet*, 339, 1523-1526 (1992).
- 8 Siemann, E. H.; Creasy, L. L. *Am J Enol Vinic*, 43, 49-52 (1992).
- 9 Guilford, J. M.; Pezzuto, J. M. *Am J Enol Vinic*, 62, 471-486 (2011).
- 10 Pezzuto, J. M. *J Agric Food Chem*, 56, 6777-6784 (2008).
- 11 Park, E.-J.; Pezzuto, J. M. *Biochim Biophys Acta*, 1852, 1071-1113 (2015).
- 12 López-Nicolás, J. M.; García-Carmona, F. *J Agric Food Chem*, 56, 7600-7605 (2008).
- 13 Deak, M.; Falk, H. *Monatsch Chem*, 134, 883-888 (2003).
- 14 Stojanovic, S.; Brede, O. *Phys Chem Chem Phys*, 4, 757-764 (2002).
- 15 López-Nicolás, J. M.; García-Carmona, F. *Food Chem*, 118, 648-655 (2010).
- 16 Shi, G.; Rao, L.; Yu, H.; Xiang, H.; Yang, H.; Ji, R. *Int J Pharm*, 349, 83-93 (2008).
- 17 Cadena, P. G.; Pereira, M. A.; Cordeiro, R. B. S.; Cavalcanti, I. M. F.; Barros Neto, B.; Pimentel, M. d. C. C. B.; Lima Filho, J. L.; Silva, V. L.; Santos-Magalhães, N. S. *Biochim Biophys Acta*, 1828, 309-316 (2013).
- 18 Zupančič, Š.; Lavrič, Z.; Kristl, J. *Eur J Pharm Biopharm*, 93, 196-204 (2015).
- 19 Sun, X.; Peng, B.; Yan, W. *J Chem Thermodyn*, 40, 735-738 (2008).
- 20 Herbig, M. E.; Evers, D.-H. *Eur J Pharm Biopharm*, 85, 158-160 (2013).
- 21 Mattarei, A.; Azzolini, M.; Carraro, M.; Sassi, N.; Zoratti, M.; Paradisi, C.; Biasutto, L. *Mol Pharm*, 10, 2781-2792 (2013).
- 22 Trela, B. C.; Waterhouse, A. L. *J Agric Food Chem*, 44, 1253-1257 (1996).
- 23 Vian, M. A.; Tomao, V.; Gallet, S.; Coulomb, P. O.; Lacombe, J. M. *J Chromatogr A*, 1085, 224-229 (2005).
- 24 [https://clinicaltrials.gov/ct2/results?intr=%22 Resveratrol%22](https://clinicaltrials.gov/ct2/results?intr=%22+Resveratrol%22), elérés ideje: 2015. December 27.
- 25 Orallo, F. Biological Effects of Cis- Versus Trans-Resveratrol In; Aggarwal, B. B., Shishodia, S. (Eds.), *Resveratrol in Health and Disease* pp. 577-600. CRC Press: Boca Raton, FL, (2005).
- 26 Huang, T.-T.; Lai, H.-C.; Chen, Y.-B.; Chen, L.-G.; Wu, Y.-H.; Ko, Y.-F.; Lu, C.-C.; Chang, C.-J.; Wu, C.-Y.; Martel, J.; Ojcius, D. M.; Chong, K.-Y.; Young, J. D. *Innate Immun*, 20, 735-750 (2014).
- 27 Leonard, S. S.; Xia, C.; Jiang, B.-H.; Stinefelt, B.; Klandorf, H.; Harris, G. K.; Shi, X. *Biochem Biophys Res Commun*, 309, 1017-1026 (2003).
- 28 Martín, A. R.; Villegas, I.; Alarcón de la Lastra, C. Resveratrol as an Antioxidant In; Aggarwal, B. B., Shishodia, S. (Eds.), *Resveratrol in Health and Disease* pp. 33-55. CRC Press: Boca Raton, FL, (2005).
- 29 Kulkarni, S. S.; Cantó, C. *Biochim Biophys Acta*, 1852, 1114-1123 (2015).
- 30 Hubbard, B. P.; Gomes, A. P.; Dai, H.; Li, J.; Case, A. W.; Considine, T.; Riera, T. V.; Lee, J. E.; E, S. Y.; Lamming, D. W.; Pentelute, B. L.; Schuman, E. R.; Stevens, L. A.; Ling, A. J. Y.; Armour, S. M.; Michan, S.; Zhao, H.; Jiang, Y.; Sweitzer, S. M.; Blum, C. A.; Disch, J. S.; Ng, P. Y.; Howitz, K. T.; Rolo, A. P.; Hamuro, Y.; Moss, J.; Perni, R. B.; Ellis, J. L.; Vlasuk, G. P.; Sinclair, D. A. *Science*, 339, 1216-1219 (2013).
- 31 Neves, A. R.; Nunes, C.; Reis, S. *Biochim Biophys Acta*, 1858, 12-18 (2016).
- 32 Walle, T. *Ann NY Acad Sci*, 1215, 9-15 (2011).
- 33 Rotches-Ribalta, M.; Andres-Lacueva, C.; Estruch, R.; Escribano, E.; Urpi-Sarda, M. *Pharmacol Res*, 66, 375-382 (2012).
- 34 Miksits, M.; Wlcek, K.; Svoboda, M.; Kunert, O.; Haslinger, E.; Thalhammer, T.; Szekeres, T.; Jäger, W. *Planta Med*, 75, 1227-1230 (2009).
- 35 Bertelli, A., A. E. Pharmacokinetics and Metabolism of Resveratrol In; Aggarwal, B. B., Shishodia, S. (Eds.), *Resveratrol in Health and Disease* pp. 631-642. CRC Press: Boca Raton, FL, (2005).
- 36 Yang, S.-Y.; Tsai, S.-Y.; Hou, Y.-C.; Chao, P.-D. L. *Food Chem*, 133, 683-688 (2012).
- 37 Szekeres, T.; Fritzer-Szekeres, M.; Saiko, P.; Jäger, W. *Pharm Res*, 27, 1042-1048 (2010).
- 38 Kondratyuk, T. P.; Park, E.-J.; Marler, L. E.; Ahn, S.; Yuan, Y.; Choi, Y.; Yu, R.; van Breemen, R. B.; Sun, B.; Hoshino, J.; Cushman, M.; Jermihov, K. C.; Mesecar, A. D.; Grubbs, C. J.; Pezzuto, J. M. *Mol Nutr Food Res*, 55, 1249-1265 (2011).
- 39 Lu, J.; Li, C.; Chai, Y.-F.; Yang, D.-Y.; Sun, C.-R. *Bioorg Med Chem Lett*, 22, 5744-5747 (2012).
- 40 Ding, D.-J.; Cao, X.-Y.; Dai, F.; Li, X.-Z.; Liu, G.-Y.; Lin, D.; Fu, X.; Jin, X.-L.; Zhou, B. *Food Chem*, 135, 1011-1019 (2012).
- 41 St. John, S. E.; Jensen, K. C.; Kang, S.; Chen, Y.; Calamini, B.; Mesecar, A. D.; Lipton, M. A. *Bioorg Med Chem*, 21, 6022-6037 (2013).
- 42 Madadi, N. R.; Zong, H.; Ketkar, A.; Zheng, C.; Penthala, N. R.; Jangnati, V.; Bommagani, S.; Eoff, R. L.; Guzman, M. L.; Crooks, P. A. *MedChemComm*, 6, 788-794 (2015).
- 43 Coimbra, M.; Isacchi, B.; van Bloois, L.; Torano, J. S.; Ket, A.; Wu, X.; Broere, F.; Metselaar, J. M.; Rijcken, C. J. F.; Storm, G.; Bilia, R.; Schiffflers, R. M. *Int J Pharm*, 416, 433-442 (2011).
- 44 Jung, K.-H.; Lee, J. H.; Park, J. W.; Quach, C. H. T.; Moon, S.-H.; Cho, Y. S.; Lee, K.-H. *Int J Pharm*, 478, 251-257 (2015).

- 45 Lu, Z.; Cheng, B.; Hu, Y.; Zhang, Y.; Zou, G. *Food Chem*, 113, 17-20 (2009).
- 46 Trollope, L.; Cruickshank, D. L.; Noonan, T.; Bourne, S. A.; Sorrenti, M.; Catenacci, L.; Caira, M. R. *Beilstein J Org Chem*, 10, 3136-3151 (2014).
- 47 Duarte, A.; Martinho, A.; Luís, Â.; Figueiras, A.; Oleastro, M.; Domingues, F. C.; Silva, F. *LWT - Food Sci Technol*, 63, 1254-1260 (2015).
- 48 Das, S.; Ng, K.-Y. *J Pharm Sci*, 99, 840-860 (2010).
- 49 Das, S.; Ng, K.-Y.; Ho, P. *AAPS PharmSciTech*, 11, 729-742 (2010).
- 50 Bedada, S. K.; Yellu, N. R.; Neerati, P. *Phytother Res*, doi: 10.1002/ptr.5539, (2015).
- 51 Zhan, Y.-Y.; Liang, B.-Q.; Li, X.-Y.; Gu, E.-M.; Dai, D.-P.; Cai, J.-P.; Hu, G.-X. *Xenobiotica*, doi: 10.3109/00498254.2015.1088175, (2015).
- 52 Bedada, S. K.; Neerati, P. *Phytother Res*, 29, 701-706 (2015).
- 53 Bedada, S. K.; Yellu, N. R.; Neerati, P. *Pharmacol Rep*, doi: 10.1016/j.pharep.2015.08.018, (2016).

Érkezett: 2015. december 30.

Nőgyógyászati célra szánt, hormontartalmú implantátumok fejlesztési lehetőségeinek áttekintése: irodalmi áttekintés

SZABÓ PÉTER^{1,2}, KOVÁCS-KISS DOROTTYA², ZELKÓ ROMÁNA^{1*}

¹Semmelweis Egyetem Egyetemi Gyógyszertár Gyógyszerügyi Szervezési Intézet,
1092 Budapest, Hőgyes Endre utca 7-9.

²Richter Gedeon NyRt, 1103 Budapest, Gyömrői út 19-21.

Levelezési cím: zelko.romana@pharma.semmelweis-univ.hu

Summary

SZABÓ, P., KOVÁCS-KISS, D., ZELKÓ, R.: *Development possibilities of hormone-containing implants for gynecological applications: A review*

Implantable gynecological drug delivery devices are applied for contraceptive, hormone replacement purposes and for the treatments of other gynecological diseases, e.g. endometriosis. The review provides a comprehensive overview about the indications, advantages, limitation of application and the applied technologies of hormone-containing implants, as well. The study comprises the relevant patents and the recently published papers.

Keywords: gynecological implants, hormone replacement therapy, contraception, hot-melt extrusion, injection molding, direct compression, 3D-printing

Összefoglalás

A nőgyógyászatban a szexuáliszteroidokat tartalmazó implantátumokat kontraceptív, hormonpótló és egyéb nőgyógyászati megbetegedések, mint pl. az endometriózis kezelésére alkalmazzák. A dolgozat áttekintést nyújt a különböző hormontartalmú implantátumok indikációjáról, előnyeiről, az alkalmazásuk korlátairól, valamint az előállításukhoz alkalmazott technológiákról. Az összefoglalóban kitekintést adunk a releváns szabadalmakról, valamint a témakör közelmúltban megjelent közleményeiről.

Kulcsszavak: nőgyógyászati implantátumok, hormonpótló terápia, fogamzásgátlás, olvadék extrúzió, fröccsöntés, direkt préselés, 3D-nyomtatás

I. Bevezetés

A nőgyógyászatban női szexuáliszteroidokat tartalmazó implantátumokat kontraceptív, hormonpótló és egyéb nőgyógyászati megbetegedések, mint az endometriózis kezelésére alkalmazzák. Utóbbi jelentősége háttérbe szorul az első kettővel szemben [1-2].

A régebb óta elterjedt és gyakrabban használt fogamzásgátló módszerek mellett folyamatosan mutatkozik igény a bőr alá ültethető, nyújtott hatóanyag-leadású implantátumok iránt. Ezek nagyon alacsony dózisban tartalmazzák progesztagén (levonorgesztrel, etonorgesztrel) hatóanyagot, és akár 1-7 évig terjedő időtartamon belül kivételes hatékonyságot mutatnak. A gyakran sebészeti beavatkozást igénylő beültetés, illetve eltávolítás ellenére az egyéb kényelmi és praktikussági szempontok miatt sokan választják a fogamzásgátlás ezen módját [3]. Különösen előnyös lehet alkalmazásuk a fejlődő országokban, ahol az egészségügyi ellátórendszer hiányosságai, illetve a szabályozatlan családtervezés

megnehezítik a hagyományosabbnak tekinthető módszereket [4]. A fogamzásgátló implantátumok előnyeit és hátrányait az **I. táblázat** összegzi.

Az első fogamzásgátló implantátumot, a Norplantot a Population Council fejlesztette ki; 1983-ban engedélyezték Finnországban, ahol a gyártás zajlott. Ez még 6 pálcikából állt, így hamarosan az újabb, kevesebb beültetendő egységet tartalmazó készítmények (Jadelle, Sino-implant, Implanon/Nexplanon) kiszorították a piacról. A kapszulák, illetve rudak száma mellett az utóbbi évtizedek tapasztalatai rávilágítottak az implantátumok behelyezéséhez használt eszközök jelentőségére is. Sok esetben ugyanis a rudak nem megfelelő beültetése hatásvesztéshez, illetve a gyógyszerforma bőr alatti migrációjához, és ezáltal egyéb komplikációkhoz vezetett. Emiatt vált szükségessé a röntgen kontrasztanyag hozzáadása a maghoz az Implanon esetében, így eltávolításkor könnyebben lokalizálható lett az eltávolítandó egység [5]. A beültetés hatékonyságának javítására a Nexplanonnal (ez az Implanon továbbfejlesztett változata) pedig

I. táblázat

A fogamzásgátló implantátumok előnyei és hátrányai

Előnyök	Hátrányok	Megítéléstől függően előny v. hátrány
Nagy hatékonyság	Rendszertelen vérzés	Az implantátum látható/ tapintható a bőr alatt
Hosszú távú hatás	Beültetéshez/eltávolításhoz szükséges sebészeti beavatkozás	Menstruáció hiánya
Kényelmes használat	Szexuális úton terjedő betegségekkel szemben nincs védelem	Testsúlyváltozás
Együttléttől független használat	Néhány esetben mellékhatások	
Fogamzó képesség gyors visszatérése eltávolítás után		
Gyors hatáskezdés		
Méhén kívüli terhességgel szembeni védelem?*		
Minimális metabolikus hatás		
Ösztrogén mellőzhető		
Endogén ösztrogénszint/csontsűrűség- szint megtartott		
Alacsony relatív költség		
Felső genitális traktus fertőzéseivel szembeni lehetséges védelem		
Kisebbségi alakul ki kardiovaszkuláris betegség más kombinált fogamzásgátló gyógyszerekhez képest		
Szoptatás alatti használhatóság		

*Ellentmondásos információk a különböző forrásokban

II. táblázat

Kontraceptív, hormonális implantátumok

	Hatóanyag	Polimer	Szerkezet	Kihordási idő	Gyártó
Nexplanon	etonogesztrel (68 mg)	etilén-vinil-acetát kopolimer (28% vinil-acetát) mag, etilén-vinil-acetát kopolimer (14% vinil-acetát) héj	1 db koaxiálisan extrudált rúd, hatóanyag nélküli külső réteg, és hatóanyag, röntgen kontraszt anyag és polimer tartalmú mag, továbbfejlesztett adagoló egység	3 év	Organon Ltd.
Implanon	etonogesztrel (68 mg)	etilén-vinil-acetát kopolimer (28% vinil-acetát) mag, etilén-vinil-acetát kopolimer (14% vinil-acetát) héj	1 db koaxiálisan extrudált rúd, hatóanyag nélküli külső réteg, és hatóanyag, röntgen kontraszt anyag és polimer tartalmú mag	3 év	Organon Ltd.
Jadelle (Norplant-2)	levonorgesztrel (2x75 mg)	poli(dimetil- sziloxán) [szilikon elasztomer, szilasztán], vízmentes kolloid szilika	2 db rúd, vékony falú szilikoncsőben a sziloxán kopolimer és a hatóanyag, a rúd két végén orvosi adhéziós anyag	5 év	Bayer HealthCare
Sino (II)	levonorgesztrel (2x75 mg)	szilikon	2 db szilikon rúd, hatóanyag tartalmú mag és rugalmas szilikon cső, a rúd két végén orvosi adhéziós anyag	4 év	Shanghai Dahua Pharma- ceuticals

Folytatás a következő oldalon

Folytatás az előző oldalról

	Hatóanyag	Polimer	Szerkezet	Kihordási idő	Gyártó
Norplant-1*	levonorgestrel (6x36 mg)	szilikon	6 db szilasztikus kapszula	5 év	-
Nestorone	nestoron (93 mg)	szilikon	1 db szilasztikus pálcika	2 év	Fázis 2b vizsgálatban elbukott**

* Forgalmából kivont

**Nem szoptató anyák esetén nem volt elég hatékony [7]

egy új applikátort terveztek és szabadalmaztattak [6]. A forgalomban lévő hormonális kontraceptív implantátumokat a 2. táblázatban foglaltuk össze.

A hormonpótló terápia (HRT: hormone replacement therapy) alatt a menopausa során az alacsony ösztrogénszintből adódó tünetek enyhítését célzó ösztrogénpótlást értjük. A hormonok szervezetbe juttatására számos lehetőséget, mint az orális tablettát, intranazális spray-t, topikális géleket, valamint a parenterális implantátumokat ismerünk. A hormonpótló terápiában alkalmazott implantátumok többsége pellet implantátum. A forgalomba került készítmények nagy részének gyártását a gyártó felfüggesztette. Az MSD gazdasági okokra, és a piacon fellelhető, más HRT-ben alkalmazható alternatívákra hivatkozva szüntette meg az ösztrogén implantátumainak gyártását 2011 júniusában Ausztráliában [8]. Ugyanennek az évnek a júliusán az Organon is megszüntette az implantátumok forgalmazását az Egyesült Királyságban [9].

Az ösztrogén pótló implantátumok legnagyobb hátránya az alkalmazott gyógyszerformából fakad; ugyanis a beültetést követő terápia megszakítás a pelletek nehéz eltávolíthatósága miatt problémás.

Az ösztrogén tartalmú implantátumok az osteoporózist is kedvezően befolyásolják [10-12]. A kezelés hátrányai között említhetjük, hogy a kardiovaszkuláris események (stroke, vérrögződés), egyes rákos megbetegedések (mell, ovárium) és májbetegségek kialakulásának kockázata nő [13].

A **III. táblázat** foglalja össze az ösztrogén tartalmú hormonális implantátumokat.

II. Szabadalmi háttér

A szabadalmi adatbázisokban a hormontartalmú implantátumokról szóló dokumentumok jelentős része a prosztatarák kezelésében használatos LHRH-analógokat tartalmazó készítményekkel foglalkozik – ebben a témakörben így nincs relevanciájuk. A 4. táblázatban a teljesség igénye nélkül azokat a bejelentéseket foglaltuk össze, amelyek elsősorban az elmúlt évtizedek során piacra került fogamzásgátló készítményeket védik/védtek; illetve olyan technikai megoldásokat tartalmaznak, amelyek egy új fejlesztés szempontjából jelentőséggel bírhatnak.

III. táblázat

Ösztrogén tartalmú hormonális implantátumok

	Hatóanyag	Polimer/ segédanyag	Szerkezet	Kihordási idő	Gyártó
Oestradiol Implants	ösztradiol -25 mg -50 mg -100 mg	segédanyag nélküli	pellet üveg ampullában	4-8 hónap (alhas vagy far bőre alá)	Organon
Oestradiol Implants*	ösztradiol -50 mg -100 mg	n.a.	n.a.	n.a.	MSD
Oestradiol Implant	ösztradiol-hemihidrát -20 mg -50 mg -100 mg	segédanyag nélküli	fehér vagy halványsárga rúd (mérete a dózistól függ)	4-8 hónap	Organon/ Schering-Plough
Estrapel Implants*	ösztradiol -25 mg -50 mg	sztearinsav, poli(vinil-pirrolidon)	pellet	n.a.	Slate Pharmaceuticals Inc.

IV. táblázat

Nőgyógyászati implantátumokhoz kapcsolódó fontosabb szabadalmak

Cím	Lajstrom-szám	Bejelentés dátuma	Feltaláló(k), bejelentő	Találmány tárgya
Manufacture of long term contraceptive implant	US 4 244 949	1978.04.06.	Gopi N. Gupta, The Population Council, Inc.	lipoid hordozóban összeolvasztással elosztatott szteroidot tartalmazó, felszívódó implantátum és készítési módja
Method of contraception	US 5 150 718	1992.02.14.	Hendrik De Nijs, Akzo N.V.	koaxiális extrúzióval előállított, etilén-vinil-acetát kopolimert és hormont tartalmazó magból, etilén-vinil-acetát kopolimer-membránból és polisziloxán-bevonatból álló implantátum, melynek végei inert polimerrel borítottak (Implanon alapja)
Subcutaneous implants based on normegestrol derivatives	US 5 565 443	1993.09.17. (1992.09.21. francia bejelentés)	Michel Lanquetin et al., Laboratoire Theramex S.A.	új szerkezetű, elnyújtottabb hatást biztosító progesztagen komponens polimerbe ágyazva, legalább 1 évig hatékony implantátum
Subdermally implantable device	US 5 660 848	1994.11.02.	Alfred Joseph Moo-Young, The Population Council	polimerben elosztatott fogamzásgátló hatóanyagot tartalmazó magból, egy köztes polimer burokból (polidimetilsziloxán + porózus anyag) és egy külső polimer burokból (polidimetilsziloxán) álló, közel nulladrendű kinetikájú implantátum
Drug delivery device especially for the delivery of progestins and estrogens	US 6 063 395	1998.11.12. (megelőzi egy 1994-es európai bejelentés)	Tommi Markkula et al. Leiras Oy	3,3,3-trifluoropropil-csoportokkal módosított sziloxán alapú elasztomerrel körülvett, progesztint és/vagy ösztrogént tartalmazó implantátum (a speciális csoportok lassítják az előnyös mechanikai tulajdonságú sziloxánok hatóanyag-leadását)
X-ray visible drug delivery device	US 8 722 037	2005.03.14. (megelőzi egy 2004-es európai bejelentés)	Harm Veenstra et al. Merck Sharp & Dohme B.V.	röntgen segítségével látható, fogamzásgátlásra vagy hormonpótló terápiára alkalmas implantátum (US 5 150 718 továbbfejlesztése, a magban kontrasztanyagot tartalmaz)
Applicator for inserting an implant	US 8 888 745	PCT bejelentés dátuma: 2006.01.20. (megelőzi egy 2005-ös európai bejelentés)	Iris Epkjen Hobo Van Der Graaf, Merck Sharp & Dohme B.V.	implantátumok behelyezésére alkalmas eszköz (ezzel kapcsolatos komplikációk kiküszöbölésére)
Contraceptive drug delivery system	NZ 583874	2008.09.22.	Wouter De Graaff Organon N.V.	progesztagen hatóanyagot tartalmazó, termoplasztikus polimer magból; ösztrogént tartalmazó, termoplasztikus polimerből álló közbelső rétegből és termoplasztikus polimerből álló burokból készült implantátum, intrauterin rendszer, spirál vagy hüvelygyűrű

III. Implantátumok definíciója, típusai

Az Európai Gyógyszerkönyv definíciója szerint az implantátum olyan steril, szilárd készítmény, mely méreténél és alakjánál fogva alkalmas parenterális beültetésre és a hatóanyag nyújtott idejű leadására [14]. Az Amerikai Gyógyszerkönyv meghatározásában az implantátum olyan hosszú hatású gyógyszerforma, amely a hatóanyag folyamatos felszabadulását biztosítja heteken, hónapokon vagy akár éveken keresztül is. Adagolásuk parenterális, szisztémás hatóanyag-leadás esetén szubkután, míg lokális hatóanyag-leadás esetén a test egy meghatározott részében (pl. sinus, artéria) történő elhelyezésével valósul meg [15].

Implantátumok típusai

a) Pellet implantátumok

- hatóanyagból vagy hatóanyagból és segédanyagból álló apró, steril, szilárd részecskék
- adagolásuk: speciális injektorral vagy sebészi bemetszéssel keresztül
- kritikus paraméterek: pellet mérete és erózió mértéke
- hatóanyag-leadás kinetikája: tipikusan elsőrendű, diffúzió kontrollált

b) Felszívódó mikrorészecskék

- 20-200 µm közötti méretű részecskék (vagy mikroszférák), melyekben a hatóanyag egy biokompatibilis, felszívódó polimer mátrixba van ágyazva
- leggyakoribb polimer: poli(laktid-ko-glikolid)
- a segédanyag felszívódása tipikusan észterhidrolízissel keresztül történik
- adagolásuk: vizes szuszpenzióból közönséges fecskendővel és tűvel
- diffúzió kontrollált hatóanyag leadás, a hatóanyagleadás akkor kezdődik meg, amikor a fiziológiai folyadék belép a polimer mátrixba, emellett a mátrix eróziója is segíti a nyújtott hatóanyag-felszabadulást, amely hetektől hónapokig terjedő

c) Polimer implantátumok

- biokompatibilis, és biodegradábilis vagy nem-biodegradábilis polimerből álló egyedi alakú (pl. hengeres) gyógyszerhordozók, amelybe kis és nagy molekulák is inkorporálhatóak
- adagolásuk speciális injektorral, nem-biodegradábilis implantátumnál a teljes hatóanyagleadást követően a hordozó eltávolítása szükséges lehet

- hatóanyag leadás: biodegradábilis polimer esetén 2-3 hónap, nem-biodegradábilis polimer esetén évek, akár 3 év
- kinetika: diffúzió kontrollált hatóanyag-leadás, tipikusan nem nulladrendű, de nulladrendű is megvalósítható
- a hatóanyagleadás szabályozása a polimer mátrixszal és/vagy a szabályozó membrán réteggel történik

d) Gyógyszer-eluáló sztent

- kettős hatásmechanizmusú implantátumok: mechanikailag megtámasztják az artériákat, ezáltal biztosítják a nyitottságukat, másrészt pedig a beléjük ágyazott nyújtott felszabadulású hatóanyag farmakológiai választ vált ki
- anyaga általában fém, melyet biodegradábilis vagy nem-biodegradábilis polimerrel vonnak be, a nyújtott hatóanyag leadásért a polimer réteg felelős [15]

IV. Nőgyógyászati célra szánt implantátumok előállítási lehetőségei

Az ilyen implantátumokat jellemzően több éven keresztül elnyújtott hatóanyag-leadásra tervezik, ezért a fent említett implantátumok közül ilyen célra a polimer implantátumok alkalmasak.

A polimer implantátumok előállítási lehetőségei:

1. olvadék extrúzió
2. fröccsöntés
3. direkt préselés
4. 3D-nyomtatás

1. Olvadék extrúzió

Az olvadék extrúzió egy olyan folyamatos üzemi technológia, mely során a hatóanyag, termoplasztikus polimer és más segédanyagok (lágyítószer, antioxidánsok) keverékét felmelegítik és meglágyítják az extruderben, majd a szerszámon keresztül granulává, hengerré vagy filmmé préselik [16].

Az **V. táblázat** foglalja össze a szakirodalomban fellelhető, olvadék extrúzióval előállított implantátumokat.

A módszer előnye, hogy folyamatos üzemmódban alkalmazható, nem igényel oldószert és a segédanyagok megválasztásával a hatóanyag felszabadulási profilja jól szabályozható. Emellett rosszul oldódó hatóanyagok formulációjában kiemelt szerepe van. Azonban hátránnyként említhető meg, hogy a melegítés hatására a hatóanyag elbo-

V. táblázat

Olvadék extrúzióval előállított hormonális implantátumok

Polimer	Hatóanyag	Hatóanyag-felszabadulás	Referencia
poli(tejsav)	valpreotid	n.a.	[17]
poli(D,L laktid-koglikolid)	melanotan-I	trifázisos (gyors-lassú-gyors), a harmadik gyors fázis a harmadik héttől kezdődően a polimer erózió miatt	[18-19]
poli(D,L laktid-koglikolid)	tramadol HCl ibuprofen diazepám-dexametazon	pulzatilis (késleltetési időt 'lag time' követő gyors hatóanyag-leadás), 20-30 napon keresztül	[20]
etilén-vinilacetát-kopolimer	etonogesztrel	3 év koaxiális hengerből: hatóanyagtartalmú mag (28% vinil-acetát tartalmú polimer és BaSO ₄) és a hatóanyag felszabadulást szabályozó külső héj (14% vinil-acetát tartalmú polimer)	[21-22]

molhat, valamint nem kívánt reakciók játszódhatnak le. A hűtés során a hatóanyag kikristályosodhat.

2. Fröccsöntés

Fröccsöntés során a polimer, a hatóanyag és egyéb segédanyagok keverékéből álló ömledéket egy zárt szerszámba fröccsöntik, majd lehűtik. A módszer előnye, hogy a hatóanyag-polimer elegyedése jobban biztosított, míg a legfontosabb hátrulatói a következők: magasabb alkalmazott hőmérséklet, a fejlesztés kezdeti szakaszában több anyagot igényel, a gyártás során nagyobb az anyagvesztés, mint az extrúzió során [23]. Érdekességgé megemlíthető, hogy a magas hőmérséklet bizonyos esetekben lehetőséget biztosít az autosterilizációra [24]. Fröccsöntéssel előállított implantátum készítésére alkalmas polimer például a poli(tejsav). Mind a fröccsöntés, mind az olvadék extrúziós eljárás során csökkenhet a polimer molekulatömege és polidiszperzitása és a két módszerrel előállított implantátumok biodegradabilitása között is adódhat különbség [23].

3. Direkt préselés

Implantátumok előállíthatóak közvetlen préseléssel is, mely az első két módszerhez képest egy kiemeltebb lehetőséget biztosít a gyógyszer előállítására. Az ezzel a módszerrel előállított implantátumok nagy porozitásuk miatt gyorsabban adják le a hatóanyagot. Azonban megfelelő utókezeléssel, például bevonással, áztatással történő porozitás csökkentéssel módosítható a hatóanyag felszabadulása [20]. A direkt préseléssel előállított implantátumokat a VI. táblázat összegzi.

A préseléses ömlesztés egy kombinált technika, mely során a polimer-hatóanyag keveréket állandó nyomás alatt tartva megömlesztik. Quian és mtsai ezzel az eljárással állítottak elő millirudakat lokális tumor terápia céljából poli(D,L laktid-koglikolid) polimerből [27]. A hatóanyag-felszabadulás mértékét az eljárás paraméterek változtatásával (hőmérséklet) tudták szabályozni.

4. 3D nyomtatás

A 3D nyomtatás során számítógépes vezérléssel hatóanyag tartalmú polimer „tintából” álló rétege-

VI. táblázat

Direkt préseléssel előállított hormonális implantátumok

Polimer	Hatóanyag	Hatóanyag-felszabadulás	Referencia
poli(D,L laktid-koglikolid)	teofillin	trifázisos (gyors-lassú-gyors)	[20]
poli(D,L laktid-koglikolid) mag, poli(tejsav) bevonat	metadon-klorohidrátt/metadon	1-5 hét, minél nagyobb volt a bázis aránya, annál lassabb volt a hatóanyag-felszabadulás	[25]
poli(D,L laktid-koglikolid)	ketoprofén	1 hétig tartó hatóanyag-leadás	[26]

ket fektetnek egymásra, mellyel bármilyen alak vagy geometria felépíthető. A 3D nyomtatás egyre nagyobb népszerűségnek örvend a gyógyszerkutatásban, a megjelenő tudományos közlemények száma folyamatosan nő. 2013-ban és 2014-ben az Oxford Performance Materials Inc. 3D technológiával előállított beteg-specifikus koponya és arc implantátum forgalmazását engedélyezte az Egyesült Államok Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hatósága (FDA). Ezt követően az FDA jóváhagyta az első 3D nyomtatással előállított szájban széteső tablettá forgalomba hozatalát, mely levetiracetámot tartalmaz [28]. A módszer kíméletes (nincs minden esetben hőhatás), számos kísérleti elrendezés valósítható meg (többféle polimer, több hatóanyag).

Sterilizációs eljárások

Implantátumok sterilizésére alkalmas a hővel, telített vízgőzzel (autokláv), gázzal történő és a sugársterilizálás is. Azonban néhány szempontot fontos figyelembe venni. Polimer alapú implantátumoknál az alkalmazott hő a polimer lágyulási hőmérsékletét meghaladhatja, melynek következtében a polimer elfolyósodhat (pl. PLGA lágyulási hőmérséklet 65°C). Nedvesség jelenléte további nem kívánt folyamatokat, pl. polimer degradációt indukálhat. Gázsterilizálás során kémiai szennyeződhet a gyógyszerhordozó, ezért a sugársterilizálás a leginkább preferált [29].

V. Gyógyszerkönyvi követelmények és vizsgálatok

Parenterális adagolásukból adódóan a készítmények minőségére vonatkozó egyik legfontosabb kritérium a sterilitás.

Az Amerikai Gyógyszerkönyv emellett a tömeg, térfogat, UV-vis spektroszkópiai, HPLC, GC és endotoxin vizsgálatokat is megemlíti szilárd implantátumok esetén.

Az Európai Gyógyszerkönyv általánosan fogalmaz, a hatóanyag felszabadulást megfelelően jellemző vizsgálati módszer elvégzését írja elő.

Kioldódás vizsgálatok

A hatóanyag leadást jól jellemző valós idejű kioldódás vizsgálat komoly akadályt állít mind a fejlesztés, mind a minőség ellenőrzés elé. Az ilyen esetekben az FDA megengedi a matematikai módszerek (pl. extrapoláció) alkalmazását a valós idejű kioldódás vizsgálatok során. Gyorsított kioldódás

vizsgáló módszert csak minőségellenőrzési céllal lehet alkalmazni, csak abban az esetben, ha a módszer megfelelően érzékeny a gyártás során bekövetkező változások érzékelésére [30].

Az Amerikai és az Európai Gyógyszerkönyvben sincs részletesen kifejtve a parenterális nyújtott hatóanyagleadású készítmények kioldódás vizsgálata. Implantátumok kioldódás vizsgálatában az átfolyó cellás kioldódás vizsgáló apparátus alkalmazása ajánlott, azonban módosításokra szükség lehet (pl. belső átmérő csökkentése, akceptor térfogat csökkentése, áramlási sebesség nagymértékű csökkentése, vagy intermittáló áramlás). A kioldóközeg áramlási sebességének biztosítására célszerű HPLC pumpákat alkalmazni. A vizsgálat hosszú időtartamára való tekintettel a szükséges lehet konzerválószer is igénybe venni [31-32].

VI. Összefoglalás

A fentiek tükrében elmondható, hogy számos előnyük (hosszan, akár évekig tartó hatás, valamint az ebből adódó kényelmi szempontok; kisebb szisztémás hormonterhelés stb.) ellenére az implantátumok nőgyógyászati célú alkalmazása meglehetősen sok nehézséget rejt magában. Amennyiben a kezelendő célcsoport számára nem jelent kifejezett hozzáadott értéket az implantátum formában történő gyógyszeradagolás (mint pl. a fejlődő országokban, ahol nehézkes az egészségügyi ellátórendszerhez való hozzáférés; vagy pl. Kínában, ahol korlátozott a családonként vállalható gyermekek száma), úgy valószínűleg a behelyezés és kivétel kapcsán szükséges sebészeti beavatkozás, valamint a használat közbeni komplikációk (implantátum elmozdulása) inkább eltántoríthatja a felhasználókat ettől a gyógyszerformától. A forgalomban lévő készítményeket védő alapszabadalmak ugyan már lejártak vagy nagyon közeli lejáratúak. A gyógyszerforma-vizsgálatokkal kapcsolatban elmondható, hogy pontos gyógyszerkönyvi leírások hiányában nagy valószínűséggel saját módszerek kidolgozására lenne szükség.

IRODALOM

1. Yisa, S.B., Okenwa, A.A., Husemeyer, R.P.: Royal College of Obstetricians & Gynaecologists. 31, 67-70 (2005).
2. Ylanen, K., Laatikainen, T., Lahteenmaki, P., Moo-Young, A.J.: Acta. Obstet. Gyn. Scan. 82, 167-172 (2003)
3. Meckstroth, K., Darney, P.: Implantable Contraception. Global Library of Women's Medicine, ISSN: 1756-2228 (2008)

4. Moo-Young, A.J., Croxatto, B.: US Pat. 5 756 115. (1998)
5. Veenstra, H., De Graaff, W.: WO 2005/089814A1. (2005)
6. Van Der Graaf, J.E.H., Tak, M.P.W., Schmidt, J., Vertegaal, H.J.: WO 2006/077242A1. (2006)
7. Ctiexchange: <http://www.pipeline.ctiexchange.org/fillpdf?fid=105&nid=844>. (Megtekintés dátuma: 2015. 08. 30.)
8. The Society of Hospital Pharmacist of Australia: (2011) http://www.shpa.org.au/lib/pdf/manuf_alerts/estradiol_implants_MSD_june2011.pdf (Megtekintés dátuma: 2015. 08. 30.)
9. NetDoctor: Estradiol implants. (2011) <http://www.netdoctor.co.uk/womens-health/medicines/estradiol-implants.html> (Megtekintés dátuma: 2015. 08. 30.)
10. Holland, E.F., Leather, A.T., Studd, J.W.: Brit. J. Obstet. Gynaec. 102, 238-242 (1995).
11. Studd, J.W., Holland, E.F., Leather, A.T., Smith, R.N.: Brit. J. Obstet. Gynaec. 101, 787-791 (1994)
12. Wahab, M., Ballard, P., Purdie, D.W., Cooper, A., Willson, J.C.: Brit. J. Obstet. Gynaec. 104, 728-731 (1997)
13. Tannen, R.L., Weiner, M.G., Xie, D., Barnhart, K.: Fertil. Steril. 90, 258-264 (2008)
14. European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care.: European Pharmacopoeia, 8th ed.
15. The United States Pharmacopeial Convention., United States Pharmacopeia and National Formulary (elektronikus forrás) (2015)
16. Crowley, M.M., Zhang, F., Repka, M.A., Thumma, S., Upadhye, S.B., Kumar Battu, S., McGinity, J.W., Martin, C.: Drug. Dev. Ind. Pharm. 33, 909-926 (2007)
17. Rothen-Weinhold, A., Oudry, N., Schwach-Abdellaoui, K., Frutiger-Hughes, S., Hughes, G.J., Jeanmerat, D., Burger, U., Besseghir, K., Gurny, R.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 49, 253-257 (2000)
18. Bhardwaj, R., Blanchard, J.: J. Control. Release. 45, 49-55 (1997)
19. Bhardwaj, R., Blanchard, J.: Int. J. Pharm. 170, 109-117 (1998)
20. Shuvisitkul, D.: Biodegradable implants with different drug release profiles (disszertáció), Freie Universität Berlin, Németország (2011)
21. http://www.ogyei.gov.hu/kiseroirat/ah/ah_0000013886_20101220145838.doc (Megtekintés dátuma: 2015. 08. 30.)
22. van Laarhoven, J.A.H., Kruff, M.A.B., Vromans, H.: J. Control. Release. 82, 309-317 (2002)
23. Rothen-Weinhold, A., Besseghir, K., Vuaridel, E., Sublet, E., Oudry, N., Kubel, F., Gurny, R.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 48, 113-121 (1999)
24. König, C., Ruffieux, K., Wintermantel, E., Blaser, J.: J. Biomed. Mater. Res. 38, 115-119 (1997)
25. Negrín, C.M., Delgado, A., Llabrés, M., Évora, C.: J. Control. Release. 95, 413-421 (2004)
26. Onishi, H., Takahashi, M., Machida, Y.: Biol. Pharm. Bull. 28, 2011-2015 (2005)
27. Qian, F., Szymanski, A., Gao, J.: J. Biomed. Mater. Res. 55, 512-522 (2001)
28. <http://3dprint.com/96574/fda-3d-printed-epilepsy-pill/> (Megtekintés dátuma: 2015. 08. 30.)
29. Wise, D.L.: Handbook of pharmaceutical controlled release technology. CRC Press. (2000)
30. <http://www.fda.gov/downloads/AboutFDA/CentersOffices/OfficeofMedicalProductsandTobacco/CDER/UCM406888.pdf> (Megtekintés dátuma: 2015. 08. 30.)
31. https://www.fip.org/files/fip/BPS/Dissolution/FIP_AAPS_Guidelines%20for%20Dissolution.pdf (Megtekintés dátuma: 2015. 08. 30.)
32. <http://grantome.com/grant/NIH/U01-FD005169-01> (Megtekintés dátuma: 2015. 08. 30.)

Érkezett: 2015. december 7.

Korszerű tartósítási módszer fejlesztése magisztrálisan előállítható műkönnyhöz¹

KOVÁCS GEORGINA¹, VARGA DÁVID², SEBE ISTVÁN², HAJDÚ MÁRIA³, SZABÓ PÉTER², OSTORHÁZI ESZTER⁴, ANTAL ISTVÁN³

¹Kék Patika Gyógyszertár, 2083 Solymár, Szent Flórián utca 2
e-mail: gina0226@gmail.com

²SE GYTK Egyetemi Gyógyszertár Gyógyszerügyi Szervezési Intézet, 1092 Budapest, Högyes Endre utca 7-9
e-mail: drvargadav@gmail.com

³SE GYTK Gyógyszerészeti Intézet, 1092 Budapest, Högyes Endre utca 7
e-mail: hajdu.maria@pharma.semmelweis-univ.hu

⁴SE ÁOK Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika
e-mail: droesster@gmail.com

Summary

KOVÁCS G., VARGA D., SEBE I., HAJDÚ M., SZABÓ P., OSTORHÁZI E., ANTAL I.: **Development of new magistral method for the preparation of artificial tears**

Nowadays, large part of the population in Hungary is affected by the dry eye disease or symptom. Most of these magistral pharmaceuticals (FoNo VI) compared to the industrial products have disadvantages. They are not compatible with contact lenses, because of the preservatives and after opening they can be used only for seven days. In our experiments we used sodium-perborate as preservative, which could be a solution for the problems mentioned above. Our results indicate that the sodium-perborate sterilized the solution and resists against microbiological contamination. Its preservative effect maintained for more than four weeks. Our further purpose is to develop a new pharmacy drug preparation method to find an effective solution for the microbiological stability-related problems of artificial tears.

Összefoglalás

A közforgalmú és klinikai gyógyszertárak forgalmának egy részét a betegek valós igényeire épülő, magisztrálisan elkészíthető készítmények adják szilárd, félélszár és folyékony gyógyszerformák terén egyaránt. Szükségszerű az, hogy időről időre áttekintsük az egyes receptúrákat, megújítsuk azokat, esetleg részben alkalmazkodva a gyógyszeripar által diktált aktualitásokhoz, új készítményeket dolgozzunk ki, amelyek végül bekerülhetnek a Formulae Normales (FoNo)-ba. A szemcseppek és műkönnyek tekintetében is találunk olyan tulajdonságokat és ebből eredő nehézségeket, amelyek megoldásra várnak, hiszen jelenleg ezek irodalmi adatokkal alátámaszthatóan enyhén sejtkárosító hatásúak, kontaktlencse viselése mellett nem használhatók és viszonylag rövid ideig eltarthatók. Alapvető szempont ilyen esetekben, hogy elkerüljük a formulálás közbeni, majd később a használatból eredő külső kontaminációt (mikrobiológiai, szilárd részecskék). Lehetőség szerint olyan megoldásokat kell keresnünk, amelyekhez elegendő a legáltalánosabb szintű patikai laboratóriumi infrastruktúra, továbbá nem igényelnek különösebb beruházást, a rutin műveletektől való eltérést, valamint az alapanyagok is könnyen hozzáférhetők.

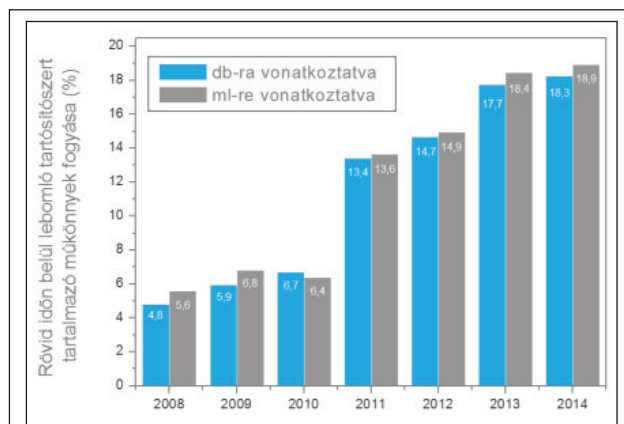
Jelen összefoglaló célja annak a kísérleti munkának és eredményeinek rövid ismertetése, amelynek fókuszában a mindennapi patikai gyakorlatba potenciálisan átültethető, nátrium-perborát tartalmú műkönny előállítása áll. A készítmény más, magisztrális műkönnyekkel szembeni előnye, hogy nem toxikus konzerválószeret tartalmaz, a felbontástól számított eltarthatósága legalább 1 hét (bontatlanul min. 30 nap), valamint kontaktlencse viselése mellett is alkalmazható.

Bevezetés

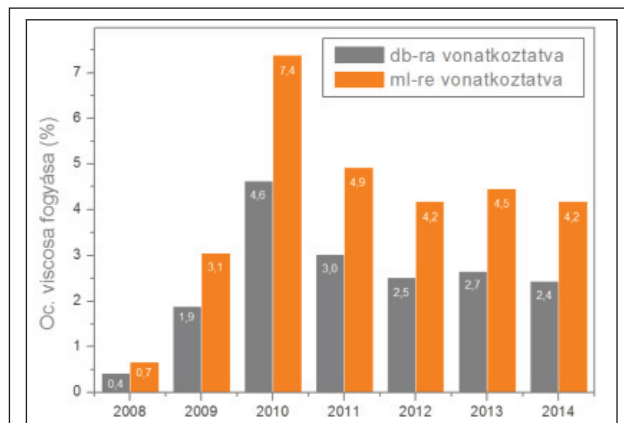
Napjainkban a száraz szem (*keratoconjunctivitis sicca*), mint betegség illetve tünet a magyar népesség egyre nagyobb hányadát érinti. Ez az arány elérheti akár a 10-30%-ot is. A kialakulásához több tényező is hozzájárulhat. Környezeti és életani eredetű okok is befolyásolhatják a panaszok

megjelenésének időtartamát és erősségét. Külső tényező lehet például a száraz és meleg levegő, por, füst és szmog jelenléte a levegőben, a légmozgás, légkondicionáló berendezés működése a légterben, a fűtés, szél és a huzat. Életmódbeli tényező a gyakori képernyő-nézés (televízió, számítógép), éjjeli munka, hosszú ideig tartó vezetés, dohányzás, kontaktlencse viselése, túlzott fűszeres ételek fogyasztása. A beteg panaszai lehetnek idegenterest-érzet, szűrő- vagy égő-érzés, kötőhártya vörbősége, viszketés, akár homályos látás, illetve

¹ A Rozsnyay Mátyás Előadói Verseny 2015. évi első helyezett előadása alapján készült közlemény.



1. ábra: A solymári Kék Patika Gyógyszertár elbomló tartósítószeret tartalmazó készítményeinek forgalma (2008-2014)



2. ábra: A solymári Kék Patika Gyógyszertár *Oc. viscosa* forgalma (2008-2014)

fényérzékenység is jelentkezhet súlyosabb esetekben [1, 2].

Előfordulhat, hogy a szem szárazsága csak egy másik betegség (diabetes, allergia, daganatos megbetegedések, pajzsmirigy problémák stb.) tünete vagy a szervezetben megváltozott folyamatok eredménye, mint például a menopauza és más hormonális változások [1, 3].

A különböző tünetektől szenvedő betegek problémáira nincsen általános megoldás. Fontos az egyéni kezelés egyeztetése szemészorvos és akár gyógyszerész segítségével, hogy a megfelelő készítmény kiválasztásával elérjük a legjobb terápiás hatást. A legtöbb esetben alapvető fontosságú a könnypótlás különböző mechanizmussal nedvesítő műkönnnyekkel és szemgélekkel [1].

Napjainkban a mikrobiológiai tartósítószerektől mentes szemészeti készítmények esetén a formulálás lehetősége az egyadagos sterilizett szemcseppekre korlátozódik, bár a mikrobiológiai kontaminációt kiküszöbölő költséghatékonyabb több-

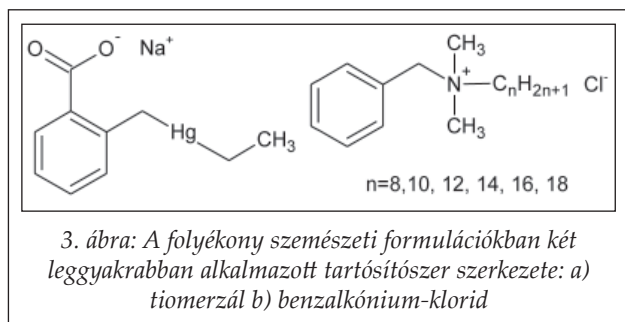
adagos tartályok technikája iránt jelentős érdeklődés tapasztalható [4]. Ugyanakkor alapvető célkitűzésként fogalmazódik meg a jól tolerálható, toxikus mellékhatásoktól mentes tartósítószer választása a többadagos szemészeti készítmény összetételében.

Gyógyszertári forgalomban számos műkönnny megtalálható, amelyek csoportosíthatók a tartalmazott viszkozitást növelő segédanyagok vagy az alkalmazott tartósítószer alapján is [5,6]. A solymári Kék Patika Gyógyszertár műkönnny forgalmát több évre visszamenőlegesen hasonlítottuk össze, amelyből megállapítható, hogy az utóbbi hat évben folyamatosan növekedett az eladott készítmények száma (1. ábra). Ezen belül is figyelemre méltó, hogy amennyiben az elbomló tartósítószeret tartalmazó készítmények részesedését tekintjük, akkor arányuk 4,80%-ról 18,27%-ra nőtt. Mindemellett az *Oc. viscosa* [Formulae Normales VI. (FoNo)] fogyása is növekedett az említett időszakban, illetve a műkönnnyforgalomból való részesedése 2008-ban 0,41%, míg 2014-ben 2,44% volt (2. ábra). Tapasztalataink szerint, a magisztrálisan készített műkönnnyek expedálása többségében vényre történik, jóval olcsóbb a gyári készítményekhez képest és felírható közgyógyellátásra is. A fenti adatok jól szemléltetik a műkönnnyek iránti igény növekedését, azon belül is a korszerű tartósító szereket tartalmazó készítmények arányának növekedését. Ennek kielégítésére magisztrális összetétel fejlesztése is segítséget nyújthat.

A magisztrális (FoNo VI. szerint és egyedi előiratok alapján előállított) készítménynek egyik nagy hátránya a többi forgalomban levő gyári előállítású műkönnnyhöz képest, hogy felbontástól számítva 7 napig használható fel (ami nem gazdaságos), hideg helyen tartandó (napközben a megfelelő tárolás nehezen megoldható a beteg számára), illetve kontaktlencse viselése során nem alkalmazható a tartósítószer miatt [7]. A FoNo VII.-ben található ugyan műkönnny készítésére vonatkozó receptúra, ám annak alapanyaga nem beszerezhető egyik nagykereskedőtől sem, valamint duzzasztásnál, a viszkozitásért felelős hatóanyag oldásakor jelentkező oldhatósági problémák tovább nehezítik a magisztrális előállítását. Manapság ezért a legtöbb gyógyszertár a FoNo VI. szerinti műkönnny összetételt készíti el.

Magisztrális gyakorlatba átültethető készítmény kidolgozása

Kísérleteinkben a nátrium-perborátot választottuk



potenciális prezervatívumként, amely a felsorolt problémák megoldásához lehetséges alternatívát nyújthat. Számtalan tanulmány, vizsgálat foglalkozik a különböző műkönyvek hatékonyságával, továbbá az alkalmazott tartósítószerrel és azok sejtkárosító mellékhatásaival [8, 9]. Szakirodalmi adatok szerint a folyékony szemészeti formulációkban két leggyakrabban alkalmazott tartósítószerhez (3. ábra); a tiomerzálhoz (a) és benzalkónium-kloridhoz (b) képest a nátrium-perborát sokkal kevésbé toxikus, illetve ismert a tiomerzál allergizáló, valamint a benzalkónium-klorid direkt számszárazságot okozó hatása is. A benzalkónium-klorid valójában egy igen hatékony és széleskörűen alkalmazott mikrobiológiai tartósítószer a gyári készítményekben is, de sajnos számos kóreléttani elváltozás okozója lehet. Felületaktív tulajdonsága révén pusztítja el a mikroorganizmusokat, amelyek felelősek a szem *epithel* rétegét alkotó sejtek károsításáért is. A tiomerzál higanytartalmú mikrobiológiai konzerváns, amely a sejteket összehúzódnásra készíti és mitotikus aktivitásukat gátolja. Manapság egyre kevesebb szemészeti ké-

szítmény tartalmazza allergizáló hatása miatt is [9,10]. A nátrium-perborát másik fontos kedvező tulajdonsága a reakciókészségén alapul, ugyanis vízben történő oldódása során hidrogén-peroxid keletkezik (4. ábra), ami az alkalmazás során a be-cseppentéskor azonnal elbomlik [11]. A gyors bomlás lehetővé teszi a kontaktlencse viseléssel egyidejűleg történő alkalmazást, mivel így a kontaktlencsét károsító hatás sem jelentkezik. A jelenleg gyógyszerárban elkészíthető mikrobiológiai tartósítószer tartalmazó műkönyvek egyike sem használható kontaktlencse viselése mellett, ezért egy ilyen előírat kidolgozása hiánypótló lehet a receptúrai gyakorlat számára.

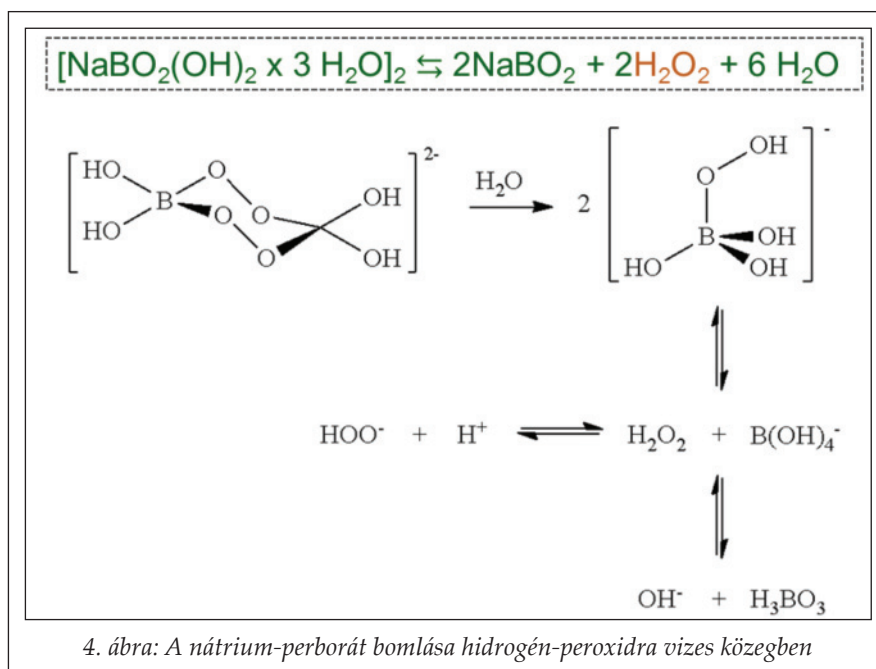
A kutatómunkánk célja egy, a követelményeknek megfelelő korszerűbb mikrobiológiai konzerválószer tartalmazó magisztrális műkönyv kifejlesztése és az elkészítésére vonatkozó előírat segítségével javaslattevél az új *FoNo VIII.*-ba történő felvételére. A műkönyv formulálása során a következő szempontokat vettük figyelembe. Az általunk tervezett készítmény felbontás előtti és utáni időszakra vonatkozó lejárati ideje legyen hosszabb a jelenlegi magisztrális készítményekénél. Legyen szobahőmérsékleten tartható, továbbá alkalmazása során a betegnek ne kelljen a kontaktlencsét ideiglenesen eltávolítania. A formulálás célja az volt, hogy a nátrium-perborát hatékonyságát kísérletekkel alátámasszuk gyógyszerári, csíraszegény körülmények között, továbbá annak bizonyítása, hogy a műkönyv megfeleljen a gyógyszerforma fizikai és kémiai követelményeinek a kémhatás és ozmolalitás tekintetében egyaránt [12]. A kísér-

letek fontos része volt a mikrobiológiai vizsgálat, valamint az ezzel párhuzamosan végzett klasszikus analitikai módszerek alkalmazása is.

A követelmények teljesülésének alapját a receptúrai gyógyszerkészítésben ezidáig nem alkalmazott tartósítószer alkalmazása jelentené.

Vizsgálati módszerek

Szakirodalmi adatokra alapozva a készítmény tartósítószer (nátrium-perborát tetrahidrát) tartalma 0,02 m/m%, viszkozitás növelő hidoxietil-cellulóz koncentrációja pedig 0,4 m/m% volt [7,



11]. A kívánt kémhatás biztosítására két (acetát, foszfát, bórsav tartalmú és bórsav, bórsav tartalmú) puffer rendszert is megvizsgáltunk. A megfelelő mikrobiológiai minőségű készítmény előállítására érdekében az alapoldatot injekcióhoz való vízből állítottuk elő a megfelelő mennyiségű puffer, hidroxietil-cellulóz és nátrium-klorid hozzáadásával. Az így készült műkönyv alapoldatot autoklávban sterilizáltuk ($T = 120^\circ\text{C}$, $t = 20$ perc, $p = 1$ atm). Végül megfelelően előkészített manipulátor alatt feloldottuk a nátrium-perborátot az alapoldatban.

A mikrobiológiai kísérletek során vizsgáltuk a frissen készített műkönyv sterilitását, tartósságát, illetve a konzerváns biológiai szennyeződésekkel szembeni hatékonyságát is. A mintákat a leggyakoribb okuláris patogénekkal oltottuk be: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* és *Bacillus cereus* törzsekkel. A VII. Magyar Gyógyszerkönyv által javasolt $\text{pH} = 6,8\text{--}8,0$ tartomány biztosítására két puffert is megvizsgáltunk. Az egyik egy összetettebb foszfát-, acetát-, borátionokból álló rendszer, a másik receptúrai gyakorlatban is ismert bórsav-bórsav puffer. Az ozmolalitást krioszópos készülékkel mértük, a kívánt érték ($0,280\text{--}0,320$ osmol/kg) beállítására nátrium-kloridot használtunk. Az analitikai mérések során frissen előállított és különböző ideig tárolt minták nátrium-perborát tartalmát a *Ph. Hg. VIII* alapján, permanganometriás titrálással határoztuk meg azzal a változtatással, hogy az eredeti mérőoldatot ötszörösére hígítottuk ($0,02\text{N}$) [13].

Eredmények

Mikrobiológiai vizsgálatok

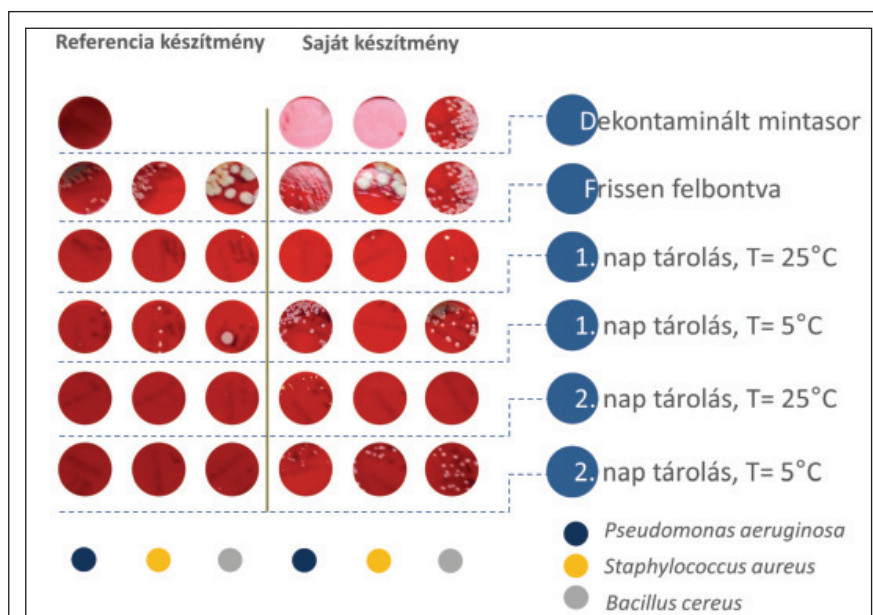
A mikrobiológiai vizsgálatok alátámasztották, hogy a frissen készített oldat steril volt; életképes csíra nem volt kimutatható. A kontaminálást követő leoltásból kitenyésztek a baktériumok, de egy nap elteltével a szobahőmérsékleten tárolt minták mindegyike sterilnek bizonyult, sem patogén sem apatogén kórokozó nem tenyésztett ki. A hűtőben tárolt minták szignifikánsan lassabban, a harmadik napra váltak teljesen sterillé. Referencia készítményként az azonos tartósítószeret tartalmazó *Genteal*® szemcseppet használtuk. Az eredmények elhanyagolható különbséggel megegyeztek a szobahőmérsékleten tárolt mintáknál kapottakkal, míg a hűtőben tároltak csíraszegényebbek lettek az általunk készített mintákhoz képest.

A tartósság vizsgálatára egy hete szobahőmérsékleten tárolt és bontatlan műkönyveket oltottuk be egyenként az összesen három, különböző baktériummal. A kontaminációt követő azonnali leoltásból a baktériumok kitenyésztek, majd egy nap elteltével az oldat szintén sterillé vált (5. ábra). A bontatlan minták közül egyet egy hétnyi tárolás után felnyitottunk, majd egy hétig szobahőmérsékleten tároltuk. Kontaminálás után az oldat sterilizálódott a nátrium-perborát hatására.

Konszekutív mikrobiológiai próba

A készítmény felbontás utáni eltarthatóságát többszöri, egymást követő beoltással határoztuk meg. A vizsgálatot egy hónapon keresztül végeztük. Az EN ISO 14730 szabvány eljárás szerinti sorozatos beoltások és leoltások időpontját úgy kellett megtervezni, hogy a felbontás utáni mintavételi időpontok a kísérlet időtartamának 25, 50, 75 és 100%-ra essenek [14]. A készítményünk eltarthatóságával szemben támasztott követelmény a felbontástól számított egy hónap tárolási idő.

A beoltások és a mintavételek a 0., 7., 14., 21. és 28. napon történtek. A vizsgálat megkezdése előtt a kész szemcseppeket egy hétig, bontatlan csomagol-



5. ábra: A tartósság vizsgálatára igazoló mikrobiológiai eredmények

lásban, szobahőmérsékleten tároltuk. A beoltást a fent említett három kórokozóval, a mintákba külön-külön beoltva hajtottuk végre, az első alkalommal a vizsgálat 0. napján 10^6 db / ml baktériumszámmal, a további alkalmakkor 10^3 db / ml baktérium koncentrációban, majd szobahőmérsékleten tároltuk a mintavételig. Vizsgáltuk a tartósítószer sterilizáló hatásának sebességét is: minden egyes beoltás után leoltásokat végeztünk a 4., 6., majd 24. órában.

A többszöri beoltási próba eredményei sikeresnek bizonyultak. Ezek alapján kijelenthető, hogy a készítményünk eleget tesz a szabványban leírtaknak és teljesíti az eltarthatóság kritériumát is. A kezdeti, 0. napon történt beoltás után 4 órával vett mintában a csíraszám az ezredére csökkent, viszont a beoltást követő 6. órában a vett mintából már nem tenyésztett ki baktérium. A 7., 14., 21. és 28. napon beoltott minták már 4 óra után sterilnek bizonyultak, és ezt a sterilitást 7 nappal később is megőrizték.

Ozmolalitás

A műkönny megfelelő ozmolalitásának beállításához először megmértük a só nélküli oldat ozmolalitását a foszfát-, acetát- és bórsav-puffert tartalmazó, valamint a bórsav-bóráx puffert tartalmazó minták esetében is. Méréseink alapján a szükséges nátrium-klorid mennyiség eléréséhez a foszfát-, acetát-, bórsav-puffer 0,67%-os nátrium-klorid koncentrációja, míg a bórsav-bóráx puffer 0,35%-os nátrium-klorid koncentrációja szükséges.

Tartalmi meghatározás

A permanganometriás analitikai módszerrel három időpontban végeztünk párhuzamos méréseket. A mért értékek alapján megállapítottuk, hogy a pufferek nagy szerepet játszanak a stabilitásban, hiszen a nátrium-perborát jóval lassabban bomlik bórsav-bóráx puffer jelenlétében. A foszfát-, acetát-, bórsav-puffert tartalmazó minta esetében két hét után a nátrium-perborát 27,56%-a, míg a bórsav-bóráx puffert tartalmazó mintában csupán a 2,22%-a bomlott el.

Összefoglalás

Az elvégzett vizsgálatok alapján megállapítható, hogy a nátrium-perborát tartósítószer megfelelően sterilizálja az oldatot, de ellenáll a környezetből eredő mikrobiológiai kontaminációnak is. Bár hűtött körülmények között a gyári referenciakészítmény jobbnak bizonyult, de szobahőmérsékleten tárolva teljes mértékben megfelel a gyógyszerkönyv szemészeti készítmények mikrobiológiai követelményeinek. Továbbá konzerváló hatása több mint négy hétig fennmarad, így eltarthatósága meghaladja a jelenlegi gyógyszerárakban, magisztrálisan készíthető (*Oculogutta viscosa*, FoNo VI) műkönyyekét (7 nap).

A vizsgált összetétel előnye, hogy patikai körülmények között előállítható, szobahőmérsékleten eltartható és kontaktlencse viselése mellett is alkalmazható.

IRODALOM

1. Módos, L.: Hippocrates, 3, 20-21 (2007).
2. Németh, J.: Háziorvos Továbbképző Szemle, 12, 58-61 (2007).
3. Baudouin, C.: Survey of Ophthalmology, 45, 211-220 (2001).
4. Kaur, I. P., Lal, S., Rana, C., Kakkar, S., Singh, H.: Cutaneous and Ocular Toxicology, 28(3), 93-103 (2009).
5. Oláh, G., Steiber Z., Halmos G.: Gyógyszerészet, 56, 663-666 (2012).
6. Oláh, G., Steiber Z., Halmos G.: Gyógyszerészet, 57, 77-80 (2013).
7. Medicina Könyvkiadó Kft.: Formulae Normales VII., Szabványos Vényminták (2003).
8. Moshifar, M., Pierson, K., Hanamaikai, K., et al: Clinical Ophthalmology, 8 (2014).
9. Tu, E. Y.: Saudi Journal of Ophthalmology, 28, 182-187 (2014).
10. Hong, J., Bielory, L.: Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology, 9, (2009).
11. Epstein, S., Ahdoot, M., Marcus, E., et al: Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics, 25, 113-119 (2009).
12. Medicina Könyvkiadó Zrt.: Magyar Gyógyszerkönyv VII, 436-437 (1986).
13. Medicina Könyvkiadó Zrt.: Magyar Gyógyszerkönyv VIII, 3657 (2007).
14. Rosenthal, A., Buck, L., Henry, L., et al.: Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics, 22, 440-448 (2006).

Szerzői útmutató

Az *Acta Pharmaceutica Hungarica* a gyógyszerészeti tudományok területéről közöl eredeti, kísérletes kutatómunka eredményeit bemutató közleményeket, de fórumot biztosít összefoglaló és nem kísérletes (történeti, szervezési) tanulmányok, valamint Ph.D. és D.Sc. értekezések téziseinek közzétételére is.

Hazai kutatóhelyek vagy olyan szerzői kollektívák magyar nyelvű kéziratait közöljük, ahol az első szerző magyar. Lehetőség van külföldi folyóiratban már megjelent, kiemelkedő jelentőségű közlemények magyar nyelvű változatának közzétételére is, az első megjelenés időpontjától számított egy éven belül, az első közzététel bibliográfiai adatainak megjelölésével.

Közzététel elfogadunk:

1. Összefoglaló közleményeket, legfeljebb 25 gépelt oldal terjedelemben. Ezek megírására általában a szerkesztőbizottság felkérésére kerülhet sor, illetve az erre irányuló szándékot célszerű előzetesen egyeztetni a szerkesztőbizottsággal.

2. Közleményeket, legfeljebb 12 gépelt oldal terjedelemben. Az ábrák és táblázatok együttes száma maximálisan 10 lehet.

3. Rövid közleményeket, legfeljebb 4 gépelt oldal terjedelemben (összesen legfeljebb 4 ábra és táblázat). A közlemények megjelenési sorrendjében a rövid közlemények előnyt élveznek.

4. Ph.D. értekezések összefoglaló közleményét, legfeljebb 25 oldal terjedelemben.

Felcsatolva nagy terjedelmű dolgozatok esetében a szerkesztőbizottság fenntartja magának a jogot arra, hogy a lektori javaslatok alapján a szerzőt felkérje dolgozatának rövid közleménnyé való átdolgozására.

A kézirat elkészítésének módja:

a) Általános szempontok

A kéziratot elektronikusan, csatolt file-ként kell a felelős szerkesztő e-mail címére elküldeni: zelrom@gytk.sote.hu

A táblázatokat külön file-ként, címmel és római sorszámmal ellátva készítsük.

Az ábrák és egyéb illusztrációk olyan színvonalon készüljenek, hogy azok nyomdai szerkesztésre alkalmasak legyenek. Az ábrákat külön file-ként kell csatolni, az elnevezésben az ábraszámokat fel kell tüntetni. Javasolt formátum: jpg, tiff.

Az irodalmi hivatkozásokat külön, a hivatkozások sorrendjében közöljük. A hivatkozási számot a szövegben tegyük szögletes zárójelbe.

A hivatkozások módja:

Folyóiratcikk:

1. Revell, L. K., Musser, S. M., Rowe, B. J., Feldmann, I. C.: *J. Pharm. Sci.* 86, 631-634 (1997)

Szakkönyv:

2. Gyarmati L., Rácz I., Plachy J., Csontos A.: A gyógyszer-technológia és biofarmácia kémiai ellenőrző módszerei. *Medicina*, Budapest, 1982. 147-152. old.

Könyvfejezet:

3. Ariens, E. J.: Racemates – an impediment in the use of drugs and agrochemicals. In: Krstulovic, A.M. (ed): *Chiral Separations by HPLC*. Ellis Horwood, Chichester, 1989. pp. 31-68.

Szabadalom:

4. U.S. Pat. 3 425 422 (1984)

Konferencia-előadás:

5. Duncan, R.: Polymer therapeutics: Targeting drugs and genes to tumours. 6th European Congress of Pharmaceutical Sciences. *Eur. J. Pharm. Sci.* 11, (2000) S1-S2.

Internetes hivatkozás: teljes URL-cím a keresőablakból kimásolva és az elérés dátuma az alábbiak szerint:

6. <http://www.eum.hu/main.php?folderID=3746&objectID=6000268> [2008. 08. 05.] Az Egészségügyi Minisztérium szakmai protokollja - Gyógyszeres fájdalomcsillapítás és gyulladásgátlás a reumatológiai betegségekben.

Az idegen orvosi kifejezések helyesírásában Fábíán P. és Magasi P.: Orvosi helyesírási szótár. Akadémiai Kiadó, 1992. legyen az irányadó, a kémiai kifejezések nevezéktanára és helyesírására vonatkozóan pedig Erdey-Grúz T. és Csányi P.: A kémiai elnevezés és helyesírás szabályai. Akadémiai Kiadó, 1972.; F. Csányi P., Fábíán P. és Hőnyi E.: Kémiai helyesírási szótár. Műszaki Kiadó, 1982.; valamint F. Csányi P. és Simándi L.: Szeretlen kémiai nevezéktan. Magyar Kémikusok Egyesülete, 1995.

A mértékegységek megjelölésében az SI-mértérendszer szabályai az irányadók.

b) A kézirat felépítése

A kézirat szerkesztéséhez a következő beosztást kérjük:

A dolgozat címe (esetleg alcíme).

A szerző(k) teljes neve (tudományos fokozatok nélkül), a szerkesztőséggel kapcsolatot tartó szerző neve csillaggal megjelölve.

A szerző(k) munkahelye teljes postai címmel, valamint a levelező szerző e-mail címe.

A dolgozat magyar nyelvű összefoglalása.

A magyar nyelvű összefoglalás terjedelme a dolgozat hosszától függően 10-20 sor legyen és az általános megfogalmazások kerülésével tartalmazza a dolgozat legfontosabb, konkrét megállapításait.

Kulcsszavak: A dolgozat tartalmára utaló, maximum 5 kulcsszó megadása.

A dolgozat címe angol nyelven, a szerző(k) neve (keresztnevek rövidítve).

Angol nyelvű összefoglalás.

Bevezetés, amely tartalmazza a munka célkitűzéseit, valamint a vizsgálatok előzményeiből és irodalmi háttéréből annyit, amennyi a dolgozat megértéséhez és értékeléséhez szükséges.

Key-words: A dolgozat tartalmára utaló, maximum 5 kulcsszó angol nyelvű fordítása.

Kísérleti rész, amely tartalmazza a felhasznált eszközök és anyagok, valamint a kidolgozott módszerek pontos leírását.

Eredmények.

A dolgozatot csak a leírt módszerek teljesíthetőségét megfelelően dokumentáló adatokkal fogadhatók el. Ezek megadásánál használjuk a matematikai statisztika korszerű módszereit.

Az eredmények értékelése.

Ábracímek.

Következtetések. Az utóbbi két fejezet összevonható az Eredmények c. fejezettel.

Az esetleges köszönetnyilvánítások.

Irodalomjegyzék.

