

ACTA

PHARMACEUTICA HUNGARICA

3.

2010

APHGAO 80, (03) 93–128. (2010)

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság tudományos folyóirata



A C T A PHARMACEUTICA H U N G A R I C A

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság folyóirata

Főszerkesztő:

Noszál Béla, Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet
1092 Budapest, Hőgyes 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, Hőgyes 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, Hőgyes Endre u. 9.

A főszerkesztő munkatársa:

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

TARTALOM

<i>Póczi Dorottya és Böddi Béla: A vérehulló fecskefű (<i>Chelidonium majus</i> L.) tejedényeinek és tejnedvének vizsgálata fluoreszcencia képalkotási és fluoreszcencia spektroszkópiai módszerekkel . . .</i>	95
<i>Németh Gábor, Varga Zoltán, Greff Zoltán, Kéri György, Őrfi László: Eljárás 4-klór-6-(szubsztituált-fenil)-pirimidinek előállítására</i>	101
<i>Hajagos-Tóth Judit, Kormányos Zsolt, Falkay György, Pál Attila, Gáspár Róbert: Nifedipin miometrium relaxáló hatásának vizsgálata terbutalin és K⁺-csatorna gátlók jelenlétében <i>in vitro</i></i>	109
<i>Lehotai Lajos: Az acetilkolinészteráz molekula formái I. rész: A Globular G₁ monomer forma egyedüli jelenlétének kutatása patkány kisagyban</i>	115
<i>Szakonyi Gergely, Zelkó Romána: Különböző gyógyszerformákkal kapcsolatos gyógyszerészi tanácsadás . .</i>	121
<i>Könyvismertetés.</i>	128

CONTENTS

<i>Póczi, D., Böddi, B.</i> : Studies on laticifers and milk of greater celandine (<i>Chelidonium majus</i> L.) with fluorescence imaging and fluorescence spectroscopic methods	95
<i>Németh, G., Varga, Z., Greff, Z., Kéri, Gy., Órfi, L.</i> : Synthesis of 4-Chloro-6-(substituted-phenyl)-pyrimidines	101
<i>Hajagos-Tóth, J., Kormányos, Zs., Falkay, G., Pál, A., Gáspár, R.</i> : Investigation of uterus-relaxing effects of nifedipine in the presence of terbutaline and K ⁺ -channel blockers	109
<i>Lehotai, L.</i> : The Forms of Acetyl-cholinesterase Molecule. Part I: The Research of Sole Presence of Globular G1 Monomer in Rat Cerebellum	115
<i>Szakonyi, G., Zelkó, R.</i> : Pharmaceutical advice concerning different pharmaceutical dosage forms . .	121
Books	128

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. Botz Lajos

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: 5133 Ft + 257 Ft áfa

Megjelenik negyedévenként. Példányszám: 930 db

Tördelőszerkesztő: *Oláh Csaba*

Sokszorosítás: Arrabonaprint & Partners Zrt. (Felelős vezető: Ványik László)

Index: 25 101

A vérehulló fecskefű (*Chelidonium majus* L.) tejedényeinek és tejnedvének vizsgálata fluoreszcencia képalkotási és fluoreszcencia spektroszkópiai módszerekkel

PÓCZI DOROTTYA¹ ÉS *BÖDDI BÉLA²

¹Semmelweis Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, gyógyszerészhallgató

²Eötvös Loránd Tudományegyetem Növényismeret Tanszék, 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/c

*Levelezési cím: email cím: boddibela@elte.hu

Summary

Póczy, D., Böddi, B.: *Studies on laticifers and milk of greater celandine (*Chelidonium majus* L.) with fluorescence imaging and fluorescence spectroscopic methods*

Using fluorescence imaging and fluorescence spectroscopic methods, the localisation of the laticifers and the native spectral properties of the milk were studied in various organs of greater celandine (*Chelidonium majus* L.). Direct measurements on tissue pieces (without the extraction and the separation of the components) provided information about the complexity of the milk and the various ratios of the alkaloid contents in the tissues. Whole plant were studied in a gel documentation system using ultraviolet light source, while the localisation of the laticifers was observed along the leaf veins in fluorescence microscope, using blue excitation light. Measuring different tissue pieces, fluorescence spectroscopic studies showed that the greater celandine alkaloids have emission bands at 469, 530-531, 553, 572-575 and 592 nm and excitation bands at 365, 370, 386 és 400 nm. These results give a possibility for conclusions about the alkaloid contents and composition or ratios of the alkaloid components in various tissue pieces directly, via comparisons with alkaloid standards.

Key words: greater celandine; *Chelidonium majus* L.; fluorescence imaging; fluorescence spectroscopy, milk-alkaloids

Összefoglalás

Fluoreszcencia képalkotási és fluoreszcencia spektroszkópiai módszerekkel tanulmányoztuk a vérehulló fecskefű (*Chelidonium majus* L.) különböző szerveiben a tejedények lokalizációját és a tejnedv natív spektrális tulajdonságait. Közvetlenül a szövetdarabokon végzett vizsgálatokkal (a tejnedv extrakciója és a komponensek szétválasztása nélkül) is információt kaptunk a tejnedv összetettségéről, a benne lévő alkaloidok szövetenként változó arányairól. Ultraibolya gerjesztéssel egy gél dokumentációs rendszerben egész növény vizsgálatát tudtuk elvégezni, fluoreszcencia mikroszkópiával pedig kék gerjesztőfényben megfigyeltük a tejedények lokalizációját a levelek mentén. Különböző szövetdarabok fluoreszcencia spektroszkópiai méréseivel megállapítottuk, hogy a tejnedv alkaloidjai 469, 530-531, 553, 572-575 és 592 nm-nél adnak emissziós illetve 365, 370, 386 és 400 nm-nél gerjesztési sávokat. Ezek az eredmények lehetőséget adnak arra, hogy alkaloid sztenderdekkel történő összehasonlítás alapján közvetlenül a növényi szövetdarabok mérésével következtetni tudjunk a bennük található alkaloid mennyiségére, valamint az egyes alkaloidok összetételére és arányaira.

Kulcsszavak: Vérehulló fecskefű, *Chelidonium majus* L.; fluoreszcencia leképezés, fluoreszcencia spektroszkópia; tejnedv-alkaloidok

Bevezetés

A vérehulló fecskefű (*Chelidonium majus* L.) a *Papaveraceae* – mákfélék családjába tartozik, 50-80 cm-re is megnövő lágyszárú, tejnedvet tartalmazó évelő növény. Élőhelye változatos, de jellemzően a nedvesebb területeket kedveli. A VIII. Magyar Gyógyszerkönyvben nyilvántartott növény, hivatalos drogja a virágos hajtása szárított egész vagy aprított formában.

Makroszkópos jellemzése: Gyöktörzse többfejű, barnássárga gyökerek ágaznak le róla. A rhizómából törzsszerűen eredő lomblevelek körülölelik a szárát, amely hengeres. A szár a világoszöldtől a barnáig több színárnyalatban megjelenhet, jellegzetes fedőszőrök borítják. A tő- és szárlevelei

szárnyasan szeldeltek. A levelek színi oldala jellemzően világoszöld, de az alsóbb állású és idősebb levelek kékeszöldek is lehetnek. Fonákja a szárhoz hasonlóan szőrös és színe is világosabb. Virágai sárgák, négy szíromlevelet tartalmaznak, tojásdad alakúak. Porzói szintén sárgák, számosak. Termése két kopáccsal nyíló, becőszerű tok [1].

A *Chelidonium* tejnedvét a népgyógyászat [2, 3, 4] többféle betegség kúrálására használta és használja napjainkban is: máj- és epepanaszok (görcsoldás), szemölcsök, fogágy-problémák [1]. A növény jelentőségét növeli, hogy orvosi kutatások daganatellenes hatását is igazolták [5, 6]. A tejnedv meglehetősen összetett [7]; részletes analízisét a Semmelweis Egyetem Farmakognóziai Intézeté-

nek munkatársai végezték [8]. Főbb alkaloidjai a berberin, koptizin, kelidonin, keleritrin, szangvinarin, valamennyien benzilfenantridin vegyületek. Az alkaloidok mellett speciális protein összetétel mutatható ki, amelynek a növény patogének elleni védekezésében illetve a stressz-toleranciájában tulajdonítanak jelentőséget [9]. Az alkaloidok aránya, mennyisége szervenként változó, de függ a növény élőhelyétől, élettani állapotától, és szezonális ingadozást is mutat [10]. A szakirodalomban szórványos adatokat találunk a *Chelidonium* alkaloidjainak spektrális jellemzőiről. Általában izolált, kromatográfias módszerekkel elválasztott, szerves oldószerben feloldott egyes alkaloidok spektrális jellemzőiről található szakirodalmi adatokat. A tejnedvben található alkaloidok abszorpciós maximuma 300-375 nm között található; a szangvinarin optikai tulajdonságairól megállapították, hogy az erőteljesen függ a közeg pH értékétől [11]. A szangvinarin fluoreszcencia emissziós spektrumában éles sávot figyeltek meg 400 nm körül, és lapos, jellegtelen elnyúló sávrendszert találtak 550-650 nm között [11]. A berberinről több adatot közöltek, mivel fluoreszkáló jelzőmolekulaként a molekuláris biológia számos területén használják. Nem találtunk adatokat viszont az alkaloidok natív spektrális jellemzőiről. Ez azért is fontos, mert az abszorpciós és fluoreszcencia emissziós maximumok, amelyeket az alkaloidok kimutatására, azonosítására használhatunk, nagymértékben függenek az oldószer minőségétől.

Munkánkban az alkaloidoknak natív mintákban történő kimutatását tűztük ki célul. UV lámpával felszerelt géldokumentációs rendszer, fluoreszcencia mikroszkóp és spektrofluorométer felhasználásával egész növényt, levéldarabot, termést valamint szár és gyökér hosszmetését vizsgáltuk. A növénydarabokról mért fluoreszcencia spektrumokat összehasonlítottuk felületre felvitt és metanolban oldott tejnedv spektrumaival.

Kísérleti rész

A vérehulló fecskefű (*Chelidonium majus* L.) növények gyűjtését március elejétől július végéig végeztük, árnyékos helyről, és fénynek jobban kitett nyílt mezőről is begyűjtöttünk különböző korú egyedeket. A növényeket Budakeszin, a Vadaspark környékén gyűjtöttük. A fluoreszcencia spektroszkópiai méréseket (lásd alább) májusban, árnyékos területéről begyűjtött, fiatal növényen végeztük.

Egész növények vizsgálatát, fekete-fehér képet adó CCD kamerával felszerelt BIO RAD típusú

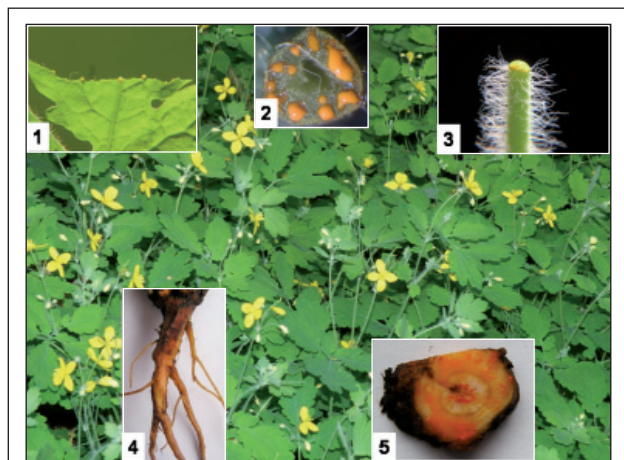
géldokumentációs rendszerrel végeztünk. A készületekben a növényeket UV lámpával alulról világítottuk meg. A CCD kamera a képet számítógépen rögzítette.

A fluoreszcencia mikroszkópos vizsgálatokat 100 W-os Hg-gőz lámpával felszerelt Olympus BH2-RFCA típusú mikroszkóppal végeztük; a megvilágításhoz gyári kék szűrőt használtunk. Levéldarabokat mikroszkópi tárgylemezre helyeztünk és lefedés nélkül vizsgáltunk.

A fluoreszcencia spektroszkópiai méréseket Jobin Yvon Fluoromax 3 spektrofluorométerrel végeztük. A mintákat szilárd mintatartóban rögzítettük, és 45 fokos szögben mértük szobahőmérsékleten. Emissziós spektrumokat mértünk 360 nm-es gerjesztőfényvel 400 és 600 nm-es spektrumtartományban, és gerjesztési spektrumokat regisztráltunk az emissziós monokromátort a minta 469 és 580 nm közötti tartományban levő emissziós maximumára állítva a 340 és 480 nm közötti tartományban. A gerjesztési és emissziós rések 2 és 5 nm voltak, a spektrumokat 0,5 nm-es adatgyakorissággal regisztráltuk 0,1 s integrációs idővel. A műszer minden minta esetében automatikusan 2 spektrumot regisztrált, amelyek átlagát írta ki. Az emissziós spektrumokat korrigáltuk a műszer hullámhossztól függő érzékenységváltozására. A gerjesztési spektrumokat „ratio mode”-ban mértük, amely automatikus korrekciót végez a gerjesztő xenon lámpa spektrumára. A spektrumokat ASCII formátumban exportáltuk, és az SPSERV-V3.41 szoftverrel (copyright: Cs. *Bagyinka*, MTA SzBK, Biofizikai Intézet) dolgoztuk fel: 5 pontos lineáris simítást és alapvonal-korrekciót végeztünk, valamint egyes esetekben a spektrumok összehasonlításához a spektrumokat maximumukra normáltuk.

Eredmények

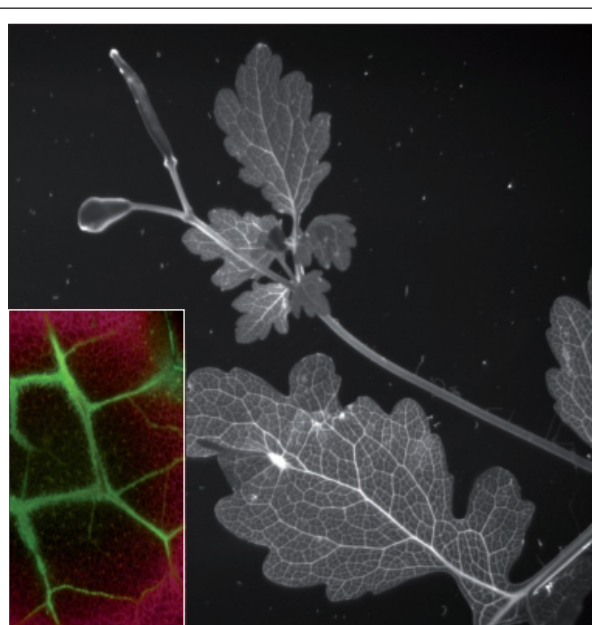
A vérehulló fecskefű virágzó példányait a klimatikus viszonyoktól függően április végétől kezdve folyamatosan lelhetjük fel (1. ábra, háttérkép). Ha a növény levelét eltépjük, a sérülési felületen a levélerek felett pár másodperc múlva megjelennek a tejnedv cseppjei (1. ábra, 1. részlet). Hasonlóan, a tejnedv kipréselődését figyelhetjük meg idős (1. ábra, 2. részlet) és fiatal (1. ábra, 3. részlet) szár elmetésésekor. A jelentős mennyiségben felhalmozódó alkaloidoknak köszönhetően a növény gyöktörzse és részben a gyökerei is pirosas színűek (1. ábra, 4. részlet). A gyöktörzs keresztmetszetén a metszési felületen kipréselődik a tejnedv (1. ábra, 5. részlet).



1. ábra: A vérehulló fecskefű (*Chelidonium majus* L.) habitusképe a virágzás állapotában. Beszúrt képek: 1: Egy fiatal levél elszakított felületén megjelenő tejnedv cseppek; 2: Egy idős növény szárának keresztmetszeti felületén kiprészelődött tejnedv; 3: Egy fiatal növény szárának habitusképe és keresztmetszeti felületén kiprészelődött tejnedv; 4: A gyöktörzs pirosas elszíneződése; 5: Az elmetsett gyöktörzs felületén kiprészelődött tejnedv. (Fotó: Dr. Böddi Béla)

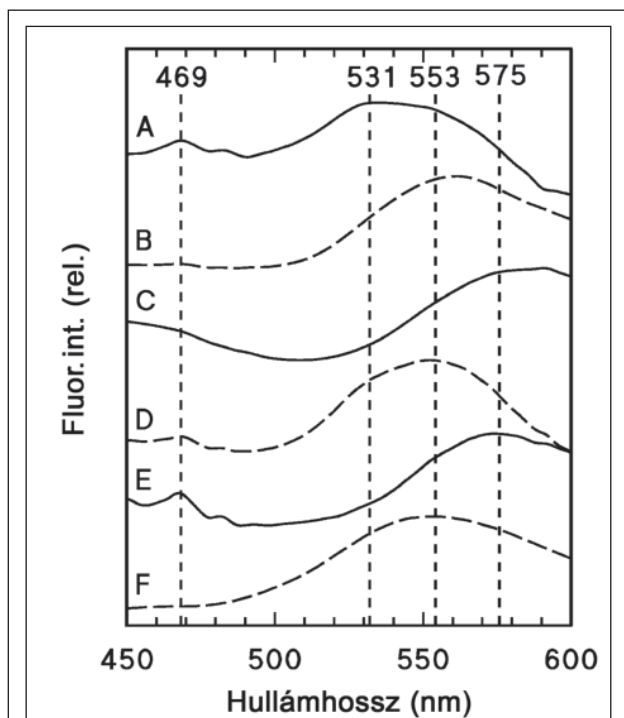
A tejedények natív fluoreszcenciájának megfigyelése érdekében, egy kb. 20 cm-es terméshajtást helyeztünk egy géldokumentációs rendszer mintatartó részébe. A levelek színi és fonáki oldalát is megvizsgáltuk. Az UV-lámpák a növényt alulról világították meg. A fluoreszcencia képet UV szűrőn keresztül regisztráltuk a készülékhez kapcsolt CCD-kamerával. A fényképen jól láthatók a tejedények: valamennyi szerv esetében a szállítónyalábok körül helyezkednek el. A klorofillok autofluoreszcenciája csak kismértékben látszik, a fehér sávok az alkaloidok intenzív fluoreszcenciáját jelölik. Érdeemes megjegyezni, hogy ezt az intenzív jelet a növény valamennyi részében meg tudtuk figyelni. A kép középső részén, a levéllemezeken egy sérülés nyomai látszanak; az itt megjelenő jel arra utal, hogy a levél belsejében a tejnedv ebben a pontban összegyűlt (2. ábra). A tejedények lokalizációjáról részletesebb információt kaptunk a levéllemezeken fluoreszcencia mikroszkópos vizsgálatával. A gerjesztőfény a fókuszban néhány másodperc alatt kiégette a klorofillokot, emiatt eltűnt azok vörös autofluoreszcenciája. Az emittált vörös fény csak a kép széli részein maradt meg, ahol a gerjesztőfény intenzitása kicsi. A klorofillok autofluoreszcenciájának eltűnése után a kép közepén erőteljes zöld autofluoreszcenciát adtak a tejnedv alkaloidjai (2. ábra, részlet).

Feltűnő volt, hogy a különböző korú növények eltérő szerveiből sérülés után kiprészelődő tejnedv

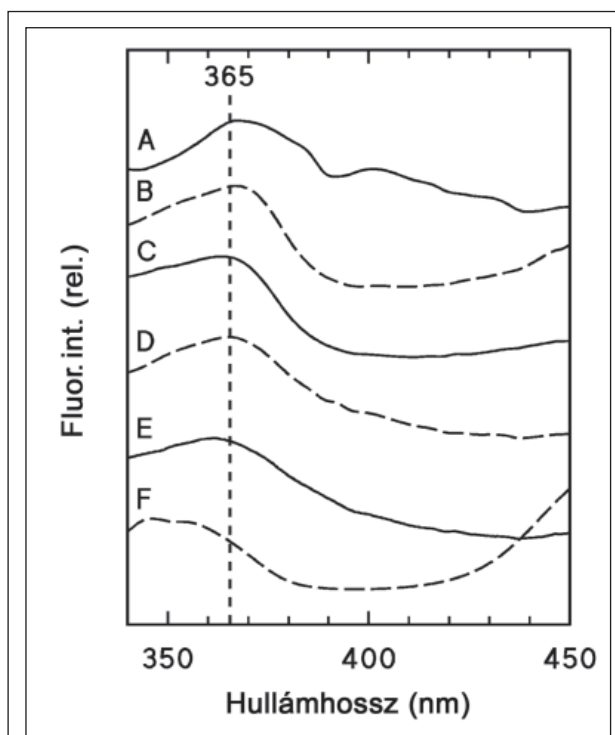


2. ábra: A tejedények lokalizációja a hajtásban. A felvétel Géldokumentációs kamerában készült alsó UV megvilágítással. Beszúrt kép: Egy levéldarab fluoreszcencia mikroszkópos képe kék fényel történt gerjesztéssel. A kép közepén a klorofillok piros autofluoreszcenciája az erős gerjesztőfény hatására eltűnt, a megmaradt zöld fluoreszcencia a tejedények elhelyezkedését mutatja.

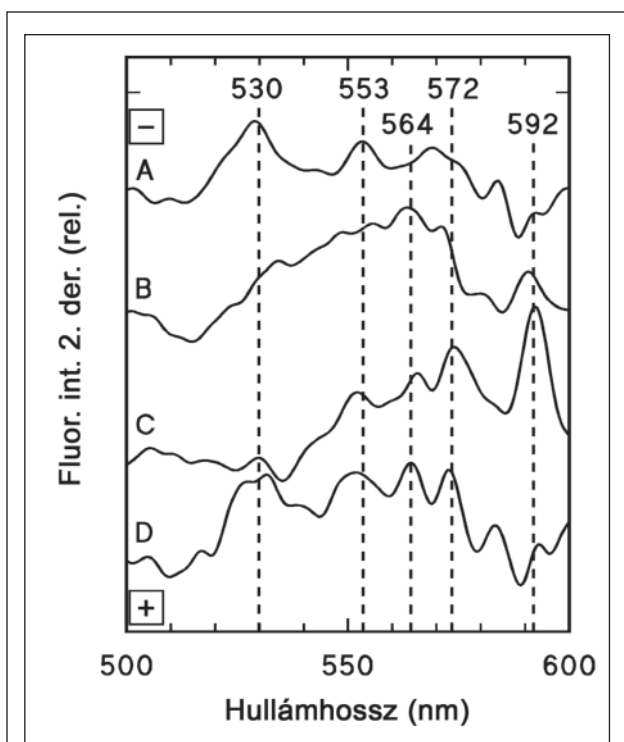
színe eltérő volt: a fiatal levelek és száruk sérülési felületén világossárga, idősebb száruk és a gyökerek sérülési felületén viszont narancssárga vagy egészen vörös tejnedv jelent meg. Felvetődött a kérdés, hogy fluoreszcencia spektroszkópiai módszerekkel lehet-e különbséget tenni a különböző szervekben található tejnedvek között. A mintákat 360 nm-es fényel gerjesztve regisztráltuk az emissziós spektrumokat. A szilárd mintatartóban, szobahőmérsékleten mért emissziós spektrumokban valamennyi szerv esetében éles, intenzív sáv jelent meg 400 nm körül. A gerjesztőfény néhány nm-es eltolásával ez a sáv pontosan ugyanannyi nm-rel tolódott el, mint amennyit a gerjesztőfényen változtattunk. A sávnak ez a „vándorlása” egyértelműen bizonyította, hogy megjelenésének fizikai okai vannak; ez a sáv nem rendelhető a kelidonin alkaloidokhoz, hanem a víz Raman sávja [12]. A továbbiakban ezért csak a 450 nm feletti spektrumtartományt vizsgáltuk, ahol karakterisztikus emissziós sávok jelentek meg. Fiatal levél esetében keskeny és kevésbé intenzív sáv jelent meg 469 nm-nél, a fő sávok 500 és 590 nm között voltak. Lokális maximum jelentkezett 531 nm-nél, és széles elnyúló emissziós jel jelent meg 553 és 575 nm-nél (3. ábra, „A” spektrum). Idősebb szár spektrumában a fő maximum 560 nm környékére



3. ábra: Szilárd mintatartóba helyezett különböző szervek (A-D), beszárított tejnedv (E) és küvettában mért, metanolban oldott tejnedv fluoreszcencia emissziós spektrumai. A: levél; B: szár; C: gyökér; D: termés; E: levélfelületre szárított tejnedv; F: metanolos oldat. A gerjesztési maximum valamennyi esetben 360 nm volt.



5. ábra: Szilárd mintatartóba helyezett különböző szervek (A-D), beszárított tejnedv (E) és küvettában mért, metanolban oldott tejnedv fluoreszcencia gerjesztési spektrumai. A: levél; B: szár; C: gyökér; D: termés; E: levélfelületre szárított tejnedv; F: metanolos oldat. A gerjesztési spektrumok méréséhez az emissziós monokromátort valamennyi esetben 535 nm-re állítottuk.



4. ábra: A 3. ábrán bemutatott A-D spektrumok 2. deriváltjai. A jobb szemléltethetőség kedvéért az előjelet az ábrán feltüntetett módon megváltoztattuk.

tolódott el (3. ábra, „B” spektrum), gyökerek spektrumában viszont 590 nm környékén volt az emissziós maximum (3. ábra, „C” spektrum). Intenzív emissziós csúcs jelent meg intakt termések spektrumában is, ahol a maximum 553 nm-nél volt (3. ábra, „D” spektrum).

A fluoreszcencia emissziós spektrumok összetettségét és finomszerkezetét mutatták az emissziós spektrumok 2. deriváltjai (4. ábra). A jobb szemléltethetőség kedvéért a spektrumok reciprokjait mutatjuk, tehát az ábrán jelzett módon a negatív csúcsok felfelé mutatnak; ezek feleltethetők meg a 3. ábrán bemutatott emissziós sávoknak. A spektrumokat maximumukra normáltuk, ezért a sávin-tenzitásoknak nincs jelentőségük. A levél spektrumában jól elkülöníthető az 530 nm-es sáv, emellett 553, és 570 nm-nél jelent meg jól elkülöníthető sáv (4. ábra, A spektrum). A szár spektrumának 2. deriváltjában jelentősen átfedő sávok vannak; csak 564 és 592 nm-nél vannak tisztán azonosítható sávok (4. ábra, B spektrum). A gyökér 2. derivált spektrumában 551, 565, 573 és 592 nm-nél különült el emissziós sáv (4. ábra, C spektrum). Jelentősen összetett volt a termés emissziós spektrumának 2.

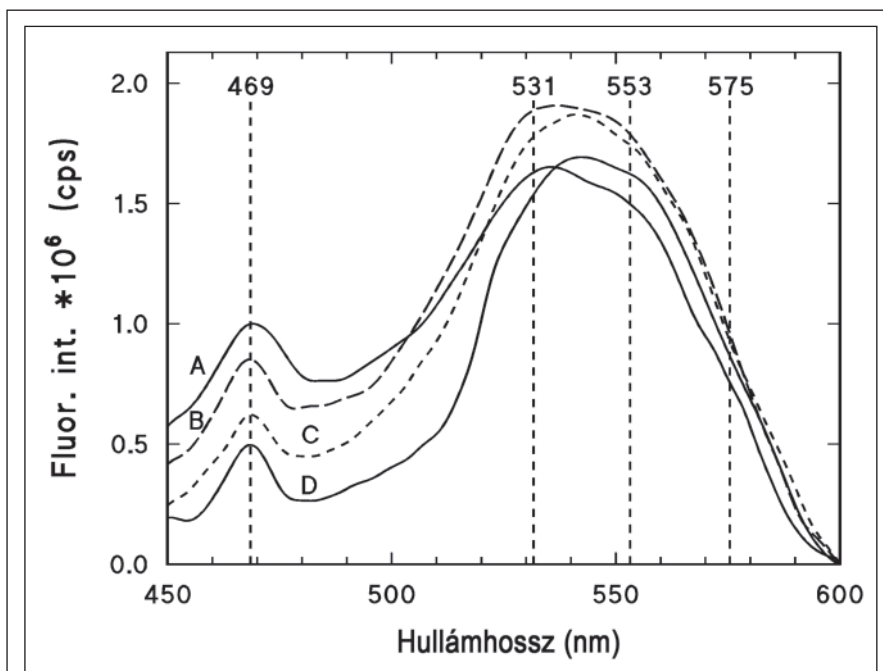
deriváltja is: 530, 553, 564, 572 nm-nél volt jól kivehető sáv (4. ábra, D spektrum).

Annak érdekében, hogy meggyőződjünk az 530-590 nm közötti emissziós sávok specifikusságáról, megmértük a fenti minták fluoreszcencia gerjesztési spektrumait a 340-500 nm közötti spektrumtartományban az emissziós monokromátort 575 nm-re helyezve. Valamennyi szerv esetében 365-368 nm körül jellegzetes gerjesztési maximumot kaptunk (5. ábra, „A-D” spektrumok).

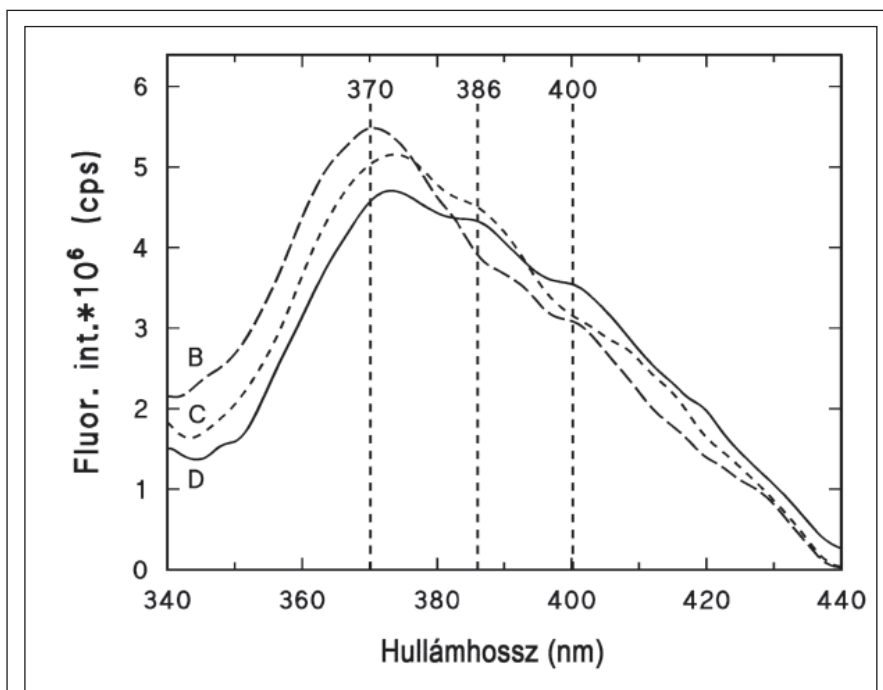
Hasonló spektroszkópai vizsgálatokat végeztünk egy átmetszett szár sérülési felületéről begyűjtött tejnedvvel. Az egyik mérési sorozatban a tejnedvet szilárd felületre kentük fel, és a szilárd mintatartó használatával hasonló méréseket végeztünk, mint a növényi szervekkel. A tejnedv emissziós (3. ábra, „E” spektrum) és gerjesztési (5. ábra, „E” spektrum) spektruma hasonlított a szár illetve a gyökér hasonló spektrumaihoz: 469 és 575 nm-nél találtunk lokális emissziós maximumokat illetve 365 nm-nél jelent meg gerjesztési maximum.

A tejnedvet a következőkben metanollal elegyítettük. Az elegyet kvarcküvetébe helyeztük, és megmértük emissziós és gerjesztési spektrumait. A metanolos oldat 550 nm-nél adott széles emissziós sávot (3. ábra, „F” spektrum) és 350 nm körül gerjesztési maximumot (5. ábra, „F” spektrum).

A natív fluoreszcencia jelek specifikitását és az alkaloidok szelektív gerjeszthetősége révén egymás melletti kimutathatóságát bizonyította a következő mérés is, amelyben egy frissen begyűjtött egész levelet helyeztünk a szilárd mintatartóba, és különböző hullámhosszú (350, 360, 370 és 380 nm-es)



6. ábra: Fiala levél különböző hullámhosszúságú gerjesztésekkel mért fluoreszcencia emissziós spektrumai: A: 350; B: 360; C: 370; D: 380 nm-es gerjesztés.



7. ábra: Fiala levél különböző hullámhosszúságokon mért fluoreszcencia gerjesztési spektrumai: A: 470; B: 531; C: 553; D: 575 nm-en mért spektrum.

gerjesztéseket használva regisztráltunk ugyanarról a mintáról emissziós spektrumokat (6. ábra). A gerjesztési hullámhossz változása következtében megváltozott az emissziós spektrumok alakja. Hasonlóképpen megváltozott a gerjesztési spektrumok alakja is, ha az emissziós monokromátort

különböző hullámhosszokra (470, 531, 553, 575 nm-re) állítva mértünk gerjesztési spektrumokat (7. ábra).

Az eredmények értékelése és következtetések

Jelen munka céljával tűztük ki, hogy a *Chelidonium* tejnedvének autofluoreszcenciás tulajdonságait kihasználva különösebb analitikai vizsgálatok nélkül, közvetlenül a friss növényi mintát vizsgálva információt nyerhessünk a begyűjtött növényi anyag hatóanyagtartalmáról. A fluoreszcencia leképezéses módszerekkel (a géldokumentációs rendszer és a fluoreszcencia mikroszkópia) kapott eredmények egyértelműen bizonyították, hogy a tejedények a szállítónyalábok közvetlen környezetében találhatóak, azzal párhuzamos lefutásúak, és a natív mintáról intenzív zöld fény emittálódik (2. ábra részlete), ami a további fluoreszcencia spektroszkópiai mérésekre adott lehetőséget.

A fluoreszcencia spektroszkópiai vizsgálatok értékes információt szolgáltatottak. Igaz ugyan, hogy a szövetdarabok közvetlen mérésével kapott spektrumok alapján csak nagyon körülményesen lehet következtetni az adott szervekben található hatóanyag mennyiségére, de a jelintenzitások alapján egyszerűen lehet szortírozni a begyűjtött növényi nyersanyagot; meg lehet állapítani, hogy megfelelő-e további feldolgozásra, hatóanyagok kinyerésére.

A fluoreszcencia emissziós spektrumok valamennyi esetben összetett jeleket adtak. A szakirodalomban korábban közölt 400 nm körüli éles sávot [11] mi is megfigyeltük valamennyi mintánkban. Ezt a sávot azonban figyelmen kívül kell hagyni, hiszen ez a víz Raman szórás sávja [12], amit desztillált vizet mérve a spektrofluorométerek kalibrálására használhatunk [13]. Az alkaloidok specifikus emissziós jelei láthatók a spektrumban 469 nm-nél és a zöld tartományban 530 és 590 nm közötti széles sávrendszerben. A sávrendszer aszimmetriája több emissziós sáv átfedésére utal. Az egyes összetevők intenzitása a gerjesztési hullámhossz változásával különbözőképpen változott (6. ábra), mivel az egyes alkaloidok abszorpciós (és gerjesztési) maximuma különböző (7. ábra). Ezek a mérések jól bizonyítják a többféle alkaloid együttes jelenlétét a natív minták mérésével is. Ez jó összhangban van a korábbi analitikai eredményekkel [10]. A szervek spektrumainak összehasonlítása azt mutatja, hogy az egyes komponensek

megoszlása eltérő a különböző szervekben [10]. A levelekben és a fiatal szárban a rövidebb hullámhossznál emittáló komponensek, az idősebb szárukban és a gyökérben a hosszabb hullámhossznál emittáló komponensek vannak nagyobb arányban. Ezek közötti érdekes átmenetet adott a termés: ennek szimmetrikus emissziós sávja az egyes komponensek többé-kevésbé azonos arányára utal. A natív minták mérésével közvetlenül kimutathatók tehát az alkaloid összetétel változásai, amelyek a növény élettani állapotától és a környezeti hatásoktól jelentősen függenek. Alkaloid sztenderdek spektrumaival történő összehasonlítással a natív minták spektrumai komponensekre bonthatók, illetve matematikai módszerek alkalmazásával a komponensek arányai kiszámíthatók. Munkáinkat ezen a téren folytatjuk.

Köszönet

A munka előkészítésében 2006-ban és 2007-ben részt vett Péter (Németh) Gyöngyi a Semmelweis Egyetem rezidens hallgatójaként, akinek ezúton mondunk köszönetet.

IRODALOM

1. Dános, B.: Farmakobotanika. Gyógynövényismeret. Semmelweis Kiadó, Budapest, (2006) 45. old.
2. Pieroni, A., Dibra, Blendi, Grishaj G., Grishaj, I., Macai, S., G.: Fitoterapia 76, 379–399 (2005).
3. Jaric, S., Popovic, Z., Macukanovic-Jovic, M., Djurdjevic, L., Mijatovic M., Karadzic, B., Mitrovic, M., Pavlovic, P.: J Ethnopharmacol 111, 160-175 (2007).
4. Dopico, E., Fabian, J.L.S., Garcia-Vazquez, E.: Human Ecology 36, 125-129 (2008).
5. Kemény-Beke, A., Aradi, J., Damjanovich, J., Beck, Z., Facko, A., Berta, A., Bodnar, A.: Cancer Lett 237, 67-75 (2006).
6. Kaminsky, V., Lin, K.-W., Filyak, Y., Rostyslav, S.: Cell Biol Int 32(2), 271-277 (2008).
7. Colombo, M. L., Bossiso, E.: Pharmacol Res 33, 127-134 (1996).
8. Sárközi, Á., Janicsák, G., Kursinszky L., Kéry, Á.: Chromatographia 63, S81-S86 (2006).
9. Nawrot, R., Kalinowski, A., Gozdzicka-Jozefiak, A.: Phytochemistry 68, 1612–1622 (2007).
10. Sárközi, Á.: Doktori tézisek Gyógyszertudományok Doktori Iskola (2006) (http://phdold.sote.hu/mwp/phd_live/vedes/export/sarkoziagnes.m.pdf)
11. Motevich, I. G., Strekal, N. D., Nowicky, J. W., Maskevich, S. A.: J Applied Spectroscopy, 74, 666-672 (2007).
12. Tkachenko, N. V.: in: Optical spectroscopy. Methods and Instrumentations. Elsevier, ISBN-13 978-0-444-52126-2, Chapter 6. pp. 107-127 (2006)
13. Lawaetz, A. J., Stedmon, C. A.: Appl Spectrosc 63, 936-940 (2009)

Eljárás 4-klór-6-(szubsztituált-fenil)-pirimidinek előállítására

NÉMETH GÁBOR^{1,2}, VARGA ZOLTÁN^{1,2}, GREFF ZOLTÁN², KÉRI GYÖRGY^{1,2,3},
ÖRFI LÁSZLÓ^{1,2,4}

¹Racionális Hatóanyagtervező Laboratórium, Kooperációs Kutató Központ, Semmelweis Egyetem, 1085, Budapest, Üllői út 26.;

²Vichem Chemie Kft., 1022, Budapest, Herman O. u. 15.;

³Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézet, Semmelweis Egyetem, 1094 Budapest, Tűzoltó u. 37-47.;

⁴Gyógyszerészi Kémiai Intézet, Semmelweis Egyetem, 1092, Budapest, Hőgyes E. u. 9.

Levelezési cím: e-mail: orlasz@gytk.sote.hu

Summary

Németh, G., Varga, Z., Greff, Z., Kéri, Gy., Örfi, L.:
Synthesis of 4-Chloro-6-(substituted-phenyl)-pyrimidines

4-Phenylamino-6-phenyl-pyrimidine is a common core structure of several, important enzyme inhibitors. The common key intermediate of these compounds, 4-chloro-6-substituted phenyl pyrimidine, was synthesised by conventional methods without the application of special catalysts in contrary to the published methods. Here we present two different synthetic procedures for the preparation of the title compound. The results of these processes depend on the substituent of the 6-phenyl ring as it is demonstrated on the presented examples. The reactions can be performed via traditional heating either with microwave assistance.

Keywords: intermediate synthesis, 6-phenyl-pyrimidine, heterocycle, enzyme inhibitor, microwave.

Összefoglalás

A 4-fenilamino-6-fenil-pirimidin számos, fontos enzim inhibitor közös alapváza. Ezen vegyületeknek közös intermediérjét, a 4-klór-(6-szubsztituált-fenil)-pirimidint az eddig ismert módszerekkel ellentétben, hagyományos körülmények között, speciális katalizátorok nélkül állítottuk elő. Közleményünkben kettő különböző eljárást ismertetünk a címvegyületek előállítására. A reakciók eredményessége függ a 6-fenil gyűrű szubsztituensétől, amit példákon mutatunk be. A bemutatott reakciók elvégezhetők mind mikrohullámú reaktorban, mind hagyományos melegítéssel.

Kulcsszavak: intermediér szintézis, 6-fenil-pirimidin, heterociklus, enzim inhibitor, mikrohullám.

Bevezetés

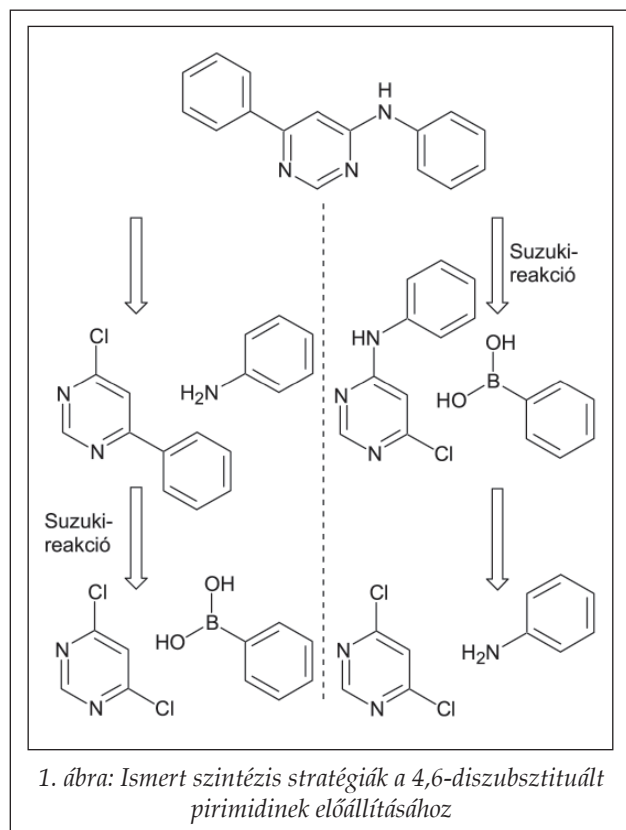
Az ezredforduló óta több száz olyan enzim inhibitor szerkezete vált publikussá, amelyek a 4-amino-6-fenil-pirimidin alapvázra épülnek. Ezen vegyületek szerkezete, az alapváztól eltekintve nagyon különböző és biológiai hatásuk is nagyon szerteágazó: van közöttük vanilloid receptor 1 inhibitor [1], a koleszterin felszívódását módosító vegyületek [2], dipeptidil peptidáz IV inhibitorok [3], számos kináz inhibitor pl., efrin receptor tirozin kináz és HIF-1 [4], CDK 9 [5] és CHK1 [6] inhibitorok.

Az alapvázak szerkezeti hasonlóságából eredően ezen vegyületek szintézise is rokon, számos esetben azonos. A diszubsztituált pirimidinek előállításakor általánosan alkalmazott szintetikus módszerek a 4,6-diklórpirimidinből és a megfelelő boronsavból illetve anilinből indulnak ki (1. ábra). Hátránya ezeknek a reakcióknak, hogy a boronsavak meglehetősen drágák, illetve számos származék nem kapható a kereskedelemben, ugyanak-

kor előállításuk viszonylag bonyolult. A Suzuki reakció oxigénmentes körülményeket igényel a palládium(0) katalizátor miatt. Nemrég jelent meg egy tanulmány egy új szintetikus módszerről, melynek a szerzői szintén a Suzuki reakciót alkalmazták, mikrohullámú reaktorban. Ebben a tanulmányban nem optimalizálták a reakciókörülményeket és nem vizsgálták a reakció méretnövelhetőségét sem [7].

Eredmények

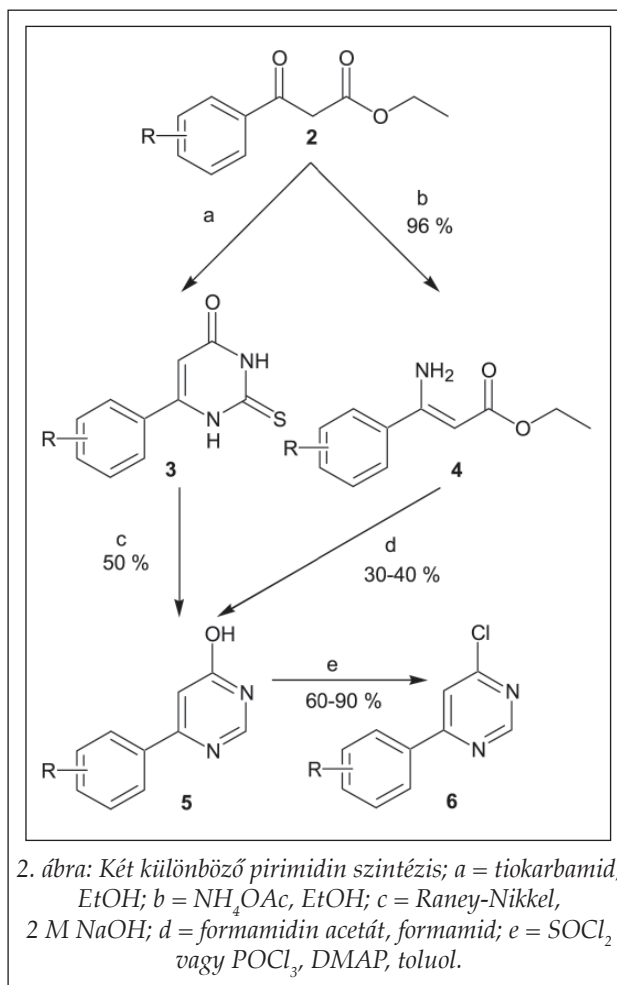
Kidolgoztunk két olyan, egymástól független eljárást, amelyekkel előállítható egy közös intermediér struktúra (2. ábra), a 4-klór-6-(szubsztituált-fenil)-pirimidin (6). Így a 4-fenilamino-6-fenil pirimidinek előállíthatóak szubsztituált acetofenonokból (1), 3-(szubsztituált-fenil)-3-oxo-propionsav etil észtereken keresztül (2) (3. ábra). E két reakcióút kidolgozására azért volt szükség, mert a 6-fenil csoport szubsztituense erősen befolyásolja a gyű-



rúzási reakciót. A kidolgozott reakciók nem érzékenyek az oxigénre vagy a nedvességre, továbbá nem igényelnek semmilyen speciális reagenst vagy katalizátort. Az egyetlen hátrányuk a Suzuki reakcióval szemben az, hogy a kiindulási vegyület meghatározza a 6-fenil gyűrű szubsztituensét, valamint hogy a C-C és a C-N kötések kialakításának sorrendje szintén meghatározott.

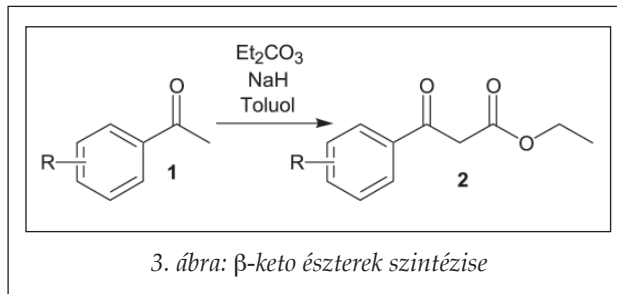
A leglényegesebb különbség a mi módszerünk és a Suzuki reakció között az, hogy a pirimidin gyűrűt a szintézis során alakítjuk ki. A kidolgozott módszereink azonos kiindulási vegyületeket igényelnek: szubsztituált 3-fenil-3-oxo-propionsav észtereket (2). Kereskedelmi forgalomban nagy számú β -keto észter (2) kapható, illetve könnyen előállíthatóak acetofenonokból (1) Claisen típusú kondenzációs reakcióval (3. ábra) [8]. A kereskedelemben elérhető acetofenonok és β -keto észterek száma lényegesen nagyobb, az árak elfogadhatóbb, mint a boronsavaké.

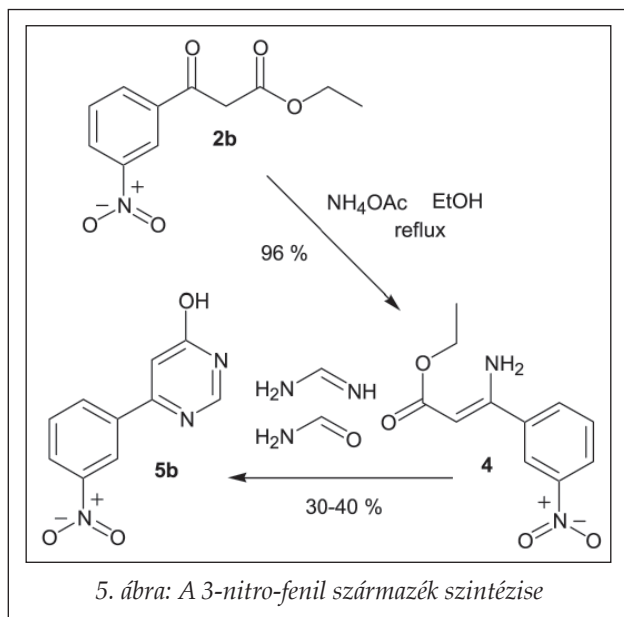
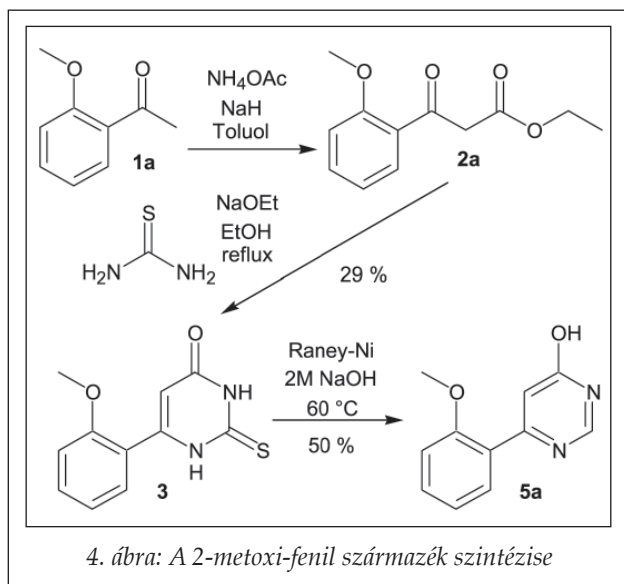
Az egyik kifejlesztett eljárás rögtön a gyűrűzárással kezdődik (2. ábra). A β -keto észtereket (2) tiokarbamidokkal reagáltattuk etanolban forralva négy-öt napig, nátrium-etilát jelenlétében [9]. Ez a kondenzáció mikrohullámú reaktorban 6 óra alatt lejárásodik. Sajnos a mikrohullámú reakció termelése általában elmaradt a konvencionális módon végzett reakciók hozamától, ugyanakkor a reak-



cióidő egy nagyságrenddel rövidebb. A következő lépésben a tioxo csoportot el kellett távolítani. Úgy találtuk, hogy erre a legmegfelelőbb eljárás a Raney-Nikkellel történő redukció 2M-os vizes nátrium-hidroxid oldatban.

A másik módszer első lépése az, hogy a β -keto csoportot amináljuk ammónium-acetáttal, etanolban (2. ábra) [10]. E reakcióban a tiszta aminoakrilát (4) keletkezik, kvantitatív termeléssel. A gyűrűzárást formamidin-acetáttal formamidinben végeztük, magas hőmérsékleten [11]. Ez a reakció, hasonlóan az előző gyűrűzárási módszerhez, elvégezhető mikrohullámú reaktorban is. Ebben az esetben a kitermelés mind a hagyományos, olaj-

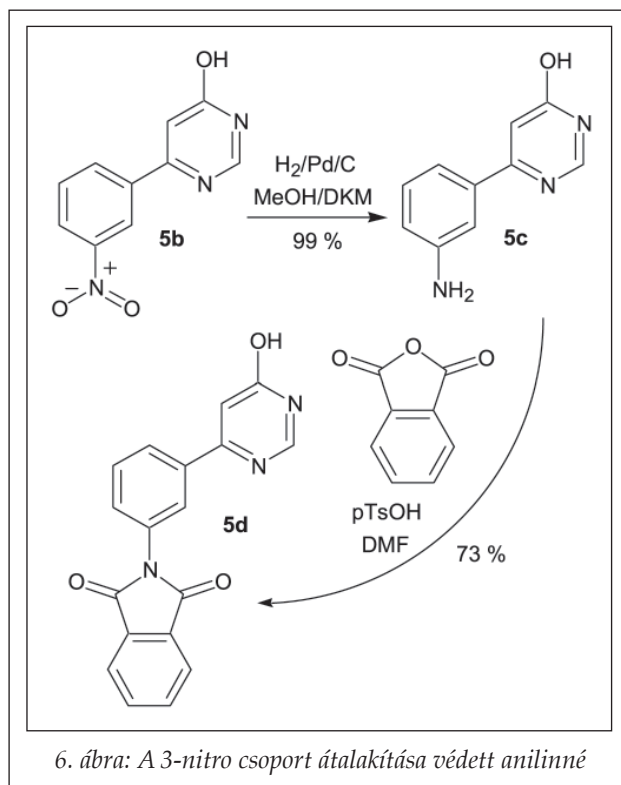




fürdős, mind a mikrohullámú módszerrel azonos tartományba estek (30–40%), ugyanakkor a reakcióidő a mikrohullám alkalmazásakor kicsit rövidebb volt.

Mindkét gyűrűzárási módszerrel a 6-fenilpirimidin-4-ol-t (5) állítottuk elő, a β -keto észterre (2) nézve közel egyforma termeléssel (30–40%). A $^1\text{H-NMR}$ vizsgálatok alapján a vegyület enol formáját preparáltuk, ahogyan a 2. ábrán látható. Ezután a hidroxil csoportot imidoil kloriddá alakítottuk tionil- vagy foszfor-oxikloriddal (7. ábra). A keletkező klórpirimidin (6) a fent említett kulcs intermedier, amely akár savas, akár bázikus körülmények közt kapcsolható különböző anilinnel [7].

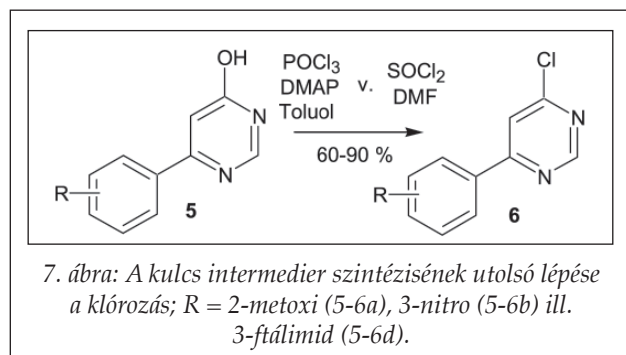
Kísérleteink során úgy találtuk, hogy a két gyűrűzárási módszer alkalmazhatósága nagyban függ



a fenil gyűrű szubsztituensétől (R-csoport; 2. ábra). Ha az R-csoport 2-metoxi csoport volt, akkor a tiokarbamidval végzett kondenzáció volt hatékonyabb. A 3-nitro funkció esetén, a formamidinnel történő gyűrűzárás volt megfelelőbb.

A 2-metoxi-fenil származék szintéziséhez (4. ábra) a 3-(2-metoxi-fenil)-3-oxo-propionsav etilészter (2a) nem volt kereskedelmi forgalomban elérhető, ezért magunk állítottuk elő 2-metoxi-acetofenonból (1a). A (2a) β -keto-észtert nem izoláltuk, hanem egy egyszerű vizes mosás után etanolban kondenzáltuk a tiokarbamidval nátrium-etilát jelenlétében. A reakcióelegyet négy nap forralás után feldolgoztuk. A kondenzációt mikrohullámú reaktorban, 150 °C-on végezve, mindössze négy óra szükséges a gyűrűzáráshoz. E két lépés együttes kitermelése kb. 30% volt. A tioxo csoportot Raney-Nikkel katalizátorral végzett redukciónal távolítottuk el a molekuláról. A reakció 6-7 órát vesz igénybe, mialatt a katalizátort kis adagokban adjuk a reakcióelegyhez mindaddig, amíg a kiindulási vegyület el nem tűnik. Ekkor az elegyet szűrtük, majd a szűrletből savanyítás hatására kivált a várt pirimidinol (5a), melyet szűrés után 50%-os termeléssel izoláltunk.

A 3-nitro-fenil származék szintézise esetén (5. ábra) a kiindulási vegyület a 3-(3-nitro-fenil)-3-oxo-propionsav etilészter (2b) volt. A β -keto funkciót ammónium-acetáttal amináltuk etanolban. A



(4) E és Z izomer keveréket reagáltattuk formamidin acetáttal formamidban 180 °C-on. Ez a gyűrűzárás olajfürdőben néhány órát vesz igénybe, míg mikrohullámú reaktorban egy óra alatt lejátszódik, szintén 180 °C-on. A nyers termékből átkristályosítás után kaptuk a kívánt (5b) pirimidinolt.

Ha az anilinnel kapcsolt molekula 6-fenil gyűrűjén 3-amino csoportot szeretnénk a 3-nitro helyett kialakítani, akkor célszerű ezt az átalakítást, illetve az anilin védését pirimidinol fokon elvégezni. Katalitikus hidrogénezést alkalmaztunk a nitro funkció redukálásához. Tapasztalataink szerint az amin csoport védelmére jelen esetben a ftalil védőcsoport a legalkalmasabb (6. ábra), miután az összes további kémiai módosításnak ellenáll, illetve eltávolítása is problémamentes hidrazinolízissel.

Az utolsó lépés a klór-pirimidin (6) kulcs intermedier előállításához a klórozás (7. ábra). Ez a reakció az R csoport minőségétől függetlenül, több klórozó ágenssel is kiválóan működik. A gyakorlatban két módszert alkalmaztunk rutinszerűen: számított mennyiségű foszfor-oxikloriddal és N,N-dimetil-4-aminopiridinnel, illetve nagy feleslegű tionil-kloriddal. Ez utóbbi esetben katalitikus mennyiségű N,N-dimetilformamid alkalmazása gyorsítja a reakciót, de alkalmazása nem esszenciális. Mindkét módszer jó termeléssel adja a kívánt klór-pirimidint (6).

Összefoglalás

A (6) klór-pirimidinek kapcsolhatók bármilyen anilinnel, így egyszerűen eljutunk a bevezetőben említett, biológiailag aktív vegyületek közös alapvázához, a 4-fenilamino-6-fenil pirimidinhez. A klór-pirimidinek természetesen szubsztituálhatók más alifás- vagy cikloalkil primer aminokkal, heterociklusos primer aminokkal, valamint szekunder aminokkal is. Ezek a szubsztitúciós reakciók elvégezhetőek mind bázikus, mind savas körülmények között [7].

Összefoglalva a fentieket elmondhatjuk, hogy kidolgoztunk két független eljárást a 4-klór-6-(szubsztituált-fenil)-pirimidinek előállítására. A két módszert bemutattuk két kiemelt példán keresztül, melyek azonban más β -keto észterekkel (2) is elvégezhetőek. Egyik eljárás sem igényel speciális reagenst vagy különleges körülményeket. Megmutattuk, hogy mindkét gyűrűzárási lépés rövidebb idő alatt elvégezhető mikrohullámú reaktorban, mint hagyományos módszerrel. Bár külön nem vizsgáltuk a reakciók méretnövelhetőségét feltételezzük, hogy egyszerűségükből fakadóan kevesebb problémát rejtenek, mint egy Suzuki-reakció méretnövelése.

Kísérleti rész

Általános megjegyzések

Az összes reagenst és oldószert a Sigma-Aldrich Kft.-től vásároltuk és további tisztítás és kezelés nélkül használtuk fel. Az olvadáspontokat egy BUCHI B-540 készüléken határoztuk meg. Az adatok nem korrigáltak. A retenciós faktorok Silica gel 60 F254 TLC vékonyréteg lapon kerültek meghatározásra (Merck). Az NMR spektrumokat BRUKER AC 300 (^1H frekvencia 300,13 MHz) spektrométeren vettük fel. A kémiai eltolódásokat parts per million-ban (δ) adtuk meg a TMS-hez ($\delta = 0,00$ ppm) viszonyítva. A pirimidin gyűrű ^1H eltolódásait minden esetben arab számokkal, a fenil gyűrű protonjainak eltolódásait pedig vesszővel megkülönböztetett arab számokkal jelöltük. A számozás megegyezik a nevezéktan szerinti számozással. Az electrospray ionizációs tömeg spektrumok egy Waters 2795 HPLC és Waters 996 fotodiódasoros detektorral kapcsolt Micromass ZMD 2000 LC-MS rendszeren készültek, amelyet a vegyületek tisztaságának meghatározására is használtunk. A retenciós idők egy Supelco Discovery C18,5 cm x 4,6 mm, 5 μm oszlopra vonatkoznak. Az eluens víz / 005% HCOOH, illetve MeCN / 0,05 % HCOOH volt gradiensben. Az alkalmazott térfogatáram 2 ml / perc volt. Minden minta esetében a beadagolt mennyiség 3 μg volt. Az elemi analízis egy Elementar - Vario EL III CHNS készüléken készült. Mikrohullámú reaktorok: a 0,2-20 ml tartományban egy Personal Chemistry, EmrysTM Creator reaktort, míg a 30-1000 ml tartományban egy Milestone Inc., Ethos MicroSYNTH Labstation reaktort alkalmaztunk. A sorszámozott vegyületek elnevezése a IUPAC szabályai szerint történt, ACD9 szoftver segítségével.

6-(2-Metoxifenil)-2-tioxo-2,3-dihidropirimidin-4(1H)-on (3)

A nátrium-hidridet (60% ásványolajban; 15,60 g, 390,0 mmol) apránként bemértük száraz toluolba (300 ml), majd reflux hőmérsékletre fűtöttük az elegyet és belecsepegtettük a dietil-karbonátot (43,6 ml, 360,0 mmol) 30 perc alatt. 20 perc reflux után egy óra alatt belecsepegtettük a száraz toluolban (90 ml) oldott 1-(2-metoxi-fenil)-etanon-t **1** (41,3 ml, 300,0 mmol) a továbbra is refluxáló reakcióelegybe. További egy óra reflux után lehűtöttük szobahőmérsékletre. Óvatosan vizet adtunk hozzá (100 ml), majd 5 M-os vizes sósav oldattal semlegesítettük az elegyet. A két fázist elválasztottuk, és a vizes frakciót toluollal extraháltuk (2 × 150 ml). Az egyesített szerves fázisokat MgSO₄-on szárítottuk és a bepárlás után kapott sárga folyadékot azonnal tovább alakítottuk. A nyers (**2a**)-t feloldottuk 96%-os EtOH-ban (450 ml) és hozzáadtuk a tiokarbamidot (48,94 g, 644,0 mmol) és a nátrium-etilátot (38,08 g, 560,0 mmol). A reakcióelegyet négy napig refluxáltattuk, vagy mikrohullámú reaktorban 4 órán keresztül 150 °C-on kevertettük zárt edényben. A reakció végeztével az elegyet bepároltuk. A bepárlási maradékot szuszpendáltuk vízben (100 ml) majd pH = 3-ig savanyítottunk 5 M-os vizes sósav oldattal. A kivált csapadékot szűrtük, dietiléterrel mostuk. A terméket vákuum exikkátorban szárítottuk P₂O₅ felett. 20,25 g fehér port preparáltunk, ami 29%-os kitermelésnek felel meg az 1-(2-metoxi-fenil)-etanonra (**1**) számítva.

Op 209 °C (bomlik) (dietiléter).

R_f = 0,76 (CHCl₃ : MeOH = 10 : 1).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆, 25 °C): δ = 12.35 (széles s, 1 H, NH), 12.2 (széles s, 1 H, NH), 7.45-7.55 (m, 1 H, 4'-H), 7.37 (d, ³J_{H,H} = 7.2 Hz, 1 H, 6'-H), 7.13 (d, ³J_{H,H} = 8.4 Hz, 1 H, 3'-H), 7.00-7.05 (m, 1 H, 5'-H), 5.84 (s, 1 H, 5-H), 3.82 (s, 3 H, CH₃) ppm.

LC-MS: R_t = 3,11 perc;

(ES): m/z (%) = 335 (100) [M + H]⁺; 333 (100) [M - H].

Elemanalízis: Számított: C₁₁H₁₀N₂O₂S (234.28): C, 56.40; H, 4.30; N 11.96; S, 13.69. Talált: C, 56.32; H, 4.14; N, 11.99; S, 13.60.

6-(2-Metoxifenil)pirimidin-4-ol (5a)

A tioxo-pirimidont (**3**) (20,25 g, 86,4 mmol) felol-

dottuk 2 M-os NaOH vizes oldatban (220 ml) és hozzáadtuk a Raney-nikkelt (vizes szuszpenzió, kb. 10 ml). A reakcióelegyet 60 °C-on kevertettük. Azonos mennyiségű Raney-nikkelt adtunk még hozzá egymás után 4-5 alkalommal, minden adációt egy óra kevertetés követett. Amikor a tioxo vegyület (**3**) eltűnt (VRK-n követve, CHCl₃ : MeOH = 10 : 1) a katalizátort kiszűrtük, majd 2 M vizes NaOH oldattal (20 ml) és vízzel (20 ml) mostuk. A szűrletet tömény sósavval savanyítottuk (pH = 2). A kiváló csapadékot kiszűrtük, ami a kívánt vegyület 8,67 g (50 %) fehér por formájában.

Op 190–191 °C (víz).

R_f = 0,9 (CHCl₃ : MeOH = 10 : 1).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ = 12.3 (széles s, 1 H, OH), 8.23 (s, 1 H, 2-H), 7.9 (d, ³J_{H,H} = 7.6 Hz, 1 H, 6'-H), 7.40-7.47 (m, 1 H, 4'-H), 7.15 (d, ³J_{H,H} = 8.3 Hz, 1 H, 3'-H), 7.01-7.09 (m, 1 H, 5'-H), 6.88 (s, 1 H, 5-H), 3.87 (s, 3 H, CH₃) ppm.

LC-MS: R_t = 0,6 és 2,31 perc;

(ESI): m/z (%) = 203 (100) [M + H]⁺; 201 (100) [M - H].

Elemanalízis: Számított: C₁₁H₁₀N₂O₂ (202.21): C, 65.34; H, 4.98; N 13.85. Talált: C, 65.41; H, 5.04; N, 13.97.

3-Amino-3-(3-nitro-fenil)-akrilsav etilészter (4)

Etil-3-(3-nitrofenil)-3-oxopropanoátot (**2**) (25,00 g, 106,0 mmol) és ammónium-acetátot (24,40 g, 317,0 mmol) feloldottunk 96 %-os EtOH-ban (250 ml). A reakcióelegyet három órán keresztül refluxáltattuk, majd szárazra pároltuk. A nyers terméket EtOAc (200 ml) és telített, vizes Na₂CO₃ (30 ml) oldat elegyében felvettük. A szerves fázist még kétszer mostuk tel. Na₂CO₃ (2 × 30 ml) oldattal, majd az egyesített vizes fázisokat extraháltuk EtOAc-tal (30 ml). Az egyesített szerves fázisokat MgSO₄-on szárítottuk, végül szárazra pároltuk. 23,86 g (96%) sárga port kaptunk. A terméket további tisztítás nélkül használtuk fel.

Op 74–75 °C (EtOAc), Irodalom.: Op 68–69 °C (CH₂Cl₂, hexán) [12].

R_f = négy folt, a fő folt 0,63 (Toluol : MeOH = 8 : 2).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ = 8.38 (s, 1 H, 2'-H), 8.32 (dd, ³J_{H,H} = 8.9 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.6 Hz, 1 H, 4'-H), 8.06 (d, ³J_{H,H} = 7.8 Hz, 1 H, 6'-H), 7.71-7.78 (m, 1 H, 5'-

H), 7.74 (széles s, 2 H, NH₂, D₂O-val lecserél), 4.88 (s, 1 H, CH), 4.08 (q, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, 2 H, O-CH₂), 1.21 (t, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, 3 H, CH₃), ppm.

LC-MS: R_t = 3,93 perc;

(ES): m/z (%) = 191 (100), 237 (80) [M + H]⁺.

Elemanalízis: Számított: C₁₁H₁₀N₂O₄ (236.23): C, 55.93; H, 5.12; N 11.86. Talált: C, 56.02; H, 5.14; N, 11.99.

6-(3-Nitrofenil)pirimidin-4-ol (5b)

Az akrilátot (4) (10,00 g, 42,4 mmol) és formamidin-acetátot (8,81 g, 84,8 mmol) szuszpendáltuk formamidban (100 ml). Ezt a szuszpenziót 180 °C-on kevertettük két órán keresztül, majd még egy molekvalens formamidin-acetátot (4,41 g, 42,4 mmol) adtunk hozzá. Ismét két órán keresztül kevertettük. Ezt a periodikus folyamatot addig ismételtük, amíg az akrilát (4) el nem fogyott. Ez a reakció, általában, mindösszesen öt molekvalens formamidin acetátot igényel. Mikrohullámú reaktorban végezve a reakciót, az előzőekkel megegyező módon jártunk el. A különbség annyi, hogy a két addíció között 10 perc a reakcióidő. Amikor az addíció teljes, akkor a reakcióelegyet jég (70 g) és 5 M vizes NaOH oldat (30 ml) elegyére öntöttük, majd az oldatot aktív szénnel derítettük. Szűrés után az oldatot pH = 3-4-ig savanyítottuk tömény sósavval. A terméket EtOAc és THF 2:1 arányú keverékével (5 × 200 ml) extraháltuk. Az egyesített szerves fázisokat MgSO₄-on szárítottuk, majd bepároltuk. A nyers terméket acetonitrilből átkristályosítottuk. 3,00–4,00 g (30–40%) sárga por.

Op 74–75 °C (MeCN).

R_f = 0,4 (Toluol : MeOH = 8 : 2).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ = 12.6 (széles s, 1 H, OH), 8.84 (s, 1 H, 2'-H), 8.48 (d, ³J_{H,H} = 7.9 Hz, 1 H, 4'-H), 8.35 (s, 1 H, 2-H), 8.32 (dd, ³J_{H,H} = 8.3 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.7 Hz, 1H, 6'-H), 7.74-7.81 (m, 1 H, 5'-H), 7.1 (s, 1 H, 5-H) ppm.

LC-MS: R_t = 2,62 perc;

(ES): m/z (%) = 218 (100) [M + H]⁺; 216 (100) [M - H].

Elemanalízis: Számított: C₁₀H₇N₃O₃ (217.19): C, 55.30; H, 3.25; N 19.53. Talált: C, 55.20; H, 3.14; N, 19.49.

6-(3-Aminofenil)pirimidin-4-ol (5c)

Az (5b)-t (3,66 g, 16,9 mmol) feloldottuk MeOH és CH₂Cl₂ 1:1 elegyében (200 ml), majd hozzáadtunk

10 m % Pd/C (0,37 g) katalizátort. Az elegyet légköri nyomáson, szobahőmérsékleten hidrogénez-tük. Miután a számított mennyiségű H₂ elfogyott, a katalizátort leszűrtük és MeOH-lal mostuk. A szűrletet bepárolva kaptuk a kívánt terméket barna por formájában (3,16 g; 99%).

Op 198 °C; átkristályosodik: 278 °C (MeOH).

R_f = 0,25 (Toluol : MeOH = 8 : 2), 0,5 (Toluol : MeOH = 5 : 2).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ = 8.22 (s, 1 H, 2-H), 7.26 (s, 1 H, 2'-H), 7.05-7.17 (m, 2 H, 4'-H és 5'-H), 6.65-6.68 (m, 2 H, 2-H és 6'-H), 5.2 (széles s, 2 H, NH₂) ppm.

LC-MS: R_t = 1,11 perc;

(ES): m/z (%) = 188 (100) [M + H]⁺.

Elemanalízis: Számított: C₁₀H₉N₃O (187.20): C, 64.16; H, 4.85; N 22.45. Talált: C, 64.12; H, 4.94; N, 22.49.

2-[3-(6-Hidroxipirimidin-4-il)fenil]-1H-izoindol-1,3(2H)-dion (5d)

Az (5c)-t (1,20 g, 6,4 mmol), ftálsavanhidridet (1,00 g, 6,7 mmol) és vízmentes paratoluol-szulfonsavat (0,01 g, 0,06 mmol) feloldottunk száraz DMF-ben (80 ml). A reakcióelegyet 24 órán keresztül kevertettük 150 °C-os olajfürdőben. A reakcióelegyet ezután bepároltuk, majd 5% vizes NaHCO₃ oldatban (50 ml) szuszpendáltuk. Hozzáadtunk 1 ml EtOAc-ot és 20 percig kevertettük 0 °C-on. Végül a csapadékot szűrtük, dietiléterrel mostuk és vákuum exikkátorban szárítottuk P₂O₅ felett. A száraz termék 1,49 g (73%) sárga por.

Op 246–251 °C; átkristályosodik: 275-283 °C (dietiléter).

R_f = 0,6 (Toluol : MeOH = 5 : 2).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ = 12.58 (széles s, 1 H, OH), 8.29 (s, 1 H, 2-H), 8.17 (s, 1 H, 2'-H), 8.11 (d, ³J_{H,H} = 7.4 Hz, 1 H, 6'-H), 7.8-8.05 (m, 4 H, izoindol-aromás), 7.55-7.71 (m, 2 H, 4'-H, 5'-H), 6.91 (s, 1 H, 5-H), ppm.

LC-MS: R_t = 2,92 perc;

(ES): m/z (%) = 318 (100) [M + H]⁺; 316 (100) [M - H].

Elemanalízis: Számított: C₁₈H₁₁N₃O₃ (317.31): C, 68.14; H, 3.49; N 13.24. Talált: C, 68.22; H, 3.41; N, 13.29.

Általános receptek a klórozási reakciókhoz (6)

Az itt leírt mennyiségek a 100 mmol-os nagyságrendig érvényesek.

1. módszer:

Az **5a**, **5b** vagy **5d** vegyület (1,0 mmol) és egy csepp száraz DMF-et SOCl_2 -ban (3 ml, kb. 40 mmol) refluxáltattunk két órán keresztül. Jégre (20 g) öntöttük és szilárd Na_2CO_3 -tal lúgosítottuk (pH = 8). A terméket EtOAc-tal (3 × 20 ml) extraháltuk. Az egyesített szerves fázisokat telített sós vízzel (20 ml) mostuk és MgSO_4 -on szárítottuk. Az oldószer bepárlása után a tiszta terméket kaptuk. A kitermeléseket és a termékek jellemzését lásd a vegyületeknél.

2. módszer:

Az **5a**, **5b** vagy **5d** vegyületet (1,0 mmol) és N,N-dimetilpiridin-4-amint (0,12 g, 1,0 mmol) feloldotunk száraz toluolban (15 ml). Hozzáadtunk POCl_3 -t (0,28 ml, 3,0 mmol) és 1,5 órát refluxáltattuk. A reakcióelegyet jégre (10 g) öntöttük, majd a vizes fázist EtOAc-tal (2 × 10 ml) extraháltuk. Az egyesített szerves fázisokat MgSO_4 -on szárítottuk, végül szárazra pároltuk a terméket. A kitermeléseket és a termékek jellemzését lásd a vegyületeknél.

4-Klór-6-(2-metoxifenil)pirimidin (6a)

1. módszer, halványsárga por, kitermelés = 0,14 g (61%).

Op 94–95 °C (EtOAc).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 9.1 (s, 1 H, 2-H), 8.12 (s, 1 H, 5-H), 7.99 (d, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.7 Hz, 1 H, 6'-H), 7.52-7.58 (m, 1 H, 4'-H), 7.23 (d, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.4 Hz, 1 H, 3'-H), 7.10-7.16 (m, 1 H, 5'-H), 3.92 (s, 3 H, CH₃) ppm; jó egyezés az irodalmi adatokkal [7].

LC-MS: R_t = 3,82 perc;

(ES): m/z (%) = 221 (100) [M + H]⁺.

Elemanalízis: Számított: $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{ClN}_2\text{O}$ (220.66): C, 59.88; H, 4.11; Cl, 16.07; N 12.70. Talált: C, 59.72; H, 4.14; Cl, 16.11; N, 12.99.

4-Klór-6-(3-nitrofenil)pirimidin (6b)

2. módszer, sárga por, termelés = 0,22 g (92%).

Op 147 °C (EtOAc).

R_t = 0,8 (Toluol : MeOH = 8 : 2).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 9.18 (d, $^5J_{\text{H,H}}$ = 0.9 Hz, 1 H, 2-H), 9.01-9.04 (m, 1 H, 2'-H), 8.69 (d, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.9 Hz, 1 H, 6'-H), 8.55 (d, $^5J_{\text{H,H}}$ = 0.9 Hz, 1 H, 5-H), 8.43 (dd, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.2 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 2.0 Hz, 1 H, 4'-H), 7.87 (m, 1 H, 5'-H) ppm.

LC-MS: R_t = 4,18 perc;

(ES): m/z (%) = 236 (100) [M + H]⁺.

Elemanalízis: Számított: $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{ClN}_3\text{O}_2$ (235.63): C, 50.97; H, 2.57; Cl, 15.05; N 17.83. Talált: C, 51.02; H, 2.60; Cl, 15.11; N, 17.99.

2-[3-(6-Klórpirimidin-4-il)fenil]ciklopenta[c]pirrol-1,3(2H,3aH)-dion (6d)

2. módszer, acetonitrilből átkristályosítva, halványsárga por, termelés = 0,30 g (90%).

Op 250–252 °C (MeCN).

R_t = 0,85 (Toluol-MeOH, 8:2).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 9.1 (s, 1 H, 2-H), 8.36 (s, 1 H, 2'-H), 8.29 (d, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.9 Hz, 1 H, 4'-H), 8.23 (s, 1 H, 5-H), 7.9-8.03 (m, 4 H, izoindol-aromás), 7.71-7.77 (m, 1 H, 5'-H), 7.72 (d, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.2 Hz, 1 H, 6'-H) ppm.

LC-MS: R_t = 4,01 perc;

(ES): m/z (%) = 336 (100) [M + H]⁺.

Elemanalízis: Számított: $\text{C}_{18}\text{H}_{10}\text{ClN}_3\text{O}_2$ (335.75): C, 64.39; H, 3.00; Cl, 10.56; N 12.52. Talált: C, 64.52; H, 3.11; Cl, 10.63; N, 12.61.

Köszönetnyilvánítás

Munkánkat az LSHP-CT-2005-018923 (NM4TB) és az LSHC-CT-2006-037217 (TBDRUG) FP6 európai pályázatok, illetve a GVOP-3.1.1.-2004-05-0368/3.0 és az NKFP1/010/2005 magyar pályázatok támogatásával végeztük. Köszönjük Peltz Csabának (EGIS Nyrt.) az elemanalízisben nyújtott segítségét. További köszönet illeti Pató Jánost, hasznos tanácsaiért.

IRODALOM

- Norman, M. H., Zhu, J., Fotsch, C., Bo, Y., Chen, N., Chakrabarti, P., Doherty, E.M., Gavva, N.R., Nishimura, N., Nixey, T., Ognyanov, V.I., Rzasas, R.M., Stec, M., Surapaneni, S., Tamir, R., Viswanadhan, V.N., Treanor, J.J.S.: *J. Med. Chem.* 50, 3497-3514 (2007).
- Gardiner, E.M., Duron, S.G., Massari, M.E., Severance, D.L., Semple, J.E.: *PCT Int. Appl. WO 2007008541*, 2007,

- Chem. Abstr. 146, 156236 (2007).
3. Wright, S. W., Ammirati, M. J., Andrews, K. M., Brodeur, A. M., Danley, D. E., Doran, S. D., Lillquist, J. S., Liu, S., McClure, L. D., McPherson R. K., Olson, T. V., Orena, S. J., Parker, J. C., Roche, B. N., Soeller W. C., Soglia, C. B., Treadway, J. L., VanVolkenburg, M.A., Zhao, Z., Cox, E.D.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17, 5638-5642 (2007).
 4. Bornmann, W., Maxwell, D., Peng, Z., Guo, L.: *PCT Int. Appl. WO2008030795*, 2008, *Chem. Abstr.* 148, 355823 (2008).
 5. a) Choidas, A., Backes, A., Cotten, M., Engkvist, O., Felber, B., Freisleben, A., Gold, K., Greff, Z., Habenberger, P., Hafenbradl, D., Hartung, C., Herget, T., Hoppe, E., Klebl, B., Missio, A., Müller, G., Schwab, W., Zech, B., Bravo, J., Harris, J., Le, J., Macritchie, J.: *PCT Int. Appl. WO 2005026129*, 2005; *Chem. Abstr.* 142, 336376 (2005); b) Wabnitz, P., Schanerte, H., Stumm, G., Freitag, J.: *PCT Int. Appl. WO 2006/125616*, 2006; *Chem. Abstr.* 146, 781 (2007).
 6. Birault, V., Woodland, C.A.: *PCT Int. Appl. WO2005103036*, 2005, *Chem. Abstr.* 143,10834. (2005).
 7. Hartung, C.G., Backes, A.C., Felber, B., Missio, A., Philipp, A.: *Tetrahedron* 62, 10055-10064 (2006).
 8. Chen, K., Kuo, S.-C., Hsieh, M.-C., Mauger, A., Lin, C.M., Hamel, E., Lee, K.-H.: *J. Med. Chem.* 40, 2266-2275 (1997).
 9. a) Brown, T.H., Blakemore, R.C., Durant, G.J., Emmett, J.C., Ganellin, C.R., Parsons, M.E., Rawlings, D.A., Walker, T.F.: *Eur. J. Med. Chem.* 23, 53-62 (1988); b) Skulnick, H.I. Ludens, J.H., Wendling, M.G., Glenn, E.M., Rohloff, N.A., Smith, R.J., Wierenga, W.: *J. Med. Chem.* 29, 1499-1504 (1986).
 10. Sano, T., Horiguchi, Y., Toda, J., Imafuku, K., Tsuda, Y.: *Chem. Pharm. Bull.* 32, 497-503 (1984).
 11. Órfi, L., Wączek, F., Pató, J., Varga, I., Hegymegi-Barakonyi, B., Houghten, R.A., Kéri, G.: *Curr. Med. Chem.* 11, 2549-2553 (2004).
 12. Bae, S.-H., Kim, K., Park Y.J.: *Heterocycles* 53, 159-172 (2000).

[Érkezett: 2010. szeptember 26.]

Helyesbítés

Az *Acta Pharmaceutica Hungarica* ezévi 1. számában

- Marosi Attila, Szalay Zsófia és Demeter Ádám: Szilárdfázisú NMR spektroszkópia és gyógyszerészeti alkalmazása c. közlemény kötettségmozása helyesen: 80. A 22. oldalon a bal oldali hasáb első sorában egyenletre hivatkozás száma helyesen 4.
- Inotai András, Rojkovich Bernadette és Mészáros Ágnes: Orális nem-szteroid gyulladásgátló gyógyszerek felhasználásának vizsgálata a Budai Irgalmasrendi Kórház II. Reumatológia Osztályának rheumatoid arthritises betegek között c. közlemény kötettségmozása helyesen: 80.

Nifedipin miometrium relaxáló hatásának vizsgálata terbutalin és K⁺-csatorna gátlók jelenlétében *in vitro*

HAJAGOS-TÓTH JUDIT¹, KORMÁNYOS ZSOLT², FALKAY GYÖRGY¹, PÁL ATTILA², GÁSPÁR RÓBERT^{1*}

¹Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet, Szeged, Eötvös utca 6. – 6720

²Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Szeged, Semmelweis utca 1. – 6725

Levelezési cím: gaspar@pharm.u-szeged.hu

Summary

Hajagos-Tóth, J., Kormányos, Zs., Falkay, G., Pál, A., Gáspár, R.: *Investigation of uterus-relaxing effects of nifedipine in the presence of terbutaline and K⁺-channel blockers*

Tocolysis is one of the greatest challenges in obstetrical practice. It is known that the calcium channel antagonists abolish the intracellular calcium ion transients and myometrial contraction. However there is a growing interest in experimental studies to use different tocolytic combination.

The aims of the study were to investigate the effects of nifedipine on potassium chloride (KCl)-evoked rat uterine contractions on the last day of pregnancy (22) *in vitro*, and the alterations in the effects of nifedipine on combination with BK_{Ca}-channel blockers paxillin and tetraethyl ammonium chloride in late pregnancy *in vitro*. An other aim was to investigate the modification of the effect of nifedipine by terbutaline on the contraction of isolated rat and human myometrium. For human myometrial rings rhythmic contractions were evoked with oxytocin in an isolated organ bath.

KCl-stimulated uterine contractions were inhibited concentration-dependently by nifedipine. In the presence of the potassium channel blockers, the action of nifedipine was not modified. Synergism was observed in the uterus-relaxing effect of nifedipine and terbutaline, though the extent of potentiation depended on the sequence of the administration of the two compounds. When terbutaline was added first in a single dose, the maximal inhibitory effect of nifedipine was lower. This decrease in the inhibition was suspended by a Ca²⁺-poor buffer, indicating the role of Ca²⁺ channel activating effect of terbutaline. However, in the isolated organ bath studies the BK_{Ca} channel had no effect on the uterus relaxing effect of nifedipine in spite of literature [1].

Conclusion: It is concluded that the combination of nifedipine and β₂-agonists should be considered for clinical use. However, the administration of terbutaline can not precede the administration of nifedipine.

Keywords: nifedipine, pregnancy, β₂-mimetics, BK_{Ca} channel blockers

Összefoglalás

A szülészeti legnagyobb kihívásai közé tartozik a koraszülés gátlása. Ismert, hogy a kalcium-csatorna gátló szerek csökkentik a simaizmok kontraktilitását. Ugyanakkor a tokolitikus terápiában egyre inkább előtérbe kerülnek a gyógyszeres kombinációk.

Jelen vizsgálataink célja a miometrium kontrakciók befolyásolhatóságának vizsgálata volt nifedipin jelenlétében a terhesség utolsó napján (22) *in vitro*, a nifedipin miometrium kontrakciókra gyakorolt hatásának vizsgálata BK_{Ca} csatornablokkolók jelenlétében, valamint *in vitro* terbutalin hozzáadásával vizsgáltuk a nifedipin méhkontrakciókra kifejtett gátló hatásának befolyásolhatóságát izolált szervi rendszerben patkány és császármetszésből származó humán uteruson terminusban. A vizsgálatok során az uterus gyűrűk kontrakcióit KCl-dal és oxytocinnal fokoztuk

Izolált szervezen a nifedipin dóziszfüggően gátolta a 25 mM KCl-dal kiváltott méhkontrakciókat. A BK_{Ca}-csatorna gátló paxillin és tetraetil ammónium nem befolyásolta a nifedipin uterus kontrakciókra gyakorolt hatását. Ugyanakkor a nifedipin együttes alkalmazása terbutalinnal kifejezett szinergizmust mutatott, habár a potenciáló hatás mértéke a két hatóanyag adagolásának sorrendjétől függött. Az állandó terbutalin dózis mellett adott nifedipin maximális gátló hatása csökkent, melyet az alacsony kalciumion tartalmú puffer helyreállított.

Eredményeink tükrében elmondhatjuk, hogy a nifedipin uterus relaxáló hatását a β-agonistákkal való kombinációja nagymértékben felerősíti, melynek terápiás jelentősége lehet.

A terbutalin adása azonban nem előzheti meg a nifedipint, mert aktiválja a kalcium-csatornákat. Ugyanakkor az általunk mért izolált szervi rendszerben a BK_{Ca} csatornák nem befolyásolták a nifedipin uterus relaxáló hatását ellentétben az irodalmi adatokkal [1].

Kulcsszavak: nifedipin, terhesség, β₂-mimetikumok, BK_{Ca} csatornablokkolók

Bevezetés

A szülészet legnagyobb kihívásai közé tartozik a koraszülés gátlása. A statisztikák szerint a fejlett országokban a koraszülések száma továbbra is számottevő. A koraszülés oka nagyrészt ismeretlen, 30%-a idő előtti burokrepedés, 15-20%-a pedig gyógyszer mellékhatás következménye.

Számos vegyület rendelkezik korai fájástevenységet gátló, ún. tokolitikus hatással. A legtöbb klinikai tapasztalat a tokolitikus terápiában a β_2 -agonistákkal áll rendelkezésünkre. Ezeket a vegyületeket széles körben alkalmazzák, habár jól ismertek az alkalmazhatóságukat korlátozó mellékhatásaik. Mivel az alkalmazott gyógyszeres terápia ellenére az epidemiológiai paraméterek nem javulnak, ezért az eddignél hatásosabb gyógyszerek kifejlesztése mindenképpen szükséges, ami a reprodukciós farmakológiai kutatások egyik fontos területét képezi [2, 3, 4, 5].

A simaizom működésében kulcsfontosságú szerepük van a Ca^{2+} -ionoknak, mivel a kontrakciók során a simaizom-sejtek az extracelluláris Ca^{2+} -ionokat használják. Az L-típusú csatorna felelős a kontrakciós folyamatok beindításáért, a spontán depolarizációért és a simaizom működéséért. A Ca^{2+} -antagonisták az L-típusú Ca^{2+} -csatornán keresztül szelektíven gátolják a Ca^{2+} -ionok sejtekbe való beáramlását. Mindazok a gyógyszerek, amelyek a szabad Ca^{2+} -ion szintet csökkentik, megakadályozzák az aktin- és miozin-filamentumok interakcióját és megszüntetik a méhizom kontrakcióját. Ezzel a mechanizmussal a Ca^{2+} -csatorna gátlók alkalmazhatóak a koraszülés terápiájában [6, 7]. A Ca^{2+} -antagonisták közül a legtöbb klinikai tapasztalat a nifedipinnel áll rendelkezésre, azonban ennek hatékonysága sem teljesen kielégítő, vérnyomáscsökkentő hatása révén a magzatban keringési elégtelenséget okozhat [8]. Ugyanakkor, ha a nifedipint sikeresen tudnánk kombinálni más szerekekkel, melyek erősítik a kívánt hatást és csökkentik mellékhatását, akkor annak komoly terápiás jelentősége lehet. A β_2 -receptor agonisták Ca^{2+} -csatorna gátlókra gyakorolt hatását már korábban is vizsgálták izolált tracheán [9, 10]. A kísérletek azt mutatták, hogy mind az isradipin, mind a nifedipin fokozta a terbutalin és szalmeterol simaizom relaxáló hatását [11].

A sejt membránpotenciáljának szabályozásában az L-típusú Ca^{2+} -csatornákon kívül a K^+ -csatornák is fontos szerepet játszanak. A nagy konduktanciájú Ca^{2+} -aktiválta K^+ -csatornák (BK_{Ca} csatorna) nyitási valószínűsége nő az intracelluláris Ca^{2+} -szint

emelkedésével, ami a sejtmembrán hiperpolarizációjához vezet. A BK_{Ca} csatornák egy csatornaképző alegységből állnak és meghatározói a simaizom sejt kontrakció regulációjának [12, 13]. A BK_{Ca} csatorna antagonistá iberiotoxin és tetraetil ammónium (TEA) nifedipinre gyakorolt hatását már korábban is vizsgálták izolált humán myometriumon [1]. A kísérletek azt mutatták, hogy a BK_{Ca} csatorna blokkolók antagonizálták a nifedipin uterus relaxáló hatását.

Kísérleteink során célul tűztük ki a miometrium kontrakciók befolyásolhatóságának vizsgálatát nifedipin jelenlétében a terhesség utolsó napján (22) patkányban *in vitro*. A BK_{Ca} csatorna gátlók nifedipinre gyakorolt hatását szelektív (paxillin) és nem szelektív (TEA) blokkolókkal vizsgáltuk. Valamint *in vitro* terbutalin hozzáadásával vizsgáltuk a nifedipin méhkontrakciókra kifejtett gátló hatásának befolyásolhatóságát izolált szervi rendszerben patkány és császármetszésből származó humán miometriumon.

Anyagok és módszerek

Az állatkísérleteket a Szegedi Tudományegyetem Munkahelyi Állatetikai Bizottságának és a Csongrád Megyei Mezőgazdasági, Szakigazgatási Hivatal Élelmiszerlánc Biztonsági és Állategészségügyi Igazgatóság engedélyével végeztük (engedélyszám: IV./01758-21/10082).

Állatkísérletek

Az állatok pároztatása

Ivarérett nőstény (180-200 g) és hím (240-260 g) Sprague-Dawley patkányokat pároztattunk. A pároztatás kezdetétől számított 4-5 órán belül a nőstény állatoktól hüvelykenetet vettünk és mikroszkóp alatt hímvarsejteket kerestünk. Amennyiben a keresés pozitív eredménnyel zárult, akkor az állatot elkülönítettük, mint az 1. napos vemhes nőstényt.

Uterus preparálása, nifedipin hatásának vizsgálata patkány miometrium kontrakciókra

Kísérleteink során 22 napos terhes patkány uterusokat használtunk. Az állatok leölése után az uterusból 5mm hosszúságú gyűrűket metszettünk. A preparátumokat karbogénnel átáramoltattott de Jongh oldatot tartalmazó, 37 °C-os szervfűrdőbe helyeztük (de Jongh oldat összetétele mM-ban: 137 NaCl, 3 KCl, 1 CaCl_2 , 1 MgCl_2 , 12 NaHCO_3 , 4 NaH_2PO_4 , 6 glükóz, pH: 7,4). A humán

terhes méh kontrakcióihoz hasonlóan ritmikus összehúzódásokat váltottunk ki 25 mM KCl-dal, majd mindegyik kísérletben nifedipin (10^{-11} - 10^{-6} M) jelenlétében nem-kumulatív dózis-hatás görbéket vettünk fel. A nifedipin (Sigma-Aldrich, Budapest, Hungary) gátló hatását a KCl által kiváltott ritmikus kontrakciókhoz viszonyítottuk és a kontrakciós görbék alatti területet értékeltük a kontroll AUC-hez viszonyítva. A görbék regisztrálását, az adatok rögzítését és feldolgozását ISOSYS DataAcquisition System (Experimenta Kft., Magyarország) segítségével végeztük. Az eredmények statisztikai elemzését a Prism 4.0 (GraphPad Software, USA) segítségével ANOVA Newman-Keuls teszttel végeztük.

BK_{Ca} csatorna blokkolók vizsgálata patkány miometrium kontrakciókra

Kísérleteink során 22 napos terhes állatokat használtunk. Az uterus gyűrűket a fent leírt módon izolált szervfürdőbe helyeztük, és 10^{-6} M oxytocinnal ritmikus kontrakciókat váltottunk ki. Mindegyik kísérletben paxillin (Sigma-Aldrich, Budapest, Hungary) ($5 \mu\text{M}$) vagy TEA (Sigma-Aldrich, Budapest, Hungary) (10^{-3} M) jelenlétében kumulatív módon nifedipin (10^{-11} – 10^{-6} M) dózis-hatás görbéket vettünk fel. A nifedipin gátló hatását az oxytocin által kiváltott ritmikus kontrakciókhoz viszonyítottuk és a kontrakciós görbék alatti területet értékeltük a kontroll AUC-hez viszonyítva. A görbék regisztrálását, az adatok rögzítését és feldolgozását ISOSYS DataAcquisition System (Experimenta Kft., Magyarország) segítségével végeztük. Az eredmények statisztikai elemzését a Prism 4.0 (GraphPad Software, USA) segítségével ANOVA Newman-Keuls teszttel végeztük.

Nifedipin és terbutalin hatásának vizsgálata patkány miometrium kontrakciókra

Kísérleteink során 22 napos terhes állatokat használtunk. Az uterus gyűrűket a fent leírt módon izolált szervfürdőbe helyeztük, és 25 mM KCl-dal ritmikus összehúzódásokat váltottunk ki. Mindegyik kísérletben nifedipin (10^{-11} - 10^{-6} M) és terbutalin (Sigma-Aldrich, Budapest, Hungary) (10^{-7} M) vagy terbutalin (10^{-10} – 10^{-4} M) és nifedipin (10^{-7} M) jelenlétében nem-kumulatív dózis-hatás görbéket vettünk fel. A nifedipin-terbutalin kombináció hatását alacsony kalcium tartalmú pufferben is megvizsgáltuk. $0,5$ mM kalcium tartalmú de Jongh puffert használtunk az alacsony kalcium tartalmú környezet kiváltására. Az inkubálás után a normál kalcium tartalmú de Jongh puffert lecse-

réljük az alacsony kalcium tartalmú de Jongh pufferre. A kombináció hatására a görbe alatti terület (AUC) változásából következtettünk a kontroll AUC-hez viszonyítva. Az eredmények statisztikai elemzését párosítatlan t-tesztel végeztük.

Humán szövetminták

A humán minták olyan páciensektől származtak (14), akik különböző okokból, – pl. magzati növekedés elmaradása, korábbi császármetszés, farfekvés, vagy várható fej-medence aránytalanság – császármetszéssel estek át, és beleegyeztek az eltávolított szövet tudományos célú felhasználásába. A kísérleteket a Szegedi Tudományegyetem (SZTE) Általános Orvostudományi Kar (ÁOK) Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ Bizottságának engedélyével végeztük (engedélyszám: 114/2009).

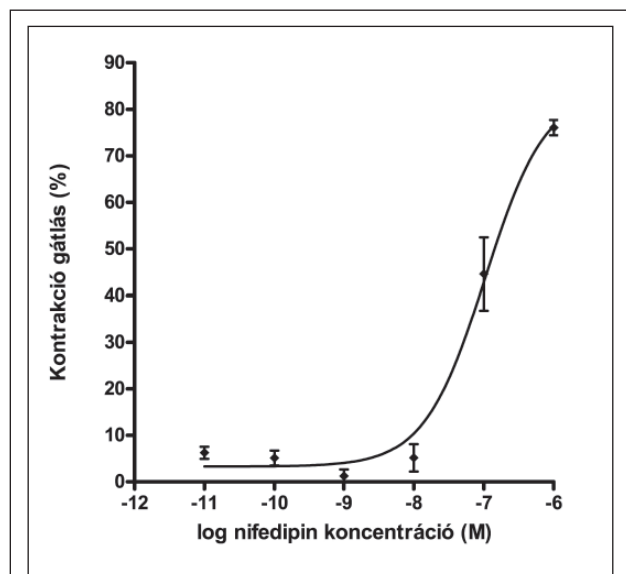
A császármetszés a terhesség utolsó trimeszterében, a 34-40. gesztációs héten történt az SZTE ÁOK Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján. A nők átlagéletkora 26 és 37 év között volt, a szülések száma 0-3 közé tehető. A várandós anyák nem részesültek tokolitikus terápiában. A szövetmintákat császármetszést követően azonnal Krebs-Henseleit (oldat összetétele mM-ban: 118 NaCl, 5 KCl, 2 CaCl₂, 0,5 MgSO₄, 1 K₂H₂PO₄, 25 NaHCO₃, 10 glükóz; pH 7,4). pufferbe helyezték, a szállítást 4°C-on történt. A minták feldolgozása a császármetszéstől számított 12 órán belül történt az SZTE Gyógyszerésztudományi Kar Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetben. A preparátumokat karbonszén-dioxid gázzal átáramoltatott Krebs-Henseleit oldatot tartalmazó, 37 °C-os szervfürdőbe helyeztük. 2 órás inkubálás után 10^{-6} M oxytocinnal kontrakciókat váltottunk ki, és mindegyik kísérletben nifedipin (10^{-11} - 10^{-5} M) és terbutalin (10^{-7} M) vagy terbutalin (10^{-11} - 10^{-5} M) és nifedipin (10^{-7} M) jelenlétében nem-kumulatív dózis-hatás görbéket vettünk fel. A nifedipin és terbutalin hatására a görbe alatti terület (AUC) változásából következtettünk a kontroll AUC-hez viszonyítva. Az eredmények statisztikai elemzését párosítatlan t-tesztel végeztük.

Eredmények

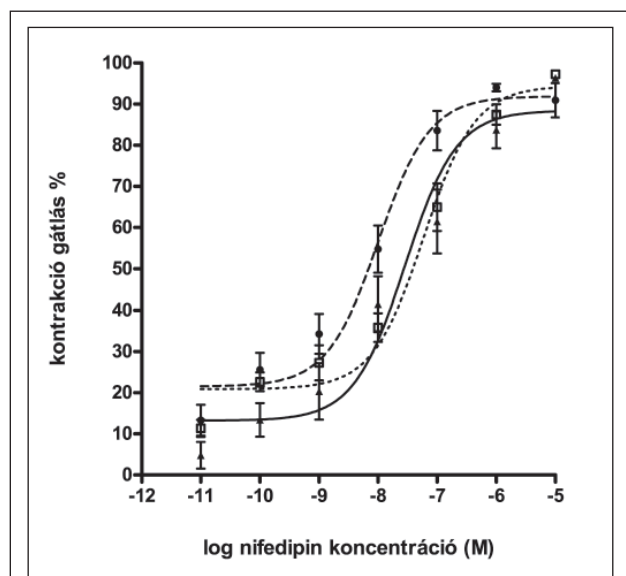
A patkánykísérletek eredményei

Izolált szerven a nifedipin (10^{-11} - 10^{-6} M) dózistól függetlenül gátolta a 25 mM KCl-dal kiváltott méh kontrakciókat (1. ábra).

A BK_{Ca}-csatorna gátló paxillin és TEA nem befo-



1. ábra: A nifedipin 25 mM KCl stimulálta patkány uterus kontrakciókra gyakorolt hatása a terhesség utolsó napján (22) *in vitro*



2. ábra: A nifedipin-TEA és nifedipin-paxillin kombináció hatása az oxytocin stimulálta patkány uterus kontrakciókra a terhesség 22. napján *in vitro* (□: TEA (10^{-3} M); ●: paxillin ($5\mu\text{M}$); ▲: nifedipin (10^{-11} – 10^{-5} M))

lyásolta a nifedipin maximális gátló hatását és nem módosította az EC_{50} értékeket sem, habár a nifedipin dózis hatás görbéje paxillin jelenlétében nem szignifikánsan balra tolódott (2. ábra).

Az állandó koncentrációban adott terbutalin (10^{-7} M) a nifedipin dózis-hatás görbéjét balra tolta ($p < 0,05$), ugyanakkor csökkentette a nifedipin maximális gátló hatását. A felére csökkentett, $0,5\text{ mM}$ Ca^{2+} -tartalmú pufferben azonban a terbutalin nem befolyásolta a nifedipin maximális gátló hatását (3. ábra).

Az állandó koncentrációban adott nifedipin (10^{-7} M) szintén balra tolta a terbutalin dózis-hatás görbéjét, ugyanakkor ez a balratolódás nagyobb mértékű volt ($p < 0,01$), mint a nifedipin dózis-hatás görbéje esetében. Emellett a nifedipin fokozta a terbutalin maximális gátló hatását (4. ábra). Az alacsony Ca^{2+} -ion tartalmú pufferben a nifedipin csökkentette a terbutalin EC_{50} értékét, de nem befolyásolta a terbutalin maximális gátló hatását (4. ábra).

A humán miometriumon végzett kísérletek eredményei

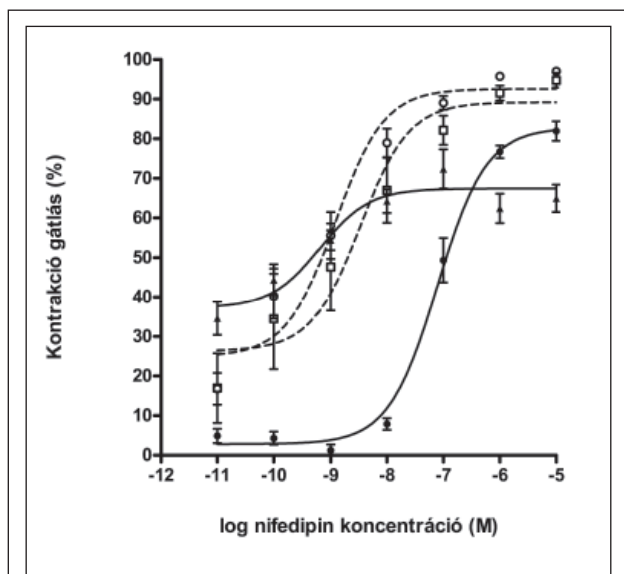
A nifedipin (10^{-5} – 10^{-11} M) és terbutalin (10^{-5} – 10^{-11} M) koncentrációfüggően gátolta a 10^{-6} M oxytocin által kiváltott humán miometrium kontrakciókat. Az állandó koncentrációban adott terbutalin (10^{-7} M) nem befolyásolta a nifedipin maximális gátló hatását, de az EC_{50} értékét $1,8 \times 10^{-8}$ M-ról $1,5 \times 10^{-6}$ M-ra ($p < 0,05$) csökkentette. Az állandó koncentrációban adott nifedipin (10^{-7} M) fokozta a terbutalin maximális gátló hatását, az E_{max} érték $60,8\%$ -ról $76,8\%$ -ra növekedett ($p < 0,01$), de nem befolyásolta a terbutalin EC_{50} -értékét (5.a,b ábra).

Az eredmények értékelése, következtetések

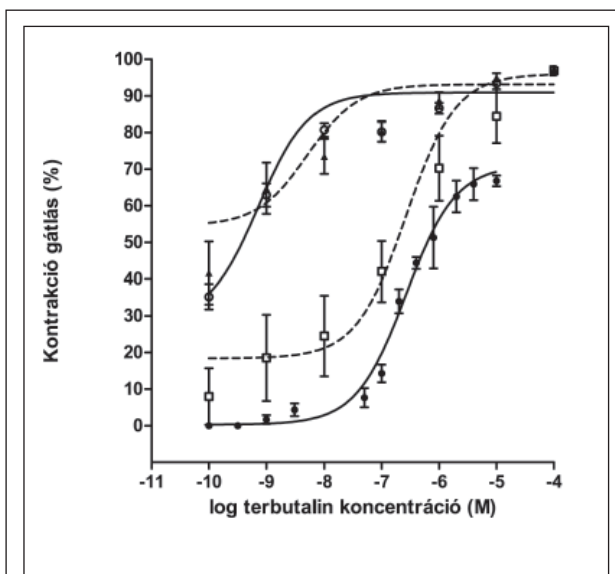
A terhesség során végbemenő folyamatok eredményeként az uterus struktúrája drámai változáson megy keresztül. A terhesség végén a fájástevékenység beindulásáig a miometrium kontraktilitása enyhén fokozódik, majd szüléskor ugrásszerűen megnő. Patkányban a vemhesség 22 napos, így terminusban, vagyis a vemhesség utolsó napján végeztük a kísérleteket. A humán terhes méhkontrakciókhoz hasonlóan ritmikus összehúzódnásokat váltottunk ki. Így kísérleti összeállításunkban *in vitro* körülmények között modelleztük a szülés során fellépő kontrakciókat.

A BK_{Ca} -csatorna gátló paxillin és TEA hatásának vizsgálatára az uterus kontrakciókat oxytocinnal váltottuk ki, ugyanis ebben az esetben a KCl nem alkalmas a kontrakciók kiváltására. Az eredmények azt mutatják, hogy ellentétben a humán miometriummal [13], sem a BK_{Ca} -csatorna, sem más K^{+} -csatornák nem befolyásolják a nifedipin uterus kontrakciókra gyakorolt hatását.

A nifedipin együttes alkalmazása terbutalinnal izolált szervi rendszeren ugyanakkor kifejezett szinergizmust mutatott, habár a potenciáló hatás mértéke a két hatóanyag adagolásának sorrendjétől függött. Az állandó terbutalin dózis mellett



3. ábra: A nifedipin–terbutalin kombináció hatása a 25 mM KCl stimulálta patkány uterus kontrakciókra a terhesség 22. napján *in vitro* 1 mM és 0,5 mM Ca^{2+} -koncentráció esetén \square nifedipin 0,5 mM Ca^{2+} -koncentráció esetén; \circ nifedipin és terbutalin (10^{-7} M) 0,5 mM Ca^{2+} -koncentráció esetén; \bullet nifedipin 1 mM Ca^{2+} -koncentráció esetén \blacktriangle nifedipin és terbutalin (10^{-7} M) 1 mM Ca^{2+} -koncentráció esetén

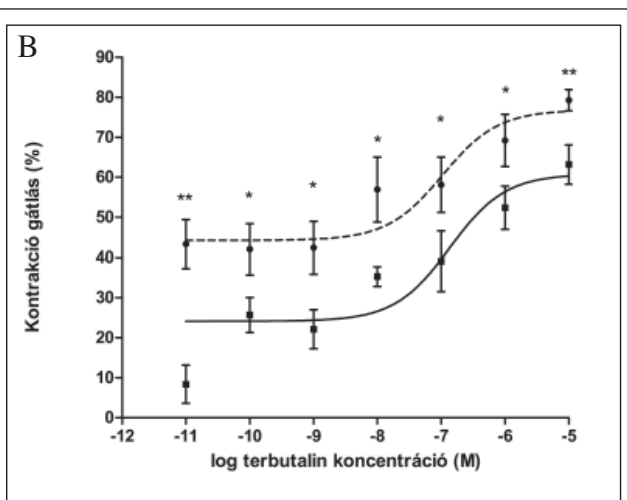
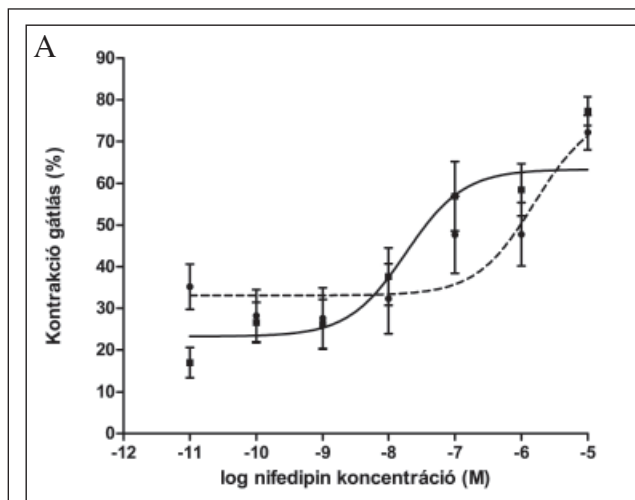


4. ábra: A nifedipin–terbutalin kombináció hatása a 25 mM KCl stimulálta patkány uterus kontrakciókra a terhesség 22. napján *in vitro* 1 mM és 0,5 mM Ca^{2+} -koncentráció esetén \square terbutalin 0,5 mM Ca^{2+} -koncentráció esetén; \circ terbutalin és nifedipin (10^{-7} M) 0,5 mM Ca^{2+} -koncentráció esetén; \bullet terbutalin 1 mM Ca^{2+} -koncentráció esetén \blacktriangle terbutalin és nifedipin (10^{-7} M) 1 mM Ca^{2+} -koncentráció esetén.

adott nifedipin maximális gátló hatása csökkent. A terbutalin adása azonban nem előzheti meg a nifedipint, mert aktiválja a Ca^{2+} -csatornákat. Ismert, hogy a β_2 -adrenerg receptorok izgatása aktiválja a G-proteineket, mely az intracelluláris cAMP szint emelkedéséhez vezet. A cAMP aktiválja a protein kináz A-t, ezáltal nyitja az L-típusú kalcium-csatornákat. A kalcium ionok belépése a sejtbe a feszültségfüggő kalcium-csatornán keresztül kontrakcióhoz vezet. Ez a mechanizmus a szívizomban jól ismert, és valószínűleg hasonlóan

zajlik a terhes miometriumban is [14]. A terbutalin aktiválhatja az L-típusú Ca^{2+} -csatornákat mely a nifedipin maximális hatásának csökkenéséhez vezethet. Azonban ha a kis dózisu nifedipin adása megelőzi a terbutalint, a terbutalin már kisebb valószínűséggel aktiválja a csatornát a nifedipin okozta gátlás miatt.

A mechanizmus bizonyítására a kombináció hatását Ca^{2+} -szegény környezetben is megvizsgáltuk. A csökkent Ca^{2+} szint csökkenti a terbutalin kiváltotta Ca^{2+} -áramot, és ez befolyásolhatja a



5. ábra: A nifedipin–terbutalin kombináció hatása az oxytocinnal kiváltott human miometrium kontrakciókra *in vitro*

szinergizmus mértékét. A kis dózisú nifedipin adása fokozta a terbutalin hatását csökkent Ca^{2+} jelenlétében is, még a kis dózisú terbutalin már nem növelte tovább a nifedipin gátló hatását. Ezen eredmények alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy csökkent Ca^{2+} -ion jelenlétében a terbutalin nem fokozta a nifedipin maximális gátló hatását, mely bizonyítja a Ca^{2+} -áram szerepét a terbutalin hatás kialakulásakor.

A nifedipin-terbutalin kombináció hatását humán miometriumból nyert szöveten is megvizsgáltuk. Az állatkísérletekhez hasonlóan mind a nifedipin, mind a terbutalin dózisfüggően gátolta az oxytocinnal kiváltott miometrium kontrakciókat. Az állandó koncentrációban adott terbutalin rontotta a nifedipin EC_{50} -értékét (a nifedipin dózis-hatás görbe jobbra tolódott), habár a nifedipin maximális gátló hatását nem befolyásolta. Ellenkező esetben, amikor a nifedipin adása megelőzte a terbutalin adását, fokozta a terbutalin maximális gátló hatását, de az EC_{50} értékekben nem volt változás. Mindezen eredmények alapján elmondhatjuk, hogy a patkány miometriumban lezajló változások hasonlóan mennek végbe a humán miometriumban is.

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy sem a BK_{Ca} -csatorna, sem más K^{+} -csatornák nem befolyásolják a nifedipin uterus kontrakciókra gyakorolt hatását. A nifedipin és a β_2 -agonisták kombinációja terápiás jelentőségű lehet, a terbutalin adása azonban nem előzheti meg a nifedipint, mert aktiválja a Ca^{2+} -csatornákat. A kombináció humán

kipróbálását elősegítheti az a tény, hogy mind a nifedipin, mind a terbutalin farmakodinámiás, farmakokinetikai és toxikológiai paraméterei ismertek, tehát kombinációjuk terápiás kockázata igen alacsony.

IRODALOM

1. Moynihan A. T., Smith T. J., Morrison J. J.: *Am J Obstet Gynecol* 198, 237.e1-237.e8 (2008).
2. Iams, J. D., Romero R., Culhane J. E., Goldenberg R. L.: *Lancet* 371, 164-175 (2008).
3. Haram, K., Mortensen, J.H., Wollen, A.L.: *Acta Obstet gynecol Scand* 82, 687-704 (2003).
4. Papp Z.: *A szülészet nőgyógyászat tankönyve*. Semmelweis Kiadó, Budapest, 1999. 413. old.
5. Althabe, F., Carrroli, G., Lede, R., Belizan, J.M., Althabe, O.H.: *Rev Panam Salud Publica* 5, 373-385 (1999).
6. Wray, S., Jones, K., Kupittayanant, S., Li, Y., Matthew, A., Monir-Bisthty, E., Noble, K., Pierce, S. J., Quenby, S., Shmygol, A.V.: *J Soc Gynecol Investig* 10, 252-264 (2003).
7. Mironneau, J.: Ion Channels and Excitation-Contraction Coupling in Myometrium. In: Garfield, R.E. (ed.): *Uterine Contractility*. Sero Symposia, Norwell, Massachusetts. 1990. pp. 9-19.
8. Oei, S.G.: *Eur J Obstet Gynaecol* 126, 137-145 (2006).
9. Triggle DJ.: Calcium antagonists: basic chemical and pharmacological aspects. In: Weiss, G.B. (ed.): *New perspectives on calcium antagonists*. In: American Physiological Society, Bethesda, 1978. pp. 1-18.
10. Lever, A.M.L., Corris, P.A., Gibson, G.J.: *Thorax* 39, 576-578 (1984).
11. Thirstrup, S., Nielsen-Kudsk, F., Dahl, F.: *Eur J Pharmacol* 326, 191-200 (1997).
12. Wu, S. N.: *Curr Med Chem* 10, 649-661 (2003).
13. Aaronson, P.I., Sarwar, U., Gin, S., Rockenbauch, U., Connolly, M., Tillet, A., Watson, S., Liu, B., Tribe, R. M.: *Br J Pharmacol* 147, 815-824 (2006).
14. Kamp, T.J., Hell, J.W.: *Circ Res* 87, 1095-1102 (2000).

[Érkezett: 2010. szeptember 4.]

Az acetilkolinészteráz molekula formái I. rész: A Globular G₁ monomer forma egyedüli jelenlétének kutatása patkány kisagyban

LEHOTAI LAJOS

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Központi Kutató Laboratórium
6725 Szeged, Semmelweis utca 6.

Levelezési cím: Dr. Lehotai L., 6725 Szeged, Faragó u. 23.

Summary

Lehotai, L.: *The Forms of Acetylcholinesterase Molecule. Part I: The Research of Sole Presence of Globular G₁ Monomer in Rat Cerebellum*

The sole presence - without the rest of molecule forms - of G₁ monomer form was sought in the homogenate of rat cerebellum with vertical slab technique with the help of polyacrylamid gel electrophoresis. As a result we got the monomer form in the case of 7 day rat, without the presence of the rest of the forms. In case of older and adult rats the rest of the forms have already evolved, so the dimer and tetramer forms are also present.

Keywords: acetylcholinesterase, cerebellum, monomer, dimer, tetramer forms.

Összefoglalás

Patkány kisagy (cerebellum) homogenátjaiban kerestük az acetilkolinészteráz monomer G₁ formájának – a többi molekulaforma nélküli – egyedüli jelenlétét verticalis laptechnikával (slab technikával), poliakrilamid gél elektroforézis segítségével. Eredményül a 7-napos patkánynál megkaptuk a monomer formát egyedül, a többi forma jelenléte nélkül. Idősebb patkányoknál, ill. felnőtt patkánynál már kialakulnak a többi alakok is, és ennek folytán ott már jelen van a dimer és tetramer forma is.

Kulcsszavak: acetilkolinészteráz, patkány kisagy (cerebellum), monomer, dimer, tetramer forma.

Bevezetés

Poliakrilamid gél elektroforézis segítségével, vertikális laptechnikával vizsgálva, kerestük az acetilkolinészteráz EC.3.1.1.7. AChE monomer formájának egyedüli jelenlétét, abban az állapotban, amikor a többi alak nincs jelen. Vizsgálatainkat patkány kisagy (cerebellum) homogenátjaira alkalmaztuk, 7-napos patkánynál és felnőtt patkánynál.

A kapott sávok számát illetően az AChE molekula formáinál a Globular forma alapján a G₁, G₂, G₄ alakokat és ezek sávjait tekintettük irányadónak. Azonban a sávok száma és azok jelölése tekintetében az eddigi vizsgálati eredmények nem egységesek. Leginkább elterjedt a Globular-széria és ezek jelöléseinek a G₁, G₂, G₄ használata [12]. Azonban ezeken túlmenően szerepeltetik még az Aszimmetrikus formákat: A₄, A₈, A₁₂, valamint a G₄ amfifil Globular tetramer formát. Magát a G₄ alakot is az Aszimmetrikus-sorozat alap-építő elemének, subunitnak, A₄-nek is szerepeltetik.

Azonban ezeken túlmenően használják még az L₁, L₂, M, H₁, H₂ alakokat [31, 4], és megadják, hogy az L₁, L₂, M alakoknak a G₁, G₂, G₄ Globular formák felelnek meg. Ezenkívül azt is megadják, hogy a H₁, H₂ alakoknak az Aszimmetrikus A₈, A₁₂ formák fogadhatók el. Ezekről igen eltérően van, aki [38] két izoenzimot ad meg, ill. más [9] patkány retina extractumából öt sávot kapott.

Kísérleti rész

Készülékek

Elektroforézis készülék: Saját tervezésű készüléket használtunk és ezáltal elértük, hogy a készülék az előírt hőfokra termosztálható legyen.

A használható denzitométerek: Chromoscan Joyce, Loeb and Co., Ltd., Great Britain és Kipp and Zonen densitometer DD 2 Hollandia.

Inhibitorok: A felsorolásban szereplő inhibitorokat alkalmaztuk a preinkubáló-oldatban, inkubáló-oldatban, illetve a minta lecentrifugált szupernatánsában a megadott koncentráció szerint: Diizopropilfluorfoszfát (DFP) 10⁻⁸ (Sigma), BW 284 C 51 dibromide (MR 63), 10⁻⁴ M, (Anti-cholin esterase), Wellcome, London (England), Ethopropazinhydrochloride, 10⁻⁴ M.

Szervek feldolgozása

A minták elkészítéséhez a felhasználásra kerülő CFY-patkányokat csoportokba rendeztük: 17-20 darab 7 napos patkányt az első csoportba és néhány felnőtt patkányt a második csoportba. A csoportok patkányaiból egyenként kivettük a kisagyakat (cerebellum) és ezeket a csoportok szerint

össze gyűjtöttük, majd így együtt csoportosan dolgoztuk fel.

A szerveket az állatokból – elvéreztetés és fiziológiás konyhasó-oldattal történő perfusió után – gyorsan kiszedtük, fiziológiás konyhasó-oldattal mostuk és mérés után azonnal homogenizáltuk Elvehjem-Potter típusú üveg készüléssel. A homogenizáló oldat: 0,2 M Tris-sósav, pH = 8,3 és 0,5 % (v/v) Triton X – 100 elegye volt. Magának a homogenátnak nedves szövetre vonatkozó koncentrációja 50 mg/ml – 100 mg/ml között volt. A hígítást óvatosan addig végeztük, amíg az elektroforetikus sávok már nem lesznek duzzadtak, ill. jól kiélesednek. Ebben segítséget nyújthat a homogenátnak az aktivitásra vonatkozó analízise. A homogenát aktivitásának növelése céljából ultrahangos szolubilizálást végeztünk 5 percig, a készülék MSE ultrasonic Med.4. állásában. Végül a homogenátot centrifugáltuk 100.000 g-vel 120 másodpercig.

Gélek elkészítése

Poliakrilamid géltre vonatkozóan kidolgoztunk a koncentráció változtatásával egy vertikális laptechnikát [23], melynél figyelembe vettük a következő munkákat: [8, 33, 2, 31, 21]. A gél lapokat Cyanogum 31-ből (Serva) állítottuk elő, 8,9 pH-jú tris-sósav pufferrel, dimetilaminopropionitril (Serva) és ammonium-perszulfát (Serva) katalizátorokkal. A gél lapok elkészítése üveglapok között, szobahőmérsékleten történt, vastagságuk 3 mm volt. Felül 5%-os gyűjtőgél, alatta 5%-os előelválasztógél és alul 7%-os elválasztógél használtunk.

A Triton X-100 (Serva) koncentráció a gyűjtőgélben és az előelválasztó gélben 0,082% (v/v), míg az alsó elválasztó gélben 0,276% (v/v) volt, amellyel sikerült elérni, hogy a különböző alakoknak megfelelő sávok a szeparációs gélben jól denzitometrálnak és megfelelő élességgel különüljenek el, annak dacára, hogy mintagél nem alkalmaztunk.

Minták felvitele

A minták felvitele előtt elvégeztük a homogenát protein meghatározását [27], illetve az aktivitás meghatározását [11]. A mintákat a kapott adatok alapján számított mennyiségben vittük fel a 3x6 mm-es ablakfelületre, ill. ha szükséges volt, a homogenátot az adatok alapján hígítottuk. A homogenát hígítása megvalósítható még tapaszta-

lati úton, mindaddig, míg többszöri hígítás után a lefuttatott minták sávjai a kívánt élességet elérik.

Elektroforézis

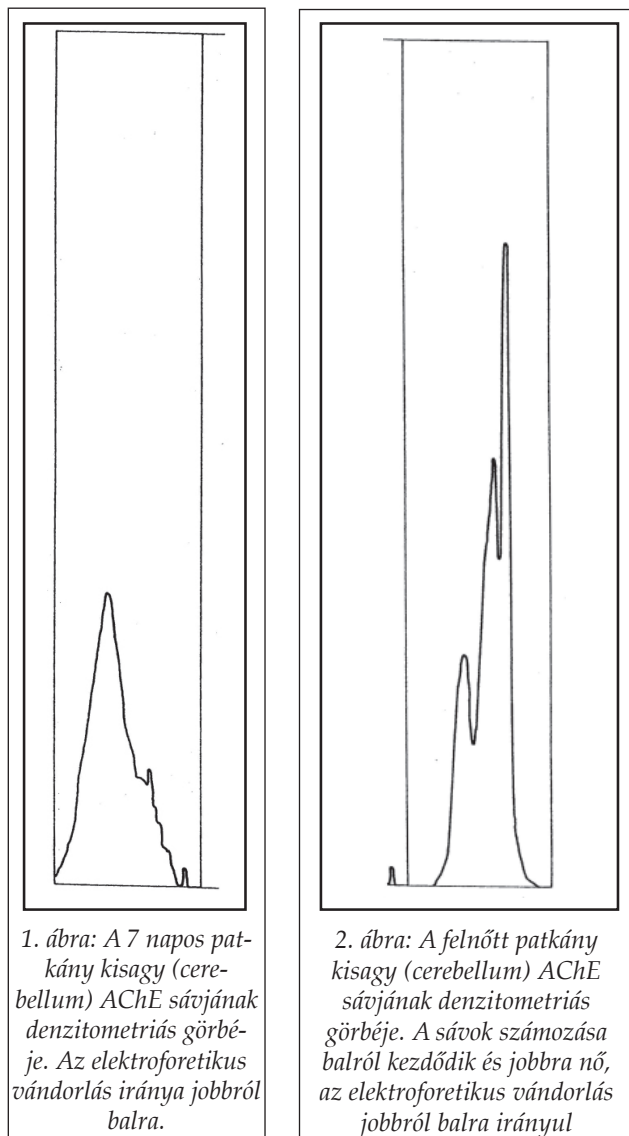
Az elektroforézist Juul [17] módszerének továbbfejlesztésével valósítottuk meg. Ennek alapja a Koelle és Friedenwald [20] módszere volt. Ezen kívül felhasználtuk még saját gél laptechnikánk kialakítására Lim, Davis és Agranoff [26] módszerét, mely Koelle [19] histokémiai eljárására épült. A használt katódpuffer 0,2 M/l glicin (Serva) oldat, melynek pH-ját tris-sel 8,3-re állítottuk be. Anódpuffer: katódpuffer megfelelően hígított oldat. Jelzőfesték: brómfenolkék.

Eredmények

A koncentráció változtatásával kialakított gél elektroforézis laptechnika (slab techn.) segítségével vizsgáltuk patkány kisagy Triton X-100-as extractum homogenátjaiban az AChE formáit 7 napos és felnőtt patkánynál. Eredményül kaptuk, hogy a 7 napos patkánynál a G_1 , G_2 és G_4 alaknak megfelelő 3 sávból csak a keresett G_1 sávnak megfelelő monomer alak van jelen (melynek mobilitása a legnagyobb), a másik két alak: a dimer G_2 és a G_4 alaknak, a tetramernek megfelelő sáv hiányzik. A G_2 és G_4 alaknak megfelelő sávok hiányát jól mutatják a denzitometriás görbék. Összehasonlításként megadjuk a felnőtt patkány denzitometriás görbéjét, ahol (2. ábra) jelen van mindhárom alaknak megfelelő három sáv.

Ezzel szemben a 7 napos patkánynál a kisagyban (1. ábra) csak egy sáv – a monomer alaknak megfelelő G_1 sáv – található. A másik két alaknak, a G_2 és G_4 -nek a sávja hiányzik, ezzel jelezve, hogy ezek az alakok a 7 napos patkány kisagyában nincsenek jelen.

A monomer alak sávját ez ideig csak a többi alak sávjaival együtt sikerült megkapni, egyetlen sávként nem. Ennek az egyedi sávnak kísérleti feltételeit kerestük, olyan patkányt, amelynél csak az egy sáv található és csak ennek a sávnak megfelelő alak van jelen. Ennek a sávnak megtalálása és a vegyület azonosítása lehetőséget jelentett arra, hogy a többi alak származására információt kapjunk, vagyis kísérletileg igazolhatóvá váljon azon feltételezés, hogy a többi alak a monomer alakból származik. Ez azt is jelenti, hogy a monomer alak nemcsak elméletileg tekinthető alap-építőelemnek „subunit”-nak, hanem származás tekintetében is. Ez azt is jelentené, hogy a többi alak a monomer alakból származik.



A denzitometriás görbék alapján az eddigiekben csak három sávra: G_1 , G_2 és G_4 sávokra voltunk tekintettel. Azonban a koncentráció változtatásával kifinomított szeparációs technikánk [23] segítségével azt kaptuk, hogy mindhárom sáv kettős. Ezek a kettős sávok jól láthatóak, azonban a denzitometriás görbék sávjai összeolvadnak, ennek folytán szétválasztásukra a szeparáció további finomítása szükséges.

Megbeszélés

A poliakrilamid gél elektroforézis segítségével vizsgált és denzitometriás görbék alapján kapott három sáv, az AChE három jól észlelhető alakjára enged következtetni, illetőleg végül is ezt látszik igazolni. A három alak közül a legnagyobb mobilitású monomer alak általunk kimutatott egyedüli jelenléte lehetőséget nyújt az AChE többi molekula

formáinak keletkezésére, felépítésére, szerkezetére vonatkozó elgondolások, elméletek kialakítására, illetőleg ezek igazolására. Ezen lehetőség alapján ugyanis kísérletileg igazolhatóvá válik azon – ez ideig csak feltételezett – elképzelés, hogy a monomer alakot az AChE molekula alapépítő-elemének, subunitjának lehet tekinteni. Ezek szerint a dimer alak, két monomer alak – mint alapépítő-elem – összekapcsolódása által keletkezik. Hiányzik viszont a három monomer alak összekapcsolódása által keletkező trimer forma, ami feltételezhetően egy dimer és egy monomer alak összekapcsolódásával épülhetne fel. Ez az alak viszont nem mutatható ki.

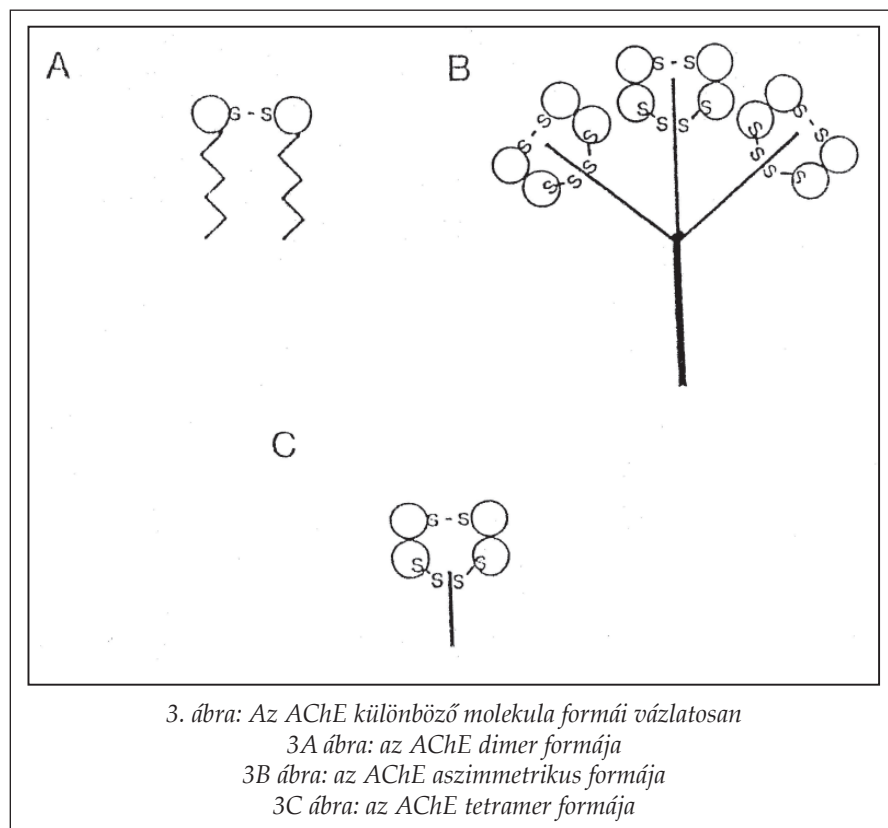
A következő alak tehát nem a trimer, hanem a tetramer alak, ami nem a trimer alak + monomer alak összekapcsolódása által keletkezik, hanem két dimer alak összekötődésével jön létre. A monomer alak megtalált egyedüli jelenléte, vagyis az, hogy minden alak alap-építőeleme, subunitja a monomer alak, azt jelenti, hogy e nélkül a forma nélkül egyetlen további alak sem épülhetne fel. Ez csak akkor lenne lehetséges, ha nem lenne kimutatható a monomer alak egyedüli jelenléte, hanem már a keletkezéskor is minden alak egyformán képződne, vagyis minden alak már a keletkezéskor kialakulna; illetőleg már a keletkezés elején kimutathatóan jelen lenne minden alak.

Ezzel tehát – vagyis a monomer alak egyedüli jelenléte alapján – kísérletileg igazoltnak fogadható el, hogy a monomer alak, az AChE molekula formáinak felépítésében alap-építőelemnek tekinthető.

Az AChE molekula formái

Általánosságban és leginkább a Globular formák szerepelnek [30, 4]. Azonban ezeken túlmenően más alakokat is megadnak: L_1 , L_2 , M , H jelölésű alakokat [3, 28], valamint L_1 , L_2 , M , H_1 , H_2 alakokat. A továbbiakban hat mol. forma is szerepel: L_1 , L_2 , L_3 , M , H_{1A} , H_{1B} [29]. Azt is pontosan megadják, hogy a szerepeltetett Globular alakoknak, a G_1 , G_2 , G_4 -nek megfelelnek az L_1 , L_2 és M jelölések, valamint az Aszimmetrikus A_8 , A_{12} formáknak a H_1 , H_2 jelölések [4]. A natív formák megegyeznek és a jelölések a G szisztéma óta két családot tartalmaznak. Az ismert formák: L_1 , L_2 , M , M_c , H_{1c} és H_{2c} .

Az M_c alakot nem mindenütt észlelik (pl. csirkében nem), azonban beleérti a kisebb alakokat valamilyen más szeriában. Ezeken túlmenően hasonló alakokat ad meg más szerző is [28] L_1 , L_2 , M , H_1 , H_2 , valamint ettől függetlenül [3] L_1 , L_2 , M és H



AChE további molekula formáinak kialakításában. A monomer alak egyedüli jelenlétének kimutatása azonban igazolta, hogy alap-építő-elemnek, subunitnak lehet tekinteni.

A monomer alak egyedüli jelenlétének kísérleti kimutatásával azonban nemcsak azt igazoltuk, hogy az AChE molekula formáinak kialakításában a monomer alak subunit, hanem azzal, hogy a többi molekulaforma a kialakulás kezdetén nincs jelen, kizártuk annak a lehetőségét is, hogy a többi molekulaforma kialakulásakor ne a monomer alakból képződjenek a további alakok. Ugyanis, ha a többi molekulaforma a monomer alak nélkül keletkezne, akkor ezek az alakok lennének kimutathatóak a kialakulás kezdetén.

alakokat. Újabb alakok bevezetésével lettek finomítva tovább a megadott mol. formák [29]: $L_{1'}$, $L_{2'}$, $L_{3'}$, M , H_{1A}^a és H_{1B}^a . Más szerző [25] a $G_{1L'}$, $G_{2L'}$, G_{2H} jelölést adja meg.

A továbbiakban az AChE glikozilációjánál [6] a $G_{1'}$, $G_{2'}$ és a tetramer $G_{4'}$ Globular formák lettek megadva speciális jelölésekkel. Ezzel egyezően más [40] is az AChE natív molekula formáinak negyedleges szerkezetével és hidrofób karakterével foglalkozik.

Az egyes Globular formák szerkezetét ábrákkal illusztrálja [32]. A dimer forma két glikoinozitol foszfolipid végződésű monomer alak összekapcsolódása – diszulfidkötéssel – révén keletkezik (3. A. ábra) a tetramer formák pedig két dimer forma összekapcsolódásával – szintén diszulfidkötéssel – jönnek létre (3. C. ábra). Az Aszimmetrikus formák pedig három tetramer alak – diszulfidhidas – összekötődésével alakulnak ki (3. B. ábra).

A Globular formák subunitja G_1 monomer subunit

A monomer alak, mint subunit feltételezésével és azzal, hogy ezek összekapcsolódásával keletkezik a többi alak, sokan foglalkoztak, de ezt kísérletileg nem igazolták. Ez ideig csak elméletileg tekintették kezdő alapformának a monomer alakot az

A monomer subunit elméleti feltételezése igen elterjedt. Ezt tételezi fel [25], amikor subunit aszociációról ír és a G_{1L} jelölést használja a monomeric Globular subunitra. Más szerzőnél [34] két subunit szerepel. [41] az AChE polimer formáinál katalitikus alegységeket – katalitikus subunits – tételez fel. [35] a subunit molekulasúlyaként 78,000 értéket ad meg. [7] reprezentálja a kombinációs differenciát a katalitikus subunit és az inaktív végződésű (-tail) példányok között [5] a katalitikus subunit két típusát jelöli meg, melyek H és T.

Aszimmetrikus formák subunitja G_4 tetramer subunit

Nemcsak a monomer alak szerepel subunitként, hanem az aszimmetrikus formáknál a G_4 tetramer alak is annak tekinthető. [24] munkájában a G_4 -ben hidrofób-tailed végződésnél és az A_{12} -ben kollagén-tailed (végződés)-nél szerepel a katalitikus subunit. [14] szerint a subunitok kapcsolódására vázlatos térháló adható meg. Magát a tetramer molekulaformát, katalitikus subunit-ot szerepelteti, ennek folytán ez multimer komplex esetén egyláncú tetramer molekula formaként szerepel, mint subunit. [39] munkájában az aszimmetrikus molekulákra az A_4 katalitikus tetramer

alaknál egy, az A_8 -nál kettő, az A_{12} -nél három subunit szerepel.

Szedimentációs analízis

Az AChE molekula formáinak felkutatásában és azonosításában fontos szerepet játszik a szedimentációs analízis. A kapott szedimentációs koeficiensek azonosítják az egyes alakokat. A szedimentációs koeficiensek értékei az egyes alakokra a szerzők szerint nem azonosak, eltérőek lehetnek. Az egyes molekulaformák értékei leggyakrabban a következő intervallumban találhatók: monomer alaknál 3 S – 4,5 S (ritkán 5,0 S-ig), a dimer alakoknál 5,5 – 6,5 S és a tetramer alakoknál 10 – 11,5 S értékek közötti szórásban találhatók. Ezenkívül más alakokra is adottak a szedimentációs koeficiensek: L, M, H alakokra, valamint az aszimmetrikus molekulaformákra is.

A [4] szedimentációs analízisével kapott szedimentációs koeficiensek értékei: $L_1 = 4,0$ S, $L_2 = 6,1$ S, $M = 10,5$ S, $H = 16,4$ S. Ezekben túlmenően az aszimmetrikus formákra [1] adatai szerint a szedimentációs koeficiensek értékei: az A_4 single tetramer: 10 – 11,5 S, az A_8 double tetramer: 13 S és az A_{12} triple tetramer: 17 S. Ezekből az értékekből jól látható, hogy az L_1 érték a Globular monomer adat értékeivel és az L_2 érték a Globular dimer adat intervallumával egyezik, amiből következik, hogy az L_1 azonosítható jelölés a G_1 monomer alakokkal és az L_2 jelölés a dimer alakokkal.

A szedimentációs koeficiens értékeire további adatok találhatók, a [25] szerint a monomer alakra (G_1 -re) 3,2 S, a G_2 dimer alakra 5,7 S és a G_4 tetramer alakra 10,3 - 9,7 S, későbbi munkájában a [24] katalitikus G_1 monomer alakra 3,4 S (60%), a G_4 tetramer formára 10,3 S (40%) értékek szerepelnek. Az A_{12} esetén kollagén végződés, a G_4 -nél hidrofób végződés van megadva.

A [42] munkában a hidrofíl formára (enzimformára) 11 S, az amfifíl formára 5,6 S és az aszimmetrikus alakokra 17 S + 13 S adatok találhatók. Más munkában [10] a strukturális differenciákra 5,6 S értékű szedimentációs koeficiens szerepel. [5] szerint a szedimentációs koeficiens értékei az amfifíl dimernél 5,5 S és a hidrofíl dimernél 6,5 S. [30] és [4] által megadott szedimentációs koeficiensek: $G_1 = 4$ S, $G_2 = 6,5$ S, $G_4 = 10$ S, ill. $A_{12} = 16$ S. [13] adatai monomerre 5,0 S, tetramerre 11,0 S. [22] szerint a dimer forma alapján – 2, 4, 6 aktív hely figyelembevételével – az értékek: 4,8 S, 10,5 S, 16 S és 20 S. [15] adatai a 6 molekulaformára: $G_1 = 3,6$ S, $G_2 = 5,5$ S, $G_4 = 10,6$ S, Globular formákra, vala-

mint az Aszimmetrikus formákra $A_4 = 8,2$ S, $A_8 = 12,7$ S, $A_{12} = 16,2$ S. [16] szerző két osztályt szerepeltet, mely szerint: „class A”: IA = 5,2 S, III = 11,3 S, IV = 13,0 S és „class B”: IB = 4,9 S, II = 6,7 S. [38] szerző által megadott szedimentációs koeficiensek: 6,5 S, 7 S, 8 S, 10 S, 12 S, 16 S, 18 S, 19 S. [43] munkában a szerző 4 jelentősebb formát karakterizál: 6 S, 11 S, 13 S, 17 S. [18] munkájában 4 S, 10 S, 16 S értékek találhatók. [36] értékei: 5,7 S, 8,6 S, 17,5 S és 18 S.

Molekula rádiusz

Az AChE molekula formáira további információt szolgáltatnak a különböző molekulásúlyú alakokra vonatkozó molekula rádiuszok. [36] adatai szerint

- a 108,000 mol. súlyú alak rádiusza 40,15 Å,
- a 117,000 mol. súlyú alak rádiusza 43,4 Å,
- a 319,000 mol. súlyú alak rádiusza 78,4 Å,
- a 326,000 mol. súlyú alak rádiusza 80,25 Å.

IRODALOM

1. Allemand, P., Bon, S., Massoulié, J. and Yigny, M.: J. Neurochem. 36, 860-867 (1981).
2. Allen, R.C. and Moore, D. J.: Analyt. Biochem. 16, 457-465 (1996).
3. Bleisch, W.V., Luine, V.N. and Mc Ewen, B.S.: J. Neurochem. 40, 1523-1528 (1983).
4. Bon, S., Vigny, M. and Massoulié, J.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 76, 2546-2550 (1979).
5. Bourget, D., Raymond, M., Fournier, D., Malcolm, C.A., Toutant, J. PC and Arpagaus, M.: J. Neurochem. 67, 2115-2123 (1996).
6. Calesas-Herrera, J., Moral-Naranjo, M.T., Campoy, P.J. and Yidal, C.: J. Neurochem. 69, 1964-1974 (1997).
7. Carter, J.L. and Brimijoin, S.: J. Neurochem. 36, 1018-1025 (1981).
8. Davis, B.J.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 121, 404-427 (1964).
9. Davis, G.A., Agranoff, B.W.: Nature, Lond. 220, 277-280 (1968).
10. Doctor, B.P., Camp, S., Gentry, M.K. Taylor, S.S., Taylor, P.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 18, 5767-5771 (1983).
11. Ellman, G.L.O, Courtney, K.D., Andres, V. Jr., Featherstone, R.M.: Biochemical. Pharmacology. 7, 88-95 (1961).
12. Fernandez, H.L., Moreno, R.D., Inestrosa, N.C.: J. Neurochem. 66, 1335-1346 (1996).
13. Gennari, K., Brodbeck, U.: J. Neurochem. 44, 697-704 (1985).
14. Gentry, M.K., Moorad, D.R. Hur, R.S. Saxena, A., Ashani, Y., Doctor, B.: J. Neurochem. 64, 842-849 (1995).
15. Gisiger, V., Stephens, H.R.: J. Neurochem. 41, 919-929 (1983).
16. Johnston, CD., Russel, R.D.: J. Neurochem. 41, 30-46 (1983).
17. Juul, P.: Clin. Chim. Acta 19, 205-213 (1968).
18. Kása, P., Rakonczay, Z.: J. Neurochem. 38, 278-290 (1982).
19. Koelle, G.B.: J. Pharmacol. Exp. Ther. 103, 153-171 (1951).
20. Koelle, G.B., Priedenwald, J.S.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 70, 617-622 (1949).
21. Laemli, U.K.: Nature 227, 680-685 (1970).

22. Landauer, P. Ruess, K.P., Lieflander, M.: *J. Neurochem.* 43, 799-805 (1984).
23. Lehotai, L.: *Acta Pharm. Hung* 76, 145-148 (2006).
24. Liao, J., Boschetti, N., Mortensen, V., Jensen, S.P., Koch, K., Norgaard-Pedersen, B., Brodbeck, U.V.J.: *J. Neurochem.* 63, 1446-1453 (1994).
25. Liao, J., Norgaard-Pedersen, B., Brodbeck, U.: *J. Neurochem.* 61, 1127-1134 (1993).
26. Lim, R., Davis, G.A., Agranoff, B.W.: *Brain Research.* 25, 121-131 (1971).
27. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.Y., Farr, A.R., Randall, R.J.: *J. Biol. Chem.* 193, 265-275 (1951).
28. Lyles, J.M., Silman, I., Barnard, E.A.: *J. Neurochem.* 33, 727-738 (1979).
29. Lyles, J.M., Barnard, E.A., Silman, I.: *J. Neurochem.* 34, 978-987 (1980).
30. Massoulié, J., Bon, S.: *Annu. Rev. Neurosci.* 5, 57-106 (1982).
31. Mohadik, S.P., Korenovski, A., Rapport, M.M.: *Anal. Biochem.* 76, 615-633 (1976).
32. Navaratnam, D.S., Fernando, F. Shama, Priddle, J.D., Giles, Kurt, Clegg, Sheila M., Pappin, Darryl J., Craig, Ian, Smith, A.D.: *J. Neurochem.* 74, 2146-2153 (2000).
33. Ornstein, L., Davis, B.J.: *Disc, electrophoresis Parts I. and II. Distillation Products Industries, Rochester N.Y.* 1964.
34. Ott, P., Brodbeck, U.: *Eur. J. Biochem.* 88, 119-125 (1978).
35. Rakonczay, Z., Mallol, J., Schenk, H., Vincendon, G., Zanetta, J.P.: *Biochem. Biophys. Acta* 657, 243-256 (1981a).
36. Silver, L.H., Prescott, D.J.: *J. Neurochem.* 38, 1709-1718 (1982).
37. Skangiel-Kramska, J., Niemierko, S., Klodos, I.: *Bull. Acad. Pol. Sci.* 19, 389-392 (1971).
38. Sorensen, K., Gentinetta, R., Brodbeck, U.: *J. Neurochem.* 39, 1050-1060 (1982).
39. Talesa, Y., Granso, M., Arpagaus, M., Giovannini, E., Romani, R., Rosi, G.: *J. Neurochem.* 72, 1250-1258 (1999).
40. Toutant, J.P., Arpagaus, M., Fournier, D.: *J. Neurochem.* 50, 209-218 (1988).
41. Yigny, M., Bon, S., Massoulié, J.: *J. Neurochem.* 33, 559-565 (1979).
42. Wasserman, L., Doctor, B.P. Gentry, M.K., Taylor, P.: *J. Neurochem.* 61, 2124-2132 (1993).
43. Witzeman, V., Boustead, C.: *J. Neurochem.* 39, 747-755 (1982).

[Érkezett: 2010. szeptember 17.]

Különböző gyógyszerformákkal kapcsolatos gyógyszerési tanácsadás

SZAKONYI GERGELY, ZELKÓ ROMÁNA*

Semmelweis Egyetem Egyetemi Gyógyszertár Gyógyszerügyi Szervezési Intézet
1092 Budapest, Hőgyes E. u. 7-9.

*Levelezési cím: zelrom@gytk.sote.hu

Summary

Szakonyi, G., Zelkó, R.: *Pharmaceutical advice concerning different pharmaceutical dosage forms*

The present paper summarizes the commonly applied types of drug uptake and the pharmacists' advice concerning a certain dosage form. The manuscript also deals with the modified release dosage forms and their abbreviations in the name of the marketing authorized products.

Keywords: peroral, intraoral, transdermal, inhalation drug uptake, modified release dosage forms

Összefoglalás

A közlemény rövid áttekintést nyújt a leggyakoribb gyógyszerbeviteli módokról, valamint az egyes gyógyszerformákhoz kapcsolódó, a gyógyszerész által a betegnek nyújtandó alkalmazási tanácsokról. A kézirat kitér a módosított hatóanyag-leadású gyógyszerek, és azok jelölésére alkalmazott rövidítések magyarázatára is.

Kulcsszavak: perorális, intraorális, transzdermális, inhalációs gyógyszerbevitel, módosított hatóanyag-leadású gyógyszerek

Bevezetés

Az új gyógyszerek kifejlesztése töretlenül halad előre, de ez nemcsak új hatóanyagok megjelenését jelenti, hanem a már meglévő hatóanyagok új gyógyszerhordozó-rendszerbe foglalását is. Az elmúlt évtizedekben számos új, innovatív gyógyszerformát fejlesztettek ki, így egyre több olyan gyógyszer létezik, amely képes alkalmazkodni a betegek különféle igényeihez. Azonban ezen új gyógyszerformák megfelelő használatához nagyobb tájékozottságra és odafigyelésre van szükség, mint a megszokott gyógyszerek esetében.

Az új gyógyszerformák egyrészt új alkalmazási módokat jelentenek (pl. gyógyszeres tapaszok, bukkális filmek, szemészeti gyógyszeres filmlapok), de az olyan hagyományos gyógyszerformák, mint pl. a tabletták, alkalmazása is nagyobb odafigyelést igényel, ha a készítmény módosított hatóanyag leadású.

Felhasználási tanácsok különféle gyógyszerkészítményekhez

Perorális gyógyszerbevitel

A perorális (szájon keresztüli) adagolás a legnépszerűbb gyógyszerbeviteli mód, és a legtöbb

gyógyszert tablettá formájában hozzák forgalomba. A két legfontosabb szilárd, perorális gyógyszerforma, melyeknél új technológiai megoldásokat valósítottak meg, a tablettá és a kapszula.

Hagyományosan a tablettáknak csak annyi volt a szerepe, hogy a hatóanyag egységességét és stabilitását biztosítsák, és hogy könnyen alkalmazható gyógyszerforma legyen. A biogén gyógyszerészet fejlődésével azonban az is kiderült, hogy egy gyógyszer tulajdonságait nemcsak a hatóanyag farmakokinetikai paraméterei, hanem a gyógyszerhordozó rendszer jellegzetességei is meghatározhatják. Felismerve, hogy egy gyógyszer hatóanyag-leadása és biztonságossága megfelelő formulációval fokozható, létrehozták az ún. módosított hatóanyagleadó rendszereket. Ennek különféle típusai ismertek [1].

Késleltetett hatóanyagleadás

Késleltetett hatóanyagleadás esetén a gyógyszer felszabadulása nem azonnal, a bevételt követően történik, hanem általában a gyomron történő áthaladást követően, vagy még később. Ezt általában azzal érik el, hogy a gyógyszert gyomorsav-rezisztens, a bél lúgosabb pH-ján oldódó bevonattal látják el. Így a hatóanyag megvédhető a gyomornedv károsító hatásaitól, illetve a hatóanyag nem károsíthatja a gyomornyálkahártyát. Ezzel a módszerrel készülhetnek olyan gyógyszerek is, melyekből

a hatóanyag alapvetően a vastagbélben szabadul fel, például bakteriális enzimek hatására [2].

Nyújtott hatóanyagleadás

Nyújtott hatóanyagleadásról akkor beszélhetünk, ha a hatóanyag a konvencionálistól eltérően, fokozatosan szabadul fel a gyógyszerformából. A hatás lassabban alakul ki, de lassabban is cseng le, és nem alakul ki hirtelen plazmakoncentráció-emelkedés. Ezeknek a gyógyszerformáknak több előnyük is van: a hatóanyag plazmaszintje kevésbé ingadozik, és kisebb valószínűséggel alakul ki toxikus plazmaszint; ezzel a megoldással lehetővé válik az adagolási időközök növelése (pl. napi 1x-i tabletta) még rövid felezési idejű hatóanyagok esetén is, így növelhető a betegek együttműködőkészsége és a kényelme.

Szakaszos hatóanyagleadás

A szakaszos hatóanyagleadású készítményekből a hatóanyag bizonyos időnként, lökészerűen szabadul fel.

Helyspecifikus hatóanyagleadás

Helyspecifikus hatóanyagleadás esetén a hatóanyag a gasztrointesztinális rendszer bizonyos szakaszán szabadul fel. Gasztroretentív gyógyszerek esetén a hatóanyag felszabadulása a gyomorban történik. Az ilyen készítmények egyik típusa, amikor a gyógyszer úszik a gyomornedv tetején, és így órákon át helyspecifikusan képes leadni a hatóanyagot (pl. Madopar HBS®). A kolonspecifikus gyógyszerek pedig a vastagbélbe juttatnak el hatóanyagot, ami például előnyös gyulladásozó bélbetegségekben, illetve egyéb esetekben, amikor a bél lokális kezelése szükséges. Ezzel a módszerrel csökkenthetők a gyógyszer szisztémás mellékhatásai (kisebb mértékű felszívódás).

Ezekon kívül még sokféle módosított hatóanyagleadású gyógyszert fejlesztettek ki, és ez a folyamat ma is tart. Vannak olyan rendszerek, amelyek csak bizonyos pH-n adják le a hatóanyagot, míg mások csak bizonyos hőmérséklet felett vagy alatt. A célzott hatóanyagleadás az egyik fontos gyógyszerészeti újítás, ami fontos olyan készítmények esetében, amelyben a hatóanyag az emberi szervezetre igen toxikus (pl. daganatellenes gyógyszerek). Célzott hatóanyagleadású gyógyszer például a Caelyx, amely lehetővé teszi, hogy a hatóanyag csak a daganatos sejteket pusztítsa el. A gyógyszer úgynevezett pegilált liposzómákba zárva tartalmazza a citotoxikus hatású doxorubicin-hidrokloridot. Ez elősegíti, hogy a hatóanyag csak a rosszindulatú sejtekhez jusson el és ne az ép szövetekbe.

Módosított hatóanyagleadást többféle gyógyszer technológiai megoldással is el lehet érni (bevonatos rezervoár rendszerek, ozmotikus rendszerek, multipartikuláris rendszerek stb.). Ezekkel a megoldásokkal általában már meglévő gyógyszerkészítményeket alakítanak át a betegek igényeihez jobban alkalmazkodó gyógyszerekké. Az Adalat GITS® tabletta például egy membrán által szabályozott, ozmotikus-pumpa elven működő gyógyszerkészítmény, melyből az antianginás hatású és vérnyomáscsökkentő nifedipin egyenletesen (nulladrendű kinetikával), 24 órán keresztül szabadul fel. A felszívódást ezért nem befolyásolják a gyomor-bélrendszer pH értékei és a motilitás (étkezéstől független biohasznosulás) [3].

Ha egy gyógyszer módosított hatóanyagleadású, akkor azt általában a gyógyszer nevében jelzik. Néhány rövidítés jelentését foglalja össze az 1. táblázat.

Bár a módosított hatóanyagleadású készítmények többféle előnnyel is rendelkezhetnek a ha-

1. táblázat

Módosított hatóanyagleadású gyógyszerek jelölései [1]

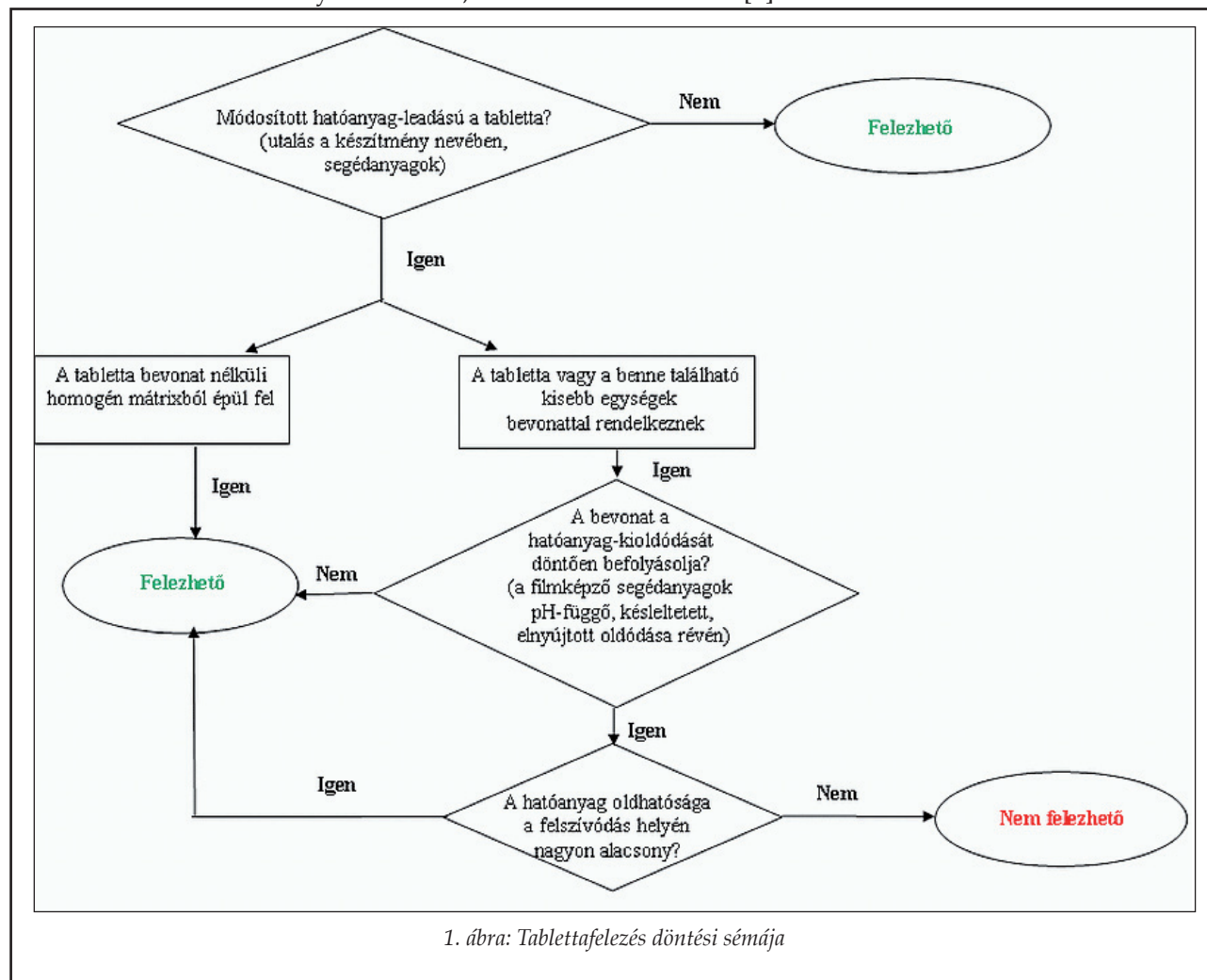
Rövidítés	Angol kifejezés	Hatóanyag leadás	Példa	Hatóanyag
CR	controlled release	szabályozott hatóanyagleadás	Sinemet CR	levodopa, carbidopa
EC	enteric coated	enteroszolvens bevonattal	Videx EC	didanosine
ER	extended release	nyújtott hatóanyagleadás	Efectin ER	venlafaxine
GITS	gastrointestinal therapeutic system	gasztrointesztinális terápiás rendszer	Adalat GITS	nifedipine
HBS	hydrodynamically balanced system	hidrodinamikailag kiegyensúlyozott rendszer	Madopar HBS	levodopa, benserazide
MR	modified release	módosított hatóanyagleadás	Preductal MR	trimetazidine
SR	sustained release	nyújtott hatóanyagleadás	Flugalin SR	flurbiprofen
XL	extended release	nyújtott hatóanyagleadás	Cardura XL	doxazosin
ZOK	zero order kinetics	nulladrendű kinetikájú	Betoloc ZOK	metoprolol

gyománys gyógyszerekkel szemben, mégis az alkalmazásukat illetően alaposabb körültekintés van szükség.

Az egyik legfontosabb kérdés a szilárd, orális gyógyszerkészítményekkel kapcsolatban a *felezhetőség* (lásd 1. ábra, döntési séma). A gyógyszerek felezésének különféle előnyei lehetnek. Sok esetben egy adott gyógyszer csak néhány hatáserősségen elérhető. A gyógyszer felezésével egyénre optimalizálható a dózis, ami különösen fontos a gyermek- és az időskori gyógyászatban. Továbbá nagyméretű tabletták esetén a felezés megkönnyítheti a lenyelést. Végül egy fontos előny, hogy a tabletták felezésével a gyógyszeres költségeket csökkenteni lehet. Sok esetben ugyanis egy adott készítménynél a kétszeres hatáserősségű szer közel ugyanannyiba kerül, mint a kisebb hatáserősségű. Így egyes esetekben a gyógyszer felezésével a költségek akár 50%-át is meg lehet takarítani [4, 5]. Azonban a tabletták darabolásának is megvannak a maga veszélyei. Sok esetben ugyanis a felezett tabletták stabilitása veszélybe kerülhet, és a töme-

gükben is jelentős eltérések mutakozhatnak, bár ezeknek az eltéréseknek a klinikai jelentősége (bizonyos gyógyszerek, pl. sztatinok esetén) nem volt kimutatható [6, 7].

Fontos figyelembe venni, hogy a legtöbb módosított hatóanyagleadású gyógyszer, kialakításából adódóan nem felezhető és nem rágható össze [8]. Ugyanis a gyógyszer felezésével megsérül annak szerkezete, és a hatóanyag vagy egyszerre felszabadul, vagy nem jut el a hatás helyére; végső soron a gyógyszer biztonságossága és hatékonysága gyengül. Nagymennyiségű gyógyszer hirtelen felszabadulásakor akár toxikus mellékhatások is jelentkezhetnek (pl. vérnyomáscsökkentők esetén). Néhány módosított hatóanyagleadású tabletta azonban felezhető [1]. Ebben az esetben a tabletták önálló gyógyszerhordozó rendszereket tartalmaznak (pl. apró bevont pelleteket), melyek integritása a felezéssel nem sérül, azonban szétrágni, porítani ezeket a gyógyszereket sem szabad. Ilyen tabletta pl. a Betaloc ZOK[®], amely felezővonallal is el van látva [9].



Egyéb megfontolások: intesztinoszolvens bevonattal ellátott gyógyszert nem szabad szénsavas folyadékkal együtt bevenni, mert az leoldhatja a bevonatot; az úszókapszuláknál cél a gyomorban való tartózkodás, így ezeket a gyógyszereket folyadékkal kell bevenni és utána nem szabad lefeküdni.

Nem felelhető készítmények:

- szublingvális és bukkális tabletták,
- bélben oldódó bevonatos tabletták,
- hosszú ideig ható vagy lassú hatóanyagleadású tabletták,
- réteges tabletták,
- ozmotikus tabletták.

Esetlegesen felelhető készítmények:

- gyomornedvben oldódó védőbevonattal ellátott, ill. cukorbevonatos tabletták,
- rágótabletták,
- mukoadhezív készítmények.

Felelhető, de nem szétrágható vagy porítható készítmények:

- multipartikuláris rendszerek, ha van felezővonal (pl. Betaloc Zok[®], Metoprolol Z).

Néhány példa felelhető gyógyszerekre:

- Augmentin DUO[®] (csak közvetlenül a bevétel előtt),
- Betaloc ZOK[®],
- Isoptin SR[®],
- Sinemet CR[®],
- Convulex retard[®],
- Theospirex retard[®],
- Metoprolol Z,
- Tegreretol CR[®].

Néhány példa nem felelhető gyógyszerekre:

- Adalat SL[®],
- Adalat GITS[®],
- Cardura XL[®],
- Contramal retard[®],
- Ceclor retard[®],
- Corinfar (UNO) retard[®],
- Diaprel MR[®],
- Feldene[®],
- Kaldyum[®],
- Klacid UNO[®], XL[®],
- Losec[®],
- Pretanix retard[®],
- Trental[®],
- Nitromint retard[®].

Felnyitható kapszulák:

- port tartalmaznak – folyadékba keverhetők (esetleges inkompatibilitás figyelembe vételével), ételre rászórni (pl. ampicillin, doxycyclin, ozeltamivir).

Nem felnyitható és nem szétrágható kapszulák:

- nyújtott hatóanyag-leadású kapszulák (pelletteket vagy szemcsés anyagokat tartalmaznak),
- OROS kapszulák.

Nem szétrágható kapszulák:

- módosított hatóanyag-leadású kapszulák,
- bevont kapszulák,
- enteroszolvens bevonattal ellátott pelletteket tartalmazó kapszulák.

Intraorális gyógyszeralkalmazás

Az intraorális adagolás hatóanyag eljuttatását jelenti a szájüregbe helyi vagy távolhatás céljából. A terápia céljától függetlenül, ennek az alkalmazási módnak a lényege, hogy a hatóanyag a szájüregben szabadul fel, és részben vagy egészben onnan is szívódik fel [1]. A szájüregben belül a gyógyszer-eljuttatást három kategóriába lehet sorolni:

- szublingvális adagolás, melynek során szisztémásan juttatunk el gyógyszert a száj nyelv alatt fekvő nyálkahártyáján keresztül;
- bukkális adagolás, melynél a gyógyszer az arcot bélelő nyálkahártyán keresztül szívódik fel;
- lokális adagolás, ami gyógyszereljuttatást jelent a szájüregbe.

A lokális, szájba történő gyógyszeradagolás szokásos készítményei leginkább a cukorkák, szájvizek, ecsetelők, orális gélek, paszták és szuszpenziók.

A bukkális adagolással kapcsolatos egyik legfőbb korlátozás, hogy hiányzik az a gyógyszerforma, ami megtartja a gyógyszert a felszívódás helyén. Ezért széleskörűen alkalmaznak bioadhezív polimereket bukkális gyógyszerhordozó rendszereknél a különböző formákban (adhezív tapaszok, adhezív filmek, adhezív tabletták, bukkális gélek). A bukkális filmek nagymértékben rugalmasak, és a gélekhez és kenőcsökhöz képest pontosabb adagolást biztosítanak. Továbbá a bukkális filmek alkalmasak sebes felületek megvédésére, így csökkentik a fájdalmat, és növelik a kezelés hatékonyságát [10].

Fontos újtásnak számítanak a szájban gyorsan oldódó, illetve széteső tabletták. Ezek a készítmények növelik a betegek együttműködő-készségét,

mivel a tablettát nem kell lenyelni és folyadék alkalmazására sincs szükség [1].

Példák:

- ZYPREXA VELOTAB: olanzapine tartalmú, gyorsan diszpergálódó liofilizált tablettá. Szájba helyezve a nyálban gyorsan feloldódik, így könnyen lenyelhető, illetve vízben vagy más megfelelő folyadékban is fel lehet oldani. A tablettá törékeny ezért a csomagolás kinyitása után azonnal fel kell használni.
- FELDENE FLASH: piroxicam tartalmú liofilizált nyelv alatti tablettá. A nyelvre téve a nyálban vagy vízben oldódva is lenyelhető. A tablettá víz vagy nyál jelenlétében szinte azonnal feloldódik a szájban.
- SUBOXONE: buprenorphine és naloxone tartalmú nyelv alatti tablettá, melyet feloldódásáig (5–10 perc) a nyelv alá kell helyezni. Lenyelni nem szabad, mert nem lesz megfelelő a gyógyszer hasznosulása a magas first pass metabolizmus miatt.
- UPRIMA: apomorphine tartalmú nyelv alatti tablettá, mely helyesen alkalmazva gyorsan felszívódik, de lenyelve a nagyfokú first pass metabolizmus miatt szinte teljesen hatástalan.
- ONSOLIS: Magyarországon nem forgalmazott, fentanyl tartalmú bukkális film. Használatkor a gyógyszert vagy a szájüreget meg kell nedvesíteni és a filmet a száj belsejére felhelyezni. A megfelelő tapadás érdekében 5 másodpercig nyomva kell tartani a felületen. Folyadékot 5 perc elteltével lehet fogyasztani. A film az alkalmazást követően 15–30 perc alatt feloldódik

Transzdermális gyógyszeralkalmazás

A transzdermális gyógyszerek a bőrön keresztül szívódnak fel és szisztémás hatást fejtenek ki. A legelterjedtebb ilyen rendszerek a transzdermális tapaszok, melyeket a bőr felületére helyezve lehetőség nyílik a perkután hatóanyag-felszívódásra [1]. Bár csak kevés hatóanyag alkalmas transzdermális alkalmazásra a bőr védő funkciója miatt, az ilyen gyógyszereknek mégis van néhány előnye a perorális gyógyszerbevitellel szemben. Transzdermális tapaszok alkalmazásakor nem fordulhat elő, hogy a beteg véletlenül elfelejti bevenni a gyógyszerét és a túladagolás veszélye is csökkenthető, ugyanis a tapaszok eltávolításával megszűnik a gyógyszer-felszívódás. A gyógyszer ezen a módon elkerüli a gyomor-bél rendszert és így nem képes irritálni azt, és csökken a hatóanyag inaktiválódásának lehetősége. A gyógyszer szabá-

lyozott felszívódása egyenletes, és hosszan tartó vérszintet biztosít órákon vagy akár napokon keresztül. Közismert példák a transzdermális gyógyszerek köréből a nikotin tartalmú tapasz a dohányzásról való leszokás elősegítésére, a fül mögé helyezhető szkopolamin tapasz, ami véd a tengeri betegséggel szemben, vagy az erős fájdalomcsillapító fentanil tapaszok [11].

A tapaszokat ép bőrfelületen kell alkalmazni, sima, szőrtelen bőrfelületen. Ha szükséges a szőrt ollóval le kell vágni, de nem borotválni, mert a megsérti a bőrt és megváltozik a gyógyszer felszívódása. Gyermekeknél a gyógyszert a hátra is fel lehet helyezni, így elkerülhető, hogy onnan eltávolítsa azt. A bőrfelület tisztítására tiszta vizet használjunk, mivel a vegyszerek (szappan, olaj, testápoló stb.) megváltoztathatják a bőr tulajdonságait, és így a felszívódást. A tapasz felhelyezése előtt a bőr legyen teljesen száraz. A tapaszt felnyitás után azonnal fel kell helyezni, és rövid ideig célszerűen nyomva kell tartani a bőrfelületen. A tapaszok alkalmazási helyét változtatni kell, azonos bőrfelületre csak néhány nap elteltével helyezhető fel újra. Ha szükséges a tapaszokat általában felezni is lehet, mivel a gyógyszer mennyiség arányos a tapasz felületével.

Inhalációs gyógyszerbevitel

A belégzésre szánt gyógyszerek olyan folyékony vagy szilárd készítmények, melyeket gőz vagy aeroszol formában juttatunk a tüdőbe, lokális vagy szisztémás hatás elérése céljából. Az ilyen készítmények tervezésekor rendkívül sokféle fiziológiai és technológiai szempontot kell figyelembe venni. A készítmények közös jellemzője, hogy a hatóanyagot általában vagy a vivőanyagban oldva, vagy diszpergált állapotban tartalmazzák [1]. Az inhalációs készítmények működése során különböző méretű részecskék keletkeznek. Ezek a részecskék méretüktől függően a légutak különböző részeibe képesek eljutni. Az 5 mikrométernél nagyobb részecskék – méretüktől függően –, lecsapódnak a garatban és a nagylégutakban. A kisebb légutakba a 0,5 és 5 mikrométer közötti részecskék képesek lejutni, és ott hatást kifejteni, ezért terápiás szempontból ez az ideális részecskeméret. A 0,5 mikrométernél kisebb részecskék nem hasznosulnak megfelelően, mivel ezek legnagyobb részét ki-
lélegezzük [12].

Aeroszolókat (levegőben szuszpendált 0,001–100 mikrométer átmérőjű részecskék) számos módon elő lehet állítani, ezek közül a klinikumban

három módszert használnak. Léteznek hajtógázzal működő, adagolószeleppel ellátott készülékek, vannak úgynevezett porinhalátorok, és végül léteznek sűrített levegővel vagy ultrahanggal működő gépi porlasztók [12].

Az inhalációs terápia használható mind heveny, mind idült légúti betegségekben. Előnye, hogy bizonyos gyógyszerek a tüdő nyálkahártyájáról rendkívül jól szívódnak fel, ebben az esetben gyors szisztémás hatás érhető el. Viszont a módszer alkalmazása a szisztémás mellékhatások csökkentésére is megfelelő, mivel inhalációkor a légutakban és a hörgő nyálkahártyáján magas gyógyszer-koncentráció alakul ki, még ha alacsony is volt a bevitt dózis [12].

Az asthma bronchiale, világszerte egyre több embert érintő súlyos légúti betegség, gyógyszeres kezelésének lehetőségei az elmúlt évtizedekben jelentősen javultak. Ez egyrészt köszönhető annak, hogy új hatóanyagokat fejlesztettek ki, másrészt a gyógyszerek bejuttatását végző eszközök jelentős technológiai fejlődésen mentek keresztül [13]. Az inhalációs technológiák legnagyobb hátránya, hogy a készülékek használatát nem minden beteg tudja megfelelően elsajátítani, mivel az komoly koordinációt igényel [12]. Ezért a betegoktatás az asthma kezelésének egyik alapvető eleme. A terápia látszólagos elégtelenségének egyik leggyakoribb oka a betegek nem megfelelő együttműködése [14].

Az inhalációs készítmények alkalmazásakor több dologra is oda kell figyelni. A belégzést mindig szájon át kell végezni, ugyanis az orr az 1 mikrométernél nagyobb részecskéket jelentősen megszűri. Fontos, hogy a különböző készülékek más és más belégzési módszert kívánnak meg. Ez főként akkor nehezíti meg a beteg helyzetét, ha többféle készüléket is használ. Ezen kívül fontos még az inhaláció időtartama is. A porinhalátorok esetén gyors és erőteljes belégzés szükséges, az adagolószelepes inhalátoroknál a lassú és mély belégzés a megfelelő. A levegő visszatartásával fokozható a tüdőben maradó hatóanyag mennyisége [12].

Készülékek

Ma már rendkívül sokféle belégzésre szánt készítmény van, különféle adagolási megoldásokkal, ezért csak általánosan lehet a fontosabb készülékeket / készítményeket áttekinteni. Például csak budesonide tartalmú, de eltérő adagolási mechanizmusú inhalációs gyógyszerből is igen sokféle

van: Aerox, Aerox Jet, Budesonid Easyhaler, Miflonide, Pulmicort Turbohaler. Részletes információkért ezért mindig el kell olvasni az aktuális betegtájékoztatókat, és alkalmazási előírásokat, különös tekintettel arra, hogy gyakran jelennek meg új technológiai megoldások.

Adagolószelepes inhalációs készülékek

Az adagolószelepes inhalációs készülékek a legolcsóbb inhalációs készülékek. Három fő részből állnak: palack, adagolószelep, szájrész. Az adagolószelep teszi lehetővé, hogy a készülékből mindig ugyanannyi dózis szabaduljon fel. Megfelelő használat esetén a hatóanyag 10-15%-a jut el a légutakba, a többi lecsapódik és végső soron a tápcsatornába kerül. Inhalációs szteroidok használata után fontos az alapos szájóblítés és a gargarizálás, mivel ezek a vegyületek lokálisan gombás fertőzést okozhatnak. A készülékek hátránya, hogy a helyes alkalmazás ügyességet igényel, mivel a gyógyszer felszabadítását és a belégzést össze kell hangolni. Roham alatt szintén nehéz alkalmazni őket [12]. Az adagolószelepes aeroszolok hátrányainak kiküszöbölésére fejlesztették ki a különféle *toldalékokat*. Ezek lényege, hogy a hatóanyag először a toldalék terébe jut, és innen történik az inhaláció. Így azok is képesek alkalmazni inhalációs gyógyszereket, akiknek ez egyébként gondot okozna (pl. gyerekek, idősek). Másrészt ennél a megoldásnál a nagyobb szemcsék leülnek a toldalék falára, a hajtógáz pedig elpárolog, így nő a terápia szempontjából megfelelő méretű szemcsék aránya [12].

Porinhalátorok

A porinhalátorok az újabb fejlesztések eredményei. Ezeknek a szerkezeteknek az az előnye, hogy itt a beteg belégzése indítja meg az adagolást és a keletkezett levegőáram ragadja magával a hatóanyagot. Többször használatos készülékek esetén az adagolt port dózisonként csomagolva helyezik a készülékekbe, és csak az alkalmazás során kerül ki a hatóanyag a csomagolásából. Ezeknek az eszközöknek többféle kivitelezése is létezik, különféle hatóanyagok juttathatók célba velük [1]. Elterjedt készüléktípusok: Diskhaler® (pl. zanamivir), Diskus® (pl. salmeterol), Turbuhaler® (pl. budesonide), Easyhaler® (pl. salbutamol), Handihaler® (pl. tiotropium bromide), stb. Ezeket a készülékeket mindig a rájuk vonatkozó szabályok szerint kell alkalmazni, melyek (ábrával együtt) megtalálhatók a betegtájékoztatókban.

IRODALOM

1. Dévay, A., Antal, I.: A gyógyszeres terápia biofarmáciai alapjai, Medicina Könyvkiadó (2009).
2. Fan, J., Wang, K., Liu, M., He, Z.: Carbohydr Polym, 73, 241-247 (2008).
3. Adalat GITS® alkalmazási előirat; www.pharmindex.hu
4. Stafford, S.S., Radley, D.C.: Am J Manag Care, 8, 706-712 (2002).
5. Santen, E., Barends, D.M., Frijlink, H.W.: Eur J Pharm Biopharm, 53, 139-145 (2002).
6. Rosenberg, J.M., Nathan, J.P., Plakogiannis, F.: J Am Pharm Assoc, 42, 200-205 (2002).
7. Parra, D., Beckey, N.P., Raval, H.S., Schnacky, K.R., Calabrese, V., Coakley, R.W., Goodhope, R.C.: Am J Cardiol, 95, 1481-1483 (2005).
8. Mitchell, J.: Hosp Pharm, 37, 213-214 (2002).
9. Betaloc ZOK® alkalmazási előirat; www.pharmindex.hu
10. Yehia, S.A., El-Gazayerly, O.M., Basalious, E.B.: Curr Drug Deliv, 6, 17-27 (2009).
11. Scheindlin, S.: Mol Interv, 4, 308-312 (2004).
12. Bártfai, Z.: Háziórv. Továbbk. Szle, 1, 162-165 (1996).
13. Lengyel, L.: Hippocrates, 3, 155, (2006).
14. Bánkúti, B.: Hippocrates, 4, 228, (1999).

[Érkezett: 2010. október 3.]

Könyvismertetés

J. Buckingham, K. H. Baggerly, A. D. Roberts, L. F. Szabó: *Dictionary of Alkaloids*. Second edition, with CD-ROM. 2010, CRC-Press Taylor&Francis Group, Boca Raton, USA, 2290 lap.

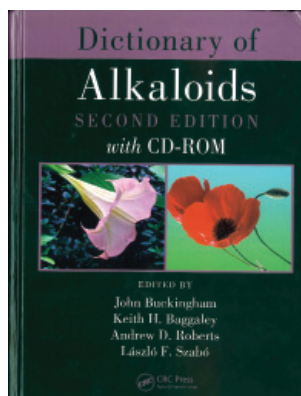
Az alkaloidok -3 oxidációs állapotú nitrogén atomot tartalmazó, nagyrészt gyengén bázikus tulajdonságú és jellemző biológiai hatással rendelkező vegyületek, amelyeket az élőlények legkülönbözőbb csoportjaiból, de elsősorban növényekből izoláltak. A kutatásukban elért számos új eredmény indokoltá tette, hogy az 1980-as években nyomtatott formában megjelent *Dictionary of Alkaloids* második kiadása naprakész formában és egy CD-ROM adathordozóval együtt újból megjelenjen. Ezzel a patinás kiadó *CRC-Press Taylor&Francis Group* nagy szolgálatot tett az alkaloidokkal foglalkozó szakemberek széles körének.

A nagyalakú, 2290 apróbetűs oldalt tartalmazó kötet és a CD-ROM adathordozó egyaránt több mint 40 ezer címszót tartalmaz, közülük több mint 26 ezer az alkaloidokra jellemző VX... vegyülettípus-kóddal jelölt csoportba tartozik és több mint 25 éves gyűjtés eredménye. A kötet nem tartalmazza a nitrogén tartalmú szekvenciális szerves vegyületeket, továbbá néhány különleges vegyületcsoportot (porfinoidok, aminoglikozidok, stb.), ez utóbbiak azonban megtalálhatók a lényegesen nagyobb méretű (több mint 226 ezer címszót tartalmazó) *Dictionary of Natural Products* anya-adatbázisban, amelyet ugyancsak a fentebb említett Kiadó jelentet meg.

A jelen kiadvány számára a primer irodalom szemlézése lényegében 2008 második félévében fejeződött be, és teljességre törekedett, vagyis igyekezett az összes eddig izolált alkaloid eddig publikált adatait közölni.

A kiadvány bevezető részében ismerteti az alkalmazott nevezéktanok és a szerkesztés elveit. Az alkaloidokat kémiai szerkezetük és/vagy biogenetikai-biológiai tulajdonságaik alapján szerkezeti típusokba (több mint 120 csoport) sorolták, és ezeket egy vagy több kódszámmal (TCC) látták el.

Amennyire lehetséges volt, a hasonló szerkezetű alkaloidokat a szerkesztők közel 11 ezer címszóban (entries) gyűjtötték össze, amelyekben közös szerkezeti képletek alá sorolták a rokon származékokat és variánsokat. A kötet főrészét a címszavak abc rendjében felsorolt alkaloidok legfontosabb fizikai, kémiai és biológiai tulajdonságainak



leírásai teszik ki. A szerkezeti képletek a sztereokémiai tulajdonságokat is mutatják. Minden izolált vegyület saját CRC kódszámot kapott, emellett azonban a *Chemical Abstracts Service* regiszterszámái is fel vannak tüntetve, hogy az eredeti irodalom könnyebben kikereshető legyen.

Az adatmezők (a CD-ROM-on 35 adatmező!) közül különösen fontos a szerkezeti tulajdonságok mellett az alkaloidok biológiai forrásának (species, sok esetben növénycsalád is) megadása és a biológiai/farmakológiai hatások felsorolása. A CD-ROM-on külön lista („Drugs”) sorolja fel a jelentős biológiai hatással rendelkező vegyületeket (összesen több mint 800 szerkezet, közülük több mint 560 alkaloid). Végül mind az egyes szerkezeti típusokhoz, mind az egyes alkaloidokhoz nagyszámú irodalmi hivatkozás (primer közlemény és összefoglaló) csatolódik. A kötetet betűrendes vegyületjegyzék és a vegyülettípusok szerint címszójegyzék zárja.

Külön nagy értéke a kiadványnak a mellékelt CD-ROM, amely tartalmazza a teljes alkaloid-adatbázist, és ezzel lehetővé teszi a sok szempontú elektronikus keresést. Így többek között lehetővé válik a kémiai név szerinti keresésen kívül, a rész-szerkezetek szerinti, biológiai forrás szerinti, és vegyülettípus szerinti keresés is. A CD-ROM-on összesen 35 adatmező van, amelyek mindegyike kereshető egyedi adatra vagy adattartományra, továbbá a keresésnél az adatmezők és a találati listák a Boole algebra szerint kombinálhatók. Az is fontos, hogy a Kiadó az adatbázis időnkénti elektronikus megújítását ígéri.

Mindez nemcsak nagymértékben meggyorsítja, hanem biztonságossá, teljessé és szelektívvé is teszi a használatot. A kiadvány óriási mennyiségű ismeretanyagot tartalmaz jól rendszerezett és könnyen kereshető formában. Jelenleg biztosan leggazdagabb ismeretforrása az alkaloidkémia és -biológia iránt érdeklődőknek. Használata nagy mennyiségű irodalmazó munka megtakarítását is jelenti, tehát „gazdaságilag is kifizetődő”. Ezért melegen ajánlható nemcsak kémikusoknak, hanem biológusoknak, taxonómusoknak, gyógyszerészeknek, gyógyszerkutatóknak, sőt orvosoknak, vagyis a kémia és a biológia határterületein dolgozó minden elméleti és gyakorlati szakembernek és kutatóhelyek könyvtárainak.

Kocsis Ákos

