

Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar
Gyógyszertechnológiai Intézet

Ph.D. értekezés tézisei

Diuretikus hatású végbélkúpok előállítása és biofarmáciai vizsgálata

Berkó Szilvia

Szeged
2002

BEVEZETÉS

Napjainkban a gyógyszerformulálás egyik alapvető feladata, hogy egy meglévő gyógyszerformát olyan irányban fejlesszen tovább, hogy abból a hatóanyag felszabadulása a körülményektől függően a lehető legjobb legyen, vagyis a biológiai hasznosíthatóságot ily módon növelje. Másik fontos cél: a termékválaszték bővítése az adagolás szempontjából, azaz egy adott farmakon minél több gyógyszerformában kerüljön forgalomba.

A fentiek alapján a kutatási munka célja egy megfelelő biológiai hatékonyságú diuretikumot tartalmazó végbélkúp előállítás volt, mely a jelenlegi gyógyszerkereskedelemből hiányzik; ezért is jelentkezett konkrét terápiás igény, már évekkel ezelőtt, belgyógyászok részéről egy furoszemid-tartalmú rektális készítmény előállítására. Az új gyógyszerforma bővítené a kezelési módokat, javítaná az individuális gyógyítás lehetőségeit olyan esetekben is, ahol az orális és parenterális adminisztráció kerülendő (hányás, shock, rossz compliance-ű beteg, nyelőcső sérülése, máj különböző betegségei esetén).

CÉLKITŰZÉS

1. A terápiás lehetőségek bővítésére, olyan diuretikus végbélkúpok előállítása, melyekből a vizsgált két hatóanyag (etakrinsav és furoszemid) a lehető legnagyobb mértékben felszabadul, ill. felszívódik.
2. A hatóanyagok különböző fizikai-kémiai tulajdonságú kúpalapanyagokban való formulálása, számos, a VII. Magyar Gyógyszerkönyvben nem hivatalos, de beszerezhető vehikulum vizsgálata, mint pl.: Witepsol masszák (CONDEA Chemie GmbH), vagy Suppocire termékek (Gattefossé).
3. In vitro hatóanyag-felszabadulás vizsgálata az akceptor fázis pH-jának függvényében.
4. A hatóanyag-liberáció javítása különböző felületaktív anyagok hozzáadásával, különös tekintettel annak vizsgálatára, hogy a segédanyagok koncentrációja miként befolyásolja az in vitro gyógyszer-felszabadulást.
5. A vízben jól oldódó etakrinsav+ciklodextrin zárványkomplex in vitro hatóanyag-felszabadulás vizsgálata, összehasonlítva a vízben rosszul oldódó etakrinsav eredményeivel.
6. A furoszemid in vitro / in vivo korrelációjának meghatározása végbélkúpok esetében.

KÍSÉRLETI MUNKA

Hatóanyagok

A "kacs" diuretikumok csoportjába tartozó etakrinsav és furoszemid rendkívül hatékony mindenfajta (szív-, máj-, vagy vese eredetű) ödéma lecsapolásában, enyhe vagy mérsékelt hypertóniában (önmagában is vagy más antihypertensív szerekkel kombinálva), nagyobb adagban akut és krónikus veseelégtelenségben, oligúriában. A "kacs" diuretikumok blokkolják a $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ kotranszportot a Henle-kacs felszálló ágán, így megakadályozzák a nátrium, kálium és klorid ionok visszaszívódását. Jelenleg bevételre és parenterális felhasználásra szánt oldat, tableta, kapszula és granulátum formájában vannak forgalomban.

Kúpalapanyagok

A német CONDEA Chemie GmbH által gyártott Witepsol (H 15, S 58, W 35) és Massa Estarinum (299, B, BC) típusú masszákat, a francia Gattefossé cég Suppocire (AML, AP, AS₂X) kúpalapanyagait, ill. a Macrogolum 1540-et alkalmaztuk. Németországban több mint 20-féle Witepsol kúpalapanyagot forgalmazznak, ebből Magyarországon mindössze a Witepsol W 35 és a Massa Estarinum 299 hivatalos "Adeps solidus 50" és "Adeps solidus 3" néven. Az Adeps solidus compositus a FoNo VI-ban hivatalos lipohidofil kúpalapanyag, mely Witepsol W 35 massa mellett Polysorbatum 20-t és Polysorbatum 61-t tartalmaz 10-10% koncentrációban. A Macrogolum 1540 a Ph.Hg. VII-ben hivatalos kúpalapanyag.

Felületaktív anyagok

A rossz vízoldékonyságú hatóanyagok liberációjának növelésére négy különböző felületaktív anyagot alkalmaztunk. A Solutol HS 15, Cremophor RH 40, Cremophor RH 60 (BASF, Germany), és a Montanox 60 DF (SEPPIC, France) nemionos tenzidek, melyek a gyógyszeriparban jól ismert, de végbélkúp gyógyszerformában ez ideig nem alkalmazott segédanyagok. Jó fiziológiai tűrhetőséggel és számottevő hatékonysággal rendelkeznek a szolubilizáció és az emulgeálás terén. A Solutol HS 15 nemionos szolubilizáló szer, melyet injekciós oldatok előállítására ajánlanak, míg a Cremophor termékeket zsírolékony vitaminok, esszenciális olajok, hidrofób hatóanyagok és kozmetikai szerek vízoldékonnyá tételére, ill. szilárd gyógyszerformák biohasznosíthatóságának növelésére javasolnak. A Montanox termékeket o/v emulziók előállítására, esszenciális olajok és vitaminok diszpergálására és szolublizálására, ill. számos gélképződéssel kapcsolatos probléma megoldására használnak a kozmetikai- és gyógyszeriparban.

Módszerek

Ciklodextrines (CD) komplexek előállítása

Az etakrinsav oldékonyságának növelésére különböző ciklodextrin származékokat próbáltunk ki, mint pl.: dimetil- β -CD, metil- β -CD, random-metil- β -CD (RAMEB) A vizsgálatok során a RAMEB bizonyult a legjobbnak oldékonyság-növelő hatása és az ára alapján. A kétkomponensű termékeket négy különböző mólarányban készítettük el (hatóanyag : CD mólarány = 2:1, 1:1, 1:2, 1:3) Az etakrinsav mennyisége a termékekben 35,91%, 21,88%, 12,29%, 8,54% volt.

Fizikai keverék: Az örölt komponenseket mozsárban összekevertük és 100 μ m-es szitán átszitáltuk.

Gyúrt termék: A hatóanyag és a ciklodextrin fizikai keverékét összekevertük ugyanolyan mennyiségű etanol-víz (1:1) elegyével, majd addig gyúrtuk, amíg az oldószer mennyisége elpárolgott. Ezután szobahőmérsékleten, majd 105 °C-on megszáritottuk, porítottuk, és 100 μ m-es szitán átszitáltuk.

További vizsgálatokra az oldódási és az *in vitro* membrándiffúziós eredmények alapján legjobbnak talált 1:1 arányú gyúrt terméket választottuk, mely összetétel alkalmasnak bizonyult lipofil kúpalapanyagokban való inkorporálásra.

Végbélkúpok előállítása

A végbélkúpokat öntéses technológiával állítottuk elő. Hatóanyag-tartalmuk 2,5 % volt, amely megfelelt a terápiás adagnak, vagyis egy 2,00 g-os felnőtt kúp 50 mg hatóanyagot tartalmazott. Az állatkísérletekhez 0,30 g-os kúpokat készítettünk igazodva a patkány anatómiai méreteihez, melyek hatóanyag-tartalma 15 mg/kúp volt. A segédanyagokat 1, 3, 5, és 10%-os koncentrációban inkorporáltuk a kúpalapanyagban. A kész kúpokat normál körülmények között szobahőmérsékleten tároltuk, majd egy hét után vizsgáltuk.

In vitro hatóanyag-felszabadulás

A vizsgálatokhoz dinamikus membrándiffúziós módszert használtunk, mellyel jól nyomon követhető a hatóanyag felszabadulásának, ill. membránon keresztüli diffúziójának mértéke a kúpalapanyag nélküli porból és a különböző összetételű gyógyszeres kúpokból egyaránt. Akceptor fázisként desztillált vizet (pH=6,8) és pH=7,5-ös foszfát puffert alkalmaztunk. A vesedializáló membránba (VISKING®) csomagolt kúpokat egyenként helyeztük lipofil kúpalapanyag esetén 20 ml ill. hidrofíl kúpalapanyag esetén 40 ml testhőmérsékletű (37 \pm 0,5 °C) akceptor fázisba. A mintákat VIBROTHERM rázó vízfürdőbe helyeztük, mely biztosította a 37 \pm 0,5 °C-ot, valamint a percenkénti 50 enyhe rázást. Az akceptor fázist 30, 60, 120,

240 perc után lecseréltük. A mintákban lévő hatóanyag mennyiségét spektrofotometriásan határoztuk meg, mely etakrinsav esetén $\lambda=278$ nm, furoszemid esetén $\lambda=274$ nm hullámhosszon öt párhuzamos mérési eredményből történt.

In vivo kísérlet

Az állatkísérleteket 280-300 g-os Sprague-Dawley hím patkányokon végeztük. Az állatoknak 6 óra éheztetés után éternarkózisban helyeztük fel a kúpokat, majd gyomorszondán keresztül 20 ml/kg mennyiségben vízlökést kaptak. Ezek után vizeletgyűjtős ketrecekbe helyeztük őket, és 150 percig 10 percenként gyűjtöttük a vizeletet. Az eredményeket Prism 2.01 számítógépes program segítségével értékeltük hat párhuzamos mérési eredmény alapján.

Kísérleti körülmények

Etakrinsav esetében 11 különböző kúpalapanyagot vizsgáltunk 2 különböző pH-jú akceptor fázisban. A hatóanyag membrándiffúziójának elősegítésére 3 nemionos tenzidet (Solutol HS 15, Cremophor RH 40, Cremophor RH 60) próbáltunk ki, ill. a hatóanyag vízoldékonyvá tételével növeltük a liberációt. Az in vitro kísérletek mellett in vivo vizsgálatokkal is próbálkoztunk, de nem találtunk értékelhető dózis-hatás összefüggést a vizsgált patkányok esetében.

Furoszemiddel végzett kísérletek során 7-féle kúpalapanyagot vizsgáltunk pH=7,5-es foszfát pufferben. A hatóanyag-liberáció elősegítésére 3 nemionos tenzidet (Solutol HS 15, Cremophor RH 60, Montanox 60 DF) alkalmaztunk. Az in vitro membrándiffúziós vizsgálatok mellett in vivo állatkísérleteket is végeztünk.

EREDMÉNYEK

Az akceptor fázis pH-jának befolyása az etakrinsav felszabadulására

A rektum pH-ja 6,8-7,9 között változik. A kísérleteket desztillált vízben (pH=6,8) és foszfát pufferben (pH=7,5) végeztük. Kontrollnak a kúpalapanyag nélküli por membrándiffúziós értékeit vettük. Desztillált vizes közegben a hidofil Macrogolum 1540 massa vizsgálatának eredménye többszörösen meghaladta a lipofil vehikulumok, ill. a por diffúziós értékeit ($p<0,001$). Ez visszavezethető arra a megállapításra, hogy a vízben rosszul oldódó farmakonok diffúziója előnyösebb hidofil alapanyagú kúpokból, ill. az alapanyag nedvesítheti vagy szolubilizálhatja a hatóanyagot, így növelve a hatóanyag oldékonyságát és membrándiffúzióját. A lipofil kúpalapanyagok membrándiffúziós eredményei (7-8%) közel azonosak voltak a por diffúziós értékével.

Amennyiben összehasonlítjuk a vizes közegben ill. a pufferes közegben kapott eredményeket, megállapítható, hogy az akceptor fázis megváltoztatása nem befolyásolta szignifikánsan a Macroglolum 1540 alapanyagból a kioldódást, viszont a lipofil masszákból való hatóanyag-liberáció kb. 10-szeresére nőtt. Ez az eredmény a hatóanyag oldékonyságának változásával magyarázható, mivel az etakrinsav gyenge sav, ezért a pH növelésével nő az oldékonysága, ami kedvez a hatóanyag liberációjának lipofil alapanyagokból, ill. növeli a hatóanyag membrándiffúzióját is. A lipofil masszák közül a kisebb hidroxilszámú masszák adták a jobb eredményt. A Massa Estarinum 299, a Massa Estarinum B és a Suppocire AML esetén, mind vizes mind pufferes közegben, a por membrándiffúziós értékével összehasonlítva nem volt szignifikáns csökkenés ($p > 0,05$), tehát a kúpalapanyagoknak nem volt visszatartó hatása. Legrosszabb eredményt mindkét akceptor fázisban a nagyobb hidroxilszámmal rendelkező Witepsol W 35 ($p < 0,001$) az Adeps solidus compositus ($p < 0,001$) és a Suppocire AP ($p < 0,001$) adta. Az Adeps solidus compositus Witepsol W 35-öt és mellette két nemionos tenzidet tartalmaz, aminek következtében azt várhatnánk, hogy a hatóanyag nedvesítésével, szolubilizálásával, ill. a massa lipohidrofíllé tételével nő a hatóanyag diffúziója. Az a jelenség, hogy nincs szignifikáns különbség a Witepsol W 35 és az Adeps solidus compositus membrándiffúziója között, valószínűleg azzal magyarázható, hogy a két tenzid 20 %-nyi együttes mennyisége már inkább kedvezőtlenül befolyásolja a hatóanyag felszabadulását.

A lipofil és hidrofil masszák kioldódási kinetikájának különbözősége is megfigyelhető, ugyanis a hidrofil alapanyagnál a hatóanyag diffúziója csak az első óra elteltével nő meg jelentősebben, mely a kúpmassza hosszabb oldódási idejével hozható összefüggésbe. Mivel két olyan hatóanyaggal dolgoztunk, melyek hatékonysága szempontjából az idő nem elhanyagolható szempont, ezért a gyorsabb és jobb hatás eléréséhez lipofil kúpalapanyagok és különböző segédanyagok (tenzidek, ciklodextrin) kombinációival próbáltuk az eredményeket tovább javítani.

Felületaktív anyagok hatása az etakrinsav liberációjára Witepsol H 15 massa esetén

A felületaktív anyagokat 1, 3, 5 és 10 %-os koncentrációban inkorporáltuk a Witepsol H 15 kúpalapanyagban. Mivel a Witepsol H 15 massa egyik akceptor fázisban sem adott maximum eredmény várható volt, hogy a segédanyagok növelni fogják a liberációt. Kontrollnak a Witepsol H 15 massa membrándiffúziós értékeit vettük. A hatóanyag diffúziója a segédanyagok koncentrációjának függvényében változott. Akceptor fázisként desztillált vizet alkalmazva mindhárom segédanyag esetében a 3%-os koncentráció adta a legjobb eredményeket, mely a liberációt közel duplájára növelte. Ugyanezeket a vizsgálatokat elvégezve pufferes közegben az 1, 3, 5 %-os Solutol HS 15 ($p < 0,001$) és Cremophor RH 40 ($p < 0,01$) növelte a

hatóanyag felszabadulását, míg a Cremophor RH 60 ($p > 0,05$) alkalmazása esetén a hatóanyag-liberáció mértéke nem változott.

Ezek alapján megállapítható, hogy az akceptor fázis pH-jának növelése csökkentette a Cremophor RH 60 tenzid hatóanyag-felszabadulást növelő hatását, míg a Solutol HS 15 és a Cremophor RH 40 a magasabb pH-jú pufferes közegben volt hatékonyabb. A foszfát pufferben viszont elegendő volt 1%-ban alkalmazni az adott segédanyagokat ahhoz, hogy megfelelő hatást érjünk el.

Etakrinsav random-metil- β -ciklodextrinnel képzett komplexének membrándiffúziója különböző kúpalapanyagokból

Az etakrinsavat és az előzetes vizsgálatok során kiválasztott etakrinsav+RAMEB 1:1 gyúrt terméket 5 különböző lipofil kúpalapanyagban inkorporáltuk (Witepsol H 15, Witepsol W 35, Massa Estarinum 299, Suppocire AML, Suppocire AP). Kontrollnak az etakrinsav por diffúziós értékeit vettük. Az etakrinsav hatóanyag liberációja desztillált vizes közegben kevesebb volt, mint 10%. Ez a hatóanyag rossz vízdékonyságával magyarázható, mely rossz hatóanyag-felszabadulást eredményez lipofil kúpokból. A hatóanyag membrándiffúziós eredményei minden kúpalapanyag esetén jobbak voltak a ciklodextrines komplex alkalmazás esetén, 10-szeresére nőtt a liberáció a Witepsol H 15, a Suppocire AML és a Massa Estarinum 299 ($p < 0,001$) kúpoknál.

Az akceptor fázis pH-jának növelésével nő a hatóanyag oldékonysága, és ezáltal a membránon keresztüli diffúziója. A desztillált vizes közegben legjobb eredményt adó kúpalapanyagok bizonyultak a legjobbnak foszfát pufferben is. A ciklodextrines komplexet tartalmazó kúpok eredményei elmaradtak a tiszta etakrinsavat tartalmazó masszákétól, ami a hatóanyag jobb oldékonyságával magyarázható foszfát pufferes közegben. A rektális pH 6,8-7,9 között változik, és ha a hatóanyag felszabadulása és diffúziója pH függő folyamat, a diuretikus hatás elmaradhat, ha a rektális pH a fiziológiás pH tartomány alá csökken. Az etakrinsav ciklodextrines komplexének alkalmazásával olyan diuretikus végbélkúpokat állíthatunk elő, melyekből a hatóanyag liberációja független a környezet pH értékétől.

Furoszemid in vitro membrándiffúziója különböző kúpalapanyagokból

In vitro vizsgálatainkban kontrollnak a kúpalapanyag nélküli por membrándiffúzióját tekintettük. Megállapítható, hogy a Suppocire AS₂X ($p < 0,001$), a Massa Estarinum B ($p < 0,01$) és a Witepsol H 15 ($p < 0,05$) közel azonos hatóanyag-felszabadulást eredményezett, mint a kúpalapanyag nélküli por diffúziója. A Suppocire AML ($p < 0,001$), a Massa Estarinum BC ($p < 0,01$) és a Suppocire AP ($p < 0,001$) kisebb mértékben, míg a viszonylag nagy hidroxil számmal rendelkező Witepsol W 35 ($p < 0,001$) massa nagyságrendileg csökkentette a hatóanyag kioldódását. Ennek

ellentmond az a tény, hogy a Suppocire AP hidroxilszáma közel azonos a Witepsol W 35 masszáéval, azonban a furoszemid liberációjában szignifikáns eltérés tapasztalható. Ez valószínűleg a Suppocire AP amfifil tulajdonságával magyarázható, melynek köszönhetően a legtöbb farmakon esetén nő a biohasznosíthatóság a hagyományos lipofil kúpalapanyagokhoz képest.

Furoszemid diuretikus hatása különböző kúpmasszák esetén

In vivo kísérletekben megvizsgáltuk a furoszemid per os és kúp (Witepsol H 15 alapanyagú kúp) bevitele utáni dózis-hatás összefüggést. Ami alapján kiszámítottuk mindkét esetben az ED50 értékét ($ED50_{kúp}=15,39$ mg, $ED50_{per\ os}=19,03$ mg) amely alapján megállapíthatjuk, hogy a rektális bevitel a per os bevitelnél némileg hatékonyabb. Furoszemid esetében a májon keresztüli first-pass metabolizmus elhanyagolható, de újabban patkányokban a furoszemiddel kapcsolatban leírtak egy úgynevezett gastrointestinális és intestinális first-pass effect hatást is, ahol a bevitt farmakon 20-40%-a metabolizálódik. A további kísérleteket a dózis-hatás vizsgálatokból meghatározott ED50 értékkel végeztük.

A furoszemidet a kúpalapanyagokban inkorporáltuk, majd patkányba történt applikáció után 150 percig gyűjtöttük a vizeletet. Vizsgálataink alapján megállapíthatjuk, hogy a kontrollhoz viszonyítva Suppocire AP ($p<0,05$), a Witepsol H 15 ($p<0,05$), a Witepsol W 35 ($p<0,01$), a Massa Estarinum B ($p<0,001$) és a Suppocire AS₂X ($p<0,001$) kúpalapanyag alkalmazásakor szignifikáns vizeletmennyiség növekedést tapasztaltunk. A Suppocire AML, és a Massa Estarinum BC alkalmazása nem okozott szignifikáns eltérést a vizelet mennyiségében a kontrollhoz képest. A Suppocire AS₂X és a Massa Estarinum B hatékonyságára jellemző, hogy a 150 percig gyűjtött vizelet mennyisége megközelíti a patkány 24 órás vizeletének mennyiségét.

Felületaktív anyagok hatása a furoszemid liberációjára és diuretikus hatására

A furoszemid liberációjának további növelésére három nemionos tenzidet is kipróbáltunk. A tenzideket 1, 3, 5, 10%-os koncentrációban inkorporáltuk a Witepsol H 15 alapanyagban. Azért a Witepsol H 15 masszát választottuk, mert mind az in vitro, de főleg az in vivo vizsgálatokban jó, de nem maximális eredményt értünk el ezzel a kúpalapanyaggal, így a segédanyagok alkalmazásával a hatóanyag liberáció, ill. a vizelethajtó hatás további növekedését vártuk. Az in vitro vizsgálatban csak az 1%-os Cremophor RH 60 tenzid-koncentráció esetén tapasztaltunk szignifikáns növekedést, a többi esetben nem volt szignifikáns eltérés, ill. a tenzid-koncentráció növelésével csökkent a furoszemid diffúziója.

A hatóanyag membránon keresztüli diffúziójának csökkenése két okra vezethető vissza: 1. A segédanyag, hatóanyag alapanyag stabil komplexet képzett, ill. a segédanyag hatására kedvezőtlenül változtak a disszociációs viszonyok. 2. A

hatóanyag felszabadult ugyan a kúpalapanyagból, de a tenzid-koncentráció növelésével egy adott értéknél micellák alakultak ki, melyek mérete a kolloid tartományba esett, így elképzelhető, hogy a micellába zárt farmakon molekulák képtelenek voltak átjutni a 25Å pórusméretű dializáló membránon. Ezt az utóbbi feltételezést támasztja alá az in vivo kísérletek eredménye, melyben a tenzidek egyértelműen növelték a vizelethajtó hatást. A Cremophor RH 60 esetében a kritikus micelláris koncentráció valószínűleg 1% felett volt, így nem jött létre aggregátum és a hatóanyag át tudott diffundálni a membránon.

Az in vivo vizsgálatainkban a tenzidek alkalmazásával szignifikánsan nőtt a gyűjtött vizelet mennyisége. Hatásuk több tényezőtől tevődik össze: egyrészt a farmakon nedvesítése révén, másrészt denaturálják a bélnyálkahártyán lévő proteineket, s így megbontják a hártya integritását, továbbá a hártya felületének tisztításával növelik az adszorpciós helyek számát. Patkányon végzett állatkísérletes vizsgálatainkban mindhárom segédanyag hatására közel azonos mértékben növekedett a kiválasztott vizelet mennyisége, amiből a megnövekedett hatóanyag-felszabadulásra következtethetünk. Megállapítható az is, hogy nem volt szignifikáns változás a tenzid-koncentráció növelésével, így elegendő volt 1%-ban alkalmazni azokat, hogy a kívánt hatást elérjük.

ÖSSZEFOGLALÁS

Figyelembe véve a rektális gyógyszerbevitel sajátosságait, a rektum fiziológiás állapotát, a hatóanyagok, alapanyagok, segédanyagok tulajdonságait a következő megállapításokat teszem, és az alábbi összetételeket javaslom diuretikus hatású végbélkúpok formulálására:

Etakrinsavat tartalmazó végbélkúpok technológiai feldolgozásának szempontjai:

1. Az akceptor fázis pH-jának megváltoztatásával a hatóanyag oldékonysága többszörösére nőtt, ennek következtében változott a hatóanyag kioldódása különböző kúpalapanyagokból. A lipofil masszákban a hatóanyag liberációja kb. 10-szeresére nőtt a pH növelésével. Ezek közül is a legjobb eredményt a kisebb hidroxilszámmal rendelkezők, ill. valamely segédanyagot tartalmazó lipohidrofíll masszák adták. A hidrofíll tulajdonságú Macrogolum 1540 kedvező eredményt adott mind vizes, mind pufferes közegben, azonban a masszára jellemző hosszú dezintegrációs idő miatt nem javasolható diuretikus hatású kúpok formulálására, ill. csak bizonyos feltételek mellett (pl.: trópusrezisztens kúpok).
2. Lipofil masszák mellett nemionos tenzideket alkalmazva a massa lipohidrofíllé válásával a hatóanyag liberációja pH-tól függetlenül nő. A növekedés mértéke

desztillált vízben (pH=6,8) nagyobb volt, mivel a tenzidnek nemcsak a massa lipohidrofíllé tételében volt szerepe, hanem a rosszul oldódó hatóanyagot is szolubilizálta, így a tenzid mennyisége az egyik legfontosabb tényező a végbélkúpok formulálásakor. A hatóanyag liberációja maximum függvény szerint változott. Vizes közegben a 3-5%-os tenzid-koncentráció volt optimális, míg pufferes közegben már 1%-ban alkalmazva a legjobb eredményt kaptuk. Meghatározók voltak a tenzid fizikai-kémiai paraméterei is, amelyek a pH változtatásával módosították az eredményeket.

3. A hatóanyag ciklodextrines komplexének előállításával az etakrinsav oldékonysága kb. 10-szeresére nőtt desztillált vizes közegben, melynek következtében a hatóanyag membrándiffúziója is jelentős mértékben javult. A pH növelésével az etakrinsav oldékonysága is nő, így a ciklodextrines komplexek eredményei elmaradtak a tiszta hatóanyag membrándiffúziójától. Ilyenkor, valószínűleg a komplex visszatartó hatásával kell számolnunk.

A fenti összegzés alapján, figyelembe véve a rektum pH-ját, etakrinsav-tartalmú végbélkúpok formulálására javaslom:

- ◆ *a 3% Solutol HS 15 segédanyagot tartalmazó Witepsol H 15 masszát, vagy az*
- ◆ *etakrinsav random-metil-β-ciklodextrinnel képzett komplexét Witepsol H 15 kúpalapanyagban inkorporálva.*

Furoszemidet tartalmazó végbélkúpok technológiai feldolgozásának szempontjai:

1. A membrándiffúziós vizsgálatokat összehasonlítva a tényleges vizelethajtó hatással megállapítható, hogy a hatóanyag liberációja, ill. a farmakológiai hatás 70 %-ban azonos tendenciát mutatott, tehát ahol nagyobb volt a furoszemid felszabadulása, ott több volt az állatok vizelete is. A legjobb eredményt mindkét esetben a Suppocire AS₂X massa adta, ami azt jelenti, hogy a hatóanyag liberációja 70% körül volt ill. 150 perc alatt az állat kb. 15 ml vizeletet produkált, amely irodalmi adatok szerint egy patkány egy napi vizeletmennyiségével egyezik meg.
2. A Witepsol H 15 massa in vitro körülmények között jobb eredményt adott, mint az állatkísérletekben, ill. a Witepsol W 35 masszánál az eredmények a farmakológiai hatásban bizonyultak jobbnak a membrándiffúziós vizsgálatokhoz képest. Ez is azt bizonyítja, hogy a legjobb összetétel kiválasztásához elengedhetetlenül fontos, az in vitro eredményeket in vivo kísérletekkel kiegészíteni, hogy pontos képet kapjunk a farmakon-alapanyag-élő szervezet közötti kölcsönhatásokról.

3. Nemionos tenzidek alkalmazása esetén az in vitro vizsgálatban csak az 1%-os Cremophor RH 60 tenzid-koncentráció esetén tapasztaltunk szignifikáns növekedést, a többi esetben nem volt szignifikáns eltérés, ill. a tenzid-koncentráció növelésével csökkent a furoszemid diffúziója. In vivo kísérletekben a tenzidek egyértelműen növelték a vizelethajtó hatást, de elegendő volt 1%-ban alkalmazni azokat a maximális hatás eléréséhez.

Az eredmények alapján furoszemid-tartalmú kúpok előállítására kétféle összetételt találtam alkalmasnak:

- ◆ *a Suppocire AS₂X kúpalapanyagot önmagában, mely a legjobbnak bizonyult mind a membrándiffúziós, mind az állatkísérletek során, vagy*
- ◆ *a Witepsol H 15 kúpalapanyagot 1% Cremophor RH 60 segédanyaggal együtt, mely szintén optimális eredményt adott mindkét vizsgálati módszerrel.*

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetet mondok Prof. Dr. Erős István tanszékvezető egyetemi tanár Úrnak, hogy a vezetése alatt álló Gyógyszertechnológiai Intézetben lehetővé tette Ph.D. munkám kidolgozását.

Köszönetet mondok ifj. Dr. Regdon Géza egyetemi adjunktusnak odaadó segítségnyújtásáért, és hasznos tanácsaiért, mellyel dolgozatom elkészítését segítette.

Köszönetet mondok továbbá társszerzőimnek és kollégáimnak a kooperációs lehetőségért és segítségnyújtásért.

Az értekezés anyagát képező közlemények

- I. **S. Berkó**, G. Regdon jr., I. Erős: Influence of pH change on drug release from rectal suppositories *Pharmazie* 55, (4) 324 (2000) **IF.: 0,498**
- II. **S. Berkó**, G. Regdon jr., I. Erős: Solutol and Cremophor products as new additives in suppository formulation *Drug Development and Industrial Pharmacy* 28, (2) 203-206 (2002) **IF.: 0,557**
- III. **S. Berkó**, G. Regdon jr., E. Ducza., G. Falkay, I. Erős: In vitro and in vivo study in rats of rectal suppositories containing furosemide *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 53, (3) 311-315 (2002) **IF.: 1,503**
- IV. Z. Aigner, E. Szepesi, **S. Berkó**, Cs. Novák, G. Regdon jr., M. Kata: Investigation of ethacrynic acid and random-methyl- β -cyclodextrin binary complexes *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 42, 219-226 (2002) **IF.: 1,15**

A disszertációhoz kapcsolódó hazai és külföldi előadások

1. G. Regdon jr., D. Deák, **S. Berkó**, I. Erős: Effect of modern additives on the in vitro drug release of diuretic rectal suppositories. 16th Pharmaceutical Technology Conference and Exhibition, Athen, Greece, Proceeding Volume 2, 541-546 (1997)
2. ifj. Regdon G., **Berkó Sz.**, Erős I.: Etakrinsav-tartalmú végbélkúpok gyógyszerleadásának vizsgálata in vitro módszerrel. XIII. Országos Gyógyszertechnológiai Konferencia, Hévíz, Hungary, Abstracts 18 (1997)
3. G. Regdon jr., I. Erős, Á. VERNYIK, **S. Berkó**: Arzneiliberation der Suppositorien beeinflussende Faktoren. 28th Technological days, Strebšké Pleso, Slovakia, Abstracts 29-30 (1997)
4. **Berkó Sz.**: Alapanyagok és segédanyagok hatóanyag-felszabadulást befolyásoló szerepe végbélkúp gyógyszerformából. IV. Clauder Ottó Emlékverseny, Budapest, Hungary, Abstracts 33 (1998)
5. ifj. Regdon G., **Berkó Sz.**, Vágó I., Mándi E., Erős I.: Különböző in vitro vizsgálati módszerek összehasonlítása kúpok hatóanyag-leadása szempontjából. Az Erdélyi Múzeum Egyesület Orvostudományi és Gyógyszerészeti Szakosztályának 9. Tudományos Ülésszaka, Gyergyószentmiklós, *Orvostudományi Értesítő* 72, 240-243 (1999)
6. **S. Berkó**, G. Regdon jr., I. Erős: Influencing drug release from rectal suppositories containing ethacrynic acid. The 3rd Central European Symposium on Pharmaceutical Technology, Portorož, Slovenia, *Farmaceutski Vestnik* 50, 332-334 (1999)
7. **Berkó Sz.**, ifj. Regdon G., Erős I.: Gyógyszer-felszabadulást befolyásoló tényezők tanulmányozása diuretikum hatású végbélkúpok esetében. Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XI., Siófok, Hungary, *Gyógyszerészet* 43, (11) 724 (1999)
8. **S. Berkó**, G. Regdon jr., I. Erős: Influencing drug release from rectal suppositories with pH change. 3rd World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology. APGI/APV Congress, Berlin, Germany, Proceeding 819-820 (2000)

9. **S. Berkó**, G. Regdon jr., I. Erős: Influencing drug release from rectal suppositories containing diuretic drug. 60th International Congress of FIP, Vienna, Austria, Proceeding 95 (2000)
10. **S. Berkó**, G. Regdon jr., I. Erős: Study of drug release from suppositories with modern additives used. 6th European Congress of Pharmaceutical Sciences, EUFEPS, Budapest, Hungary, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 11, Suppl. 1, S38 (2000) **IF.: 1,842**
11. **Berkó Sz**: Diuretikus hatású végbélkúpok formulálása és vizsgálata. V. Clauder Ottó Emlékverseny, Budapest, Hungary, Abstracts 24 (2000)
12. **S. Berkó**, G. Regdon jr., E. Ducza, G. Falkay, I. Erős: In vitro drug release and in vivo diuretic effect of rectal suppositories containing diuretic drugs. 4th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology, Vienna, Austria, *Scientia Pharmaceutica* 69, (3) S149 (2001)
13. **S. Berkó**, G. Regdon jr., E. Ducza, G. Falkay, I. Erős: In vitro and in vivo study of furosemide containing rectal suppositories. 4th World Meeting on Pharmaceutics Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology APGI/APV Congress, Florence, Italy, Proceeding 579-580 (2002)