



MEDIPOLISZ

Dél-Dunántúli Regionális
Egyetemi Tudásközpont

SZAKMAI JELENTÉS

**1. beszámolási periódus
2006. október**

**A projekt a Nemzeti Kutatási és Technológiai Hivatal támogatásával
valósult meg.**



Pázmány Péter program

Tartalomjegyzék:

Tartalomjegyzék:.....	2
1.1. altéma: Analgetikai kutatólaboratórium	5
Tervezett részfeladatok	5
PTE és Richter Rt közös jelentése	5
1.1.1. részfeladat: A projekt céljaira alkalmas laboratórium felépítése, berendezése, a munkavégzéshez szükséges felszerelések, módszerek beállítása.....	5
Richter Rt. jelentése	7
1.1.2 részfeladat: A PTE-n létrehozott TRPV1/VR1 receptort stabilan expresszáló sejteken módszer fejlesztése a vanilloid receptorális hatás mérésére.....	7
1.1.3 részfeladat: Nagy áteresztőképességű szűrési teszt (HTS) kidolgozása és futtatása.....	9
1.2. altéma: Központi idegrendszeri gyógyszer-targeteken ható endogén és exogén anyagok kutatása.....	11
Tervezett részfeladatok	11
1.2.1. Komplex magatartási-neurokémiai kutatások; integratív vizsgálati protokoll kidolgozása	11
1.2.2. Mikroelektrofiziológiai-neurokémiai-magatartási kutatások; központi idegrendszeri hatóanyagok vizsgálatára alkalmas tesztrendszer kidolgozása.....	11
Publikációs tevékenység	12
1.3. altéma: Szomatosztatin-szerű vegyületek gyulladásgátló hatásának vizsgálata	13
Tervezett részfeladatok	13
I. A Biostatin Kft. által elvégzett feladatok.....	13
II. A Pécsi Tudományegyetem ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézete által elvégzett feladatok.....	13
Alkalmazott módszerek, eredmények	13
A munkaszakasz összefoglaló értékelése.....	14
1. melléklet:.....	16
2. melléklet.....	16
3. melléklet.....	16
4. melléklet.....	17
5. melléklet.....	17
6. melléklet.....	17
1.4.1-2. altéma: Kapszaicin-tartalmú orális készítmények kifejlesztése cardiológiai és mozgásszervi betegek részére	18
Tervezett részfeladatok	18
PTE jelentése	19
Fejlesztés célja.....	19
Hatóanyag beszerzés	19
Beszámolási időszakban végzett kísérletes munka	20
Iparjog védelem.....	21
Publikációs tevékenység	21
Pannonpharma jelentése.....	22
Mellékletek jegyzéke	24
1.4.3 altéma: Helyi kezelésre alkalmas gombaellenes készítmény kifejlesztése	25
Tervezett részfeladatok	25
PTE jelentése:	25
Fejlesztés célja.....	25
Hatóanyag beszerzés	25
Beszámolási időszakban végzett kísérletes munka	26

Az elvégzett mérések indoklása.....	26
Eredmény.....	26
Iparjog védelem:.....	26
Pannonpharma jelentése.....	26
Mellékletek.....	27
1.5. altéma: A gyógyszerhatóanyagok bomlásának és stabilitásának vizsgálata....	28
Tervezett részfeladatok.....	28
PTE jelentése.....	28
1.5.1. Laborfejlesztés, dokumentációs rendszer kialakítása; Uregyt tabletta hatóanyaga bomlásának vizsgálata. Bomlástermékek szintézise.....	28
Fejlesztés célja.....	28
Az Uregyt tabletta hatóanyaga bomlásának vizsgálata. Bomlástermékek szintézise.....	29
1.5.2. Kiválasztott hatóanyagok irodalomban ismert bomlási folyamatainak elemzése, Etakrinsav-, kapszaicin- és N-acetil-cisztein-tartalmú készítmények stabilitásvizsgálata.....	29
Publikációs tevékenység.....	30
Pannonpharma jelentése.....	30
1. melléklet.....	32
2.. melléklet.....	32
3. melléklet.....	34
4. melléklet.....	36
1.6. altéma: Gyártástechnológiai korszerűsítés.....	37
Tervezett részfeladatok.....	37
PTE jelentése.....	37
Célkitűzések.....	37
Az ibuprofen hatóanyagot tartalmazó készítmény gyártástechnológiai korszerűsítése.....	38
Pannonpharma jelentése.....	39
1.7. altéma:.....	40
Tervezett részfeladatok.....	40
PTE jelentése.....	40
1.7.1. - 1.7.2. Hazai gyógyszeralkalmazás.....	40
1.7.2. Gyógyszerhatóanyagok CYP-450 alapú interakcióinak informatikai alapjai	41
1.7.3. Gyógyszerhatóanyagok bioinformatikai-hálózati mátrixának létrehozása..	42
HC Pointer jelentése.....	43
1. melléklet.....	45
2. melléklet.....	45
3. melléklet.....	45
1.8. altéma: Poliuretán alapú, vertebroplastica és kyphoplastica számára alkalmas szövetbarát implantatum anyag fejlesztése.....	46
Tervezett részfeladat.....	46
PTE Idegsebészeti Klinika, Dóczy Tamás igazgató jelentése.....	46
I. Kadaver csigolyákon végzett kísérletek (Idegsebészeti Kklinika).....	49
II. Műtétechnikai kísérletek ((Idegsebészeti Kklinika) állatkísérletek, Kaposvár alvállalkozó):.....	49
III. ETT TUKEB engedély megszerzése (Idegsebészeti Kklinika).....	49
PannonPharma Pallos J. Péter igazgató jelentése.....	49
Áttekintés.....	49
Elvégzett tevékenység.....	50
Vállalati tevékenység:.....	50

Projektkoordináció:.....	50
Fontosabb eredmények	50
További lépések	50
1.9. altéma: Klinikofarmakológiai vizsgálatok:	52
Tervezett részfeladatok	52
PTE jelentése	52
Pannonpharma jelentése.....	53
Diagnosztikai eljárások fejlesztése a gyógyszeres-terápia és egyéb gyógyító eljárások hatékonyságának javítása érdekében	55
2.1. altéma: Ultraszenzitív laboratóriumi technikák kifejlesztése bioaktív anyagok kimutatása céljából	55
Tervezett részfeladatok	55
Elvégzett tevékenység	55
Részfeladatok teljesítése	55
A részfeladat státusza.....	55
Elért eredmények	56
Publikációs tevékenység	56
2.2. altéma: A gyógyszeres kezelésekre kialakuló rezisztencia vizsgálata	57
Tervezett részfeladatok	57
Elvégzett tevékenység	57
Publikációk:	58
2.3. altéma: Szteroidok elemzése GC-MS eljárással; elektroforézis chiptechnológia kidolgozása.....	59
Tervezett részfeladatok	59
A beszámolási időszakban elkészült feladatok és az elért eredmények.....	59
A munkaszakaszban elkészült/megjelent/elfogadott publikációk listája.....	59
2.4. altéma: Diagnosztikai laboratóriumok akkreditációja.....	61
Tervezett részfeladatok	61
Elvégzett tevékenység	61
2.5. alprogram: Regionális laboratóriumi ellátási koncepció kidolgozása.....	63
Tervezett részfeladatok	63
Elvégzett tevékenység	63
Publikációk:	64
2.6. alprogram: Klinikai biokémikus, mikrobiológus és molekuláris biológiai diagnosztikus felsőfokú szakképzés	65
Tervezett részfeladatok	65
Elvégzett tevékenység	65

1.1. altéma: Analgetikai kutatólaboratórium

Tervezett részfeladatok

1.1.1.	A projekt céljaira alkalmas laboratórium felépítése, berendezése, a munkavégzéshez szükséges felszerelések, módszerek beállítása	Richter Rt. 67% PTE 33%	Dr. Pethő Gábor	2005.10.01 2006.09.30	Szöveges szakmai jelentés.
1.1.2.	PTE-n létrehozott TRPV1/VR1-receptort stabilan expresszáló sejteken módszer fejlesztése a vanilloid receptorális hatás mérése	Richter Rt. 67% PTE 33%	Dr. Sándor Zoltán	2006.01.01 2006.06.30	Szöveges szakmai jelentés, publikáció.
1.1.3.	Nagy áteresztőképességű szűrési teszt (HTS) kidolgozása és futtatása	Richter Rt. 67% PTE 33%	Dr. Tihanyi Károly	2006.04.01 2007.03.31	Szöveges szakmai jelentés.

PTE és Richter Rt közös jeletése

1.1.1. részfeladat: A projekt céljaira alkalmas laboratórium felépítése, berendezése, a munkavégzéshez szükséges felszerelések, módszerek beállítása

A RET-pályázat keretében a PTE Kórélettani Intézetében kialakított PTE–RG Analgetikum kutatólaboratórium építészeti munkálatai 2006. januárjában fejeződtek be. A terveknek megfelelően kialakítottak két laboratóriumi helyiséget, egy tranzit állatházat, egy mérőszobát és egy dolgozószobát, mindegyiket légkondicionálással felszerelve. A személyi állományt illetően jelenleg alkalmazásban áll a Richter FGYKF státuszán dr. habil. Dézsi László kutatási témavezető, RET pályázati státuszon dr. Czéh Boldizsár kutató, posztdok, illetve Tékus Valéria és Tóth Dániel kutatók, PhD-hallgatók, valamint PTE státuszon Ömböli Gyuláné Pintér Dóra asszisztens. A műszerek megrendelése és beszerzése a főbb műszerek tekintetében 2006. júniusára vált teljessé. Az év folyamán, illetve a jövő évre átcsoportosított keret terhére kisebb műszerbeszerzéseket még tervezünk.

A tranzit állatház 200 db patkány vagy egér befogadására képes, lényegében SPF minőségű tartási körülményeket biztosítva. Az állatszobában egy professzionális víztisztító berendezés, illetve az egyik laborban egy elszívóval felszerelt vegyi fülke is elhelyezésre került. Az állatház mellett hermetikusan záródó ajtóval elválasztva analitikai mérleggel, illetve 400 literes hűtő/fagyasztó készülékkel felszerelt mérőszoba található. A minták tárolásához -80°C -os fagyasztószekrényt is beszereztünk. A PTE Elektronmikroszkópos Laboratóriumába egy, a projektjeinkben alkalmazott vibratóm került kihelyezésre.

A projekt gerincét képező, in vivo nociceptív magatartási tesztmódszerek széles skáláját sikerült implementálni. A termonocicepció vonatkozásában beszerzésre került egy kombinált inkrementális forró/hideg lap (hot/cold plate) készülék, amely mind klasszikus, állandó hőmérsékletű, mind pedig emelkedő/csökkenő hőmérsékletű üzemmódban képes működni. Előző esetben a fájdalominger elkerülő, nocifenzív magatartási reakció latenciaidejét méri, míg utóbbi esetben a nociceptív hőküszöb - vagyis az a

legalacsonyabb/legmagasabb hőmérséklet, amely fájdalomreakciót vált ki - kerül meghatározásra. Az utóbbi megközelítést illetően a PTE Farmakológiai Intézet által publikált dolgozatok tartalmaznak meggyőző eredményeket. Szolcsányi professzor úr instrukciói alapján egy hazai gyártó és forgalmazó cég szintén a nociceptív hőküszöb mérésére szolgáló, emelkedő hőmérsékletű vízfürdő készüléket fejlesztett ki. A termonocicepció hagyományos megközelítését jelentő latenciamérés elve szerint működő „plantar teszt” készülék beszerzése is megtörtént, teljessé téve a termonocicepció vizsgálati spektrumát.

A mechanonocicepciót illetően beszerzésre került egy Randall–Selitto készülék, egy dinamikus plantáris eszteziométer és von Frey filamentum készlet. Mindhárom módszer általánosan használt a mechanikai hiperalgécia vizsgálatában. Az incapacitance tester egy újabb megközelítést jelent a mechanonocicepció vizsgálatára. Az in vivo módszertant az általános motoros működés megítélésére szolgáló Rota Rod készülék egészíti ki.

A fent említett módszerekkel kapcsolatban jelentős tapasztalatokkal bír dr. Bölcskei Kata munkatársam, aki a tervek szerint PhD-értekezésének megvédése után a jövő évben csatlakozik a laboratórium munkacsoportjához. Tékus Valéria PhD-hallgató és Ömböli Gyuláné asszisztens már elsajátította a legtöbb nociceptív mérőmódszer alapjait. A von Frey és az incapacitance tester módszerek a Richter-gyárban rutinszerűen működnek. A Dézsi dr. általi folyamatos kapcsolattartás, illetve a Richter Neurofarmakológiai osztályával folytatott rendszeres konzultációk és cserelátogatások segítik a kölcsönös információcserét.

A projekt másik részét képező in vitro elektrofiziológiai munkaállomás kialakítása dr. Czéh Gábor tudományos tanácsadó (Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet) instrukciói alapján és aktív közreműködésével lényegében megtörtént. Ennek részét képezi a szervfürdő, amelyben akár bőr–n. saphenus, akár trachea–n. recurrens preparátum vizsgálható. A preparálás technikáját Tóth Dániel elsajátította. A regisztrált idegi aktivitás elvezetésére, megjelenítésére és tárolására szolgáló apparátus (hardver + szoftver) a beállító mérések idejére kölcsönkapott, elavult eszközpark. Ezt a jelenlegi tapasztalatok alapján véglegesítendő, a pályázati keretbe betervezett, de még nem realizálódott beszerzés során korszerű eszközökkel kívánjuk kiváltani. A terveknek megfelelően dr. Dézsi László vezetésével egy in vivo elektrofiziológiai munkaállomás kialakítása is megtörtént, amelyben a n. saphenusról elvezetett idegi aktivitás regisztrálásán kívül alapvető hemodinamikai paraméterek (vérnyomás, szívparaméterek, lézer-doppler elv alapján monitorozott mikrocirkuláció) mérése is lehetséges.

További jelentős műszertételeket képez egy állataltatógép, lélegeztető gép a szükséges kiegészítőkkel, valamint egy sztereotaxikus készülék. A terveknek megfelelően történt a számítógépes (5 komplett PC-konfiguráció), illetve dokumentumkezelő irodai készülékállomány (nyomtatók, fénymásoló, szkennerek, fax) kialakítása is.

A laborok berendezésén túlmenően érdemi kísérletekre is sor került. Dr. Czéh Boldizsár a TRPV1-receptor expressziójának vizsgálatára alkalmas szövettani módszerek beállítását végzi. Számos különböző protokoll tesztelése után a TRPV1-receptor detektálására alkalmas immunhisztokémiai módszer sikeresen beállításra került. Jelenleg a TRPV1-receptor szöveti eloszlásának vizsgálata történik neuronális és nem neuronális mintákon patkányban, TRPV1 receptor knock-out és vad típusú egérben, valamint a PTE Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetben kifejlesztett TRPV1-et expresszáló sejtvonalon is. Folyamatban lévő kísérletek vizsgálják a TRPV1-receptor expressziójának

változását neuronális és nem neuronális sejtekben szisztémás reziniferotoxin előkezelés után.

Ezenkívül a neuropátiás fájdalmat modellező Chung-módszer beállítása is megtörtént Wistar patkányokon. Bölcskei Kata munkatársam megtanította az L5-ös spinális ideg átmetszésén alapuló műtéti eljárás kivitelezését Ömböli Gyuláné asszisztensnek. A kialakuló mechanikai hiperalgédia összehasonlító vizsgálata Wistar és Sprague-Dawley patkányokon is folyamatban van plantáris eszteziometriával és von Frey filamentumokkal. A cél annak eldöntése, hogy melyik módszer alkalmasabb a hiperalgédia vizsgálatára. Ugyancsak vizsgálat tárgyát képezi annak a kérdésnek a megválaszolása, hogy a szójamentes táp alkalmazása befolyásolja-e a hiperalgédia mértékét. A módszer gabapentinnel történő validálását is elkezdtük. A beállított módszert legelőször Horváth Csilla projektfeladataiban kívánjuk alkalmazni.

Továbbá, a PTE Farmakológiai Intézetében már jól működő Seltzer-modell validálása és a laboratóriumban történő adaptációja is folyamatban van. Az inkrementális hot plate készüléken Tékus Valéria közreműködésével szintén validáló kísérletek folynak.

Összességében elmondható, hogy a műszerpark kialakítása és a módszerek beállítása megfelel a pályázatban vázolt ütemtervnek.

Richter Rt. jelentése

1.1.2 részfeladat: A PTE-n létrehozott TRPV1/VR1 receptort stabilan expresszáló sejteken módszer fejlesztése a vanilloid receptorális hatás mérésére

Emberi TRPV1 receptort expresszáló sejt vonal kifejlesztése

Az emberi TRPV1 cDNS-t az Origene, Inc. cégtől vásároltuk. Az eredetileg küldött cDNS nem felelt meg számunkra, mivel hiányzott a start codon így nem lehetett expresszálni. A cégtől újabb cDNS-t beszerezve, valamint az elsőként küldöttet kijavítva végül is sikerült a megfelelő humán TRPV1 cDNS-t elkészíteni. Szekvenálás azt mutatta, hogy a mi cDNS-ünk az elsőként publikált TRPV1 szekvenciával összehasonlítva (Genbank #AJ272063) 4 eltérést tartalmaz a 429, 659, 1165 és az 1564 pozíciókban. Ezen mutációk normális variánsoknak tekinthetők, mivel számos publikált TRPV1 szekvenciában előfordulnak, pl. a Genbank #AF196176 szekvencia mind a négyet tartalmazza. A négy mutáció 3 aminosav eltérést okoz a receptorban az eredetileg publikált szekvenciához képest.

A cDNS-t egy expressziós vektorba klónoztuk CMV promoter irányítása alá. Először HT1080 sejteket, majd CHO-K1 sejteket transzfektáltunk és G418 szelekcióval klónokat izoláltunk. Körülbelül 100 klón kapszaicin érzékenységét vizsgáltuk mindkét esetben és kiválasztottuk a legjobban reagáló klónokat. Ezeket a klónokat HT20-80-nak és CHO20-5-nek neveztük el. A CHO20-5 klónt ismételtelen monoklonosítottuk, így kaptuk a CHO20-5-10 klónt.

A HT20-80 és CHO20-5-10 sejtek kapszaicin érzékenységét megvizsgálva a HT20-80 sejteken a kapszaicin $EC_{50} \sim 20$ nM-nak és CHO20-5-10 sejteken az $EC_{50} \sim 30$ nM-nak adódott ami gyakorlatilag megegyezik a korábban általunk a patkány TRPV1-en mért 33 nM értékkel. A sejtek pH érzékenységét is vizsgáltuk. A CHO20-5-10 sejtekkel ellentétben a HT20-80 sejtek gyakorlatilag nem reagáltak az önmagában való pH csökkentésre, bár e sejtekben a pH csökkenés jelentős mértékben potenciózta a 100 nM kapszaicin hatását. A pH érzékenységben mutatkozó különbségek nem meglepők, hasonló jelenségeket már leírtak a TRPV1 irodalomban.

A kifejlesztett HT20-80 és CHO20-5-10 sejtvonalakat átadtuk a Richter Gedeon Rt.-nek a további tesztek elvégzésére és a HTS beállítására (lásd. alább).

Patkány TRPV1 receptort expresszázó sejt vonal készítése

A PTE Farmakológiai Intézetében korábban már klónoztuk és expresszáztuk a patkány TRPV1 receptort. Azonban ezek a sejtvonalak nem CHO sejteken alapultak, illetve nem a natív receptort tartalmazták ezért a patkány TRPV1-et expresszázó CHO sejteket is el kellett készíteni. A klónozott patkány TRPV1 cDNS-t expressziós vektorba építettük, sejteket transzfektáltunk és klónokat szelektáltunk a humán TRPV1 esetében leírtak szerint. Az új patkány TRPV1-et expresszázó sejtvonal jelölése CHO30-36-4E. Ezen sejtvonal részletes tesztelése különböző agonista és antagonistá vegyületekre, pH csökkenésre jelenleg is folyamatban van. Mindazonáltal ezt a sejtvonalat is átadtuk a Richter Gedeon Rt.-nek további kutatások céljára.

Új fluoreszcens módszer beállítása a PTE-n a TRPV1 receptor aktivációjának mérésére

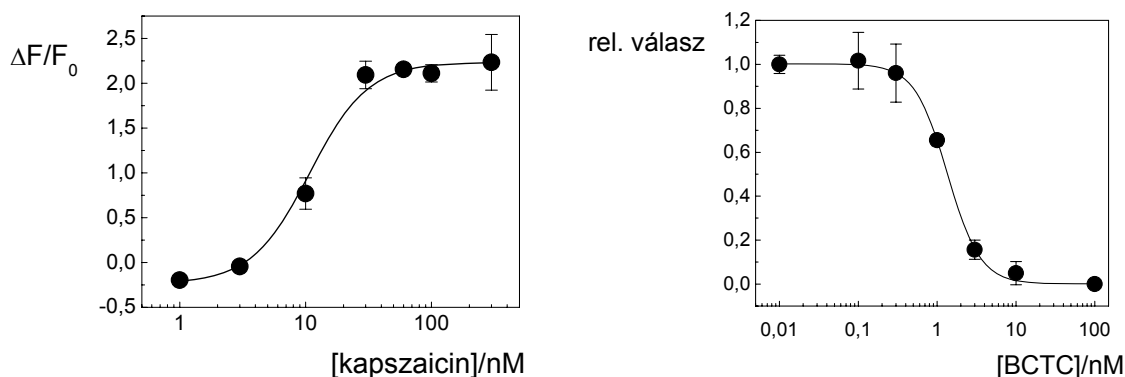
A PTE Farmakológiai Intézetében, a TRPV1 receptor aktivációját egyrészt Fura-2 mikrofluorimetriás kísérletekkel, másrészt radioaktív kalcium felhasználásával mérjük. Az első módszer hátránya, hogy komplex és kevés minta elemzésére alkalmas. A második módszer hátránya, hogy radioaktív izotóp felhasználásán alapul ami extra biztonsági előírások betartását követeli meg. A Richter Gedeon Rt.-nél a kalcium beáramlást FLIPR rendszeren Fluo-4 festékkel végzik. Az adatok jobb összevethetőségének érdekében jelenleg egy Fluo-4 festéken alapuló áramlási cytometriás módszert állítunk be a TRPV1 receptor aktivációjának mérésére.

Plate alapú fluoreszcens módszer kidolgozása a TRPV1 receptor aktivációjának mérésére

A vanilloid receptor működését befolyásoló vegyületek hatásának mérésére a Richter Gedeon Rt.-nél a sejten belüli kalciumszint változását követő, mikroplate formátumban futtatható mérést dolgoztunk ki a PTE-n létrehozott, a TRPV1-et stabilan expresszázó sejtvonalon. A PTE-n szerzett tapasztalatok, illetve előzetes kísérleteink alapján a munkát a CHO 20-5-10 sejtvonalon kezdtük el.

A sejteket 384 cellás lemezen tenyésztettük 1 % magzati borjúsérum (FBS) és antibiotikumok jelenlétében. A szelekciós nyomást 0,5 mg/ml G418 antibiotikummal tartottuk fenn. A sejteket fluo-4/AM kalcium indikátort, F-127 detergenst és probenecidet tartalmazó oldattal jelöltük, majd a lemezekről a fölös festéket mosással távolítottuk el. A sejteket ismert ligandokkal vagy azok oldószerével 15 percig kezeltük, majd agonista oldattal illetve savanyú pufferrel stimuláltuk. A sejtek kalciumfüggő fluoreszcenciáját FLIPR^{TETRA} képalkotó plate olvasóval (Molecular Devices Inc., Sunnyvale, USA) követtük 470-495 nm-es gerjesztés és 515-575 nm emisszió mellett, másodpercenként történő leolvasással.

A módszer alkalmasnak bizonyult a TRPV1 receptor szakirodalomban leírt működésének kimutatására. Ezt mind ismert agonisták - kapszaicin, reziniferatoxin, extracelluláris savanyodás, mind antagonisták - kapszazepin, BCTC, SB-366791, SB-705498, AMG-9810 - affinitásának mérésével igazoltuk (1. ábra, 1. táblázat).



1. ábra Kapszaicin koncentráció-hatás összefüggése illetve egy reprezentatív antagonistá hatása humán TRPV1-et kifejező sejtekben mért kalciumszintre

vegyület	EC_{50} ill. IC_{50} (nM) saját meghatározás	EC_{50} ill. IC_{50} (nM) irodalmi érték	referencia
kapszaicin	14,1 (N>10)	51,3	Smart et al. (2001)
BCTC	0,50±0,08 (N=4)	0,6±0,2	Gavva et al. (2005)
AMG 9810	11±2 (N=3)	17±5	Doherty et al. (2004)

1. táblázat Néhány referenciaanyag általunk meghatározott és irodalomból vett affinitása (átlag±S.D.)

1.1.3 részfeladat: Nagy áteresztőképességű szűrési teszt (HTS) kidolgozása és futtatása

Nagy áteresztőképességű szűrési teszt kidolgozása

A fentiekben kidolgozott intracelluláris kalciumszintmérésen alapuló módszert alkalmassá kellett tenni egy nagy áteresztőképességű szűrési vizsgálatra. Ehhez szükség volt mind a sejtenyésztési, mind a detektálási körülmények optimumának megállapítására, majd egy olyan mérési protokoll kidolgozására, amely lehetővé teszi a sejtfenntartás illetve a reakció ezen paramétereiktől legkevésbé eltérő lefuttatását.

Első lépésben tartós tenyésztés során ellenőriztük a vizsgált sejtvonal működésének állandóságát. Méréseink során a sejtek kapszaicinnal szembeni érzékenységét (EC_{50} 7-20 nM között) és a kalciumválaszok intenzitását ($\Delta F/F_0$ 1,2 és 2,0 között) viszonylag stabilnak találtuk, a tapasztalt ingadozás sejtes rendszerekre jellemző mértékű volt. A következőkben a sejtek működését befolyásoló környezeti paraméterek hatását mértük fel. A pH és hőmérsékletérzékeny TRPV1 receptor expressziója miatt ez többek közt magában foglalta a fenntartási hőmérsékletet, a tenyésztőfogat összetételét (pl. extracelluláris pufferek alkalmazhatósága), a sejtszámot és a tenyésztőfogatot.

Ezt követően megkerestük a plate alapú módszer reakciókörülményeinek (1 óra jelölés szobahőn, 30 μ l/cella agonista adagolás) és az automata folyadékadagolások optimumát, majd referenciaanyagok segítségével igazoltuk, hogy az így beállított reakció továbbra is a szakirodalomnak illetve az ipari versenytársak közléseinek megfelelő működést jelez. Ehhez mind az egyes referenciaanyagok relatív affinitását, mind az adatok megbízhatóságát jellemző Z' paramétert rendszeresen ellenőriztük.

Nagy áteresztőképességű szűrési teszt futtatása *(folyamatban)*

Az optimalást követően megkezdjük az optimum körülményeknek leginkább megfelelő protokoll kidolgozását, amely a reakció teljesen automatizált lefuttatását teszi lehetővé a Richter Gedeon Rt.-nél rendelkezésre álló automatizált HTS rendszeren.

A protokoll kidolgozása jelenleg folyamatban van, ezt a nagy áteresztőképességű szűrés lefuttatása, majd az abban azonosított találatok megerősítése fogja követni.

1.2. altéma: Központi idegrendszeri gyógyszer-targeteken ható endogén és exogén anyagok kutatása

Tervezett részfeladatok

1.2.1.	Komplex magatartási-neurokémiai kutatások; integratív vizsgálati protokoll kidolgozása	100% PTE	Dr. Lénárd László	2005.10.01 2008.09.30	Szöveges szakmai jelentés.
1.2.2.	Mikroelektrofiziológiai-neurokémiai-magatartási kutatások; KIR-i hatóanyagok (targetek) vizsgálatára alkalmas tesztrendszer kidolgozása	100% PTE	Dr. Karádi Zoltán	2005.10.01 2008.09.30	Szöveges szakmai jelentés.

1.2.1. Komplex magatartási-neurokémiai kutatások; integratív vizsgálati protokoll kidolgozása

A homeosztatisz működések központi szabályozásának vizsgálata több évtizede az Élettani Intézet és az MTA-PTE Ideglettani Kutatócsoport munkásságának homlokterében áll. Jelen célunk e kutatások módszertani repertoárjának fejlesztése révén központilag ható molekulák agyi támadáspontjának identifikálása, potenciális új gyógyszer-targetek feltárása.

Az alprogram megvalósításának első évében az elvégzett munka döntő részét a projekt infrastruktúrális és technikai feltételeinek megteremtése illetve fejlesztése képezte. Ezek révén komplex élettani működési sajátosságok központi idegrendszeri szabályozásának, az abban érintett sejtszintű hatásoknak *in vivo* körülmények közötti feltárása, integratív szemléletű vizsgálata lehetséges.

Laboratóriumi patkányokkal folytatott magatartási-neurokémiai kísérletekben kimutattuk, hogy neuromedin C mandula-magba történt közvetlen agyi mikroinjekciója a táplálékfelvétel gátlásával jelentős homeosztatisz regulációs változást idéz elő.

A fájdalomérzés perifériás és központi szabályozásában feltételezetten szerepet játszó szomatosztatin 4 receptor (S-R4) mediálta mechanizmusok további vizsgálata során igazoltuk, hogy a S-R4 receptor agonista S-R4 1404 szisztémás (i.p.) injekciója nem okoz változást patkányok általános (motoros) aktivitásában, nem megerősítő hatású, s nem befolyásolja alapvetően a tanulási és memóriafolyamatokat.

1.2.2. Mikroelektrofiziológiai-neurokémiai-magatartási kutatások; központi idegrendszeri hatóanyagok vizsgálatára alkalmas tesztrendszer kidolgozása

Rágcsálókban folytatott komplex mikroelektrofiziológiai kísérleteink tanúsága szerint a motivációs működésekben meghatározó jelentőségű limbikus előagy egyik központi struktúrájában, a nukleusz akkumbenszben sajátos, ún. glukóz-monitorozó idegsejteket mutattunk ki, melyek fontos szerepet játszhatnak a táplálkozás motivációjának és a testsúlyszabályozás központi szabályozásában. Obesitás elleni gyógyszer

kifejlesztésének új potenciális targetje lehet az a felismerésünk, hogy neuromedin C mikroinjekciója az amygdalába a táplálkozás csökkenését váltja ki.

A fenti vizsgálatok kiterjesztésével azt várjuk, hogy jobban megismerjük a táplálkozás és a metabolizmus központi szabályozásának élettani folyamatait, s így elhízás elleni gyógyszer-targetek feltárásához is közelebb kerülünk.

Publikációs tevékenység

Fekete É. M., É.E. Bagi, K. Tóth, L. Lénárd: Neuromedin C microinjected into the amygdala inhibits feeding. Brain Research Bulletin (közlésre beadott)

Papp, Sz., B. Lukáts, Cs. Szalay, Z. Karádi: Special chemosensory neurons in the nucleus accumbens. Neuroreport (közlésre beadott)

1.3. altéma: Szomatosztatin-szerű vegyületek gyulladásgátló hatásának vizsgálata

Tervezett részfeladatok

1.3.1.	A TT-232 követő molekulák előállítás, jellemzése, analitikai és stabilitási vizsgálatok (20-25 molekula)	Biostatin Kft. 100%	Dr. Szüts Tamás	2005.10.01-2006.03.31.	Preklinikai fejlesztésre kerülő vegyületek kiválasztása.
1.3.2.	A kiválasztott vegyületek <i>in vitro</i> rendszerben való tesztelése. <i>In vivo</i> vizsgálatok gyulladásos betegségek állatmodelljeiben.	PTE 100%	Dr. Pintér Erika	2005.10.01-2006.12.31.	Szabadalmi bejelentés.
1.3.3.	ADME vizsgálatok <i>in vitro</i> , Kémiai szintézis GMP szerint, analitikai és stabilitási vizsgálatok a gyógyszerforma kialakítása	Biostatin Kft. 100%	Dr. Szüts Tamás	2006.04.01-2006.09.30.	Jegyzőkönyvek.

I. A Biostatin Kft. által elvégzett feladatok

A TT-232-vel és származékaival végzett korábbi vizsgálatok eredményei alapján kb. 100 anyagot állítottunk elő, QSAR modellezés alapú molekulatervezéssel. A vegyületeket kémiai és fizikai módszerekkel jellemeztük (kromatográfia, tömegspektrométer, stb) és továbbítottuk a Pécsi Tudományegyetem ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetébe *in vitro* és *in vivo* (intraperitoneális, majd *per os*) tesztelésre.

Az Intézettel való állandó együttműködésben kiválasztottunk 3 vezető (lead) vegyületet, a *per os* adagolásban hatásosnak bizonyult hét anyag közül. Ezekkel előzetes stabilitásvizsgálatokat végeztünk, majd 5-5 g mennyiséget állítottunk elő preklinikai vizsgálatok (*in vitro* toxikológia és ADME) céljából.

Tekintve, hogy a projekt célja orálisan alkalmazható vegyületek kifejlesztése, vizsgálatokat végeztünk a megfelelő gyógyszerforma kialakítására a vegyületek gyenge vízoldékonysága miatt, ezért az állatkísérletek gyógyszerformájaként egy orális szuszpenziót alakítottunk ki.

Elkészítettük az *in vitro* ADME vizsgálatok és az izolált hepatocita toxikológia protokollját és előzetes megállapodást kötöttünk patkány vérszint vizsgálatok kidolgozására és végzésére mindhárom kiválasztott vegyület dózisfüggésének követésére.

II. A Pécsi Tudományegyetem ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézete által elvégzett feladatok

Alkalmazott módszerek, eredmények

1. Izolált patkány tracheából elektromos téringelésre felszabadult P-anyag mennyiségét. RIA módszerrel meghatároztuk Megmértük, hogy az egyes kiválasztott analógok hozzáadása a szervfűrdőhöz, hogyan befolyásolja a peptid felszabadulását. A megvizsgált 50 vegyület közül az 1. mellékletben közöltek bizonyultak hatásosnak 500 nM koncentrációban alkalmazva.

2. Patkányok akutan denervált hátsó lábának bőrében mustárolaj ecseteléssel neurogén plazma extravazációt indukáltunk, amit plazma albuminhoz kötődő intravénásan

adott Evans-kék festék spektrofotometriás meghatározásával kvantifikáltunk. A kiválasztott vegyületeket előkezelésként i.v., i.p. és per os adtuk az állatoknak. A per os legjobban ható analógok esetében megvizsgáltuk dózis-hatás összefüggéseket. Az 2. mellékleten a 100 µg/kg p.o. dózisok hatásai láthatók.

A 1403, 1404 és 1408 jelű vegyületek mustárolajjal kiváltott neurogén gyulladásra kifejtett hatásának vizsgálata további dózisokkal kiegészítve (az előzőekben ismertetett *in vivo* patkány modell) (ld. 3. melléklet)

3. A 1403; 1404 és 1408 kódjelű vegyületek termonocicepcióra gyakorolt hatásait vizsgáltuk.

A kísérleteket nőstény Wistar patkányok 8-as csoportjain végeztünk. A kísérlet napján az anyagadást minden esetben kontroll hőküszöb felvétele előzte meg. Ezt követően az állatokat két alcsoportra osztottuk. Három állat szolvens kezelésben részesült (kontroll csoport) öt állat pedig a vizsgált anyag 100 µg/ttkg dózisát kapta (kezelt csoport). Az anyagadást követő huszonötödik percben az állatokban hiperalgéziát hoztunk létre 0,1 ml 0,1mg/ml koncentrációjú RTX vagy 0,1 ml 3mM-os α-β-metil ATP intraplantáris adásával. A hőküszöb változásait a 10.;20.;30. és 40. percekben emelkedő hőmérsékletű vízfürdővel végzett mérésekkel követtük nyomon. A 1403 és 1404 kódjelű vegyületek nem emelték sem az RTX sem az α-β-metil ATP intraplantáris adásával kiváltott hőküszöb csökkenést, viszont a 1408-as vegyület szignifikánsan hatott. (ld. 4. melléklet)

A kezelés előtti kontroll hőküszöb (43,35°C) RTX hatására a szolvenssel kezelt állatokban a 20 perc múlva átlagosan 10,27°C-ot (32,7°C-ra) , 30 perc múlva átlagosan 10,2 °C-ot (32,8°C-ra) csökkent. A 1408-al kezelt állatok hőküszöbe a 20 perc múlva átlagosan mindössze 4,63°C-ot (37,62°C-ra) a 30 perc múlva átlagosan 5,63 °C-ot (36,8°C-ra) csökkent. A kezelt és a kontroll csoport között kétmintás t-próbával szignifikáns eltérést a 10. (p 0,03), 20. (p 0,004) 30.(p 0,004) és 40. (p 0,0002) egyaránt találtunk. (ld. 5. melléklet)

A kezelés előtti kontroll hőküszöb 43,83°C volt. Az α-β-me-ATP hatására a szolvenssel kezelt állatokban. 20 perc múlva átlagosan 9,48°C-ot (33,06°C-ra) a 30 perc múlva átlagosan 9,32 °C-ot (33,23°C-ra) csökkent. A 1408-al kezelt állatok hőküszöbe a 20' múlva átlagosan 4,65°C-ot (36°C-ra) a 30 perc múlva átlagosan 3,49 °C-ot (38,94°C-ra) csökkent. A kezelt és a kontroll csoport között kétmintás t-próbával szignifikáns eltérést a 10. (p 0,007), 20. (p 0,001) 30.(p 0,003) és 40. (p 0, 0,012) egyaránt találtunk.

4. Patkányokon a n. ischiadicus részleges lekötése révén, Seltzer-operációval, neuropátiás állapotot hoztunk létre.

A kialakult mechanikai hiperalgéziát Randall-Selitto teszttel mértük. A három kiválasztott analógot (1403, 1404, 1408) i.p. és per os adtuk. A tesztben a leghatásosabb 1404 vegyület volt, ami 500 µg/kg dózisban hipoalgéziát okozott. A 1403 és 1408 jelű vegyületek szintén csökkentették a mechanikai hiperalgéziát. (ld. 6. melléklet)

A munkaszakasz összefoglaló értékelése

Az *in vitro* és *in vivo* hatásrani vizsgálatok alapján 3 gyógyszerjelölt molekulánk maradt érdeklődésünk középpontjában, a 1403, 1404 és 1408. A 1403 az *in vitro* peptidfelszabadulást 62,1%-kal gátolta, míg 1 mg/kg orális dózisban adva szintén 60%-kal csökkentette a mustárolaj indukálta plazma extravazációt. A 1404 a mechanikai

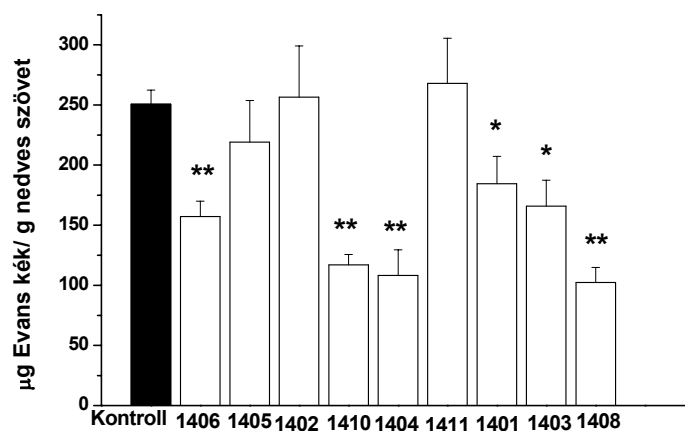
hyperalgéziát 500 µg/kg p.o. dózisban hypoalgéziába tolta át. A 1408 pedig jelentősen redukálta az RTX-szel és α - β -me-ATPvel indukált termális hőküszöb csökkenését.

1. melléklet:

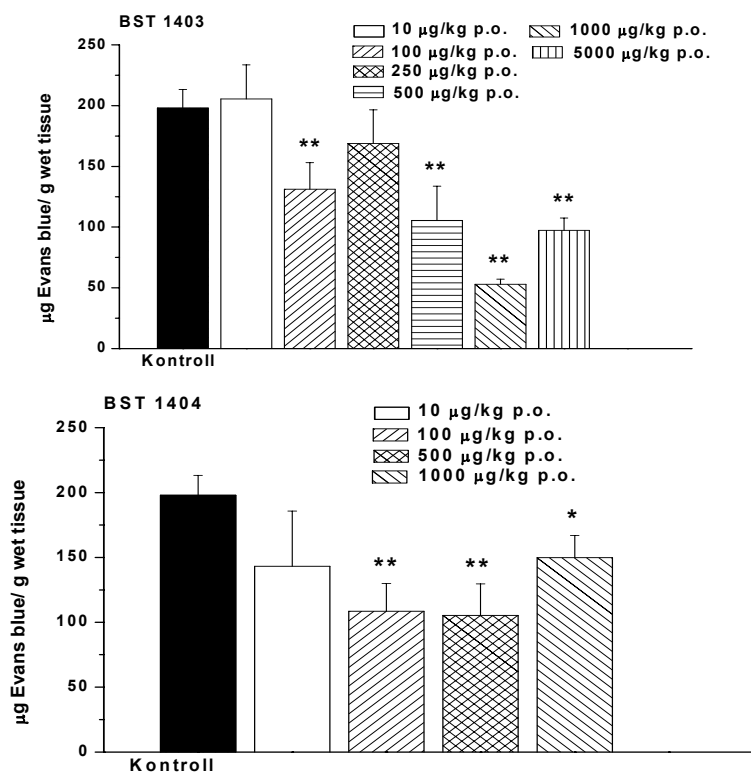
Koncentráció: 500 nM

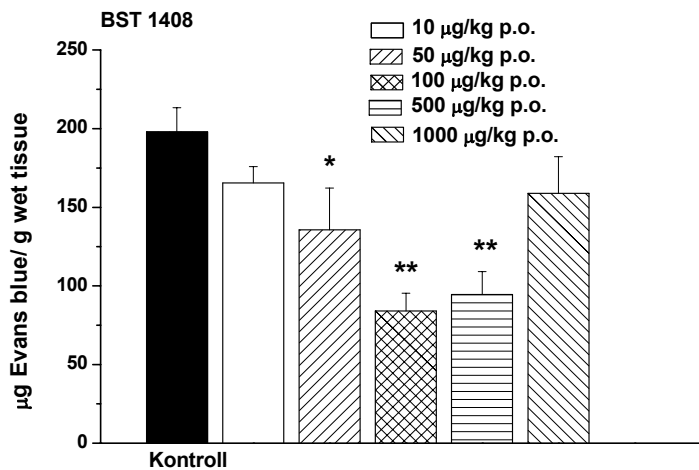
A vegyület kódja	Gátlás (%)
1401	47,5
1402	38,4
1403	62,1
1404	47,3
1405	42,2
1406	39,4
1407	43,6
1408	42,0
1410	28,5
1411	39,6

2. melléklet

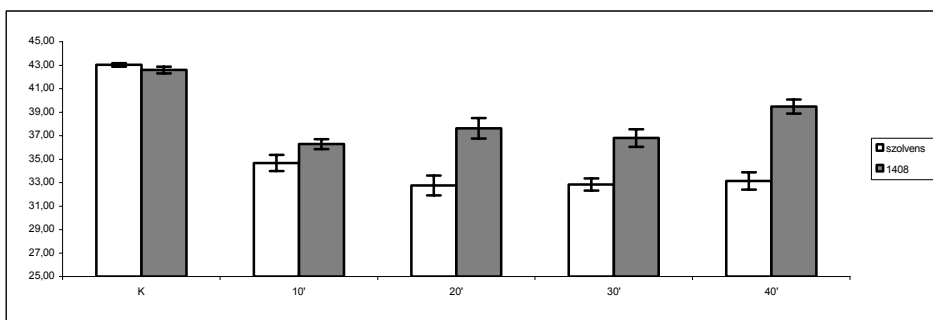


3. melléklet

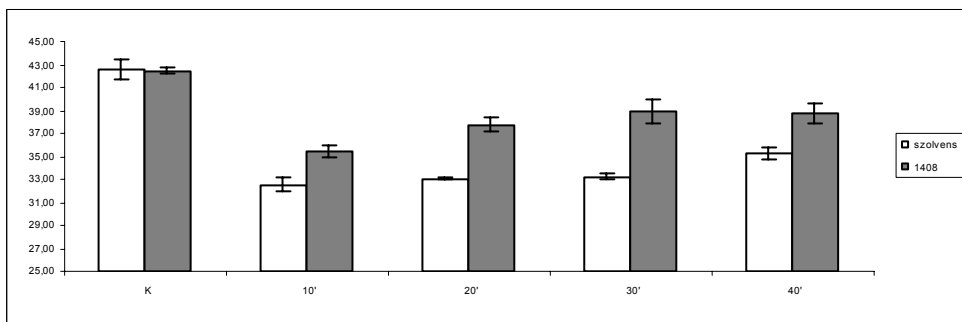




4. melléklet

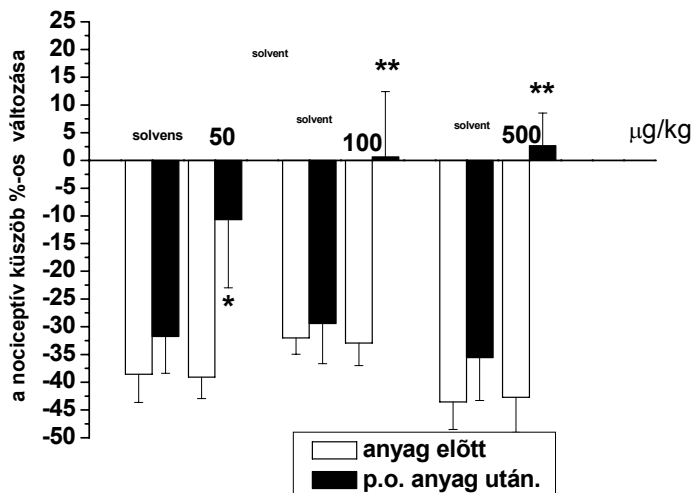


5. melléklet



6. melléklet

RANDALL SELITTO TESZT -BST-1404



1.4.1-2. altéma: Kapszaicin-tartalmú orális készítmények kifejlesztése cardiológiai és mozgásszervi betegek részére

Tervezett részfeladatok

1.4.1.1.	Kis- és normál dózisú COX-1 gátló- és capsaicin-tartalmú orális készítmények kifejlesztése kardiológiai betegek részére: A megfelelő összetételű gyógyszerkomponens előállítás.	Pannonpharma Kft. 100%	Pallos József Péter	2005.10.01 2006.03.31	Szöveges szakmai jelentés.
1.4.1.2.	Kis- és normál dózisú COX-1 gátló- és capsaicin-tartalmú orális készítmények kifejlesztése kardiológiai betegek részére: Humán fázis I. és fázis II. vizsgálatok.	PTE 100%	Prof. dr. Mózsik Gyula	2006.04.01 2007.09.30	Szöveges szakmai jelentés.
1.4.1.3.	Kis- és normál dózisú COX-1 gátló- és capsaicin-tartalmú orális készítmények kifejlesztése mozgásszervi betegek részére.	PTE 65% Pannonpharma Kft. 35%	Prof. dr. Mózsik Gyula	2007.10.01 2008.09.30	Szöveges szakmai jelentés és gyógyszertermék(ek).
1.4.2.1.	Kis- és normál dózisú COX-1 gátló- és capsaicin-tartalmú orális készítmények kifejlesztése mozgásszervi betegek részére: A megfelelő összetételű gyógyszerkomponens előállítás.	Pannonpharma Kft. 100%	Pallos József Péter	2005.10.01 2006.03.31	Szöveges szakmai jelentés.
1.4.2.2.	Kis- és normál dózisú COX-1 gátló- és capsaicin-tartalmú orális készítmények kifejlesztése mozgásszervi betegek részére: A megfelelő összetételű gyógyszerkomponens trombocita aggregációjának vizsgálata.	PTE 100%	Prof. dr. Mózsik Gyula	2006.04.01 2007.09.30	Szöveges szakmai jelentés.
1.4.2.3.	Kis- és normál dózisú COX-1 gátló- és capsaicin-tartalmú orális készítmények kifejlesztése mozgásszervi betegek részére: Humán fázis I. és fázis II. vizsgálatok	PTE 100%	Prof. dr. Mózsik Gyula	2007.10.01 2008.09.30	Szöveges szakmai jelentés és gyógyszertermék(ek)

PTE jelentése

Az 1.4.1.1. és az 1.4.1.2. illetve 1.4.2.1 és az 1.4.2.2. valamint az 1.4.1.3. és az 1.4.2.3. részfeladatok egymásra épülnek, jelenleg az 1.4.1.1. és az 1.4.2.1. részfeladat teljesítésén dolgozunk.

Fejlesztés célja

Orális, hatóanyagként capsaicint tartalmazó készítmény kidolgozása, iparjogvédelmi oltalom nyerése a készítmény(ek)re, a készítmények törzskönyvezése és forgalomba hozatala.

Hatóanyag beszerzés

A hatóanyag beszerzésre tett erőfeszítéseink csak a capsaicinre vonatkoztak, mivel az aspirin és a diclofenac beszerzése, minősített beszállítója nem jelent szakmai gondot.

Az orális capsaicin tartalmú készítmény kidolgozásához szükséges hatóanyag minősített beszállítójának felkutatása (ld. Sigma-Aldrich 2006 márc., ápr.28, CfPharma máj. 26., Plantakem ápr. 26 levelezései az irattárban) megtörtént, a beszállító személyének véglegesítése nagy valószínűséggel megtörtént (ld. Pannonpharma és a PTE szakmai megbeszéléseinek jegyzőkönyvei, az irattárban, valamint szept.07 levelezés, szept.15 levelezés dokumentumait).

A hatóanyagok és oldóanyagok beszerzését illetően előzetes állásfoglalást kértünk (capsaicin, aspirin, diclofenac, itraconazole, DMSO) az Országos Gyógyszerészeti Intézet Orvosbiológiai Főosztályától (ld. Dr. Gyurasics Ágnes Főosztályvezetővel való levelezés máj. 4). Majd állásfoglalást kértünk a capsaicin „quasi” gyógyszeralapanyag gyártás felszabadítás ügyében is (ld. máj. 4-i levél az irattárban) az OGYI-tól. Ideiglenes előzetes állásfoglalást kaptunk a capsaicin hatóanyagként történő alkalmazásához az OGYI-tól (ld júni. 20-i levelezés). A végleges és jóváhagyó állásfoglalást 2006 július 17-én kaptuk kézhez (ld irattár júl. 17-i levelezés).

Az ezt követő időszakban kezdtünk hozzá a DMF (Drug Master File) összeállításához szükséges teendők megtervezéséhez (ld. az irattári levelezések 2006 júl-aug-szep.).

A capsaicin végleges gyógyszer beszállítójaként a közös kutatások elvégzéséhez a Plantakem Vegyipari Kft-t egyszer elfogadtuk (2006. augusztus 8. ld. irattár), az USP-29 capsaicin-re vonatkozó előírásainak megtartása mellett. A végleges beszállítótól kapott DMF-re vonatkozó dokumentumokat beszereztük, a korrekt preklinikai dosszié és az ehhez szükséges DMF előállítására most is folyamatban van.

A klinikai farmakológia vizsgálatok analitikai módszereinek (capsaicin, dihydrocapsaicin, aszpirin, diclofenac mérése vérben illetve vizeletben) kidolgozása (PTE Gyógyszerészeti Kémiai Intézetében) csaknem befejeződött. A gyógyszer jelölt molekulák klinikai fázis I és II vizsgálatok elvégzésére az I. sz. Belgyógyászati Klinikán a műszeres háttér (monitorok beszerzése) biztosítása megtörtént.

Beszámolási időszakban végzett kísérletes munka

- Az egyetem részéről a capsaicin minősítésének ellenőrzésére 1 µg érzékenységű validált gázkromatografiás vizsgálati módszer került kidolgozásra, illetve honosításra (1. sz. melléklet).

- A PannonPharma Rt vezetésével történt szakmai egyeztetés alapján a gyógyszerfejlesztés illetve gyógyszer kivizsgálás során a capsaicin USP-29 szerinti HPLC vizsgálati módszer kerül alkalmazásra. A módszer alkalmazásának biztosítására a Gyógyszerészi Kémiai Intézetben egy HPLC berendezés került beszerzésre. Az analitikai módszer beállítása capsaicin illetve dihydrocapsaicin standardok segítségével megtörtént.

- A Gyógyszerészi Kémiai Intézet laboratóriumának akkreditációja folyamatban van. A műszer beszerzése párhuzamosan a Gyógyszerészi Kémiai Intézetben egy minta előkészítésére valamint HPLC és GC mérések végzésére alkalmas laboratóriumi környezet került kialakítására. A laboratóriumi egységek ISO szerinti minősítésének előkészületei megkezdődtek.

- Az a pontban említett módszerrel az eddig felmerült potenciális hatóanyag beszállító mintáinak capsaicinoidokra vonatkozó analízise megtörtént. Az analízisek végső eredményei a 2. sz. mellékletben található.

- Állatkísérletekben tovább folytattuk a capsaicin anticholinerg, histamin receptor blokkoló, valamint a proton pumpára ható gyógyszerek állatokban a gyomorsósav szekrécióra kifejtett gátló hatásainak molekuláris farmakológiai módszerekkel való összehasonlítását, mértük a különböző kémiai ágensek (sósav, alkohol, aspirin, indomethacin) okozta gyomornyálkahártya károsodásokra kifejtett védőhatások nagyságait. Meghatároztuk az egyes részekre vonatkozólag az affinitási és az intrinsic aktivitási görbék pD_2 és a pA_2 ($\alpha_{atropine}=1$) értékeit a 4 órás pylorus lekötött patkányok gyomorszekrécióin, valamint a kémiai ágensekkel létrehozott gyomornyálkahártya károsodások megelőzésére szolgáló hatások értékeit is (3. sz. melléklet: Mózsik, Dömötör, Abdel Salam, 2006).

- Patkányokban széntetraklorid adásával májkárosodást hoztunk létre, amelyet 10, 100 és 1000 µg/kg capsaicin adásával dóziszfüggő módon tudtuk kivédeni (4. sz. melléklet: Abdel Salam et al., 2006)

- Egészséges önkénteseken az indomethacin okozta gyomor microvérzés a COX-1 és COX-2 gátlásán keresztül érvényesül, amelyet orálisan adott capsaicinnel (200-400 µg) dózisban ki tudtunk védeni. A 400 µg dózisban alkalmazott capsaicin teljesen kivédte az indomethacin COX-1 COX-2 gátlás útján létrejött microvérzést (5a-5b mellékletek: Mózsik, Szolcsányi, Rácz 2006; 6. sz. melléklet: Mózsik, Szolcsányi, Dömötör 2006)

- Egészséges egyéneknél vizsgáltuk az orálisan (400µg) adott capsaicin hatását a 75 g cukorterhelés vizsgálatok ideje alatt a szérumban a glucose inzulin, C-peptid és glucagon szérumban szintjeit. Megállapítottuk, hogy capsaicin adásával a cukor felszívódása és a glucagon felszabadulása fokozható, anélkül hogy megváltozna a szérumban az inzulin és C-peptid szintje (7. sz. melléklet: Dömötör, Szolcsányi, Mózsik 2006).

- Krónikus gasztritiszben szenvedő betegekben – Helicobacter pylori pozitív és negatív esetekben specifikus immunohistokémiai módszerekkel vizsgáltuk a gyomornyálkahártya mintáiban a vaniloid (TRVP1) CGRP és SP megoszlásait. Az egészséges egyénekhez viszonyítva mindhárom anyag expressziója a gasztritiszben szenvedő betegekben megnövekedett, de a pozitív és negatív krónikus gasztritiszes betegekben nem volt különbség. (8. sz. melléklet: Dömötör et al. 2006).

Capsaicin toxicológiájára és a genotoxicitására vonatkozólag az irodalmat összegyűjtöttünk. Az irodalom áttanulmányozása alapján az állatkísérletekben

megnyugtató eredményt kaptunk az akut capsaicin toxicitásra, azonban a krónikus adagolására vonatkozólag nem találjuk elégségesnek az irodalmat. Ezért állatokon (rágcsáló és kutya) krónikus toxicitási vizsgálat elvégzése szükségesnek látszik. E kérdések megoldásához felvettük a kapcsolatot a Veszprémi Toxicológiai Központtal.

A capsaicin, aspirin, diclofenac és ezek kombinációinak az egészséges emberek trombocita aggregációjának vizsgálatára. (capsaicin+aspirin, diclofenac+capsaicin) protokoll készült (ld PannonPharma). A vizsgálatok szeptember-október hónapokban történnek kivitelezésre.

Iparjog védelem

Az ipari partner és a kutató hely is külön-külön szabadalomkutatást végzett. A szabadalom kutatás eredménye alapján a tervezett készítmények szabadalmaztathatóknak tűnnek. A szabadalmak benyújtásának előkészítésén az egyetem részéről az érdekelt kutatók, az Innovációs Transzfer Iroda segítségével és az ipari partnerrel együtt közösen dolgoznak.

Publikációs tevékenység

Közlemények:

Abdel-Salam OME, Sleem A. A., Hassan N. S., Sharaf H. A., Mózsik Gy: Capsaicin ameliorates hepatic injury caused by carbon tetrachloride in the rat. J. Pharmacol Toxicol. 1:147-156 2006.

Dömötör A., Kereskay L., Szekeres Gy., Hunyady B., Szolcsányi J., Mózsik Gy.: Involvement of the capsaicin-sensitive afferent nerves in the gastric mucosa of patients with Helicobacter pylori positive or negative chronic gastritis. Dig Dis Sci (in press).

Dömötör A., Szolcsányi J., Mózsik Gy: Capsaicin glucose absorption and utilization in healthy human subjects. Eur. J. Pharmacol. 534:280-283 2006.

Mózsik Gy., Szolcsányi J., Rácz I: Gastroprotection induced by capsaicin in healthy human subjects. World J Gastroenterol 11: 5095-5258, September 17, 2006/a

Mózsik Gy., Szolcsányi J., Rácz I: Gastroprotection induced by capsaicin in healthy human subjects. World J Gastroenterol 11: 5095-5258, September 17, 2006/b

Mózsik Gy., Dömötör A., Abdel Salam OME: Molecular Pharmacological approach to drug actions on the afferent and efferent fibres of the vagal nerves in the gastric mucosal protection in rats. Inflammopharmacology (in press)

Mózsik Gy., Szolcsányi J., Dömötör A: Capsaicin research as a new tool to approach of the human gastrointestinal Physiology, Pathology and Pharmacology. Inflammopharmacology (in press)

Perjési P., Molnár Sz., Kuzma M.: Capsaicinoidok természetes forrásból történő meghatározására alkalmas gázkromatográfiás módszer kidolgozása és alkalmazása. (előkészületben)

Abstractok:

Mózsik Gy., Rácz I., Dömötör A., Szekeres Gy., Szolcsányi J.: TRVP1 capsaicin receptors in the GI mucosal damage and protection in human healthy subjects and in patients with the different GI disorders. Acta Pharmacol. Sinica. Suppl. 1. Abstracts of the 15th World Congress of Pharmacology, July 2-7, 2006, Beijing, China, p 7. (9. sz. melléklet)

Karádi O., Dömötör A., Hideg K., Mózsik Gy.: The effects of omeprazole-like compounds on the gastric acid secretion and indomethacin-induced gastric mucosal damage in rats. Acta Pharmacol. Sinica. Suppl. 1. Abstracts of the 15th World Congress of Pharmacology, July 2-7, 2006, Beijing, China. p. 243. (10. sz. melléklet)

Rumi Gy., Dömötör A., Mózsik Gy.: Molecular interrelationships between the gastric mucosal protective effects produced by capsaicin and other drugs in rats. Acta

Pharmacol.Sinica.Suppl.1.Abstracts of the 15th World Congress of Pharmacology, July 2-7, 2006, Beijing, China. p.367. (11. sz. melléklet)

Dömötör A., Szolcsányi J., Mózsik Gy.: No changes in the acute and chronic gastric mucosal protective effects of capsaicin in healthy human subjects. Acta Pharmacol Sinica Suppl.1. Abstracts of the 15th World Congress of Pharmacology. July 2-7, 2006, Beijing, China. p.237. (12. sz. melléklet)

Mózsik Gy., Dömötör A.: Molecular pharmacological approach to drug acting on the afferent and efferent fibres of vagal nerve in the gastric mucosal protection (animal experiments and human observations). Digestion 73 Suppl.2, p 15. (13. sz. melléklet)

Mózsik Gy., Dömötör A., Rumi Gy.: Cytoprotective mechanisms of retinoids in rats, in healthy human subjects and in patients with different gastrointestinal disorders. Digestion 73 Suppl. 2, p 44. (14. sz. melléklet)

Mózsik Gy., Dömötör A.: Capsaicin research- as a new tool – to approach the human GI physiology and pathology. The International Mini-Symposium on Gastrointestinal Pharmacology – Tissue Injury, Protection and Healing. Program & Abstracts, p. 10. July 10, 2006. Kyoto, Japan. (15. sz. melléklet)

Pannonpharma jelentése

- A PannonPharma Kft. (PPh) feladattervet készített a törzskönyvi dosszié összeállításához szükséges feladatok elvégzésére. (1. melléklet: Capsaicin CTD követelmények szerinti feladatlista 4. verziója)

- A PPh 2006. június 20-án megbízást adott szabadalmi szakértőnek a magyarországi iparjogvédelmi/szabadalmi helyzet feltérképezésére. A szabadalmi szakértői jelentés 2006. június 23-án készült el, melyben megállapításra került, hogy a capsaicin és diclofenac kombinációban történő törzskönyvezésének és magyarországi forgalmazásának nincs akadálya. A szakértő a jelentésben javasolja a szabadalmi bejelentés előkészítését. Javasolja továbbá egy újabb szabadalomjogi elemzés elvégzését a gyógyszerkészítmény előállításának technológiai leírása és a készítmény konkrét összetétele birtokában. (2. melléklet: Szabadalmi szakértői jelentés)

- A Capsaicinre, mint növényi eredetű hatóanyagra, és az ebből készült készítményre vonatkozó irányelveket összegyűjtöttük, értékeltük (3. melléklet: irányelvek dosszié tartalomjegyzéke)

- Általános, növényi készítményekre vonatkozó európai irányelvek
- Általános, dokumentáció összeállítására vonatkozó európai irányelvek
- FDA irányelv
- Capsaicin tartalmú élelmiszerekre és gyógyszerkészítményekre vonatkozó irányelvek

- A Capsaicin (USP), Capsicum Oleoresin (USP) és Capsicum (Ph. Eur., USP) gyógyszerkönyvi cikkelyeit összegyűjtöttük, esetleges változásainak utánajártunk. Jelenleg a Ph Eur-ban nem található Capsaicinre, mint gyógyszerhatóanyagra vonatkozó cikkely. Az USP tartalmaz Capsaicin cikelyt, de e cikkely kritériumainak csak trópusi eredetű alapanyagból készített hatóanyag tesz eleget. Ezen okok kapcsán felvetődött annak a lehetősége, hogy hazai termesztésű alapanyagból készített hatóanyagra „házi szabvány” alapján állítsunk fel elfogadási kritériumokat.

- Felvettük a kapcsolatot egy lehetséges USP 26 minőségű capsaicin hatóanyaggal rendelkező szállítóval, a Plantakem Kft.-vel. Miután a PannonPharma és a Plantakem részéről is megtörtént a titkossági szerződés aláírása, eljuttatták a DMF nyilvános részét (2006.07.17), majd a bizalmas részt is (2006.08.14) a PPh-nak.

A Plantakem Capsaicin DMF-ét a PPh értékelté, a szükséges javításokat, kiegészítéseket eljuttatta a Plantakem Kft. részére (2006. 09. 15.). A gyógyszertermékben

felhasznált hatóanyagoknak a hatósági engedélyezéshez megfelelő DMF dokumentummal kell rendelkeznie. A Plantakem DMF dokumentuma a jelen állapotában hatósági engedélyezésre nem alkalmas, ezért szükséges a munkaterv bővítése.

A hatóanyagot hatóanyag gyártási engedéllyel rendelkező helyen kell gyártani. A Plantachem gyártófelülete jelenleg nem felel meg a gyógyszer hatóanyag gyártás előírásainak, ezért a feladatlista további bővítése elengedhetetlen.

A PPh. felkutatott további, USP minőségű capsaicint előállítani képes gyártókat, felvette velük a kapcsolatot annak érdekében, hogy megtudja, rendelkeznek-e megfelelő DMF-el. (Ashian Herbox LTD, Quingdao FTZ, Sichuan Guanghan Bio-Tech Co., LTD.) Az információcsere jelenleg folyamatban van. (5. melléklet: Capsaicin hatóanyag dosszié tartalomjegyzéke)

- A gyógyszer hatóanyag gyártásra felhasználható alapanyagok eredetét is az előírásoknak megfelelően kell igazolni és minőségbiztosítani (GACP)

A paprikatermesztésről, tiltott és megengedett növényvédőszerokről, szermaradványok megengedett mennyiségéről végzett a PPh információgyűjtést. Mivel a piacon lévő capsaicin készítmények gyártói többségében indiai eredetű paprikából dolgoznak, ezért a PPh különös hangsúlyt fektetett az Indiában és Magyarországon tiltott növényvédő szerek összehasonlítására. (6. melléklet: Növényvédelem dosszié tartalomjegyzéke)

- A PPh készített egy protokoll-tervezetet NSAID (Aszpirin, Diclofenac) gyógyszerek és capsaicin interakció trombocita funkcióra gyakorolt hatásának vizsgálatára humán véren. A tervezet jelenleg szakmai értékelés és módosítás alatt áll. (7. melléklet: Preklinikai dosszié tartalomjegyzéke)

- A preklinikai dosszié összeállítása nehézségekbe ütközhet az irodalmi adatok hiányossága és megbízhatatlansága miatt. A preklinikai adatokat megfelelő irodalmi szakértői jelentéssel kell igazolni, ennek hiányában GLP-vel rendelkező vizsgálóhelyen a szükséges vizsgálatokat el kell végezni. A PPh részéről Kürthy Mária megkereste Hirka Gábort, a Veszprémi Toxikológiai Kutatóközpont vezetőjét, hogy a szükséges preklinikai vizsgálatokról tájékozódjon.

- A gyógyszerforma kialakítására vonatkozóan a hatóság felé indokolni kell a segédanyagok kiválasztásának mikéntjét és módját. Felállítottuk a hatóanyag kémiai kompatibilitási kritériumainak megfelelő hipotetikus összetételét, melynek a gyógyszerészkémiai szakvéleményezését és vizsgálatát megkezdjük. A PPh összeállított egy lehetséges capsaicin kapszula és tableta összetétel javaslatot, valamint a kapszula gyógyszerforma vizsgálatára egy analitikai előirat tervezetet. (8. melléklet: Technológia dosszié tartalomjegyzéke)

- Irodalomkutatás: (9. melléklet: Irodalom dosszié tartalomjegyzéke)

- Kürthy Mária a trombocita funkció vizsgálat elvégzéséhez írt protokoll elkészítéséhez végzett irodalomkutatást.
- A szükséges preklinikai vizsgálatok feltérképezéséhez, valamint a preklinikai dosszié összeállításához szükséges irodalomkutatás folyamatban van.
- Prof. Dr. Mózsik Gyula által végzett PubMed keresés eredményeképpen kapott 1024 találatból álló cikk cím-lista feldolgozását végzi a PPh. (10. Melléklet: PubMed cikkek feldolgozásának összesítő táblázata). Célszerű lenne az előzetes ismeretanyag alapján használható mennyiségű és minőségű adatbázis létrehozása.

- A PannonPharma Kft. és a Pécsi Tudomány Egyetem között az alábbi megbeszélések zajlottak capsaicin témában:

- 2006. február 14., PTE ÁOK
- 2006. február 28., PannonPharma Kft., Pécsvárad

- 2006. június 13., PannonPharma Kft., Pécsvárad
 - 2006. július 4., PannonPharma Kft., Pécsvárad
 - 2006. augusztus 8., PannonPharma Kft., Pécsvárad
 - 2006. szeptember 5. PannonPharma Kft., Pécsvárad
- (11. melléklet: megbeszélés dosszié tartalomjegyzéke)

Mellékletek jegyzéke

1. Melléklet: Capsaicin feladatterv 4. verzió
2. Melléklet: Szabadalmi szakértői jelentés
3. Melléklet: Irányelvek dosszié tartalomjegyzék
4. Melléklet: Alapanyag, analitika dosszié tartalomjegyzéke
5. Melléklet: Capsaicin DMF dosszié tartalomjegyzéke
6. Melléklet: Növényvédelem dosszié tartalomjegyzéke
7. Melléklet: Preklinikai dosszié tartalomjegyzéke
8. Melléklet: Technológia dosszié tartalomjegyzéke
9. Melléklet: Irodalom dosszié tartalomjegyzéke
10. Melléklet: PubMed cikkek feldolgozásának összesítő táblázata
11. Melléklet: Megbeszélés dosszié tartalomjegyzéke

1.4.3 altéma: Helyi kezelésre alkalmas gombaellenes készítmény kifejlesztése

Tervezett részfeladatok

1.4.3.1.	Lokális kezelésre alkalmas antifungális készítmény (ecsetelő szer, lakk, kenőcs) kifejlesztése ismert, nagy hatékonyságú hatóanyag (pl. itraconazol) alkalmazásával: A megfelelő összetételű gyógyszerkomponens összeállítása.	Pannonpharma Kft. 100 %	Pallos József Péter	2005.10.01 2006.03.31	Szöveges szakmai jelentés.
1.4.3.2.	Lokális kezelésre alkalmas antifungális készítmény (ecsetelő szer, lakk, kenőcs) kifejlesztése ismert, nagy hatékonyságú hatóanyag(pl. itraconazol) alkalmazásával: A megfelelő összetételű gyógyszerkomponens humán tolerálhatósági vizsgálata	PTE 100%	Prof. dr. Mózsik Gyula	2006.04.01 2007.09.30	Szöveges szakmai jelentés.
1.4.3.3.	Lokális kezelésre alkalmas antifungális készítmény (ecsetelő szer, lakk, kenőcs) kifejlesztése ismert, nagy hatékonyságú hatóanyag (pl. itraconazol) alkalmazásával: Humán fázis I. és fázis II. vizsgálatok	PTE 100%	Prof. dr. Mózsik Gyula	2007.10.01 2008.09.30	Szöveges szakmai jelentés és gyógyszertermék(ek).

PTE jelentése:

Az 1.4.3.1 és az 1.4.3.2 valamint az 1.4.3.3. részfeladatok egymásra épülnek, jelenleg az 1.4.3.1. részfeladat teljesítésén dolgozunk.

Fejlesztés célja

Lokális (ecsetelő, lakk), hatóanyagként itraconazole-t tartalmazó készítmények kidolgozása, iparjogvédelmi oltalom nyerése a készítményekre, a készítmények törzskönyvezése és forgalomba hozatala.

Hatóanyag beszerzés

Az itraconazol hatóanyag beszerzése minősített beszállítótól 2006 augusztus hónap elején megtörtént (ld. irattár minőségi bizonylatok).

A készítmények kidolgozásához szükséges de eddig még hiányzó egyéb anyagok beszerzése minősített beszállítótól (így DMSO, t.-Bu-Me-éter) 2006 augusztus hónap folyamán megtörtént.

Beszámolási időszakban végzett kísérletes munka

Az itraconazole mennyiségi meghatározására alkalmas fluoreszcenciás detektorral kapcsolt HPLC módszer kidolgozása itraconazole standard alkalmazásával megkezdődött.

Quantitatív spektrofotometriás és spektrofotofluorimetriás mérő módszert dolgoztunk ki az itraconazole koncentrációjának mérésére különböző oldószerekben és aromás vegyületeket nem tartalmazó oldószer elegyekben. A spektrofotometriás módszer 25-250 µg/5 ml minta tartományban alkalmazható (16. sz. mellékletek (3 munkalap), kalibrációs görbe és statisztikai jellemzők). A spektrofotofluorimetriás módszer érzékenysége egy nagyságrenddel nagyobb, a meghatározható anyagmennyiség egy nagyságrenddel kisebb.

Az ecsetelő oldószer összetételének rögzítéséhez különböző oldószerekben megvizsgáltuk a hatóanyag oldhatóságokat. A tájékoztató jellegű adatokat mellékletben (itraconazole oldhatósága, 17. sz. melléklet) táblázatos formában csatoljuk.

Piknométeres sűrűség mérési módszert dolgoztunk ki a kristályos és amorf itraconazole relatív sűrűségének a mérésére. Megállapítottuk, hogy a szilárd itraconazole vízre vonatkoztatott relatív sűrűsége a mérések tanulsága szerint 1.34-1.37 g/ml.

Az elvégzett mérések indoklása

a oldhatósági mérések: A Hatósággal folytatott tájékoztató jellegű megbeszélést követően kiderült, hogy az eredetileg elképzelt oldószer összetétel (annak halogénezett szénhidrogén tartalma miatt) a törzskönyvezés során esetleg kifogásolható. Ezért a diklórmetan kiváltására új oldószer összetételre van szükség, amelyben az itraconazole megfelelő mennyiségben oldható.

b Az itraconazole sűrűségének a mérését az tette szükségessé, hogy olyan összetételű lakk kerüljön kialakításra, amely lehetővé teszi, hogy a lakkban bevitt hatóanyag a lakk kontakt felületű oldalán dúsuljon.

Eredmény

A fenti mérések alapján kialakult egy halogénezett oldószertől mentes ecsetelőhöz alkalmazandó oldószer elegy összetétel. Ezen oldószer összetétellel október hónapban megindulhatnak az engedélyezési eljáráshoz szükséges stabilitási vizsgálatok.

Iparjog védelem:

ld. 1.4.1.1- 1.4.2.1. részfeladatnál

Pannonpharma jelentése

- A PannonPharma Kft. (PPh) feladattervet készített a törzskönyvi dosszié összeállításához szükséges feladatok elvégzésére. (1. Melléklet: Itraconazol feladatlista 2. verzió)

A PPh 2006. június 29-én megbízást adott szabadalmi szakértőnek a magyarországi iparjogvédelmi/szabadalmi helyzet feltérképezésére. A szabadalmi szakértői jelentés 2006. július 11-én készült el, melyben megállapításra került, hogy jelenleg az előkészítés időszakában törzskönyvezése és magyarországi forgalmazása szabadalmilag független minden más szabadalmi jogaitól, így az szabad megoldásnak tekinthető. Javasolta a gyógyszerkészítmény előállításának technológiai leírása és a

készítmény konkrét összetétele birtokában egy újabb szabadalomjogi elemzés elvégzését, .hogya gyógyszerkészítmény forgalmazása nem sért-e Magyarországon egy harmadik fél szabadalmi jogait. (2. Melléklet Szabadalmi szakértői jelentés)

- A készítmény formulálásával kapcsolatos kísérletekhez a PPh biztosította az alapanyagokat Dr. Past Tibor számára. Ezzel kapcsolatban a PTE anyagrendelését felvettük, a kért Itrakonazol hatóanyagot, DMSO-t, terc-butil-metil-étert beszereztük, és a PTE rendelkezésére bocsátottuk. A 2006 augusztus 8-i megbeszélésünk során konzultáltunk a formulálással kapcsolatban. Ennek folyományaként a kipróbálásra érdemesnek tartott Degalan anyagból is küldtünk mintát a PTE-nek formulációs kísérleteihez. Ezen kísérletek eredményeiről, és további szükséges lépéseiről konzultáltunk a PTE-vel 2006 szeptember 9-i megbeszélésünk során. Ekkorra Dr. Past Tibor tudott javasolni egy pilot termékhez (ecsetelő) formulát. Ennek preformulációs és stabilitásvizsgálatának megkezdéséről döntés született. A hatóanyag kémiai kompatibilitási kritériumainak megfelelő hipotetikus összetételét, melynek a gyógyszerész-kémiai szakvéleményezését és vizsgálatát megkezdjük.

- Irodalomkutatás:

A PPh végzett irodalomkutatást a konkurens termékekről, ill. az itraconazol hatóanyagról. Ezen kívül irodalmaztunk az itraconazol hatóanyag más antifungális szerekkel való kölcsönhatásáról a rezisztenciák kialakulását tekintve. Mózsik professzortól kaptunk irodalmat a DMSO toxicitásáról. A formulációhoz felhasználható segédanyagokkal kapcsolatban is folytattunk kutatást, más termékek, vagy kísérleti készítmények összetételéről. (3. Melléklet: Itraconazol dosszié tartalomjegyzék)

- Megbeszélések

1. RET Megbeszélés 2006. június 13.
2. RET Megbeszélés 2006. augusztus 8.
3. RET Megbeszélés 2006. szeptember 5.

Mellékletek

1. Itraconazol feladatlista 2. verzió
2. Szabadalmi szakértői jelentés
3. Itraconazol dosszié tartalomjegyzék

1.5. altéma: A gyógyszerhatóanyagok bomlásának és stabilitásának vizsgálata

Tervezett részfeladatok

1.5.1.	Laborfejlesztés, dokumentációs rendszer kialakítása; Uregyt tableta hatóanyaga bomlásának vizsgálata. Bomlástermékek szintézise.	PTE Orvosi és Egészségtudományi Centrum, Gyógyszerészi Kémiai Intézet Pannonpharma Kft	Dr. Perjési Pál	2005.10.01. 2006.09.30.	Stabilitásvizsgálatok elvégzésére alkalmas laboratórium és laboratóriumi információs rendszer kialakítása az Uregyt tableta hatóanyaga bomlási folyamatának megismerése.
1.5.2.	Kiválasztott hatóanyagok irodalomban ismert bomlási folyamatainak elemzése, Etakrinsav-, kapszaicin- és N-acetil-ciszteintartalmú készítmények stabilitásvizsgálata			2006.10.01. 2007.12.31.	A kiválasztott hatóanyagok bomlási folyamatait összegző adatbázis létrehozása; etakrinsav, kapszaicin és N-acetil-ciszteintartalmú készítmények stabilitásának megismerése.

PTE jelentése

1.5.1. Laborfejlesztés, dokumentációs rendszer kialakítása; Uregyt tableta hatóanyaga bomlásának vizsgálata. Bomlástermékek szintézise

Fejlesztés célja

A PTE Gyógyszerészi Kémiai Intézetében kialakítandó vizsgáló laboratórium fejlesztésének célja, hogy a kialakítandó laboratóriumban a gyógyszerformulálás, valamint a gyógyszerfejlesztés során keletkező minták elemzése a gyógyszergyártás, illetve a gyógyszerfejlesztés során előírt követelményeknek megfelelő minősítéssel rendelkező laboratóriumi környezetben elvégezhető legyenek.

A 2006. októberig eltelt időszakban részben a RET, nagyobb részben a PTE fejlesztési keretének terhére az Intézetben kialakításra került egy mintaelőkészítésre, illetve egy a HPLC, valamint egy GC a mérések elvégzésére alkalmas, internet valamint telefonkapcsolattal rendelkező laboratórium.

Az intézet RET költségvetésének terhére beszerzésre került egy DAD és fluoreszcencia detektorral működő HP 1100 HPLC rendszer. A GC laboratóriumban egy FID és NP detektorral ellátott HP 5890 Series II gázkromatográf működik.

Az építési munkák befejezését, illetve a műszerbeszerzést követően megkezdődtek az előkészületek a laboratórium jövő évben tervezett ISO/GLP akkreditációjára.

Az Uregyt tabletta hatóanyaga bomlásának vizsgálata. Bomlástermékek szintézise.

Az Uregyt tabletta hatóanyaga (etakrinsav) bomlásának vizsgálata a Pannonpharma KFT által kezdeményezett kutatási projekt. Az etakrinsav Uregyt tablettában lejátszódó bomlási folyamatának elemzése érdekében a tiszta szubsztancia különböző stressz körülmények (pl. termikus és oxidatív stressz, UV-besugárzás, savas hidrolízis) között végzett stabilitásvizsgálatát végeztük el. A különféle stresszhatásoknak kitett minták analízisét az etakrinsav Ph. Hg. VIII. szerinti vékonyrétegekromatográfiás (VRK), illetve az irodalomban korábban publikált fordított fázisú HPLC módszer alkalmazásával végeztük. A várhatóan keletkező metabolitokat (pl. epoxidszármazék, dimer, vízaddukt) a szerves kémiában ismert reakciók útján szintetizáltuk, és azokat felhasználtuk a különféle stresszhatásnak kitett minták analízise során. A tapasztalatok alapján javaslatot tettünk a tabletta készítés technológiájának megváltoztatására. A javasolt, módosított technológia alapján legyártott tabletták stabilitásvizsgálata folyamatban van. Az eddigi (0 és 30 napos minták) vizsgálatok során megállapítható volt, hogy a módosított technológia szerint gyártott Uregyt tabletták etil-acetátos extraktumaiban VRK és HPLC módszer segítségével sem volt kimutatható az etakrinsavtól különböző vegyület. (1. melléklet)

1.5.2. Kiválasztott hatóanyagok irodalomban ismert bomlási folyamatainak elemzése, Etakrinsav-, kapszaicin- és N-acetil-cisztein-tartalmú készítmények stabilitásvizsgálata

Az *etakrinsav* és a kapszaicin bomlási folyamatainak kísérletes vizsgálata céljából az etakrinsav és metabolitjainak/bomlástermékeinek elválasztására, valamint az etakrinsav mennyiségi meghatározására alkalmas fordított fázisú HPLC módszer került beállításra. Az analitikai módszer beállítása mellett optimalizált extrakciós módszer kimunkálására került sor, melynek alkalmazásával elvégeztünk mintegy ötven, különböző gyártási technológiával készült Uregyt tabletta hatóanyagának meghatározását, valamint a hatóanyag bomlástermékeinek kvalitatív vizsgálatát (lásd 1.5.1. pont).

A *kapszaicin* tartalmú gyógyszerek fejlesztésének alapjául szolgáló kapszaicin minták összetételének elemzése céljából tömegspektrometriával kapcsolt gázkromatográfiás módszert (GC-MS) dolgoztunk ki és alkalmaztuk a korábbi biológiai vizsgálatok során használt Sigma kapszaicin preparátum vizsgálatára. Saját GC-MS méréseink során a deklarált két fő komponensen (kapszaicin és dihidrokapszaicin) kívül három további, kisebb mennyiségben jelen lévő komponenst azonosítottunk, melyek a következők: nordihidrokapszaicin, homokapszaicin és homodihidrokapszaicin. A három minor komponens közül a legnagyobb mennyiségben a nordihidrokapszaicin volt megtalálható a vizsgált mintákban (2. melléklet).

A kidolgozott módszer alkalmazásával analízisre kerültek a PTE ÁOK Egyetemi Gyógyszertára által gyártott, egyenként 400 mikrogramm kapszaicin tartalmú kapszulák is, melyek a „Készítési és vizsgálati jegyzőkönyv” alapján a Sigma-Aldrich cégtől beszerzett Capsaicin natural preparátumból készültek. A termék GC-FID és GC-MS vizsgálata alapján abban öt vegyület volt kimutatható, melyek a következők: nordihidrokapszaicin, kapszaicin, dihidrokapszaicin, homokapszaicin, valamint homodihidrokapszaicin.

További vizsgálataink céljából az Intézet által beszerzésre kerültek a.) FLUKA Capsaicin Puriss., $\geq 99,0\%$ (HPLC), b.) Cayman Dihydrocapsaicin ($\geq 98\%$), c.) FLUKA Capsaicin natural (~65% HPLC capsaicin) és d.) Sigma N-vanillynonamide (min. 97%) preparátumok. A korábbi mérések során azonosított további három vegyület (nordihidrokapsoicin, homokapsoicin, homodihidrokapsoicin) jelenleg a kereskedelemben nem beszerezhető.

A beszerzett preparátumok GC-MS módszerrel történő vizsgálatának eredményei a következők:

A PTE ÁOK I. sz. Belgyógyászati Klinikával ill. a Pannonpharma Rt-vel történt megbeszélést követően Prof. Dr. Mózsik Gyula telefonos kapcsolatot vett fel Zoltai Attila vegyész kollegával, aki természetes eredetű, az említett két fő kapszaicinoidot meghatározott %-ban tartalmazó magyar terméket forgalmaz. A beszélgetést követően Zoltai Attila két gyártási tételből származó egy-egy mintát adott át az Intézetnek, aminek vizsgálatát a korábbi minták vizsgálataihoz hasonlóan végeztük el. A mérés eredményei a következők:

A kapszaicin az USA Gyógyszerkönyvben USP-ben hatóanyagként szerepel, tehát gyógyszerkönyvi minőségben elérhető. Az Amerikai Gyógyszerkönyv (USP 29) a kapszaicin meghatározására egy HPLC módszert ír elő, ennek beállítása Intézetünkben folyamatban van. (3. sz. melléklet)

Az N-acetil-cisztein (NAC) stabilitásvizsgálatát a Pannonpharma Rt és a PTE ÁOK Gyógyszertechnológiai Intézet korábban megkezdett együttműködése folytatásaként a RET munkája keretében is a PTE ÁOK Gyógyszertechnológiai Intézet végezte. Ugyanakkor, a PTE ÁOK Gyógyszerészi Kémiai Intézet a PTE ÁOK I. sz. Belgyógyászati Klinika munkatársaival (Prof. Dr. Mózsik Gyula és Dr. Past Tibor) együttműködve, bekapcsolódott az itrakonazol tartalmú gyógyszerkészítmény fejlesztéséhez szükséges analitikai vizsgálatok végzésébe. Az itrakonazol standard beszerzését követően megkezdődött az itrakonazol mennyiségi meghatározására alkalmas fordított fázisú HPLC módszer beállítása. (4. sz. melléklet)

Publikációs tevékenység

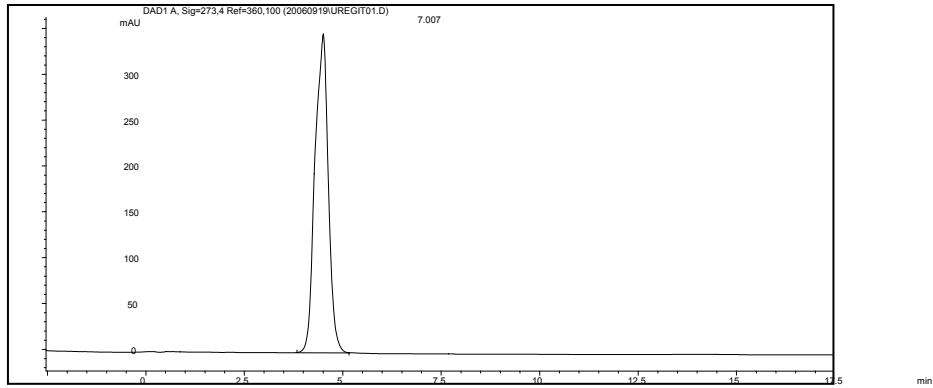
Perjési P., Molnár Sz., Kuzma M.: Capsaicinoidok meghatározására alkalmas gázkromatográfiás módszer kidolgozása és alkalmazása (előkészületben)"

Pannonpharma jelentése

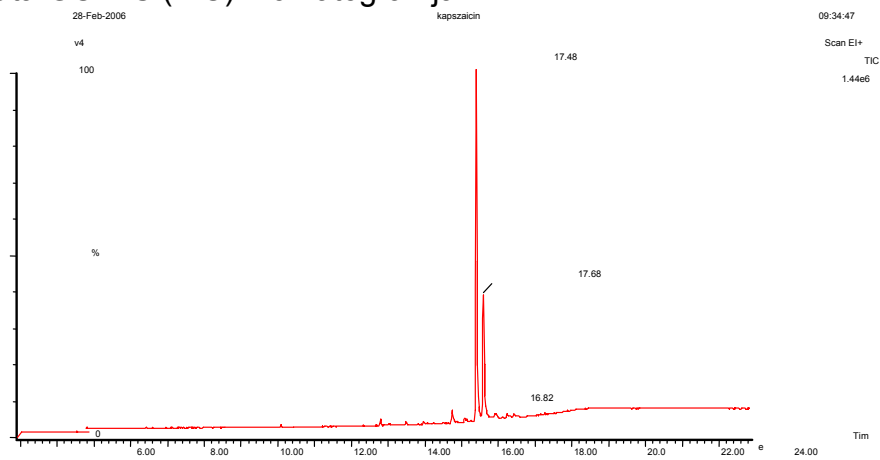
- A PannonPharma Kft. (PPh) feladattervet készített az Uregyt tableta törzskönyvi dosszié összeállításához szükséges feladatok elvégzésére. (*Uregyt_terv_01.xls*)
 - A PPh kísérleti gyártást végzett. (*Uregyt tableta e004v02.doc* – Kísérleti Gyártási Engedély)
 - A Kísérleti Gyártás alapjául szolgáló dokumentumok
 - Kísérleti Gyártási Engedély
 - Technológiai előírat: PPD-20-TE-021.02
 - Laboratóriumi kísérleti jegyzőkönyv (direkt préselés)
 - Gyártási lapok: PPD35KGYL004V02_1, PPD35KGYL004V02_2
 - A PPh stabilitás vizsgálatokat végzett és végez a PPD-ST-096-1/06 számú stabilitás vizsgálati terv alapján
 - Kísérleti vizsgálati eredmények (*fejlesztés_osszehasonlítás.doc*)

- Stabilitási vizsgálati eredmények (*F-010_04_2-jel1ho40.doc*)
- A PPh átadta a Gyógyszerészeti Kémiai Intézetnek a 0. időpontbeli (*mint_a_tadas_0_ido.pdf*), valamint az 1 hónapos, 40°C 75%RH körülmények közt tárolt mintákat (*mint_a_tadas_1_honap.pdf*)
- A gyógyszerkémiai fejlesztéssel kapcsolatos megbeszélések a PPh és a Gyógyszerészeti Kémiai Intézet között:
 - A feltárt kémiai eredetű instabilitási tényezők alapján a módosított kísérleti gyártással a biztató laboratóriumi méretű eredmények alapján a gyártás reprodukálhatósági sarzsméreteknak megfelelő hatóanyag beszerzése folyamatban van
- Megbeszélések:
 - 2006. 02. 14.
 - 2006. 02. 28. (*20060228_RET_jav.doc*)
 - 2006. 06. 13. (*RET_emlekezteto_060613_V03.doc*)
 - 2006. 08. 08. (*20060808-RET-emlekezteto_PTE-PPh.doc*)
 - 2006. 09. 05. (*2006-09-05-emlekezteto-RET4.doc*)

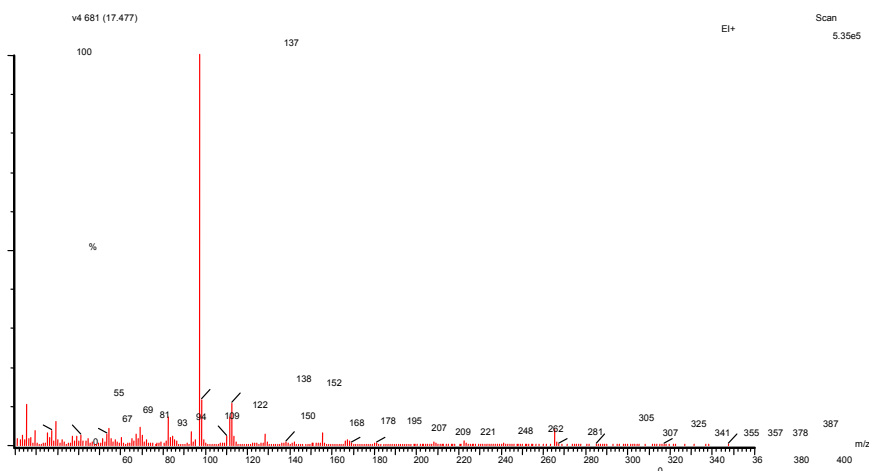
1. melléklet Az etakrinsav standard HPLC kromatogramja



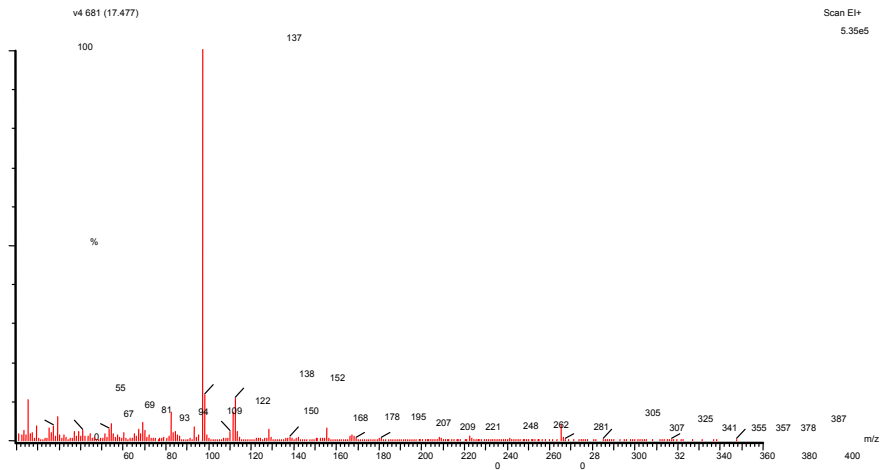
2. melléklet a Sigma kapszaicin termék 400 mikrogram/mL koncentrációjú etil-acetátos oldata GC-MS (TIC) kromatogramja.



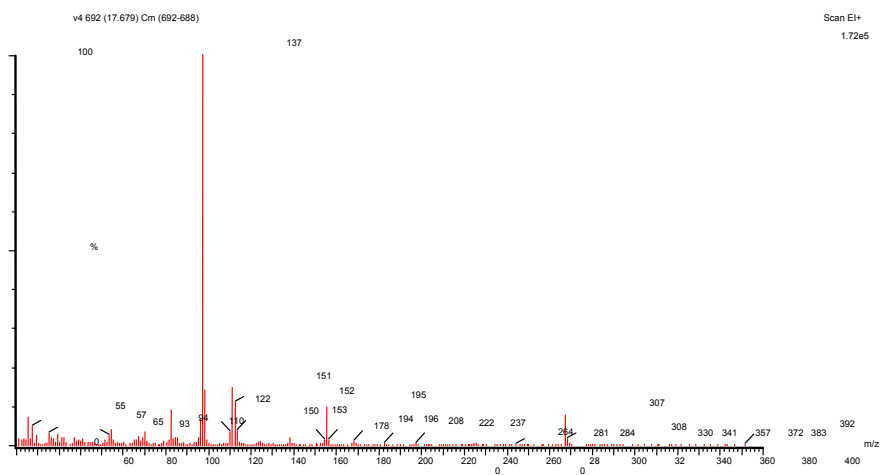
16.82 perc: nordihidrokapcszaicin



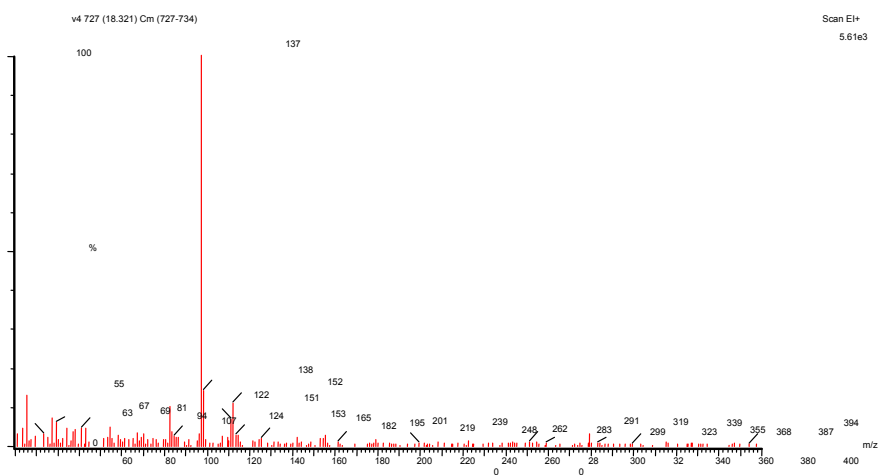
17.48 perc: kapszaicin



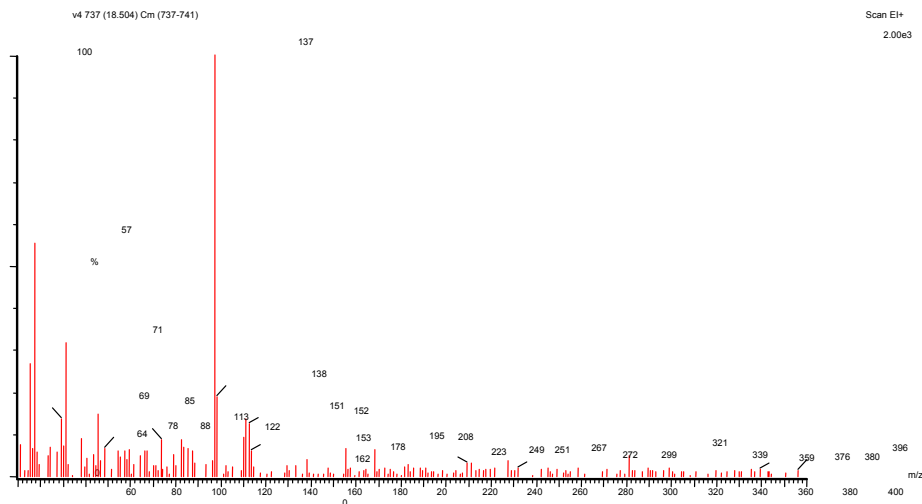
17.68 perc: dihidrokapszaicin



18.32 perc: homokapszaicin

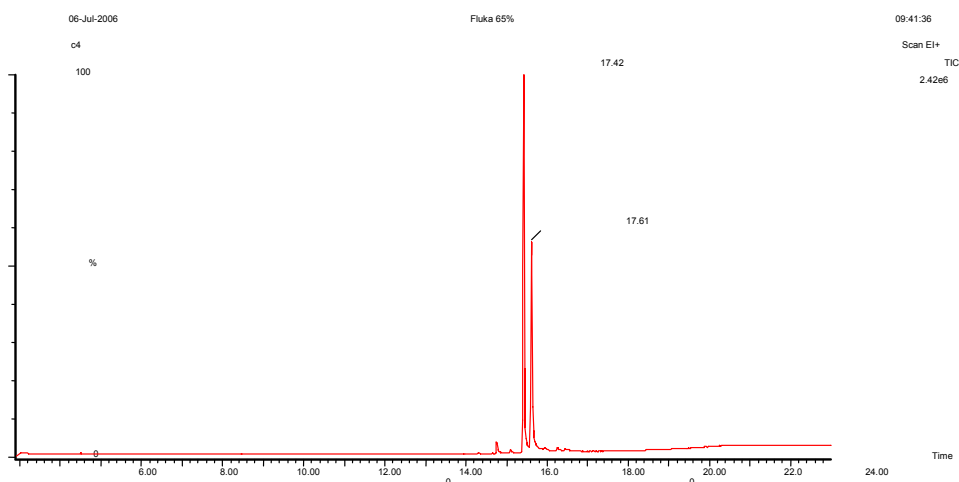


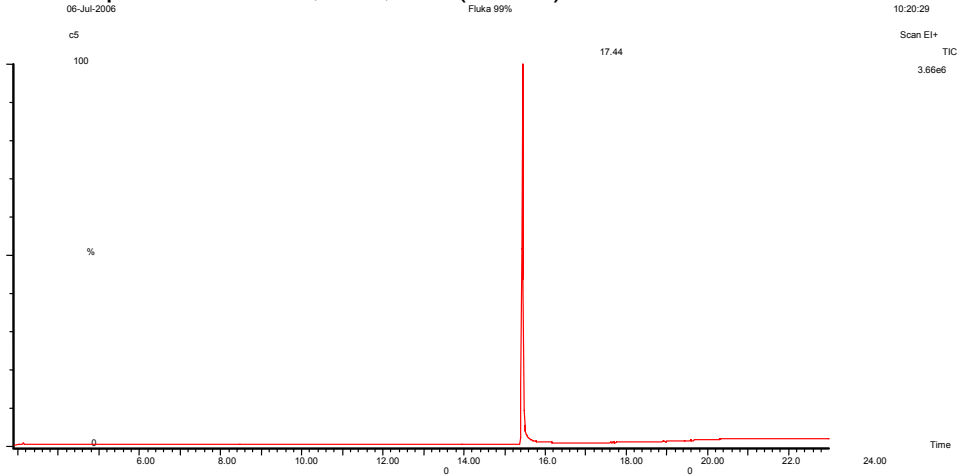
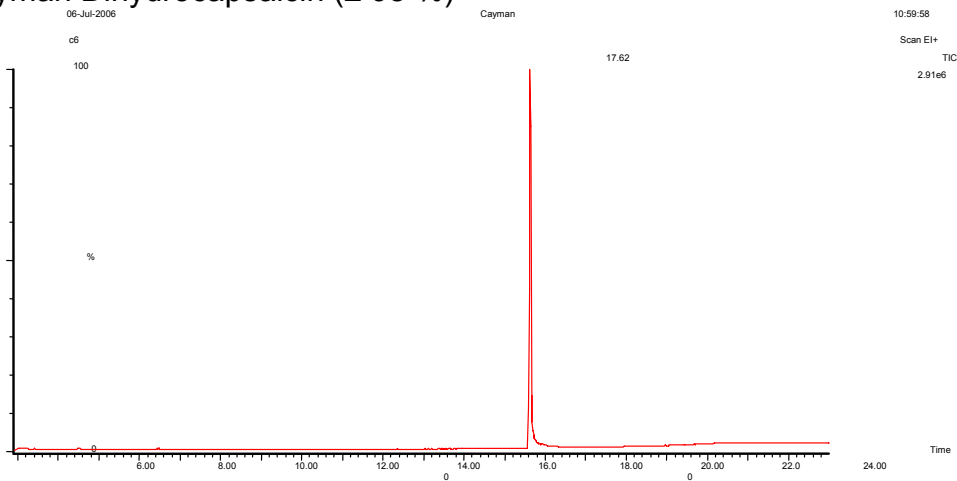
18.50 perc: homodihidrokapsozin



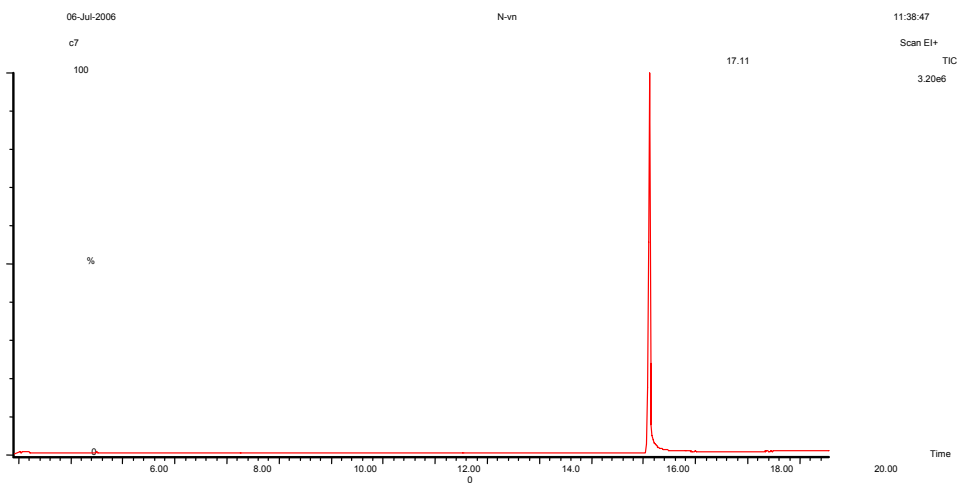
3. melléklet A beszerzett preparátumok GC-MS módszerrel történő vizsgálatának eredményei a következők:

FLUKA capsaicin natural



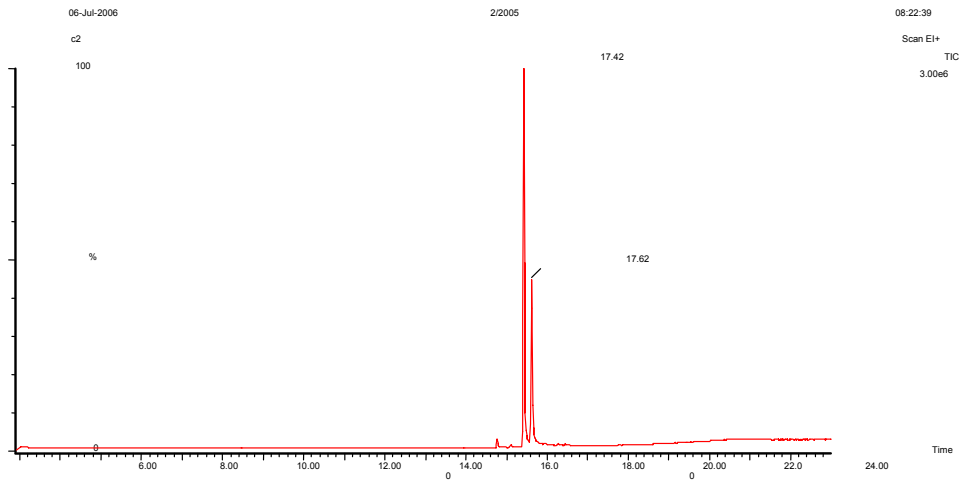
FLUKA Capsaicin Puriss., $\geq 99,0\%$ (HPLC)Cayman Dihydrocapsaicin ($\geq 98\%$)

Sigma N-vanillilnonamide (min. 97%)

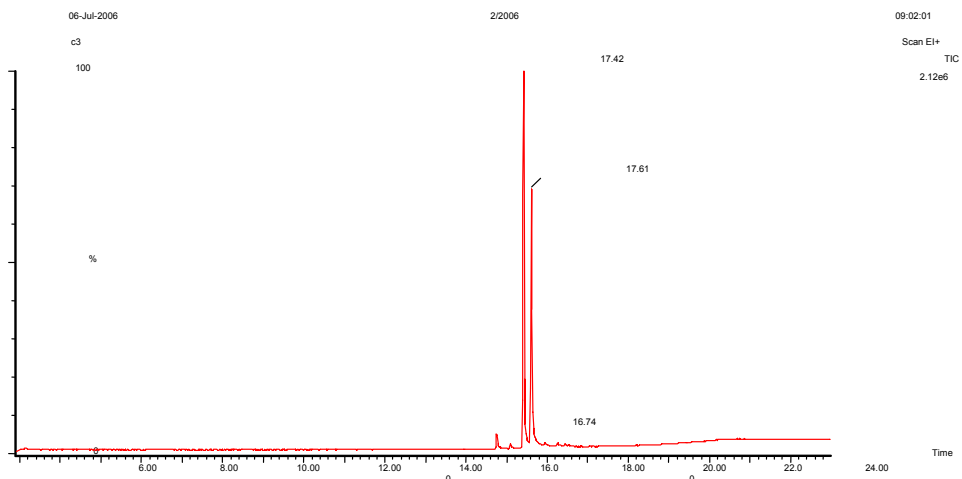


4. melléklet Az itraconazol standard fordított fázisú HPLC kromatogramja.

-a: 2/2005. számú természetes kapszaicin minta analízise:



- b: 2/2006. számú természetes kapszaicin minta analízise:



1.6. altéma: Gyártástechnológiai korszerűsítés

Tervezett részfeladatok

1.6.1.	Laborfejlesztés; Formulálás 1; Elővizsgálatok 1.	PTE 100%	Dr. Dévay Attila	2005.10.01. 2006.09.30.	Gyógyszergyártó és vizsgáló laboratóriumok kialakítása 1. készítmény gyártástechnológiai, fejlesztési javaslatok megadása, tapasztalatainak összefoglalása.
--------	---	-------------	---------------------	----------------------------	--

PTE jelentése

A Dr. Dévay Attila által vezetett újonnan alapított Gyógyszertechnológiai Intézet a régió gyógyszeripara új termékstruktúrájának bővítéséhez járul hozzá az alábbi feladatok ellátásával.

- A készítmény hatóanyagvédelmének eltarthatóságának biztosítása technológia módszerek alkalmazásával.
- A hatóanyagok fizikai, kémiai és farmakológiai tulajdonságai alapján a biofarmáciai, farmakokinetikai paraméterek figyelembevételével intézeti vizsgálati módszerek alkalmazásával, a nemzetközi minőségi követelményrendszer alapján a készítmény gyártásának szükség szerinti módosítása, megfelelő segédanyagok alkalmazásával.
- A paraméterek kvalitatív és kvantitatív jellemzésével a technológiai eljárások összetett vizsgálata, paraméterek optimalizálása hatékony és korszerű statisztikai módszerek, speciálisan sokparaméteres gyógyszertechnológiai eljárásokra előzetesen kifejlesztett számítógépes szakértői rendszer alkalmazásával.
- A készítményeknek mint korszerű, a gyógyszerpiacon jól értékesíthető hatóanyag-leadó rendszereknek továbbfejlesztése a biztonságos adagolhatóság, optimális terápiás hatás elérésnek biztosítása.
- Javaslat a gyártási előírat, az alkalmazott berendezések, a gyártási körülmények, új segédanyagok bevezetésével a készítmény összetételének, gyártásának szakmailag indokolt megváltoztatására.
- A Pannonpharma Kft-vel közös megállapodás keretében 3 készítmény gyártásának felülvizsgálata, szükség szerinti átdolgozása, korszerűsítése.

Célkitűzések

- Gyógyszerészeti vizsgálatok: gyógyszerészeti megvalósíthatóság és követelményrendszer kijelölése és következetes érvényesítése, az együttműködésben résztvevő partnerek (konzorciumi partnerek) „termék-orientált” menedzselésének összefogása.
- Az alapanyagok minőségi-, mennyiségi- és tisztaságvizsgálatának kidolgozása, alapvetően „gyógyszerkönyvi” szemlélettel. A humán célra felhasználható termékkel szemben meghatározott és elvárt gyógyászati termékminőségi paraméterek (specifikáció) kijelölése, azok vizsgálati beállítása és ellenőrzése.
- Az alapanyag és termék tekintetében a „gyógyszerkönyvi jellegű” minőségi vizsgálati eljárás kidolgozása és rögzítése (quality control).
- A termék laboratóriumi szintű formulálásának kidolgozása, a laboratóriumi előállítási előírat kidolgozása és rögzítése, ipari partner számára „üzemesítésre” történő átadása.

- A készítmény stabilitási és egyéb eltartási paramétereinek meghatározása, vizsgálata.
- A készítmény kiszerelési, tárolási, eltartási (felhasználhatósági) alapvető követelményeinek meghatározása és vizsgálata
 - A klinikai vizsgálatba lépő további centrumok (2-4) számára a kísérleti minta és termékleírás biztosítása.
 - Farmakoökonómiai elemzések alapjainak rögzítése. Gyógyszerészeti termékleírás összeállítása, „törzskönyvi” előiratok elkészítésének koordinációja.
 - Gyártás-előkészítési feladatok.

Az ibuprofen hatóanyagot tartalmazó készítmény gyártástechnológiai korszerűsítése

Az ipari partner, a Pannonpharma Kft.-vel egyeztetett témában az ibuprofen hatóanyagot tartalmazó dragsék *gyártás-technológiai korszerűsítését* végezzük. A készítmény gyártásának módosítása szükséges a készítmény gyártás-technológiai korszerűsítése céljából, gyárthatósága és az iparban előírt szigorú környezetvédelmi követelmények betartása miatt.

A pályázatban is szerepelő kutatási tervnek megfelelően ebben az évben ibuprofen hatóanyagot tartalmazó szilárd fázisú készítmény elővizsgálataival foglalkoztunk.

A vizsgálatok kiterjedtek a hatóanyag és a készítmény előállításához szükséges, hatóanyagot tartalmazó szemcserendszer vizsgálataira, melyek az alábbiak voltak:

1. analitikai módszerek kidolgozása
 - 1.1. azonossági vizsgálat,
 - 1.2. tartalmi meghatározás.
2. az ibuprofen fizikai-kémiai vizsgálata
 - 2.1. spektrofotometria,
 - 2.2. derivatográfia,
 - 2.3. oldékonyság pH függése,
 - 2.4. oldódási sebesség vizsgálat,
 - 2.5. kompatibilitási vizsgálatok.
3. látszólagos térfogat vizsgálata
4. gördülékenység vizsgálat
 - 4.1. Hausner-faktor,
 - 4.2. Carr-index meghatározása.
5. szemcseméret vizsgálat
 - 5.1. átlagszemcseméret,
 - 5.2. szemcseméret-eloszlás vizsgálata
6. hatóanyag-leadás vizsgálat

Az elővizsgálatok és a további, folytatódó kiegészítő vizsgálatok alapján adjuk meg azokat a az összetételre vonatkozó technológiai paramétereket, amelyek alapján az *ibuprofen tartalmú készítmény gyártástechnológiája korszerűsíthető*, és a gyártás általános követelményeinek megfelel.

(A munka részleteiről külön összefoglaló készült, megtalálható a MEDIPOLISZ irattárában).

Pannonpharma jelentése

- A PannonPharma Kft. (PPh) feladatlistát készített, melyet levélben küldött a Gyógyszertechnológiai Intézet számára (*melleklet_felad.lista1.sz..xls*)
- A Gyógyszertechnológiai Intézet készített összetétel javaslatot és anyagigényt (*osszetetelPPh2 sz_Lm.xls*)
- A Gyógyszertechnológiai Intézet által kért anyagokat a PPh beszerezte és átadta
- A gyógyszerkémiai fejlesztéssel kapcsolatos megbeszélések a PPh és a Gyógyszertechnológiai Intézet között:
 - 2006. 02. 14.
 - 2006. 06. 13. (*2006-06-13-emlekezteto-gytechnologia_V02_vegso.doc*)
 - 2006. 06. 23. (*Emlekezteto_20060623..doc*)

1.7. altéma:

Tervezett részfeladatok

1.7.1.	Hazai gyógyszeralkalmazás felmérésének értékelése, jellemzése, informatikai fejlesztési program elkészítése. Szakmai információk gyűjtése és előkészítő konzultációk lebonyolítása.	PTE 70% Pannonpharma Kft. 10% HC Pointer 20%	Dr. Botz Lajos	2005.10.01 2006.03.31	Gyógyszerterápiás gyakorlat tényadatai, informatikai értékelése, továbbfejlesztési program elkészítése. Innovációs tevékenységet megalapozó szakmai tanulmány (elemzés) a rendszer alkalmazhatóságára vonatkozóan.
1.7.2. – 1.7.3.	Gyógyszerhatóanyagok CYP 450 alapú interakcióinak informatikai alapjai, program-alapok kidolgozása. Antidepresszáns gyógyszerek alkalmazásának és kölcsönhatásainak farmakogenetikai alapuló modellkísérlete. Gyógyszerhatóanyagok alkalmazási előiratainak értékelése, elemzése (pl. Pannonpharma Kft. készítményei). Fejlesztési rendszerterv elkészítése.	PTE 60% Pannonpharma Kft.. 20% HC Pointer 20%	Dr. Botz Lajos	2005.10.01. 2006.09.30.	A kölcsönhatások on-line szűrésére alkalmas program CYP 450 alapú bővítése. Fejlesztési rendszerterv elkészítése.
1.7.2.)	Gyógyszerhatóanyagok bioinformatikai-hálózati mátrixának létrehozása. Antidepresszáns farmakonok bioinformatikai értékelése. Gyógyszerhatóanyagok hálózati interakciós kapcsolatainak értékelése, elemzése (pl Pannonpharma Kft. készítményei). Szakmai szoftver fejlesztése.	PTE 70% HC Pointer 30%	Dr. Botz Lajos	2006.04.01 2007.03.31	Egyedi bioinformatikai programkörnyezet kialakítása. Szakmai informatikai program béta verzió. Szakmai informatikai program telepíthető verzió. Műszaki dokumentáció, felhasználó kézikönyv. Szellemi tulajdonvédelmi bejegyzés.

PTE jelentése

1.7.1. - 1.7.2. Hazai gyógyszeralkalmazás

A HC Pointer Kft.-vel együttműködve végeztük el a gyógyszerek hazai, hivatalos alkalmazási előiratának elemzését – mely a hatóanyagpárok közötti interakció feltérképezését jelentette – figyelembe véve a több mint egy millió hazai vény alapján elvégzett elemzésünk eredményeit is. Az elemzésekkel a gyógyszerterápia során releváns, klinikai jelentőséggel is bíró kölcsönhatások kijelölése történt meg. A következő

munkaszakaszban a jelenleg rendelkezésre álló és használatban levő, nemzetközi szakirodalmon alapuló interakció-kereső adatbázis aktualizását fogjuk tovább folytatni.

A HC Pointer Kft-vel összehangolt fejlesztési munka során a gyógyszerkölsönhatások szűrése két szempont szerint (hazai hivatalos alkalmazási előirat és nemzetközi szakirodalom) történt, mely egy újabb szemponttal egészült ki: a gyógyszer-hatóanyagok metabolizmusában szerepet játszó CYP 450 enzimrendszer hatása következtében kialakuló interakciók figyelembevételével. Ehhez szükséges a hatóanyagok és izoenzimek közötti kapcsolat feltérképezése, összefoglalása, valamint informatikailag kezelhető formában való megjelenítése. Ennek jegyében az összegyűjtött és rendszerezett adatokkal a beszámolási időszakban feltöltöttük a fejlesztést biztosító adatbázist, programfelületet. Ez az jelenti, hogy a gyógyszerek metabolizmusában szerepet játszó nyolc izoenzimhez tartozó hatóanyagok rögzítése történt meg, azok szubsztrát és/vagy inhibítor és/vagy induktor tulajdonságának megfelelően; továbbá – ahol információ rendelkezésünkre állt – az inhibíció, indukció mértékét is megadtuk. Ezt követően végeztük el a program tesztelését, amelynek során a felmerült problémákat a HC Pointer Kft. munkatársaival együttműködve kijavítottuk. A továbbiakban, a munkatervben rögzítetteknek megfelelően, az adatbázis (speciális szakmai szoftver) fejlesztése ezeken az alapokon tovább folytatható. A terápiában alkalmazott teljes gyógyszerhatóanyag „kincset” tartalmazó adatbázis nyújt lehetőséget arra, hogy a gyógyszerkölsönhatások megelőző szűrésére alkalmas szoftver „három funkcióval” működhessen (a.: hivatalos gyógyszeralkalmazási előiratok; b.: nemzetközi szakirodalmi besorolások; c.: gyógyszermetabolizáló enzimrendszeren kifejtett hatások alapján). Az elvégzett elemzéseket összefoglalóan bemutató anyagot külön mellékletben csatoltuk (2. sz. melléklet). Ez a létrehozott adatbázis és szoftver környezet biztosította/biztosítja azt is, hogy a gyógyszerhatóanyagok kölcsönhatásainak értékelésére egy valóban „egyedülállóan” új bioinformatikai felületet alakítsunk ki (l. részletesebben 1.7.3. pont alatt). A célként megjelölt szakmai szoftver fejlesztése tekintetében a tervnek megfelelő előrehaladás történt.

1.7.2. Gyógyszerhatóanyagok CYP-450 alapú interakcióinak informatikai alapjai

A „MEDIPOLISZ Dél-Dunántúli Regionális Egyetemi Tudásközpont” elnevezésű fejlesztési program GYI-2006-001 kódszámú 2005. április 5-én a „Regionális Kutatás-Etikai bizottsághoz” beadott „A CYP2D6 és CYP2C19 polimorf allélvariánsai hatásának vizsgálata a CYP2D6 és CYP2C19 enzimek aktivitására (MR) és klinikai változókra metabolizmusukban CYP2D6 és CYP2C19 függő antidepresszánsokkal történő kezelés során vagy azt követően” című, beszámolási időszakban kidolgozott, klinikai vizsgálati tervet a bizottság 2006. május 30-án kelt levelében engedélyezte. Ez meghatározza – a további fejlesztési időszakra vonatkozóan is – a vizsgálat célját: „a mindennapi klinikai gyakorlatnak megfelelően kezelt, de előzetesen – a terápia hatástalansága vagy a súlyos mellékhatások alapján – szelektált betegcsoportban a CYP2D6 és CYP2C19 leggyakoribb polimorf alléljai hatását vizsgálja az általuk kódolt enzimek aktivitására, az így kialakuló fenotípusra valamint a mellékhatások gyakoriságára és intenzitására”. A vizsgálati terv ezen túlmenően természetesen tartalmazza a vizsgálat konkrét menetét, a szükséges eljárásokat, a kapott adatok kezelésének módját, a statisztikai módszereket, az etikai szabályokat; a betegek beválasztási és kizárási kritériumait és a vizsgáló személyek adatait. Az engedélyezett klinikai vizsgálati tervet külön mellékletben csatoltuk (3. sz. melléklet).

A korábbi 35 minta mellett, 2006. szeptember első hetéig, további 44 új beteg bevonása történt meg. Az új betegek közül 28-nál genetikai mérést is végeztünk. Ezekben a mintákon a CYP 2D6*4 és a CYP 2C19*2*3 allélok mérését végeztük el. Egy új allél, a CYP 2D6*5 meghatározására folyamatban van a primerek és próbák megtervezése. A betegek bevonása és a genetikai adatok meghatározása folyamatosan történik, heti 1-4 új minta levételével.

Befejeződött a DNS minták izolálásához szükséges műszerek (laborcentrifuga, szárítószekrény, vortex), eszközök beszerzése, valamint a labor szerényebb mértékű felújítása.

A fenotípus meghatározásához szükséges standard anyagok közül több beszerzés már megtörtént, az utolsó anyag várhatóan október-novemberben megérkezik. Ezt követően befejezhető a fenotípus meghatározásához használt HPLC készülék kalibrálása és a mérési protokoll megírása, majd elkezdődhet a betegek fenotípusának meghatározása.

Dr. Soós Gyöngyvér tanszékvezető egyetemi docenssel (Szegedi Tudományegyetem, Klinikai Gyógyszerészeti Intézet) történt megállapodás alapján októberben elkezdhetjük az általuk hazánkban először validált kérdőívek alkalmazásával a betegeink életminőségének felmérésére irányuló vizsgálatainkat is.

A következő beszámolási időszakban tudjuk elvégezni, a jelenleg vizsgált paraméterek alapján kiválasztott betegeknél a genotípus-meghatározás kiterjesztését DNS chip (AmpliChip, Roche) alkalmazásával. Előzetesen 30-50 beteg adatait tervezzük a fenti módszer segítségével igazolni és pontosítani. Az antidepresszáns gyógyszerek alkalmazását terápiásan javító, farmakoönómiai szempontok alapján pedig, költséghatékony farmakogenetikai vizsgálatokat átfogó értékelésre ez alapján fog lehetőségünk nyílni.

1.7.3. Gyógyszerhatóanyagok bioinformatikai-hálózati mátrixának létrehozása

A gyógyszerhatóanyagok kölcsönhatásainak vizsgálatához a HC Pointer Kft. által fejlesztett szakmai program kiterjesztése céljából a fejlesztési program szerint bioinformatikai hálózati mátrix létrehozása és egyedi bioinformatikai programkörnyezet kialakítási követelménye fogalmazódott meg.

Ennek előkészítéséhez megtörtént a kiindulópontként szükséges online adatbázis létrehozása. Adatbáziskezelőként választásunk az igen elterjedten használt, szabad forráskódú, ingyenes verziójú MySQL objekt-relációs adatbáziskezelőre esett. A MySQL adatbázisban kialakított adattábla szerkezetbe a HC Pointer Kft. szakmai programjából kiexportált, hatóanyagokat és interakciós kapcsolataikat tartalmazó adatállományt vittük fel. (1. melléklet)

Az így kialakított interakciós hatóanyagbázis alapján alkalmunk nyílt a hatóanyagpárok közötti hálózati kapcsolatok eloszlásának elemzésére és ábrázolására. Az elemzéshez az ugyancsak szabad forráskódú és ingyenesen hozzáférhető VisANT Java-alapú programot használtuk (a fejlesztéshez megrendelt speciális programok beérkezése 2006. októberében várható). A hatóanyagpárok hálózati kapcsolatrendszerének statisztikai modellezése a VisANT program segítségével az előzetes várakozásainknak megfelelően, a hálózati mátrix egyes pontjai (egyedi

hatóanyag) kapcsolati fokának eloszlását power-law függvénnyel történő leírhatóságáról tanúskodott (2., 3. melléklet).

További elemzést igényel, hogy az egyes hatóanyagpárok interakciójának erőssége (gyógyszerhatástani és farmakokinetikai valamint biológiai értelemben) milyen mértékben befolyásolja a kapcsolati hálózatot leíró matematikai összefüggést, illetve ez hogyan jellemezhető az egyes gyógyszerkészítményekre vetítve. Ennek megfelelően, a bioinformatikai programkörnyezet létrehozásának további lépéseként a hatóanyagpárok interakciós adatbázisában az interakciók erősségének mennyiségi jellemzését kívánjuk rögzíteni majd a matematikai modellezést megismételni.

HC Pointer jelentése

A HC Pointer Kft. 1997. évben a mai ÁOK & OEC Egyetemi Gyógyszertár szakmai együttműködésével fejlesztette ki egy gyógyszerkölsönhatást jelző modult (szakmai szoftver), mely jelenleg 272 patikában működik.

Az interakció figyelő rendszer képes egy automatikus, kiterjedt körű vizsgálatot elvégezni az expedíalendő gyógyszerek között, alkalmas a gyógyszerkölsönhatások megelőző (preventív) szűrésére. A szakmai szoftver segítségével a szűrés jelenleg két szempont szerint (hazai hivatalos alkalmazási előirat és nemzetközi szakirodalom) történik. Célunk a program további fejlesztése, melynek során a kölsönhatások szűrése egy új szemponttal egészülne ki: a gyógyszer-hatóanyagok metabolizmusában szerepet játszó CYP 450 enzimrendszer hatása következtében kialakuló interakciók.

A HC Pointer Kft. fejlesztett egy a hatóanyagok és izoenzimek, mint adatállomány és azok közötti kapcsolatok rögzítésére alkalmas programot. A program feladata nyolc izoenzimhez tartozó hatóanyagok rögzítése azok szubsztrát és/vagy inhibitor és/vagy induktor tulajdonságának megfelelően.

A kialakított felületre az adatokat a PTE feltöltötte.

Következő lépés volt a szoftver olyan irányú továbbfejlesztése, mely alkalmas a gyógyszermetabolizáló rendszer (CYP 450 enzimcsalád) alapján történő gyógyszerhatóanyag kölsönhatás vizsgálatára. Ennek megfelelően a HC Pointer Kft. kifejlesztett egy szűrő-vizsgáló munkafelületet, melyet a PTE számára átadott, kialakítva egy on-line kapcsolatot az Egyetemi Gyógyszertár kijelölt számítógépén. Ezáltal a fejlesztői felület közvetlenül is futtatható és karbantartható – 2006. július 30.

A PTE a munkafelület segítségével a szűrő-vizsgáló szoftvert tesztelte, a felmerülő hiányosságok javítása megtörtént – 2006. szeptember 15.

A fejlesztés során felmerülő problémák:

Egy hatóanyaghoz több ATC kód is tartozhat. Ennek elsődleges oka, hogy az adott készítmény több hatóanyagot is tartalmazhat. A jelenlegi adatbázisban az ATC kódok elsősorban készítményekhez vannak hozzárendelve, azonban az ATC kód alapvetően a hatóanyagok besorolására hivatott. Megoldást jelent, ha az ATC és készítménynév mellett a hatóanyag, ill. hatóanyagok is feltüntetésre kerülnek egy táblázatban.

A kiegészített táblázatot a HC Pointer Kft. a PTE felé átadta – 2006. július 30.

A szűrőprogram rögzített szöveges üzenetei alapján a hatóanyagpárok leválogatása veszélyességi besorolás szerint a meglévő nemzetközi szakirodalom és a hazai hivatalos alkalmazási előíratok alapján.

A kilitázott adatokat a HC Pointer Kft. a PTE felé átadta – 2006. július 15.

1. melléklet Gyógyszerhatóanyagok interakciós adattábláinak szerkezete

```
select * from hap
```

HID	HANYAG	HID2	HANYAG2	CIKKDARAB	RECID
28	ACIDUM VALPROICUM	6	ACIDUM ACETYLSALICYLICUM	1	1

Number of Results: 18217

```
select * from hap2
```

HID	HID2	RECID
28	6	1

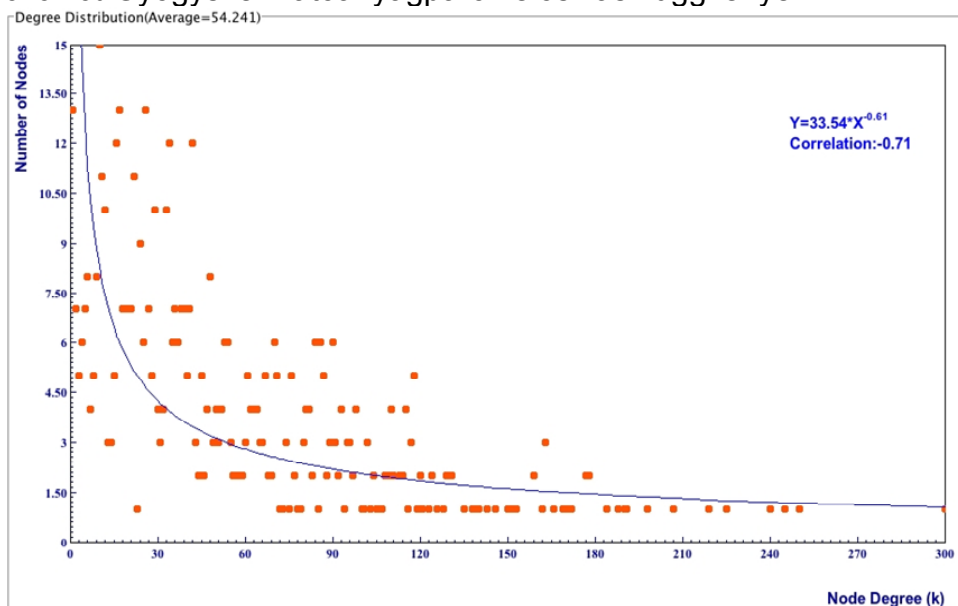
Number of Results: 18217

```
select * from hanyag1
```

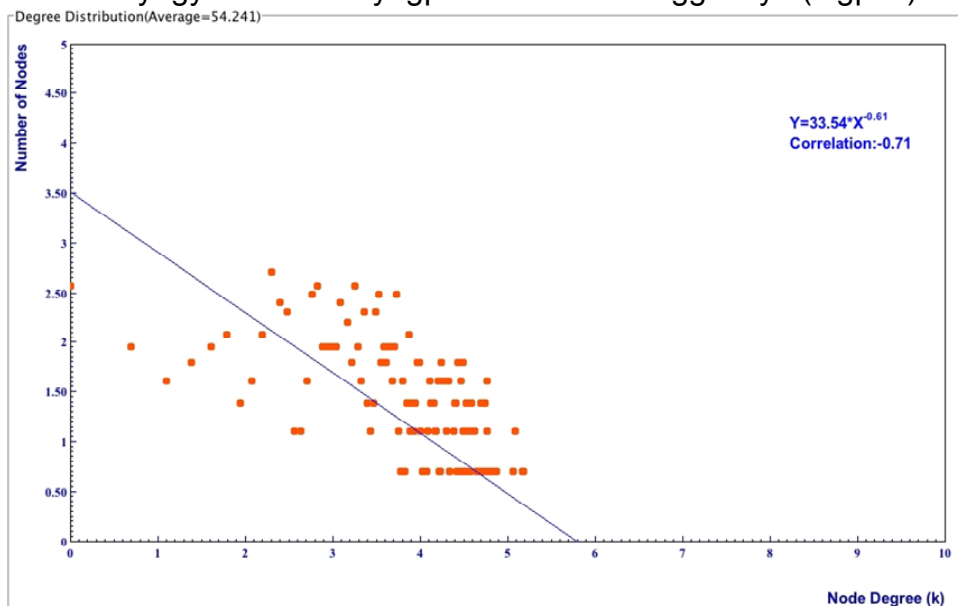
HAID	HANYAG	HAID2	HANYAG2	CIKKID	CIKKID2	ID
1	ACARBOSUM	6	ACIDUM ACETYLSALICYLICUM	6694	3393	1

Number of Results: 334986

2. melléklet Gyógyszerhatóanyagpárok eloszlási függvénye



3. melléklet Gyógyszerhatóanyagpárok eloszlási függvénye (logplot)



1.8. altéma: Poliuretán alapú, vertebroplastica és kyphoplastica számára alkalmas szövetbarát implantatum anyag fejlesztése

Tervezett részfeladat

1.8.1.1.	Az aszeptikus gyárt-hatóság és a klinikai felhasználhatóság szempontjából megfelelő összetételű polimer előállítás és vizsgálata.	PannonPharma 100%	Pallos J. Péter	2005.10.01 2006.12.31	Szöveges szakmai jelentés, termékek.
----------	---	----------------------	--------------------	--------------------------	--------------------------------------

PTE Idegsebészeti Klinika, Dóczi Tamás igazgató jelentése

A kutatás első fázisában egy poliuretán (PU) elasztomert hozunk létre, amely a jelenleg alkalmazott PMMA és kalcium foszfáthoz hasonlóan kerül alkalmazásba.

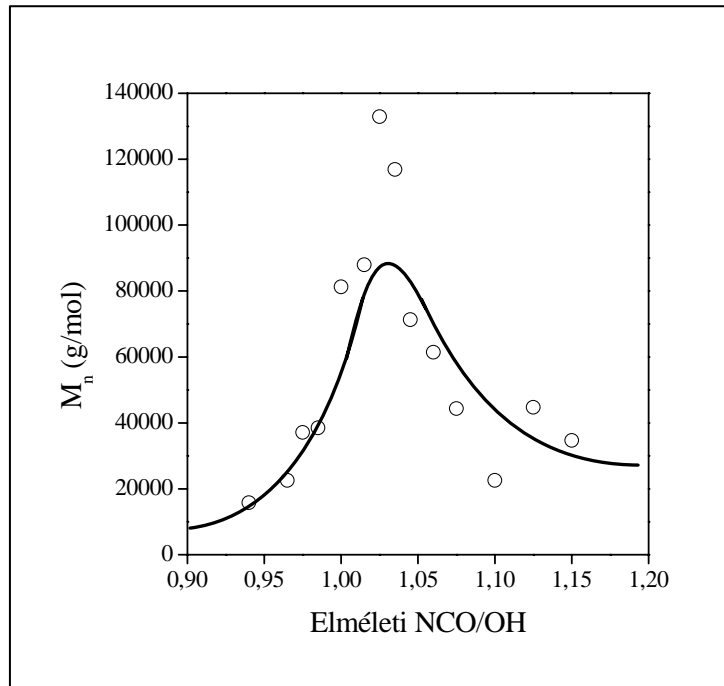
A tulajdonságok pontos beállításával elkerülhető, hogy a kezelés után a szomszédos csigolyák összeroppanjanak. A PMMA csontcement alkalmazása során exoterm reakció játszódik le. Ez a hőfejlődés élettani szempontból káros. PU elasztomer alkalmazása során ez elkerülhető. Az oldattulajdonságok változtatásával megfelelő viszkozitás érhető el. Ez lehetővé teszi, hogy az oldatot könnyen a csigolyába lehessen fecskendezni, viszont elkerülhető, hogy az oldat a csigolyából kiszivárogjon.

A fejlesztés során először megvizsgáltunk 10 egészséges csigolyát különösképpen annak mechanikai tulajdonságaira koncentrálni. Ezen vizsgálatok lehetővé teszik annak meghatározását, hogy az általunk előállított polimernek milyen tulajdonságokkal kell rendelkeznie. Méréseket végeztünk összeroppant csigolyákon és egy jelenleg alkalmazott PMMA csontcemeneten is. Széles körben jellemezzük a sérült és épp csigolyák, illetve saját anyagaink összes jellemzőjét. Mechanikai tulajdonságaikon kívül megfigyeljük oldódás során mutatott viselkedésüket, kicsapási kísérleteket végzünk, meghatározzuk molekulatömegüket, termikus és reológiai tulajdonságaikat is.

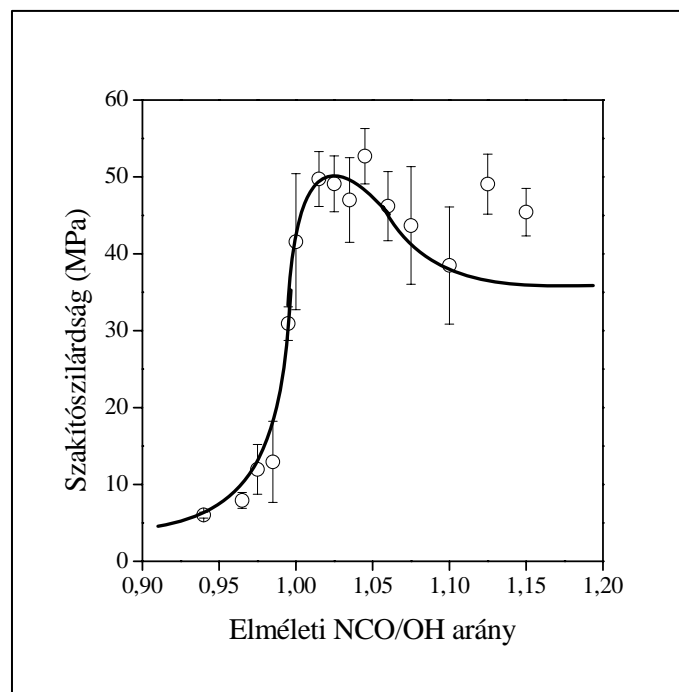
A polimer előállítása belső keverőben reaktív feldolgozással történik. A szintézis során három anyagból indulunk ki. Két fajta kétfunkciós alkoholt politetrahidrofuránt, illetve butándiolt és egy kétfunkciós izocianátot 4,4'-difenil-metán-diizocianátot (MDI) alkalmazunk. A reakció során a belső keverőben intenzív keverés mellett az izocianát és alkohol funkciós csoportok reakcióba lépnek és hosszú polimer láncokat építenek fel. A szintézis során egy oldható közel lineáris molekulaszervezetű biokompatibilis anyagot hozunk létre.

Az eddig történt szintézisek során a kiindulási anyagokban található funkciós csoportok arányát változtattuk. Ez az izocianát/alkohol (NCO/OH) döntően befolyásolja a polimer viselkedését, tulajdonságait. Az előállított anyagokon szakítási vizsgálatokat végeztünk mechanikai tulajdonságaik meghatározásához. Számos egyéb mérési módszert is alkalmaztunk az anyag jellemzésére. Többek között gélpermeációs kromatográfiával (GPC) meghatároztuk mintáink molekulatömegét, aminek ismerete elengedhetetlen a polimeroldat viselkedésének leírásához. Mind a szakító vizsgálat (1. ábra), mind a GPC mérések (2. ábra) eredménye azt mutatják, hogy a PU polimerünk tulajdonságait széles tartományban tudjuk változtatni. Ennek rendkívül nagy a jelentősége hiszen az NCO/OH arány változtatásával tudjuk beállítani csontcemenetünk tulajdonságait.

A kutatás során egy olyan PU alapú orvosi eszköz fejlesztésébe fogtunk bele, amely lényegesen jobb tulajdonságainak köszönhetően kiválthatja a jelenleg vertebroplasztikához használt anyagokat. Az előállítás kézbentartásával megfelelően beállíthatjuk anyagunk tulajdonságait elkerülve a szomszédos csigolyák összeroppantását.



1. ábra Mechanika - Molekulatömeg változása a funkciós csoportok arányának függvényében



2. ábra GPC eredmények - Molekulatömeg változása a funkciós csoportok arányának függvényében

Munkaterv fázisok:

1. Referenciavizsgálatok (BME)
 - a jelenleg használt anyagok beszerzése
 - mintakészítés laboratóriumi körülmények között
 - próbatestek előállítás (öntés, préselés, megmunkálás)
 - a próbatestek vizsgálata, a vizsgálati körülmények kiválasztása, mérések
 - a végső felhasználás szempontjából fontos jellemzők meghatározása (merevség, szilárdság, keménység, egyéb jellemzők)
2. Módszerek kidolgozása a csont jellemzőinek meghatározására (BME)
 - alátámasztás kidolgozása (epoxi mintatartó: összetétel, térhálósítási körülmények, öntés módja, lenyomat készítés)
 - a vizsgálati körülmények meghatározása (sebesség, méréshatár, kiértékelés)
 - a teherhordó keresztmetszet meghatározása (irodalmi adatok, mérés, számítás)
 - a csont sűrűségének meghatározása (sugárzásos módszerek, folyadék kiszorítás, számítás)
 - módszer kidolgozása a rendelkezésre álló térfogat meghatározására (irodalmi adatok, kitöltés nagy viszkozitású folyadékkal, számítás)
3. A csont jellemzőinek meghatározása (BME)
 - mechanikai tulajdonságok (merevség, szilárdság, keménység)
 - keresztmetszet
 - sűrűség
 - az eredmények összevetése irodalmi adatokkal
4. Összefüggések meghatározása a csont különböző módszerekkel mért jellemzői között (BME)
 - az abszolút és relatív mennyiségek elemzése (mechanika), változások, szórás
 - az eredmények összevetése irodalmi adatokkal
 - a csont morfológiai jellemzőinek hasonló elemzése
 - a mechanikai és egyéb csontjellemzők összevetése, korrelációk
 - az összefüggések mennyiségi elemzése, általánosítható következtetése, irányelvek megállapítása a gyakorlat számára
5. Poliuretán alapanyagok készítése és vizsgálata (BME)
 - a határértékek meghatározása (csont átlagos értékei, csontcement)
 - a mechanikai tulajdonságok módosítása az összetétel változtatásával
 - diolok és polioloak szerkezete (alifás szekvencia hossza)
 - diolok és polioloak típusa (funkcionalitás)
 - a diolok és polioloak relatív mennyisége
 - a mólsúly beállítása a sztöchiometria változtatásával (oldhatóság)
 - a felhasználás szempontjából fontos jellemzők vizsgálata
 - polaritás, végcsoportok (oldhatóság)
 - kicsapódás módja és sebessége
 - koncentráció, koncentrációfüggés
6. A korrekciós anyag tulajdonságainak optimalizálása (BME)
 - mechanikai jellemzők
 - mólsúly
 - szerkezet
 - egyéb jellemzők
7. Korrekciós vizsgálatok (BME)
 - a csigolya kitöltése a vizsgálati oldattal, az optimális térfogat meghatározása
 - a polimer kicsapódásának vizsgálata (sebesség, térfogatváltozás, szerkezet)

- a csigolya kitöltése és vizsgálata
 - eredeti, ép csigolya
 - részlegesen összeroppantott csigolya
 - az eredmények értékelése, a regeneráció mértékének megállapítása
 - szükség esetén a kitöltésre használt műanyag jellemzőinek módosítása
8. Egyéb anyagok használatának vizsgálata (BME)

- kontrasztosítás
- csontanyag, hidroxipatit
- proteinek

I. Kadaver csigolyákon végzett kísérletek (Idegsebészeti Kklinikai)

- Együtműködés a PTE Pathológiai Intézettel
- Kutatás-etikai engedély
- Tárolás-fagyasztás
- Csontsűrűség vizsgálatok DEXA, CT, MR (BMD, osteopenia)
- Csontszerkezet vizsgálatok (CT, MR)
- Csigolyák – adatok átadása BME-nek

II. Műtéttechnikai kísérletek ((Idegsebészeti Kklinikai) állatkísérletek, Kaposvár alvállalkozó):

- A műtét optimalizálása
 - embolizáció vizsgálata,
 - extruzió vizsgálata,
 - posztoperatív képalkotó vizsgálatok (CT, MR)
 - szövettani munkákra való előkészítés
- Szövettani feldolgozások
 - makroszkópos vizsgálatok.
 - biomechanikai vizsgálatok (BME)
 - mikroszkópos vizsgálatok
 - hosszútávú vizsgálatok: biodegradabilitás, biomechanikai tulajdonságok.

III. ETT TUKÉB engedély megszerzése (Idegsebészeti Kklinikai)

- Alapanyagok minőségi-, mennyiségi- és tisztaságvizsgálatának kidolgozása, alapvetően „gyógyszerkönyvi” szemlélettel. (Gyógyszerészeti Intézet)
- A vizsgálat során készülő tervek, anyagok, összefoglalók, jelentések gyógyszerészeti szemléletű értékelése, kiegészítése, lehetőségtől függően validálása. (Gyógyszerészeti Intézet)
- Alapanyag és termék mikrobiológiai vizsgálatának kidolgozása. (Gyógyszerészeti Intézet)
- Termék laboratóriumi szintű formulálásának kidolgozása, a laboratóriumi előállítási előírat kidolgozása és rögzítése, ipari partner számára „üzemesítésre” történő átadása. (Gyógyszerészeti Intézet)

PannonPharma Pallos J. Péter igazgató jelentése

Áttekintés

A fenti projekt szellemi alapja, az a nagyjelentőségű embolizáló hatású orvostechnikai eszköz szabadalom, amely forradalmasíthatja, az idegsebészeti, minimálisan invazív beavatkozásokat, egy biokompatibilis oldószerben oldható poliuretán polimerek leírásával. Ezidáig a fejlesztés egy munkahipotézisen alapul, miszerint a már

klínikailag (bizonyos szűkebb indikációkban) sikeresen használt termék vertebroplasztikai célra is alkalmazható lehet. A fejlesztés követi azt a munkamódszert, amely a piacra vitelhez szükséges feladatok sorát határozza meg, azok végrehajtását folyamatosan értékelve, szükség szerint módosítva, határidő és költség tudatos módon irányítja.

Elvégzett tevékenység

A PannonPharma több orvostechnikai terméket már bevezetett a piacra, továbbá több saját aszeptikusan gyártott gyógyszerkészítménye van (injekció, szemcsepp). Célja az aszeptikus gyártással előállítható orvostechnikai és gyógyszertermékek kifejlesztése, gyártása, ezen RET együttműködésben és saját tevékenységben is.

Vállalati tevékenység:

Az eredetileg is betervezett módon, a Pannonpharma elindította az aszeptikus gyártóhely kialakításának folyamatát. Meghatározott beruházási kerettel, építési, átalakítási munkákkal a Pécsvárad PannonPharma út 1. sz. alatti gyártóüzemének egy bővítési szintjén az aszeptikus gyártóberendezések fogadására felkészült.

Az idegsebészeti alkalmazásra kerülő orvostechnikai eszközök, a legnagyobb kockázatot és felelősséget hordozó termékek közé tartoznak. Az orvostechnikai regisztráláshoz szükséges jogszabályok, előírások és szabványok alapján, PannonPharma Kft. állította össze a pontos feladatlistát.

Projektkoordináció:

A termék fejlesztési feladatok értékelésére hivatott munkaértekezletek praktikus összekapcsolódtak a munkahipotézis alapjául szolgáló szabadalom tárgyának, az embolizáló hatású orvostechnikai termékre vonatkozó fejlesztési beszámolóval. A 2006.02.01-én tartott fejlesztési megbeszélésen kiderült, hogy ugyanaz a polimer nem használható embolizáló és vertebroplasztikai célra. Ebben a helyzetben, a PannonPharma kérte a polimerkémiai szakértői összefoglaló összeállítását a fejlesztési célkitűzések pontos kijelölése végett. Ez az összefoglaló még nem áll rendelkezésünkre. Ennek hiányában a PannonPharma fejlesztést akként tudta folytatni, hogy a kifejlesztendő termék alapanyagaként továbbra is az alapszabadalom által meghatározott poliuretánt tekintette.

Kérésünkre, a PTE és BME partnerek kidolgoztak egy munkatervet. Ez azonban továbbra is inkább célkitűzéseket, mintsem fejlesztési feladattervet illetve költségtervet tartalmazott. Ez a "munkaterv" nem volt alkalmas az orvostechnikai termék kidolgozására, de még kifejlesztendő polimer alapanyag tulajdonságainak számbavételére sem. Ily módon, a közös fejlesztési munka indításához várni kellett, hogy az ismert előnyös tulajdonságokkal bíró polimert a BME reprodukálni tudja.

Fontosabb eredmények

A jelentés időpontjáig a kiindulási polimer előállításának reprodukálása nem sikerült, ezért a fejlesztés befejezése ismeretlen ideig kitolódna.

Az aszeptikus gyártóhely kialakítása 60%-ban megtörtént.

További lépések

Javasoljuk a fenti eredménnyel csak hosszabb távon kecsegtető projekt lezárását. Tekintettel arra, hogy a PTE intézeteiben jelentős innovációs lehetőségek merültek fel további aszeptikus gyógyszerkészítmények kifejlesztésére és arra hogy, a PannonPharma jelentős befektetéssel végzi aszeptikus gyártórészlegének kialakítását, javasoljuk hogy ezen fenti, megszüntetésre javasolt projektet a RET támogatási periódusban olyan

szemcsepp készítmények kifejlesztésére módosíthassuk amelyeknél a fejlesztési feltételek adottak.

1.9. altéma: Klinikofarmakológiai vizsgálatok:

Tervezett részfeladatok

1.9.1.	Klinikai- és laborvizsgálatoknak az elfogadott protokoll alapján, a megfelelő monitoring-, illetőleg minőségbiztosítási feltételek között	PTE 60% PannonPharma 40%	Dr. Tóth Kálmán	2005.10.01 2006.09.30	szöveges szakmai jelentés
1.9.2.	Gyártáshoz szükséges műszaki-technológiai fejlesztések megvalósítása	PannonPharma 100%	Pallos J. Péter	2005.10.01 2006.09.30	Kémiai gyógyszerészeti összefoglaló
1.9.3.	Gyártástechnológiai vizsgálatok: 1. A készítmény komponenseinek gyártására vonatkozó előkészítése; 2. Helyes gyártási gyakorlat implementálásához szükséges kísérleti munka elvégzése; 2. A készítmény ipari-technológiai fejlesztése; 3. A készítmény formulálása, kísérleti gyártása;	PannonPharma (100 %)	Pallos J. Péter	2005.10.01 2006.09.30	Gyógyszer technológiai összefoglaló
1.9.4.	Szabadalomkutatás, iparjogvédelem, adminisztratív feladatok	PannonPharma (100 %)	Pallos J. Péter	2005.10.01 2006.09.30	Szabadalmi bejelentés
1.9.5.	OGYI részére dokumentációk elkészítése	PTE 50 % PannonPharma 50 %	Pallos J. Péter	2006.09.30 2006.12.31	OGYI engedély

PTE jelentése

A PTE OEKK KK I. sz. Belgyógyászati Klinika több mint 20 éve kijelölt klinikai fázis I-II. vizsgálóhely. Emellett felkészült farmakokinetikai, izotópkinetikai és bioekvivalencia vizsgálatokra is. Ezen időszakban a klinikán hozzávetőlegesen mintegy 55-60 különböző hatóanyagot (a készítmények száma természetesen ennél jóval több) vizsgáltunk. A részleget 2004. májusában az OGYI a 24/2002.(V.9.) Eü.M. rendelet alapján I. és II. fázisú klinikai vizsgálatok végzésére alkalmas vizsgálóhelynek minősítette.

A részleg a 400 Ágyas Klinikai Tömb, infrastruktúrájában elavult, 40 éves épületében található. Épületgépészeti szempontból az egység teljes felújításra szorult, mely egyben lehetőséget teremtett a mai kor technikájának megfelelő műszerpark üzemeltetésére is. A felújítás végeredményeként fázis I., II. vizsgálatra alkalmas, teljes mértékben bemonitorozott 8 ágyas egységet hoztunk létre.

A felújítással kapcsolatban felmerült műszaki egyeztetések, tárgyalások – a PTE részeként, igazodva annak stratégiai elképzeléseihez - 2006. január hóban kezdődtek, amelynek végeredményeként európai színvonalú, mai minőségi követelményeknek mindenben megfelelő helyiségeket vettünk át 2006. szeptember 13-án.

Ezzel párhuzamosan elkezdődött a műszerpark korszerűsítése is, melyre a tárgyi eszközöknek az elmúlt 20 év során történő jelentős mértékű amortizációja miatt volt szükség. A fejlesztés során 6 db beteg őrző monitor (páciens bővítő szoftverrel) és 1 db monitor központ egyszerű közbeszerzési eljárását indítottuk el a PTE Gazdasági és Műszaki Főigazgatóság által kiírt „Monitorrendszer beszerzése” néven. A nyertes a pályázatban leírt minden követelményünknek megfelelő, korszerű berendezéseket 2006. május 25-én leszállította, majd a monitorokat, egy szünetmentes tápegységgel és egy nyomtatóval együtt üzembe helyezte.

A megfelelő szakmai színvonal biztosítása érdekében 2006. szeptember 14-én 8 db Perfusor Compact fecskendő pumpát vásároltunk, valamint egy darab EDP 20 B együregű, ideiglenes külső pacemaker és egy darab ABPM készülék beszerzését indítottuk el.

A Klinikai Farmakológiai Osztály részeként működő laboratórium szintén aktív részt vállal a PTE OEKK más intézeteiben folyó gyógyszerkutatásokban és fejlesztésekben, elsősorban in vitro hatástani vizsgálatok és a formulációk tekintetében. A részfeladat keretében új beszerzésű klímaberendezéssel biztosítottuk a megfelelő léghőmérsékletet a laboratóriumban.

A munkaszakaszban részt vevő meghatározó kutató, Prof. Dr. Tóth Kálmán munkaidő felhasználása 25 nap volt. A munkaszakasz a társadalmi hasznosítás szempontjából hozzájárul a szakmai fejlődéshez és a környezetvédelemhez, valamint a korszerű és biztonságos humán klinikai vizsgálatok végzéséhez. Kiemelendő az új technikai eszközök által biztosított szélesebb monitorozási és adatrögzítési lehetőség, melyek révén jelentősen javult a résztvevő személyek biztonsága és a kapott adatok megbízhatósága.

Pannonpharma jelentése

Az alprogram céljából kitűzött „az érrendszer védelmére ható gyógyszer fejlesztése preklinikai és klinikai vizsgálatok” feladatiból az alábbiak valósultak meg:

- Sclerovit technológiai előírását elkészítettük, analitikát- feladatlista a kémiai gyógyszerészeti dossziét.
- Farmakológiai irodalomkutatást és szabadalomkutatást, piackutatást végeztünk.
- Placebo technológiai előíratát elkészítettük és placebo legyártását elvégeztük. Átadtuk az PTE gyógyszerártnak.

Sajnos időközben a piacra lépett egy versenytárs hasonló készítményével, ami behozhatatlan előnyt jelent a piacon a fejlesztés szempontjából.

Javasoljuk a projekt lezárását, illetve a projekt módosítását egy hazánkban szinte népbetegségnek számító alkoholbetegség egyik gyakori szervi elváltozását az eddig

ismert módszereknél hatékonyabb módon gyógyítani képes kombinált készítmény bevonását.

Diagnosztikai eljárások fejlesztése a gyógyszeres-terápia és egyéb gyógyító eljárások hatékonyságának javítása érdekében

2.1. altéma: Ultraszenzitív laboratóriumi technikák kifejlesztése bioaktív anyagok kimutatása céljából

Tervezett részfeladatok

2.1.1.	SPR berendezések beszerzése.	Diagnosticum Rt. 80% PTE 20%	Dr. Kovács L. Gábor	2005.10.01 2005.12.31	SPR berendezés
2.1.2.	A berendezések üzembehelyezése, képzés.	PTE 50% Diagnosticum Rt. 50%	Dr. Kovács L. Gábor	2006.01.01 2006.03.31	
2.1.3.	Interleukin mérések beállítása.	PTE 70% Diagnosticum Rt. 30%	Dr. Kovács L. Gábor	2006.04.01 2006.09.30	Jegyzőkönyv.
2.1.4.	Citokinek mérésének beállítása.	PTE (70%) Diagnosticum Rt. 30%	Dr. Kovács L. Gábor	2006.10.01 2006.12.31	Jegyzőkönyv.
2.1.5.	Mérések mindhárom klinikai projekt beteganyagán.	PTE 90% Diagnosticum Rt. 10%	Dr. Kovács L. Gábor	2007.01.01 2007.12.31	Jegyzőkönyv.
2.1.6.	A mért eredmények statisztikai értékelése.	PTE 90% Diagnosticum Rt. 10%	Dr. Kovács L. Gábor	2008.01.01 2008.06.30	Mérési eredmény adatbázis
2.1.7.	Közlemények, szabadalmi bejegyzések előkészítése.	PTE 60% Diagnosticum Rt. (40%)	Dr. Kovács L. Gábor	2008.07.01 2008.09.30	Szabadalmi bejelentés, publikációk

Elvégzett tevékenység

Részfeladatok teljesítése

A programban új fejlesztésként megnevezett SPR (Surface Plasmon Resonance) módszerrel kapott eredmények összehasonlító elemzéséhez szükségesek a rutin laboratóriumi diagnosztikában használt és nemzetközileg elfogadott eljárások is. Az LMI rendelkezik egy DPC (USA) Immulite immun-kemilumineszcenciás automatával, mellyel a beszámolási időszakban a következő citokinek mérése történt meg humán szérum mintákból: tumor nekrozis faktor-alfa (TNF-alfa), interleukin 6 (IL-6) és IL-8. Ezen kívül, a bakteriális szepszis korai felismerésében nélkülözhetetlen, citokin jellegű molekula a procalcitonin (PCT) rutinszerű mérése is megvalósult intézetünkben, Kryptor fluoreszcens immunkémiai analizátorral (BRAHMS Diagnostica). A PCT esetében in vitro tenyésztett sejt kultúrákon is végeztünk méréseket, mely modell alkalmas lehet az SPR módszer érzékenységének a tesztelésére.

A részfeladat státusza

IAz SPR berendezés fejlesztése a Diagnosticum Rt.feladata. Tekintettel arra, hogy a RET pályázat végleges szerződésének aláírása elhúzódott, a készülék kihelyezését késett halasztani. Ennek ellenére, a pályázati időszakban a Diagnosticum Rt. részéről Sántha Gergő PhD hallgató a citokin mérések adaptálását és beállítását a készülékre megkezdte (TNF-alfa).

Elért eredmények

In vitro tenyésztett szövetkultúrákat (HepG-2 máj carcinoma) kezeltünk Gram negatív baktériumból szerves oldószerezrel kivont endotoxin hígítási sorozattal. Procalcitonin méréseket végeztünk a sejtek felülúszójából és a sejtek lizátumából. A lizátumok elektroforetikus szeparálása után, illetve a felülúszók direkt felcseppentése után Western blot módszerrel kísérletet tettünk a PCT immun-kemilumineszcenciás kimutatására. Az ATP/fehérje hányados mérésével módszert dolgoztunk ki a kezelt sejtek életképességének jellemzésére (1). Szeptikus betegek szérumból TNF-alfa, IL-6, IL-8 és PCT méréseket végeztünk. IL-8 méréseket végeztünk diabetes mellitusban szenvedő gyermekeknél is, a betegség lehetséges gyulladásos komponensének vizsgálatára. Eredményeink szerint az endotoxin kezelés a sejtek életképességét nem befolyásolta számottevően. Ugyanakkor az endotoxin hatására PCT produkciót tudtunk kimutatni mind a felülúszóban, mind a sejt kultúrákban. Méréseink arra utalnak, hogy szeptikus betegeknél a keringésben megjelenő PCT többlet egyik lehetséges forrása a máj (2). A bakteriális szepszis sikeres kezelésének előfeltétele a korai diagnózis. Méréseink igazolták, hogy a szisztémás fertőzés hatására a TNF-alfa, IL-6, IL-8 és a PCT vérszintje már néhány órán belül megemelkedik, így kimutatásuk nagy segítséget ad a klinikusnak a betegség korai felismerésében (2). Diabetes-es gyermekeknél az IL-8 szintek korrelációt mutattak a betegség fennállásának időtartamával, alátámasztva azt a feltételezést, hogy a cukorbetegség hátterében gyulladásos folyamatok is szerepet játszanak a szekunder szöveti károsodásokban (3).

- A mérések során a pályázatban beszerzésre került tárgyi és dologi kiadások az alábbi célokra kerültek felhasználásra:
 - A vérszérum nyeléséhez és a sejtek kezeléséhez Universal 320 asztali centrifuga
 - A szérum minták és a sejt extraktumok tárolásához MDF-U72V -86°C mélyfagyasztó, rekorderrel
 - A fehérje elektroforézisekhez és Western blot vizsgálatokhoz Multiphor II electrophoresis unit és Novablot kit.
 - A Western blot kivitelezéséhez (37°C -on horizontális rázás szükséges) M01INE600 termosztát és Unimax 2010 állítható rázó gép.

Publikációs tevékenység

Közlemény idegennyelvű

Tamás Kőszegi, József Petrik, Sanda Valdimir-Knezevic, Sándor Nagy: Bioluminescent assessment of ATP in monolayer cell cultures in view of cell protein using Triton X 100 nonionic detergent. Luminescence (közlésre összeállítva) IF (2005):

Előadások (1.-2. sz. mellékletek):

Kőszegi Tamás: Procalcitonin és egyéb gyulladásos mediátorok szisztémás bakteriális fertőzésekben. MLDT 53. Kongresszusa, Szeged, 2006, 08. 30 – 09. 02. (felkért előadás)

Rózsai Barnabás, Lányi Éva, Kőszegi Tamás, Soltész Gyula: Az interleukin-8 lehetséges szerepe 1-es típusú diabetesben. Magyar Diabetes Társaság (MDT) és a Magyar Gyermekegyógyász társaság (MGyT) Gyermekegyógyászati Szekciója, Gyula, 2006.09.22-23. (elfogadott előadás)

Egyéb:

Sántha Gergő: Felületi plazmonrezonancia (SPR) bioszenzorok (elméleti összefoglaló)

2.2. altéma: A gyógyszeres kezelésekre kialakuló rezisztencia vizsgálata

Tervezett részfeladatok

2.2.1.	DHPLC és valós idejű TaqMan elvű DNS sokszorozó berendezés, Amplichip és nukleinsav izoláló és előkészítő berendezések beszerzése.	Roche Kft. 40% Csertex Kft. 40% PTE 20%	Dr. Miseta Attila	2005.10.01 2005.12.31	Berendezés
2.2.2.	A berendezések üzembehelyezése, képzés.	Roche Kft. 40% Csertex Kft. 40% PTE 20%	Dr. Miseta Attila	2006.01.01 2006.03.31	-
2.2.3.	A gyógyszeres kezelésekre kialakuló rezisztencia megítélése a P-glycoproteinen. (MDR1) és a citokróm P-450-en alapuló génpolimorfizmusok és génexpressziók vizsgálatával.	PTE 60% Roche Kft. 20% Csertex Kft. 20%	Dr. Miseta Attila	2006.04.01 2006.06.30	Jegyzőkönyv
2.2.4.	Mérések mindhárom klinikai projekt beteganyagán.	PTE 80% Roche Kft. 10% Csertex Kft. 10%	Dr. Miseta Attila	2006.07.01 2007.12.31	Jegyzőkönyv

Elvégzett tevékenység

A projekt keretében a 2006-os évben 1 fő orvosi laboratóriumi analitikus alkalmazása megtörtént. Az elmúlt néhány hónapban elsősorban az MDR1-génnel kapcsolatos vizsgálataink végzését sajátította el ez a kolléga. Itt az MDR1 fő genotípusainak az azonosítását, ill. a génexpresszió mértékének a mérést sajátította el. Ebben a tekintetben a ROCHE LightCycler készüléken végzett valós idejű kvantitatív DNS sokszorozást.

A projekt keretében egyelőre ennek a munkának a megkezdését megcélzó dologi kiadások keletkeztek (DNS izoláláshoz használt reagensek) mintegy 531 000Ft értékben.

Eszközbeszerzésre a PTE 2.2.-es saját részben sor nem került, mivel ennek gazdája (dr. Melegh Béla) ezt Szekeres Péterrel egyeztetve a következő évre halasztotta.

A 2.2-es projektelemben a ROCHE Diagnosztikum KFT egy Ampliprep (DNS, RNS izoláló) egy TAQMAN (DNS sokszorozó technika, amely a templáthoz asszociált oligonukleotid próbába épített sugárzó fluorszcens próba és az azt semlegesítő (quencher) próba közötti jelenség alapján detektál) helyezett el. Az elongáció során a próba a polimeráz nukleáz hatásának betudhatóan degradálódik és a kioltási jelenség megszűnése miatt fényt bocsájt ki. Júliusban megtörtént a készülékek ideiglenes telepítése (a végleges telepítés helységátalakítást igényel). A program keretében sor

került a készülékek műszaki beüzemelésére, azonban a személyzet kiképzése még folyamatban van.

Ugyancsak leszállításra került egy Amplichip mikrochip leolvasó berendezés, ami a projekt fő célkitűzéseként megfogalmazott citokróm P-450 és TMPT rendszerek ismert polimorfizmusainak a vizsgálatára fogunk elsősorban használni. A személyzet kiképzése folyamatban van.

Publikációk:

G. Pár, T. Berki, L. Pálinkás, L. Szereday, M. Halász, J. Szekeres-Bartho, A. Miseta, G. Hegedűs, Z. Faust, G. Mozsik, B. Hunyady, A. Pár: Increased TGF-beta-1 secretion via down-regulating NKG2D killer activator receptor expression results in impaired natural killer cell activity in patients with chronic HCV hepatitis. 41st Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, April 26-30, 2006 Vienna, AUSTRIA. *Journal of Hepatology*, 44:440. 2006

A. Pár, G. Pár, T. Berki, G. Hegedűs, G. Mozsik, B. Hunyady: PEG-IFN plus ribavirin therapy suppresses plasma TGF-beta-1, hyaluronic acid and procollagen III peptide levels in patients with chronic hepatitis C independently of virological response. 41st Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, April 26-30, 2006 Vienna, AUSTRIA. *Journal of Hepatology*, 44:559. 2006

A. Miseta, M. Tőkés-Fűzesi, T. Nagy, P. Ozsváth, S. Fekete (felkért előadás): Kalcium ionok által mediált sejten belüli jelátvitel. MÉT Membrántudományi Szakosztály Kongresszusa (36. Membrán-Transzport Konferencia), Sümeg, 2006. 05. 23-26.

T. Nagy, O. Rideg, A. Peti Mihály, G. L. Kovács, A. Miseta: Kalcium szabályozás vizsgálata szívizomsejtek sejtmagjában. MÉT Membrántudományi Szakosztály Kongresszusa (36. Membrán-Transzport Konferencia), Sümeg, 2006. 05. 23-26.

A. Miseta, (invited speaker): Calcium signaling in inflammation. *Inflammation: Multidisciplinary approach Zadar, Croatia*, 2006, July 24-31, 10.

2.3. altéma: Szteroidok elemzése GC-MS eljárással; elektroforézis chiptechnológia kidolgozása

Tervezett részfeladatok

2.3.1.	Bioanalizer készülék beszerzése. Lamináris fülke beszerzése.	Csertex Kft. 70% PTE 30%	Dr. Kilár Ferenc	2005.10.01 2005.12.31	Berendezés.
2.3.2.	Készülékek, módszerek beállítása.	PTE 60% Csertex Kft. 40%	Dr. Kilár Ferenc	2006.01.01 2006.03.31	-
2.3.3.	Mérések mindhárom klinikai projekt beteganyagán.	PTE 90% Csertex Kft. 10%	Dr. Kilár Ferenc	2006.04.01 2006.09.30	Jegyzőkönyv.
2.3.4.	Minőségbiztosítási rendszer felállítása.	PTE 90% Csertex Kft. 10%	Dr. Kilár Ferenc	2006.10.01 2006.12.31	Minőségbiztosítási dokumentáció

Az egész projekt 2006. január 1-jével kezdődött, vagyis a 2005. évre tervezett feladatokat csak 2006. január 1-je után lehetett megkezdeni. A továbbiakban az adott időszakokban nem kellett átütemezett feladatokat végrehajtani, és nincs eltérés a tervezett munkákban.

A beszámolási időszakban elkészült feladatok és az elért eredmények

- Megtörtént a Bioanalizer készülék beszerzése. A készülék, a HPLC rendszerű mintaelőkészítő rendszerrel beüzemelésre került.
- Megtörtént a Lamináris fülke beszerzése. Megtörtént a laboratóriumi eszközök megvásárlása, és a laboratórium beüzemelése.
- A Bioanalizer készülékkel a mikrobiológiai rutin-vizsgálatokra elküldött anyagokból származó fehérje-profil és külső membrán-fehérjeprofil vizsgálatok történtek.
- A korábban beszerzett GC-MS készülékkel folyamatosan folyik a klinikai beteganyagok vizsgálata és az eredmények feldolgozása elsősorban diagnosztikai céllal. A tömegspektrometriás detektorral folyik az új diagnosztikai mérés-sorozat beállítása.
- Megtörténik a vizeletből (és szérumból) meghatározható szteroid-profil méréstechnika minőségbiztosítási rendszerének felállítása. A kalibrációs eljárás szisztematikus felállításán keresztül lehetőség nyílik a klinikai beteganyag rutinszerű feldolgozására. A minőségbiztosítási rendszert legalább 6 hónapon keresztül kell folytatni a minőségbiztosítási előírások figyelembe vételével.

A munkaszakaszban elkészült/megjelent/elfogadott publikációk listája

Takátsy, A., Kilár, A., Kilár, F. and Hjertén, S. Universal Method for Synthesis of Artificial Gel Antibodies by the Imprinting Approach I. Gel Antibodies against Proteins (Transferrins), *Journal of Separation Science* (2006) *in press* IF₂₀₀₅: 1.829

Takátsy, A., Sedzik, J., Kilár, F., Hjertén, S. Universal Method for Synthesis of Artificial Gel Antibodies by the Imprinting Approach III. Gel Antibodies against Viruses (Semliki Forest Virus), *Journal of Separation Science* (2006) *in press* IF₂₀₀₅: 1.829

Bacsokay, I., Takátsy, A., Végvári, Á., Elfving, A., Ballagi-Pordány, A., Kilár, F. and Hjertén, S. Universal Method for Synthesis of Artificial Gel Antibodies by the Imprinting Approach III. Gel Antibodies against Cells (Bacteria), *Electrophoresis* (2006) *in press* IF₂₀₀₅: 3.850

A közlemények a RET 008/2005 támogatásának felhasználásával készültek, amely fel van tüntetve a köszönetnyilvánítás során.

2.4. altéma: Diagnosztikai laboratóriumok akkreditációja

Tervezett részfeladatok

2.4.1.	Az akkreditáció előkészítése a Laboratóriumi Medicina Intézetben és az Immunológiai és Biotechnológiai Intézetben.	PTE 90% Roche Kft. 5% Csertex Kft. 5%	Dr. Kovács L. Gábor	2005.10.01 2005.12.31	-
2.4.2.	Minőségi Könyv kidolgozása, belső auditor képzés, módszertani leírások elkészítése a Laboratóriumi Medicina Intézetben és az Immunológiai és Biotechnológiai Intézetben.	PTE 90% Roche Kft. 5% Csertex Kft. 5%	Dr. Kovács L. Gábor	2006.01.01 2006.03.30	Minőségi könyv.
2.4.3.	A rendszer próbaüzemeltetése a Laboratóriumi Medicina Intézetben és az Immunológiai és Biotechnológiai Intézetben.	PTE 90% Roche Kft. 5% Csertex Kft. 5%	Dr. Kovács L. Gábor	2006.04.01 2006.06.30	-
2.4.4.	Akkreditációs bejelentkezés a Nemzeti Akkreditációs testületnél. Az akkreditáció előkészítése a Genetikai és Gyermekfejlődéstani Intézetben, valamint a Bioanalitikai Intézetben.	PTE 90% Roche Kft. 5% Csertex Kft. 5%	Dr. Kovács L. Gábor	2006.07.01 2006.09.30	Előkészített akkreditációs dokumentumok.
2.4.5.	Helyszíni audit és hibajavítás a Laboratóriumi Medicina Intézetben és az Immunológiai és Biotechnológiai Intézetben. Minőségi Könyv kidolgozása, belső auditor képzés, módszertani leírások elkészítése Genetikai és Gyermekfejlődéstani Intézetben, valamint a Bioanalitikai Intézetben.	PTE 90% Roche Kft. 5% Csertex Kft. 5%	KF	2006.10.01 2007.03.31	Minőségi könyv.

Elvégzett tevékenység

A PTE ÁOK OEC két diagnosztikai laboratóriumában, a Laboratóriumi Medicina Intézetben és az Immunológiai és Biotechnológiai Intézetben (továbbiakban LMI, ill. IBI)

minőségirányítási rendszerének kialakítása, és annak minősítése a NAT (Nemzeti Akkreditációs Testület) által.

Cél: az akkreditált laboratóriumok szigorú minőségirányítási, ellenőrzési rendszerével a gyógyítási folyamat lényeges részeként az egész egyetemi betegellátás minőségének javulásához, gazdaságosabbá tételéhez járul hozzá. A diagnosztikus egységek a többi intézet számára is támpontot, irányt jelenthetnek ebben a folyamatban, aminek végső célja a laboratóriumi szolgáltatás tartalmának jobb megértése átláthatósága, követhetősége és ellenőrizhetősége által, továbbá minőségének átélése, és ezzel a hatékonyabb gyógyítás elősegítése.

A rendszer kialakításához rendelkezésre állt a két intézet részéről 1 főállású és egy részben a minőségbiztosítással foglalkozó képzett, minőségirányítási felelős szakasszisztens, 1 vegyész és egy rezidens orvos munkaidejük egy részében, továbbá külső segítőként egy kisvállalkozás, 1 fő orvossal.

A rendszer kialakításának módszerében a dokumentumok leírásában kisebb szakmacsoportok kijelölésével éltek az intézetek, mely munka előkészítése 2005. december 31-ig megtörtént. 2006. januárjától elkészültek a dokumentumok, csaknem valamennyi hitelesítve az LMI-ben szétosztásra került. Ugyanez az IBI-ben a következő 2 hét feladata, a dokumentumok ellenőrzése kisebb mértékben, és a hitelesítő aláírás nagyjából hiányzik. Reményeink szerint ezt az intézetvezető rendkívüli elfoglaltsága ellenére sikerül megoldani. A kisebb szakmai csoportokra kijelölt feladatok/dokumentumok végső konszenzusos formáját minden egyes dokumentum vonatkozásában többfordulós „brain storming” konzultációkkal az érintettek közösen alakították ki. Módszerünkben ezen túlmenően igen nagy és hangsúlyos szerepet kapott a minőségirányítás ISO szerinti megélésének oktatása mindkét labor valamennyi telephelyén. A belső auditori/önellenőrzési folyamatra külön szervezett tanfolyamon készítettük fel a munkatársakat. A kis szakmai csoportok oktatása ellenőrzése folyamatos.

A mellékelt táblázatban a programtól való eltérést egyedül az akkreditációs kérelem kitöltésének elmaradása jelenti. Ennek okai:

- A mellékletben feltüntetett apróbb hiányosságok (aláírások, érvénybe léptetések, számolások és belső audit.)
- Az LMI-ben hamarosan kezdődik a labor átalakítás, amikor nagyon szerencsétlen lenne az auditálást is végezni, hisz nem lehet az auditorokat fogadni.
- A NAT szabályozás változása, amely szeptember 11-én jelent meg, és az ezt követően beadott akkreditációs kérelmek már csak az ehhez tartozó „Kérelem” űrlapon adhatók be. A NAT-tól az az információ, hogy ennek a hatályos űrlapnak az eléréséhez néhány hétre van szükség, tehát ki sem tölthetik a laborok ezt a jelentkezési kérelmet.

Mindezek után Kovács L. Gábor intézetigazgató projekt felelős úgy döntött, hogy magát az eljárást csak 2007- január 2-től indítja el a két labor.

2.5. alprogram: Regionális laboratóriumi ellátási koncepció kidolgozása

Tervezett részfeladatok

2.5.1.	Regionális laboratóriumi diagnosztikai betegutak felmérése Baranya, Tolna és Somogy megyében. Sokcsatornás Kémiai Laborautomata beszerzése, sokcsatornás immunoanalitikai automata beszerzése	PTE 50% Roche Kft. 25% Csertex Kft. 25%	Dr. Kovács L. Gábor	2005.10.01 2005.12.31	Szöveges beszámoló.
2.5.2.	Regionális laboratóriumi diagnosztikai betegutak felmérése Baranya, Tolna és Somogy megyében. Konferenciaszervezés.	PTE 70% Roche Kft. 15% Csertex Kft. 15%	Dr. Kovács L. Gábor	2006.01.01 2006.03.31	Szöveges beszámoló.
2.5.3.	Regionális ellátási koncepció kidolgozása, optimalizált ellátó kapacitás műszeres feltételeinek kialakítása, konferenciaszervezés	PTE 70% Roche Kft. 15% Csertex Kft. 15%	Dr. Kovács L. Gábor	2006.04.01 2006.09.30	Konferencia, kiadványok.

Elvégzett tevékenység

A projekt keretében egy terv készült a régió laboratóriumi ellátásának a koordinálásával kapcsolatban.

A régió problémáinak a jobb megértése céljából egy napos konferenciát rendeztünk a PAB székházában. A konferencarendezés szervezés mintegy 210.000,-Ft-ba került. A laborvezetők több mint 90%-a megjelent és aktívan résztvett.

A régió laboratóriumaiban több látogatást tettünk (Komló, Barcs, Kaposvár, Szekszárd, Bonyhád, Tab, Balatonföldvár, Fonyód).

A személyi juttatások terhére egy megbízásos alkalmazás történt. A személy feladata a projekttel kapcsolatos menedzsment segítése és adminisztráció.

Sor került két számítógép beszerzésére, melyek a nyilvántartást, adatfeldolgozást és a kapcsolattartást segítik.

Sor került a partner ROCHE Magyarország Kft. ill. a Csertex Kft. részeiről kémiai és immunológiai automaták telepítésére (Modular /3 modul/, Modular preanalitika /5 modul/, 4 db Integra, 2 db Hitachi ill. Architect /4 modul/, Axsym Instrument, IMX analyzer, Abbottbase system). A készülékeken próbaüzemmódban sor került elektrolit (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , metabolit (CN, creatinin, glükóz, bilirubin, direkt bilirubin, húgysav), enzim (GOT, GPT, GGT, LDH, CK, CK-MB), öszfehérje, albumin mérésekre.

A jelen projekt szervesen kapcsolódik az NFT-2 keretén belüli ellátási integrációs folyamatba.

Publikációk:

G. Pár, T. Berki, L. Pálinkás, L. Szereday, M. Halász, J. Szekeres-Bartho, A. Miseta, G. Hegedűs, Z. Faust, G. Mozsik, B. Hunyady, A. Pár: Increased TGF-beta-1 secretion via down-regulating NKG2D killer activator receptor expression results in impaired natural killer cell activity in patients with chronic HCV hepatitis. 41st Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, April 26-30, 2006 Vienna, AUSTRIA, *Journal of Hepatology*, 44:440, 2006

A. Pár, G. Pár, T. Berki, G. Hegedűs, G. Mózsik, B. Hunyady: PEG-IFN plus ribavirin therapy suppresses plasma TGF-beta-1, hyaluronic acid and procollagen III peptide levels in patients with chronic hepatitis C independently of virological response. 41st Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, April 26-30, 2006 Vienna, AUSTRIA, *Journal of Hepatology*, 44:559, 2006

A. Miseta, M. Tőkés-Füzesi, T. Nagy, P. Ozsváth, S. Fekete (felkért előadás): Kalcium ionok által mediált sejten belüli jelátvitel. MÉT Membrántudományi Szakosztály Kongresszusa (36. Membrán-Transzport Konferencia), Sümeg, 2006. 05. 23-26.

T. Nagy, O. Rideg, A. Peti Mihály, G. L. Kovács, A. Miseta: Kalcium szabályozás vizsgálata szívizomsejtek sejtmagjában. MÉT Membrántudományi Szakosztály Kongresszusa (36. Membrán-Transzport Konferencia), Sümeg, 2006. 05. 23-26.

A. Miseta, (invited speaker): Calcium signaling in inflammation. Inflammation: Multidisciplinary approach, Zadar, Croatia, 2006, July 24-31.

2.6. alprogram: Klinikai biokémikus, mikrobiológus és molekuláris biológiai diagnosztikus felsőfokú szakképzés

Tervezett részfeladatok

2.6.1.	Versenyképes képzettséget nyújtó, EU-kompatibilis klinikai biokémikus képzési rendszer alapelveinek meghatározása.	PTE 100%	Dr. Kovács L. Gábor	2005.10.01 2005.12.31	-
2.6.2.	Képzési programok alapvető informatikai és műszaki háttérének biztosítása.	PTE (100%)	Dr. Kovács L. Gábor	2006.01.01 2006.03.31	-
2.6.3.	Vizsgakérdés bank összeállítása.	PTE 100%	Dr. Kovács L. Gábor	2006.04.01 2006.06.30	-
2.6.4.	„Train the trainers” tanfolyamok szervezése, problémaorientált, kiscsoportos képzési technikák, új pedagógiai módszerek, tananyag tervezési és tematikafejlesztési módszerek elsajátítására.	PTE 100%	Dr. Kovács L. Gábor	2006.07.01 2006.09.30	Tanfolyam-tematika
2.6.5.	Gyakorlat-orientált képzési programok és kurrikulum kialakítása és a képzés elkezdése.	PTE 100%	Dr. Kovács L. Gábor	2006.10.01 2006.12.31	-

Elvégzett tevékenység

A szakképesítési rendszer jogi háttérének kialakítása „A klinikai biokémikus, klinikai mikrobiológus, valamint a molekuláris biológiai diagnosztikus egészségügyi felsőfokú szakirányú szakképesítésről szóló 41/2005. (IX.22) EüM rendelet megjelenésével valósult meg. A meglévő jogszabály szerint definiáltuk a szakképzési rendszer elsődleges célcsoportját: a nem egészségügyi végzettségű orvosi és mikrobiológiai laboratóriumban dolgozó diplomások (biológusok, vegyészek, kémia tanárok stb.) ill. a radiológiai, sugárterápiás laboratóriumban dolgozó fizikus vagy egészségügyi mérnök képzettségű diplomások személyében.

A célcsoportok tájékoztatására és felmérés céljára a Magyar Laboratóriumi Diagnosztika Társasággal (MLDT) együttműködve egy Tájékoztatót és Felmérő kérdőívet dolgoztunk ki, a 41/2005. (IX.22.) EüM rendeletben megjelent *klinikai biokémikus, klinikai mikrobiológus, egészségügyi felsőfokú szakirányú szakképesítés megszerzésével kapcsolatban*, hogy mielőtt a szakképzési rendszerbe való bejelentkezés és a szakvizsgára való felkészülés megindulna, felmérjük az ilyen irányú igényeket. A kérdőívet 160 kórházi és rendelőintézeti laboratórium vezetőjének küldtük ki acélból, hogy környezetében szíveskedjen felmérni a szakképzésre jogosult nem egészségügyi (a kémia, biológia tudomány vagy laboratóriumi diagnosztika területén egyetemi oklevéllel

rendelkező) diplomások körében, a fenti szakképzési rendszerbevitelre vonatkozó igényt. A tájékoztató és a kérdőív felkerült az MLDT honlapjára is (www.mldt.hu) és az MLDT ú.n. „Hulab” levelezőlistáján is nyilvánosan közzétett hírként megjelent. Így a tájékoztatás a lehető legszélesebb körben, papír alapon, levelek útján és digitális formában is megtörtént.

A képzési program beindításához szükséges alap informatikai beszerzések, megrendelések elindítása megtörtént (HP Compaq NX8200 laptop, Color LaserJet 3700, Canon IR3530 fénymásoló formájában) és 2006 április végén az eszközök meg is érkeztek. A tervezett informatikai beszerzések másik része a negyedik negyedévre toldott el, mert ennek csak a 2.6.5 pont (a képzési programok és kurrikulum kialakítása) megvalósulása kapcsán lesz szerepe.

A szakképesítés megszerzésére történő jelentkezés rendjének összehangolására 2006. április 21-én Tihanyban a négy orvostudományi kar ill. a laboratóriumi diagnosztika szakma prominens képviselői egyeztetésre ültek össze (Prof. Dr. Kovács L. Gábor, Prof. Dr. Horváth Andrea Rita, Dr. Kappelmayer János, Prof. Dr. Fekete Mátyás, Dr. Hetyési Katalin). Megtárgyalták a képzési központokhoz országosan 2006. április 15-ig beadott, több mint tízeves laboratóriumi praxissal rendelkező kollégák gyakorlatainak, tudományos munkájának ill. tanfolyamainak elismerhetőségét.

A klinikai biokémikus szakképesítés megszerzéséhez szükséges vizsga kérdéseinek kialakításában támaszkodtunk a laboratóriumi szakorvosi vizsga kérdéseire, az Európai Unió EC4 ajánlásaira, az angol, az ausztrál és USA hasonló tematikák alapján szervezett szakképesítések kurrikulumaira. Meghívásunkra a LMI-ben tartózkodott Dr. John C. Chatham, az University of Alabama at Birmingham, Dept. of Med- Cardiovascular Disease, USA professzora, akivel az amerikai tapasztalatok vonatkozásában konzultáltunk.

A vizsgakérdés bank átfogja a klinikai kémia, hematólógia és haemostasis, valamint a molekuláris biológia területei, módszertani és diagnosztikai aspektusait is.

Dr. John C. Chatham (University of Alabama at Birmingham, Dept. of Med- Cardiovascular Disease, University job title: Assoc Prof Medicine) 2006.05.08 - 2006.05.14. között itt volt.

Az alprogram keretében *Fehérje diagnosztika* címmel 2006. szeptember 25-29. között tanfolyamot szerveztünk, melynek témái között a fehérje diagnosztika legmodernebb módszertani megközelítései valamint az egyes, diagnosztikailag nagy jelentőségű területei is helyet kaptak.