



Kémiai vonatkozású doktori értekezések a Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem Gyógyszerészeti Karán (2000-2013). I. Gyógyszerészeti Kémia

Gyéresi Árpád¹, Tőkés Béla²

Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem, ¹Gyógyszerészeti Kémiai Tanszék, ²Fizikai Kémiai Tanszék

Teze de doctorat cu profil de chimie elaborate la Facultatea de Farmacie a Universității de Medicină și Farmacie din Târgu-Mureș. I. Chimie farmaceutică

Organizarea studiilor doctorale în cadrul Facultății de Farmacie din Târgu-Mureș are o tradiție respectabilă, începând cu anul 1953. Primele discipline au fost Farmacognozia și Istoria farmaciei, la care mai târziu s-au adăugat Tehnologia farmaceutică și Farmacologia. Disciplinele de chimie apar în acest domeniu din anul 2000, fiind vorba de Chimia farmaceutică și Chimia fizică. În prima parte a acestei sinteze sunt prezentate temele de cercetare abordate de doctoranzii la Chimie farmaceutică. Temele în cadrul specialității de Chimie farmaceutică - de interes teoretic și practic - au imbinat experiențele Disciplinei în domeniul metodelor de separare introduse în ultimele decenii, ca cele cromatografice. După anul 2000, problema aderării la Uniunea Europeană a presupus și preluarea obligatorie a prevederilor Farmacopeei Europene. În perioada 2000-2013 s-au elaborat 11 teze de doctorat în cadrul Disciplinei de Chimie farmaceutică. Principalele teme au abordat separarea enantiomerilor la substanțele chirale, cercetarea stabilității farmakonilor cu metode performante, cercetarea interacțiunii farmakon-substanțe auxiliare. S-a creat o adevărată școală în domeniul tehnicii de electroforeză capilară. Rezultatele lucrărilor realizate cu colaborări multiple, sprijinite și de programul CEEPUS, au fost publicate în reviste de specialitate bine cotate, respectiv au fost prezentate la manifestările științifice din țară și peste hotare.

Cuvinte cheie: teze de doctorat, chimie farmaceutică

A record of PhD theses in Chemistry compiled at the Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy, Targu-Mures. I. Pharmaceutical Chemistry

The organization of doctoral studies at the Faculty of Pharmacy in Targu-Mures has a respectable tradition since 1953. Since the beginning, the organizing departments were Pharmacognosy and History of Pharmacy, later joining these other two departments Pharmaceutical Technology and Pharmacology. Disciplines like Pharmaceutical Chemistry and Physical Chemistry belonging to the field of chemistry were added to the list in 2000. The first part of this synthesis will discuss issues related to research in the field of Pharmaceutical Chemistry. The approached topics of theoretical and practical interest in the field of Pharmaceutical Chemistry have combined the vast experience of the discipline in chromatography with new techniques adopted in the last decades. After the year 2000, when Romania was about to join the EU the compulsory implementation of the European Pharmacopoeia provisions was not an issue anymore. During 2000-2013, there were 11 PhD thesis compiled at the Department of Pharmaceutical Chemistry. The main topics focused on the enantiomeric separation of chiral drug substances, the research of pharmacokinetic stability by using high-performance methods, the research of pharmacokinetic - auxiliary substances interaction. Based on these activities, specialized mainly in capillary electrophoresis, a complete school has developed. The results of researches mostly supported by the international program CEEPUS, which were based on multiple collaborations, were published in prestigious specialty journals and were presented at scientific events in the country and abroad.

Keywords: PhD thesis, pharmaceutical chemistry

Dr. Gyéresi Árpád

540143 Marosvásárhely - Târgu Mureș,

Aleea Cornisa utca 4/16

E-mail: agyeresi@gmail.com

Az 1948-ban létesült Marosvásárhelyi Gyógyszerészeti Karon közel 60 éve folyik doktori képzés. 1953-tól a gyógynövényismeret-farmakognózia (dr.Kopp Elemér prof.), majd 1968-tól a gyógyszerészet történetének területén (dr. Spielmann József prof.) volt erre lehetőség, kezdetekben egyedüli helyen Romániában. A 90-es évektől újabb specialitások is bekapcsolódtak, a gyógyszer technológia (dr. Popovici Adriana prof.) és a farmakológia (dr. Feszt György prof.), a fitoterápia (dr. Csedő Károly prof.) mellett. Dr. Rác Gábor professzor közel 25 évig (1968-1993) irányította a doktoranduszok munkáját gyógynövényismereti területen.

2000-ben kapcsolódott be a doktori képzésbe két kémiai arculú tárgy: a gyógyszerészeti kémia és a fizikai kémia (bioanalitika). E területek doktorátusvezetőiként foglaljuk össze a kutatási témákat és a 2013-ig terjedő időszakban doktori minősítést szerzett doktoranduszaink eredményeit.

Munkánkat a marosvásárhelyi gyógyszerész doktori képzés 60. évének ajánljuk (1953-2013).

A gyógyszerészeti kémiai kutatások preambuluma

A XX. század kilencvenes éveinek változásai, a nyíltabb társadalom kínálta lehetőségek megnyitották a nemzetközi tudományos kapcsolatok, tájékozódás-információszerzés zsilipeit. Az európai szintű integrálódás, a globalizáció a gyógyszerészet területén is erőteljesen érvényesült. Egyre erőteljesebbé váltak a törekvések a gyártás, minőségbiztosítás, forgalmazás normáinak széleskörű nemzetközi összehangolására. Ez a folyamat a kutatásban is nemcsak új kihívásokat, hanem új lehetőségeket, az információ szinte naprakész áramlását tette lehetővé és vált annak meghatározójává. Az Európai Unióhoz való csatlakozás és felzárkózás első lépését a gyógyszerészet területén az Európai Gyógyszerkönyvi Egyezményhez való csatlakozás jelentette, az Európai Gyógyszerkönyv előírásainak az elfogadását és tiszteletben tartását. Ennek a rendkívül dinamikus fejlődő követelményrendszerre a gyógyszerkutatás, a gyógyszer vizsgálat új normáit vezette be egyre igényesebb módszerek alkalmazásával.

Elterjedtek a nagy teljesítményű - nagy felbontóképességű módszerek, amelyek a kutatás-gyártás-vizsgálat mindennapos eszközeivé váltak, a műszeres analízis teljes forradalmát jelentve. Különösképpen kiszélesedett a kromatográfiás módszerek, az elektroforézis, a spektrális módszerek alkalmazásának a gyakorlata.

Ismeretes, hogy a gyógyszeranyagok jelentős része királis molekulájú, izomerek keveréke, melyeknek szá-

mos tulajdonsága, a biológiai közegben való viselkedése, számszerűsítve, akár nagyságrendekkel eltérő. Egyre aktuálisabb feladatot jelent a hatékony izomer (eutomer) elkülönítése, s az enantiomer-tisztaság vizsgálata, nemkevéské a sztereo(régió) szelektív szintézisek kidolgozása. Utóbbi jelentős anyagi terheket ró a gyártókra.

Ugyanakkor fokozott figyelem irányult a gyógyszeranyagok stabilitásának vizsgálatára (hő, fény, kémhatás, nedvesség), a bomlástermékek kimutatásának egyre hatékonyabb módszereire, lévén, hogy ilyen folyamatok, átalakulások a szervezetben is lejátszódnak, a metabolizáció bonyolult folyamatában. Ilyen értelemben a szerkezeti átalakulások követése - lévén, hogy káros hatású átalakulási termékek is képződhetnek - szintén a kellően hatékony vizsgálati módszerek kidolgozásának hajtórugójává vált.

A gyógyszertervezés, a gyógyszeranyag fizikai-kémiai tulajdonságainak, a szervezet közegében létrejövő kölcsönhatásoknak a megismerése, a célhatás elérése (időben, tartamban, intenzitásban) alapos kutatásokat igényel. Farmakokinetikai szempontok alapján, a gyógyszer sorsának szimulatív követése, a segédanyagok optimális kiválasztása további kutatásokat feltételez és gerjeszt. A gyógyszeranyag optimális hatékonyságának biztosítása a választott gyógyszerforma, segédanyagok együttesével lehetséges. Utóbbiak kiválasztása akár a gyártási titok területére is elvezet, szigorú, tudományos kutatás-racionalitás alapján. Az állatgyógyszerekre vonatkozó minőségi előírások is hasonló rangra emelkedtek.

Kutatási témakörök - doktorátusi témák

A Gyógyszerészeti kémia tárgy átfogó, komplex jellegénél fogva kezdettől változatos témákat kínált a doktoranduszok számára, ötvözve a Tanszéknek a szétválasztási technikák (kromatográfiás módszerek) területén felhalmozott tapasztalatát az utóbbi évtizedekben elterjedt újabb módszerek alkalmazásával [12].

Szétválasztástechnikai témáink több analóg szerkezetű gyógyszeranyag csoportra terjedtek ki. A hatóanyagok mellett a gyógyszerformulálásban szereplő segédanyagok tanulmányozása is célunk volt. Az alkalmazott módszerek – vékonyréteg-kromatográfia, nagyhatékonyságú folyadékromatográfia, valamint a kapilláris elektroforézis – esetében sikerült tisztázni az optimális körülményeket és elvégezni a kidolgozott módszerek analitikai kiérté-

kelését, validálását is. E módszerek megfelelő hatékonysággal alkalmazhatók a stabilitás, a gyógyszerformák, biológiai és környezeti minták vizsgálatára is. A megoldandó feladatok között sajátos újdonságot jelentett a királis molekulájú gyógyszervegyületek enantiomerjeinek a szétválasztása (béta-blokkolók, H1-antihisztaminok, 1,4-benzodiazepinek).

Több kutatási témánk foglalkozott a gyógyszeranyagok (antibiotikumok: penicillinek, cefalosporinok; antidepresszív szerek; 1,4-benzodiazepinek; dipinek) stabilitásának vizsgálatával és a stabilizálás lehetőségeivel.

A gyógyszertervezés szemszögéből nagy gyakorlati fontossággal bírnak azok a kutatások, amelyek a gyógyszeranyagok és a segédanyagok kölcsönhatásait vizsgálták. E téren kiemelhető a különböző vegyületeknek ciklodextrinekkel való komplexképzésének a tanulmányozása, az oldódás elősegítése, a stabilitás növelése céljából. A ciklodextrinek szerepe jelentős a királis szétválasztásoknál is, enantiomer-szelektivitásuk által. E kölcsönhatások felderítésében molekula-modellezési programok, energetikai számítások felhasználására is sor került. Témáink között a hatóanyagleadásra - kioldódásra vonatkozó, valamint kinetikai tanulmányok is szerepeltek.

A kutatások kivitelezésében értékes lehetőségeket kínáltak a CEEPUS-program országainak - elsősorban a magyarországi egyetemek (Pécs, Budapest, Debrecen)

intézeteivel, valamint az ERASMUS program révén kialakított együttműködési kapcsolatok (Szeged, Budapest), melyek által ebben az időszakban 11 színvonalas doktori értekezés készült a Gyógyszerészeti Kémiai Tanszéken (**1. táblázat**).

Kutatási eredmények

A gyógyszer ható- és segédanyagok minőségvizsgálatának, stabilitásának alapvető jelentősége van. Esetleges kölcsönhatások felderítése úgyszintén fontos a gyógyszerformák hatékonysága, a hatóanyag leadása szempontjából. A hasonló szerkezetű vegyületek egymás melletti kimutatása, célszerűen specifikus meghatározása úgy az egyes vegyületek azonosításában, mint a tisztaságuk ellenőrzésében, stabilitásuk vizsgálatában állandó gyakorlati probléma.

A következőkben e területek témaköreiben elért főbb eredményeinket mutatjuk be.

1. Gyógyszeranyagok szétválasztása

A cél — esetenként — analóg szerkezetű vegyületek keverékből történő összehasonlító vizsgálata, megkülönböztetése volt. Mivel a szerkezetben jelentkező különbségek a fizikai-kémiai tulajdonságok eltéréseit okozzák, így adott szerkezetű vegyület sajátosan viselkedik a meghatározások során.

1.táblázat. A Gyógyszerészeti Kémiai Tanszéken készített doktori értekezések (2000-2013)

Szám	Év	Doktorandusz neve	Doktori értekezés címe
1.	2007	Șoica Codruța Marinela	Obținerea și analiza complexilor de incluziune ai unor diuretice cu ciclodextrine
2.	2008	Gagyi László	Cercetări comparative privind separarea și detectarea chiroptică a enantiomerilor unor substanțe medicamentoase chirale
3.	2008	Hancu Gabriel	Cercetări privind separarea și stabilitatea unor derivați de 1,4-benzodiazepină
4.	2008	Trandafirescu Cristina	Studiul interacțiunii ciclodextrinelor cu derivați de azoli cu utilizare terapeutică
5.	2010	Mondea Corina Cireșica	Studiu privind cercetarea stabilității cefalosporinelor din produse biologice și respectiv din forme farmaceutice de uz veterinar
6.	2012	Székely Pál	Cercetări privind procesele de fotodegradare ale antidepressivelor triciclice și toxicitatea produșilor de descompunere
7.	2012	Fülöp Ibolya	Cercetări privind interacțiunile între compuși din grupa AINS și unele substanțe auxiliare
8.	2012	Rusu Aura	Cercetări privind caracterizarea fizico-chimică a derivaților de chinolonă prin metode de analiză optimizate
9.	2012	Rad Ioan	Cercetarea influenței substanțelor auxiliare asupra stabilității unor preparate farmaceutice cu antibiotice beta-lactamice
10.	2013	Kelemen Éva Katalin	Cercetări privind optimizarea unor parametri ai testelor de dizolvare in vitro la substanțe medicamentoase și corelări in vitro
11.	2013	Simon Brigitta	Cercetări privind separarea simultană a unor compuși cu acțiune antimicrobiană din amestecuri complexe

1,4-Benzodiazepinek

A hasonló szerkezetű vegyületek tanulmányozásában szerepeltek az 1,4-benzodiazepin származékok (1,4-BZD), melyek az utóbbi 50 évben nagy terápiás jelentőségre tettek szert, többirányú idegrendszeri hatásaik következtében. **Hancu G.** [14-20] témája az igen változatos szerkezetek közül 8 - különböző lipofilitású vegyület tanulmányozása volt. Megkülönböztetésükre 3 módszert vett igénybe: a standardizált vékonyréteg-kromatográfiát (VRK), a nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiát (NHFK), valamint az egyre nagyobb teret hódító kapilláris elektroforézist (KEF).

Az 1,4-BZD származékok alapvázában benzolgyűrűvel kondenzált héttagú heterociklus van, 1-es és 4-es pozícióban nitrogén atomokkal, 5-ös helyzetben (hetero) aromás gyűrű. Az alprazolám 3 kondenzált gyűrűt tartalmaz. Alapvetően bázikus jellegű molekulák.

A nagyhatékonyságú VRK technika segítségével (HPTLC szilikagél lemezek, standardizált CAMAG kromatográfiás rendszer) STAHL módszerével sikerült egy olyan kifejlesztő elegyet összeállítani, mely kellő biztonsággal alkalmas a 8 vegyület elválasztására.

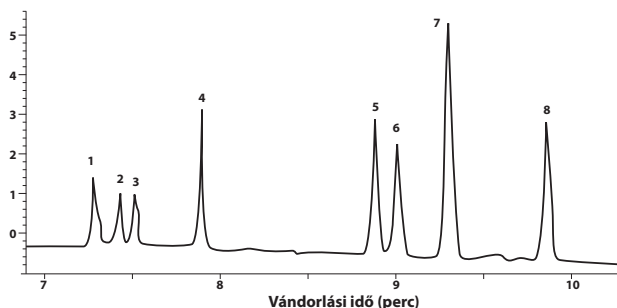
A NHFK módszer fordított fázisú (RPC18) technikájával sikerült megoldani a szétválasztást, jórészt a log P értékek növekvő sorrendjében, az elúciós idő alapján: bromazepám - 12,08 perc - (logP 2,05), medazepám - 29,25 perc (logP 4,41) szélső értékekkel.

A továbbiakban a jelenleg leghatékonyabb elválasztási technikák körébe tartozó kapilláris elektroforézis alkalmazására került sor, mely egyesítve a nagy elválasztási hatékonyság, gyors elemzés, kis anyagigény előnyeit poláros és nem-poláros vegyületek elemzésében egyaránt használatos. Tekintve, hogy az 1,4-BZD-ek elektroforetikus mobilitása csekély, ezért felületaktív anyag – Na-dodecilszulfát (DDS), anionikus felületaktív anyag – jelenléte szükséges a puffer-oldatban (bórax-oldat) és szerves adalékként metanol hozzáadása. A módszer neve micelláris kapilláris elektroforézis (MKEF), avagy micelláris elektrokinetikus kromatográfia (MEKK). A kidolgozott módszer optimalizálása nyomán biológiai próbából - vérszérumból való meghatározásra is alkalmasnak bizonyult.

Hancu G. doktori értekezésén túlmenően, a KEF módszer alkalmazásának területén iskolaalapítónak is számít, aki alapos felkészültségét az évek során a Debreceni valamint a Pécsi Tudományegyetemen alapozta meg, a CEEPUS-program és a MTA pályázatainak köszönhetően.

További kutatásai során, a metanolt a gyűrűs szerkezetű glukózegységekből álló ciklodextrinnek (CD)

helyettesítve sikerült a migrációs időt felére csökkenteni, a módszer felbontóképességének megnövelése mellett (γ -CD) (1. ábra).



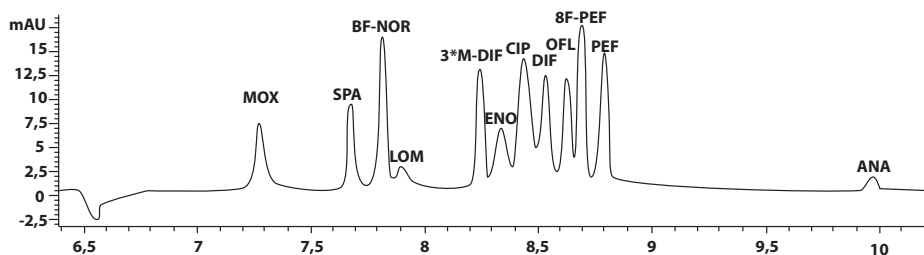
1. ábra. Benzodiazepinek elektroforetikus szétválasztása – MKEF módszer, elektrolit: 25 mM bórax, 50 mM DDS, 20 mM β -CD (1-bromazepám, 2-nitrazepám, 3-flunitrazepám, 4-klórdiazepoxid, 5-alprazolám, 6-oxazepám, 7- diazepám, 8- medazepám).

Ezenkívül a kidolgozott VRK és MKEF módszereket a szerző sikeresen alkalmazta a BZD-ek savas hidrolízisének, valamint fényérzékenységeinek (napfény, UV) tanulmányozására is.

Antibakteriális hatású gyógyszeranyagok, béta-laktám antibiotikumok (penicillinek, cefalosporinok)

A fluorokinolon-származékok az utóbbi fél évszázad jelentős antibakteriális hatású szintetikus vegyületei, eredetileg a Gram-negatív baktériumokra gyakorolt hatásukkal tűntek ki, az utóbbi 20 év kutatásai során sikerült egyre hatékonyabb, széles hatásspektrumú vegyületekhez eljutni.

Rusu A. [22, 40-45, 58] abból kiindulva, hogy e vegyületek protonálódási centrumainak jelentős szerepe van farmakokinetikai szempontból és ugyanakkor a DNS-giráz enzimhez való kötődésben is, fontosnak tartotta a kinolon-származékok sav-bázis egyensúlyára vonatkozó vizsgálatokat. Molekula fragmentumokat tartalmazó vegyületeket is felhasználva NMR-módszerrel, ^1H -NMR titrálással sikerült hat kiválasztott vegyület protonálási állandóit (makro-, mikro-) meghatározni, köztük a kétgyűrűs pirrolidino-piperidin szubsztituenst hordozó moxifloxacin esetében is, mely eddig nem szerepelt a szakirodalomban. **Rusu A.** széleskörű vizsgálatokat végzett a kinolonok elektroforetikus tulajdonságaira vonatkozóan. A KEF ismert előnyeiből kiindulva (szelektivitás, kevés anyagigény), 17 kinolonszármazék felhasználásával sikerült értékes összefüggéseket találnia a szerkezetükkel kapcsolatban és végeredményben a nagyszámú rokonve-



2. ábra. Fluorokinolon származékok elválasztása KEF módszerrel (MOX-Moxifloxacin, SPA-Sparfloxacin, 8F-PEF-8Fluór-Pefloxacin, LOM-Lomefloxacin, ENO-Enoxacin, CIP-Ciprofloxacin, DIF-Difloxacin, OFL-Ofloxacin, PEF-Pefloxacin, 8F-NOR-8Fluór-norfloxacin, ANA-Nalidixsav).

gyület szétválasztását megoldania. Az elektrolit, pH(savas, bázikus) változások függvényében az elektroforetikus mobilitás és a szerkezet viszonyára értékes következtetések levonására volt lehetőség, igen alacsony detektálási határértékekkel. Mivel a módszerváltozatok közül a kapilláris zónaelektroforézis (KZEF) kevésbé bizonyult szelektívnek, igen közeli szerkezetekről lévén szó, sor került a micelláris KEF (MKEF) kipróbálására is, anionos felületaktív anyag - nátrium dodecil-szulfátot (DDS) alkalmazva, a kritikus micelláris koncentrációt meghaladó mennyiségben.

A KZEF módszernél a pH-függés tanulmányozása során azt tapasztalta, hogy az eredetileg oldatban ikerionos vegyületek savas (foszforsav) pH<6, valamint bázikus (bórax) pH=8,5-9,5 értéknél választhatók szét. 9,3-as pH értéknél 12 vegyület szétválasztása volt sikeres. A kimutatási határ 10-100 µg/ml (**2. ábra**).

A kidolgozott MKEF módszer 3 hasonló szerkezetű, második generációs fluorokinolon (ciprofloxacin, norfloxacin, ofloxacin) optimális szétválasztására alkalmas.

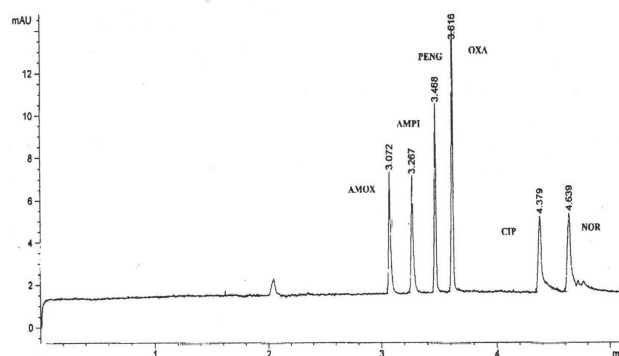
Különben, valamennyi kidolgozott módszer optimalizálása, az adatok analitikai kiértékelése is megtörtént.

Rusu A. kutatásait jelentős mértékben segítette egyetemünk és a budapesti Semmelweis Egyetem között létező ERASMUS programbeli kapcsolat, mely lehetővé tette az NMR vizsgálatok elvégzését a SE Gyógyszerészi Kémiai Intézetében.

Az antibiotikumok, antibakteriális szerek széleskörű felhasználása a humán- és állatgyógyászatban egyaránt jelentős környezetszennyezési problémákat vet fel. Ezért pl. a penicillinek és a fluorokinolonok kimutatására és meghatározására alkalmas analitikai módszerek kutatása igen időszerű. E területtel kapcsolatos **Simon Br.** doktori értekezése [21-24, 46-49].

A kettős jellegű fluorokinolonok savas, ill. bázikus pH-nál is ionosak, a só formában használt egyes *penicillinek* (benzilpenicillin, oxacillin) ionosak, az

aminopenicillinek (ampicillin, amoxicillin) savas és bázikus közegben ionizálnak. Összességében, a szerző vizsgálatai szerint a micelláris kapilláris elektroforetikus módszer — megfelelő paraméterek kiválasztásával — bizonyult hatékonynak a 4 penicillin-származék 5 percen belüli szétválasztására. pH=9,3-nál (bórax puffer-oldat, Na-dodecil-szulfát). A puffer pH-jának bórsavoldattal való csökkentésével vált elérhetővé a penicillinek és a két kiválasztott fluorokinolon-származék (ciprofloxacin és norfloxacin) — összesen a 6 vegyület — alapvonalon történő szétválasztása. Hasonlóképpen, sikeres szétválasztás volt elérhető szerves módosító, acetonitril hozzáadásával is. A kidolgozott módszer jól alkalmazható a penicillinek oldatban, valamint savas, ill. bázikus közegben való bomlásának tanulmányozására (**3. ábra**).



3. ábra. Penicillinek és fluorokinolonok elválasztása MKEF módszerrel (AMOX-Amoxicillin, AMPI-Ampicillin, PENG-Benzilpenicillin, OXA- Oxacillin; CIP- Ciprofloxacin, NOR-Norfloxacin).

Összehasonlításképpen, a szerző tanulmányozta a 6 vegyület szétválasztásának körülményeit NHFK módszerrel is, foszfát-puffert és acetonitrilt tartalmazó

eluenssel. Változtatva a komponensek arányát (%), vég-eredményben pH=2,5-nél sikerült a 6 vegyület szétválasztását megoldani.

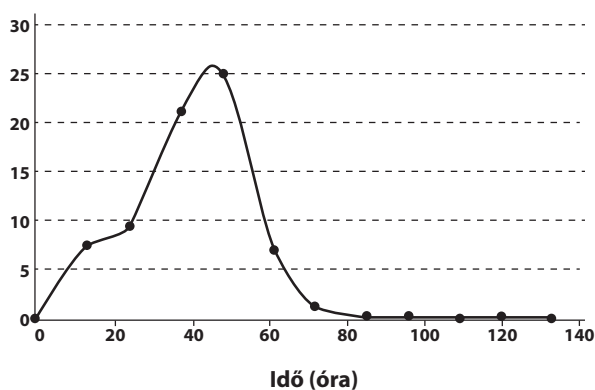
A baktericid-hatású antibiotikumok közé tartozó béta-laktám szerkezetű cefalosporinok alkalmazása a humán gyógyászat mellett az állatgyógyászatban is széleskörű. Sajátosan állatgyógyászati alkalmazású a cefquinom, melyet a szarvasmarhák tőgygyulladásának a kezelésére használnak. Hasonló célra használják a cefuroximot is. Ezek a vegyületek, miként a ceftriaxon és ceftazidim is a 7-amino-cefalosporánsav oldalláncában metoxiimino csoportot és egy öttagú heterociklust - 2-amino tiazolt (a cefuroxim 2-furánt) tartalmaznak. Ez a csoport a hatás növelésében, a metoxiimino csoport a β -laktamáz rezisztenciában játszik szerepet.

Az utóbbi évtizedekben szigorú nemzetközi normák vonatkoznak a haszonállatok termékeinek vizsgálatánál a gyógyszermaradványok kimutatására. Előírások vannak, az állatok gyógyszeres kezelése esetén a kiürülési (várakozási) idő tiszteletben tartására.

Az említett előírások szellemében az állati eredetű termékek vizsgálatára alkalmas módszerek szükségesek. Erre a célra az MS-el kapcsolt NHFK-át, valamint, újabban a kapilláris elektroforézist is alkalmazzák.

Mondea C. [31-34] vizsgálataiban 4, az állatgyógyászatban használt cefalosporin-származék szerepelt. A cél alkalmas meghatározási módszerek kidolgozása volt, tejből, valamint szarvasmarha vérplazmából. Az alapmódszer – NHFK MS detektálással – fordított fázisú oszlop (RPC18) használatával, lehetővé tette a plazmafelezési idő meghatározását, valamint a farmakokinetikai vizsgálatokat is.

A szarvasmarhának i.m. adagolt cefuroxim-Na, valamint a tőgyinfúzióban adott cefquinom-szulfát kinetikáját követve, mindkét esetben azt találta, hogy a tejben



4. ábra. Cefquinom tejből való kiürülésének diagramja .

mért koncentráció 4 nap után csökkent a megengedett érték alá (4. ábra).

A 4 szerkezeti rokonságot mutató cefalosporin keverékből való szétválasztására a kapilláris zónaelektroforézis módszere jól alkalmazható. A vegyületek 8 percen belüli meghatározását biztosító módszer alkalmazást nyert a cefalosporinok oldatban való stabilitásának vizsgálatára. A 4 vegyület bomlási profiljának 12 órás vizsgálata a cefquinom és ceftazidim nagyobb stabilitását mutatta (25% körüli bomlás), a ceftriaxonhoz (40% bomlás) és a cefuroximhoz (75%-os bomlás) képest.

2. Királis molekulájú gyógyszervegyületek enantiomerjeinek szétválasztása

Ismeretes, hogy a gyógyszeranyagok térszerkezete határozza meg kölcsönhatásaikat biológiai közegben és hogy a királis centrumot tartalmazó vegyületek esetében az izomerek hatásában minőségi, de akár nagyságrendekkel eltérő különbségek lehetnek. Ezért a királis vegyületek vizsgálatánál nagy jelentőséggel bírnak az enantiomerek megkülönböztetésére alkalmas ún. enantiospecifikus módszerek. Ez további hangsúlyt kap azáltal, hogy a racem keverékek mellett/helyett egyre nagyobb figyelmet fordítanak a hatékonyabb enantiomer - eutomer – alkalmazásának.

Ily módon az optikai izomerek szétválasztása analitikai szempontból alapvető cél, másrészt pedig újabban az ún. enantiomer-tisztaság vizsgálata számos esetben gyógyszerkönyvi követelmény.

Béta-blokkolók

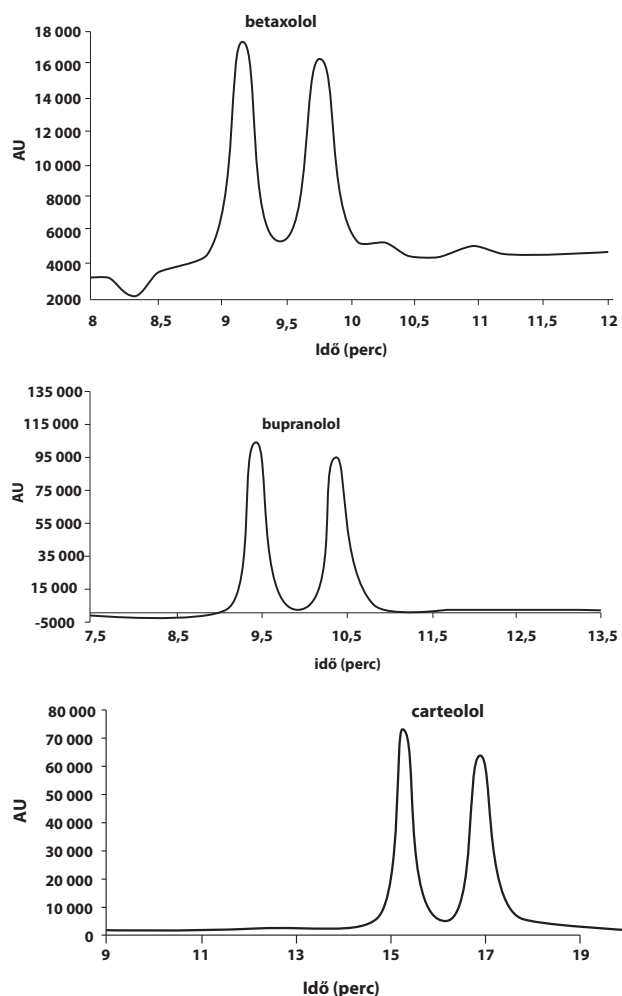
Kutatási, doktori témáink keretében több módszert dolgoztunk ki enantiomerek szétválasztására. Így széleskörű vizsgálatokat folytattunk az egyik legnépesebb királis gyógyszervegyület csoport, az ariloxi-propanolamin szerkezetű, ún. béta-blokkolók csoportjában. A terápiában használt mintegy 50 vegyület közül több mint 20 szerepelt a vizsgálatainkban. Terveink megvalósítását nagymértékben elősegítette a MTA kutatási ösztöndíja, amely megteremtette a háttér az együttműködéshez a szegedi és a budapesti Gyógyszerésztudományi Karok Gyógyszerészi Kémiai Intézeteivel. E kutatások során két eljárást alkalmaztunk a tanulmányozott vegyületsor enantiomerjeinek szétválasztására: egyrészt az előzetes származékképzést, másrészt pedig a királis szelektort tartalmazó oszlop használatát a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás módszernél [13, 35].

Gagyil I. [6-9] doktori munkájában folytatta ezeket a vizsgálatokat, a béta-blokkolók mellett tanulmányozta egyes a H_1 -antihisztaminok csoportjába tartozó vegyületek

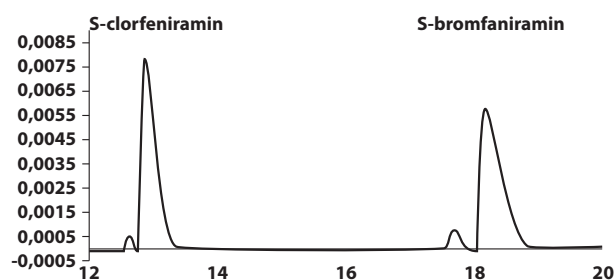
sztereospecifikus kölcsönhatásait olyan királis szelektorkokkal, mint a teicoplanin – mely makrociklusos antibiotikum, a ciklodextrinek, valamint a humán transferrin.

16 béta-blokkolót NHFK módszerrel vizsgálva teicoplanin tartalmú oszlopot használva 15 vegyület esetében tapasztalt sztereoszelektív kölcsönhatást és ért el sikeres enantiomer-szétválasztást. Három vegyület esetén -bétaxolol, bupranolol, carteolol- a tanulmányozott szakirodalom alapján elsőként alkalmazta ezt a módszert (5a ábra).

A másik alkalmazott módszer a kapilláris elektroforézis volt, ahol királis szelektorként ciklodextrin-származékok (RAMEB, HP- β -CD, szulfobutil- α -CD, szulfobutil- β -CD) szerepeltek az elektrolit összetételében. Ezek arányát és a pH-t változtatva fontos következtetéseket vont le az elválasztásra vonatkozóan.



5a. ábra. Beta-blokkolók enantiomerjeinek szétválasztása teicoplanin királis szelektort tartalmazó oszlopon – NHFK módszer.



5b. ábra. Enantiomer tisztaság vizsgálata H_1 antihisztaminoknál.

A NHFK és a KEF módszereknél, a feldolgozott adatok alapján megfigyelhető volt, hogy a vegyületek molekulasúlyának és lipofilitásának növekedésével az elválasztási faktor is növekszik.

Humán transferrint használva királis szelektorként a KEF módszerével érdekes szerkezet-elválasztás összefüggést lehetett megfigyelni a pindolol és analógjai, a mepindolol és bopindolol esetében.

A királis molekulájú H_1 -antihisztaminok közül több vegyületet már a tiszta, hatékonyabb eutomer formájában használják. Ezek esetében (dexklorfeniramin, dexbromfeniramin, levocetirizin) az enantiomer-tisztaság meghatározása volt a sajátos vizsgálati probléma. A vizsgált vegyületek detektálására új módszer, a cirkuláris dikroizmuson alapuló spektropolarimetria alkalmazását is tanulmányozta (5b. ábra).

A kidolgozott módszerek adatainak analitikai feldolgozása, validálása garantálja azok megbízhatóságát, gyakorlati alkalmazhatóságukat.

A szerző a kísérletes munkájában jelentős támogatást élvezett a CEEPUS program, valamint a MTA Domus Hungarica Artium et Scientiarum ösztöndíjai által, a Pécsi Tudományegyetemen, a budapesti ELTE-n és a SOTE Gyógyszerészeti Kémiai Intézetében a műszeres analízis elvégzésére.

Oxazepám

A diazepam metabolitjának is tekinthető oxazepam 3-hidroxi-1,4-BZD származék, melynek a 3-as szén-atomja királis. Az enantiomerek közül az S(+) konfigurációjú a hatékonyabb. Hancu G. a MKE módszerével a bórax és DDS-ot tartalmazó pufferoldatban királis szelektorként HP- β -CD-t alkalmazva sikeresen elválasztotta az oxazepam enantiomereket. Tanulmányozta a komplexképzés valószínűségét az alap CD-vel is (α , β , γ), Chem 3D Cambridge Soft molekula-modellezési program segítségével. Vizsgálatai szerint úgy tűnik, hogy csupán a tágabb üregű γ -CD-el képződhet valódi zárványkomplex.

3. Gyógyszeranyagok fénybomlásának vizsgálata

A gyógyszergyártás, forgalmazás és alkalmazás egyik legnagyobb problémája a hatóanyagok különböző fizikai, kémiai tényezők (fény, kémhatás, nedvesség) hatására végbemenő bomlása. A képződő bomlástermékek a hatékonyság csökkenése mellett toxikusak is lehetnek.

Fotobomlásról egyes esetekben a szervezetben felszívódott gyógyszeranyagok esetén is beszélhetünk („fényérzékenység”).

1,4-Dihidropiridinek

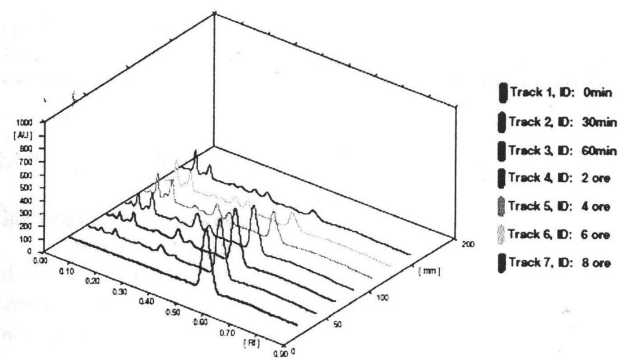
A fényre, különösképpen az UV-sugarakra leginkább érzékeny vegyületek közé tartoznak a szív-érrendszeri bántalmak kezelésére használt 1,4-dihidropiridin-származékok, a dipinek. Ebben a tekintetben is kiemelkedik a sorozat legelső, mintegy 40 éve használt képviselője, a nifedipin, mely – akár szilárd formában is – az UV-sugarak hatására igen számottevő bomlást szenved. Intramolekuláris redox folyamat játszódik le, melynek során a hatásban döntő szereppel bíró 1,4-dihidropiridin gyűrű átalakul és hatástalan piridin-származék képződik. A nifedipin fényen tárolt oldata teljes átalakulást szenvedhet. Bizonyítást nyert, hogy a heterocikluson o-nitro-fenil szubsztituenst tartalmazó nifedipin rendkívül kifejezett fényérzékenysége a nitrocsoport orto helyzetével függ össze. Ezt a kérdést támasztja alá, hogy a sorozat második vegyülete, a nitrendipin, melyben a nitrocsoport meta helyzetben –távolabb- van, lényegesen stabilabb.

A fénybomlás fékezése a ciklodextrinekkel (pl. RAMEB) való zárványkomplex képzés használható fel. A ciklodextrinek egyúttal a vegyületek vízzoldékonyságát is elősegítik [10, 29, 30].

Triciklusos antidepresszív szerek

Az ún. első generációs antidepresszív szerek körében számos 6-7-6 taglétszámú triciklusos vegyület ismert. Tekintve, hogy ezeket a vegyületeket tartalmazó gyógyszereket hosszú távon használják, jelentőséggel bír a fényérzékenységüknek, valamint a képződő bomlástermékek toxicitásának a tanulmányozása.

Székely P.[54-57] e területen végzett vizsgálataiban 5 triciklusos vegyület szerepelt: két dibenzazepin alapvázú – az imipramin és a klomipramin –, két dibenzo-cikloheptadién származék – az amitriptilin és a nortriptilin – valamint a központi hétagú gyűrűben két heteroatomot (N,O) tartalmazó doxepin. E vegyületek UV besugárzás hatására történő bomlását oldatokban vizsgálta, az erre a célra kifejlesztett nagyhatékonyságú vékonyréteg-kromatográfiás (HPTLC), valamint a fordított fázisú NHFK (RP C18) módszerrel.



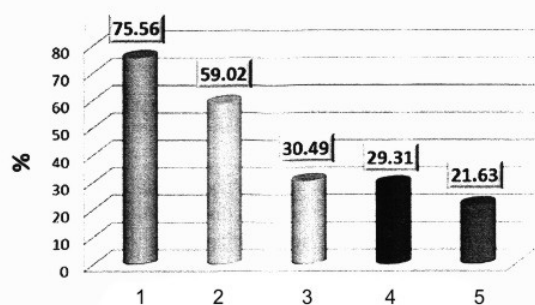
6. ábra. Klomipramin bomlásának densitogramja (8 óra UV besugárzás).

A gyökös mechanizmusú oxidatív fotobomlás kvantitatív értékelése során megfigyelhető volt, hogy a heteroatomot tartalmazó gyűrűrendszerek (imipramin, klomipramin, doxepin) bomlékonysága igen számottevő. Összehasonlításban, a gyűrűn klóratomot is tartalmazó klomipramin az imipraminnál bomlékonyabbnak bizonyult, a két heteroatomos doxepin 8 órás UV besugárzás nyomán csaknem teljes bomlást szenvedett. A gyűrűben heteroatomot nem tartalmazó triptilinek esetében a szekunder amin oldalláncot viselő nortriptilin a bomlékonyabb (6. ábra).

Tekintve, hogy a szakirodalom több gyógyszercsoport esetében az UV sugarak hatására fotoallergizáló ill. fototoxikus termékek képződését említi a szervezetben, a továbbiakban sor került az antidepresszív szerek fotobomlásával képződő bomlástermékek toxicitásának – in vitro – módszerrel történő vizsgálatára. A szerző által kidolgozott módszer a vörös vértetek hemolízisén alapszik. Megállapítást nyert, hogy a besugárzott klomipramin hemolizáló hatása a legkifejezettebb, összhangban a szakirodalmi adatokkal. A szövetkárosodás veszélyét hordozó fotobomlástermékek miatt a tanulmányozott vegyületeket tartalmazó gyógyszerek szedése esetén nem ajánlott a napozás avagy a szolárium (7 ábra).

4. Segédanyagok szerepe a gyógyszerformulálásban. Hatóanyag – segédanyag kölcsönhatás vizsgálatok

A gyógyszerkészítmények tervezése – a formulálás – során számos, különböző segédanyagot használnak. Egyesek közülük aktív szerepet játszanak azáltal, hogy elősegítik a hatóanyag kioldódását, avagy késleltetik ezáltal a hatás tartama növelhető, de stabilizáló szerepük is lehet. Több olyan segédanyag ismert, mely a hatóanyag-

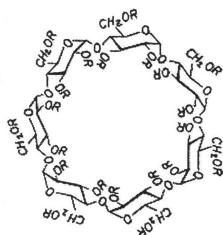


7. ábra. A triciklusos antidepresszánsok hemolizáló hatása (90 perc UV besugárzás) (1-Klomipramin-, 2-Amitriptilin-, 3-Nortriptilin-, 4-Imipramin-, 5-Doxepin-hidroklorid).

gal komplex képzésével járó kölcsönhatásba kerül, ilyenek pl. a ciklodextrinek.

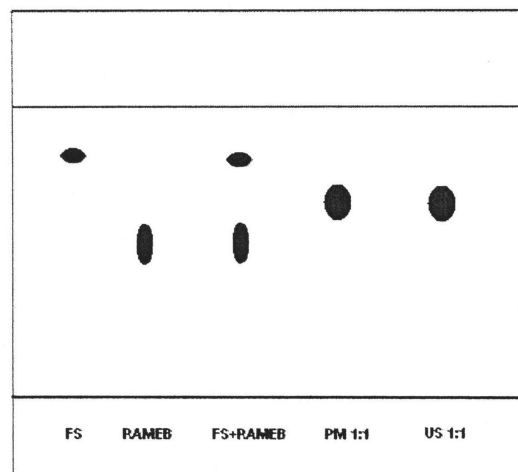
Şoica C. [50-53] szulfonamid szerkezetű vizelethajtó hatású gyógyszeranyagoknak a gyűrűs szerkezetű ciklodextrinekkel (CD) való kölcsönhatásait tanulmányozta a hatóanyagleadás, a biodisponibilitás megnövelése céljából. β -ciklodextrint (β -CD) és származékait (RAMEB – random-metil β -CD, HP- β -CD – hidroxipropil- β -CD) használva vizsgálta a komplexképzés lehetőségét, az előállítási módszer, a hatóanyag-CD arány, a CD típusától függően. A komplexképződésének igazolására – tájékoztató jelleggel – a VRK módszert alkalmazta [11], valamint spektrális, termikus, röntgendiffrakciós vizsgálatokat végzett (**8a. és b ábra**).

Ugyanakkor a komplexképzés szimulálására („dokkolás”) molekulamodellelési program alkalmazására is sor került. Az eredmények alapján azt találta, hogy a vizsgált diuretikum - CD komplex előállítási módszerének típusa jelentősen befolyásolja a részecskék méretét, morfológiáját, a kristályos szerkezettől az amorfizációig. A vízdoldékony CD-el való komplexálás a hatóanyag leadását segíti elő, míg a hidrofobizált CD-ekkel ennek késleltetése tapasztalható, ami tartós hatású készítmény formulálására ad lehetőséget.



Ciklodextrina	R
HPBCD	$-\text{CH}_2\text{CHOHCH}_3$
RAMEB	$-\text{CH}_3$

8a. ábra. β -CD származékok szerkezete.



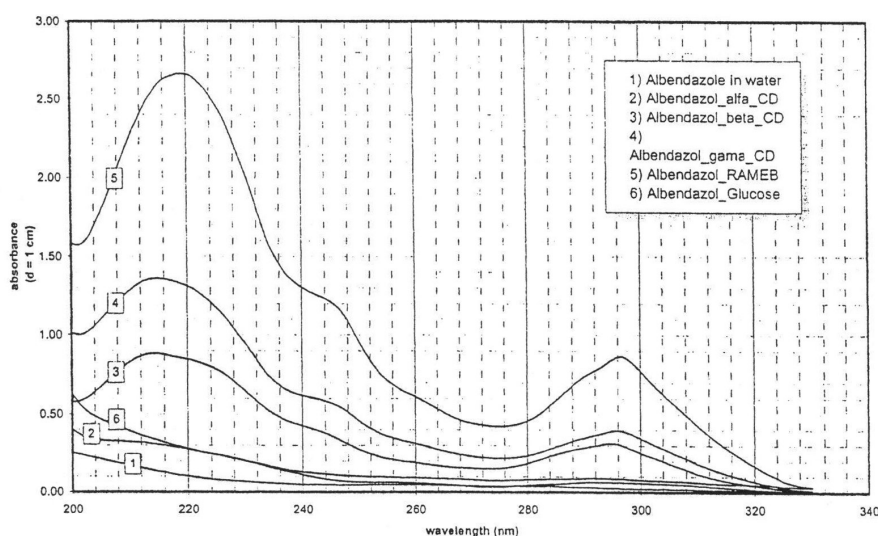
8b. ábra. Furoszemid - RAMEB kölcsönhatás VRK vizsgálata (FS-furoszemid, PM-gyúrt termék, US-porlasztva szárított termék).

Az in vitro membrándiffúziós vizsgálatok is alátámasztják az előállítási módszer befolyását a hatóanyag kioldódására, a részecskeméret által. Ebből a szempontból a porlasztva szárítás módszere bizonyult a legelőnyösebbnek.

A furoszemid-RAMEB 1: 1 arányú komplexének a biodisponibilitását in vivo – patkányszérumból - nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával vizsgálva, a farmakokinetikai adatok alapján, annak statisztikailag értékelhető növekedését lehetett tapasztalni.

Hasonló tanulmányt végzett **Trandafirescu Cr.** [59-66] két imidazol-származék, a gombaellenes hatású bifonazol és a féregellenes hatású albendazol esetében. A hatóanyagleadás javítására az előbbieken említett ciklodextrineket alkalmazva, az eredmények alapján a β -CD két hidrofobizált származéka, a RAMEB és a HP- β -CD bizonyult alkalmasnak. A hatóanyagok oldékonyságát in vitro módszerrel vizsgálva, úgy a mesterséges gyomornedvben (savas közeg), mint a mesterséges bélmedvben (bázikus közeg) leginkább a RAMEB segítette elő (**9. ábra**).

A béta-laktám szerkezetű *penicillinek* a szerkezetükben levő négytagú, amid kötést tartalmazó gyűrű miatt bomlékony vegyületek. A bomlásuk során hatásvesztés történik és egyes bomlástermékek allergizáló hatásúak. **Rad I.** [36-39] megvizsgálta, hogy a szilárd gyógyszeralkakokban, valamint a szuszpenzió készítésére alkalmas porkeverékekben használt segédanyagok milyen mértékben befolyásolják a penicillin-származékok stabilitását. 5 penicillin-származék – két természetes penicillin (benzil-, fenoximetil-penicillin) és három félszintetikus (oxacillin,



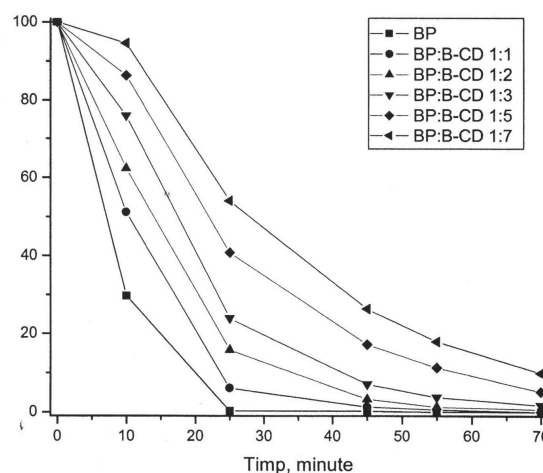
9. ábra. Albendazol – ciklodextrin keverékek UV spektrumai.

ampicillin, amoxicillin) szerepelt a vizsgálatokban és 4 segédanyag: β -CD, HP- β -CD, valamint aminosavak magnézium sói (glutamát, aszpartát). A kölcsönhatások tanulmányozása kromatográfiás módszerekkel - VRK és NHFK -, valamint pásztázó differenciális kalorimetriával (DSC) történt. A kapott eredmények alapján a penicillinnek stabilitásának növelésében a CD-ek bírnak jelentőséggel (10. ábra).

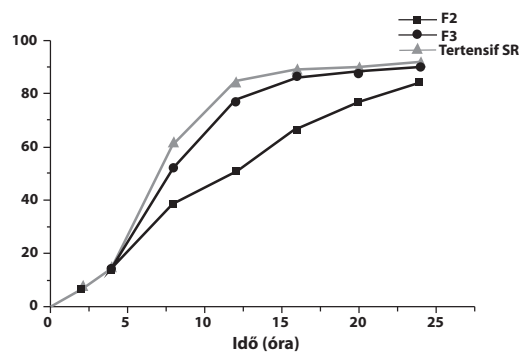
Generikus gyógyszerek tervezése esetében is alapvető feladat a hatóanyagleadást befolyásoló tényezők feldeírítása. Kelemen É.K.[25-28] e területen készített komplex tanulmánya egy vízben nehezen oldódó vegyület – indapamidot – tartalmazó, tartós hatású szilárd gyógyszerforma tervezését tűzte ki célul. Ennek megvalósítása érdekében előbb egy megfelelő kioldódási tesztet dolgozott ki és elvégezte annak a kritikai értékelését. A vizsgálatok sorában szerepelt a hidrofil mátrix - hipromellóz (hidroxipropil-metilcellulóz) típusának a kiválasztása, melyet a 8 óránál lassúbb hatóanyagleadású, tartós hatású készítményeknél használnak. Ebben a folyamatban igazolni kellett a kialakított oldódási teszt diszkriminatív jellegét és sor került a validálásra is.

A tablettázásra vonatkozó összes technológiai paraméter meghatározása, a mért adatok feldolgozása és kiértékelése nyomán következett a tablettázási fázis optimalizálása, a kioldódási profilok meghatározása különböző pH-jú közegben, referencia készítménnyel összehasonlítva (11. ábra).

Hasonló („similar”) kioldódási profil elérése után lehetett rátérni a készítmény fiziko-kémiai stabilitására.



10. ábra. Benzilpenicillin savas közegben való bomlása β -CD jelenlétében (BP-Benzilpenicillin).



11. ábra. Indapamid generikus összetételek (F2, F3) és a referencia Tertensif kioldódási profiljai.

nak a vizsgálatára, a hatóanyag-tartalom, a szennyezések meghatározására, az eltartási körülmények megállapítására. A készítmény validálása a teljes technológia, a fiziko-kémiai, valamint az in vitro és in vivo vizsgálat adatainak feldolgozását követően vált lehetségessé.

A gyógyszerformulálás számára fontos információkat szolgáltatnak a segédanyagok alkalmas kiválasztását, azok többirányú szerepét vizsgáló kutatások. Ez fokozottan érvényes a nemszteroid gyulladáscsökkentők (NSzGy) esetére, ahol a biodisponibilitás, a hatóanyagleadás időbeni szabályozása, s egyúttal a káros mellékhatások csökkentése egyaránt fontos szempont, tekintve e gyógyszerek sok esetben krónikus használatát. **Fülöp I.** [1-5] 7 aktuális NSzGy esetében végzett komplex vizsgálatokat e vegyületek ciklodextrinekkel való molekuláris kapszulázására, valamint más segédanyagokkal történő társítására, ezen keverékek esetén az előállítási módszertől, a komponensek arányától függő változásokra vonatkozóan. Az ún. alap ciklodextrinek mellett a β -CD három származékát (RAMEB, HP- β -CD, β -CD szulfobutíleter – Captisol) is tanulmányozva úgy találta, hogy az utóbbiak hatékonnyabbak a NSzGy-ök oldékonyságának növelésében.

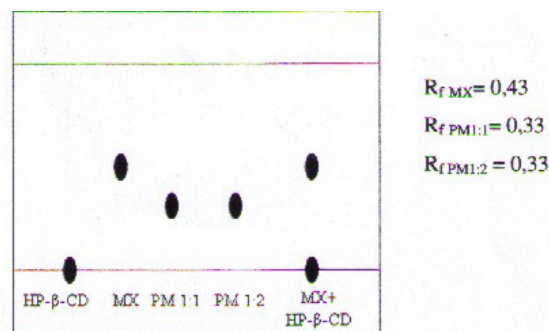
A vizsgálatok VRK, UV-spektrofotometriás, DSC módszerrel történtek (**12. ábra**).

A kioldódást különböző pH-jú közegben végezte, a komplexképzést molekuláris modellezéssel valószínűsítve. A VRK elővizsgálatok eredményeit a DSC módszerrel is sikerült alátámasztani, ami reális komplexképzésre utal. Turner-keverékek esetén a CD-ek mellett makrogolt (PEG 6000), citromsavat, illetve aminosavakat (glutaminsav, arginin) is használva csupán az ibuprofén oldékonyságának növekedése volt tapasztalható. A lipoid membránokon való penetrálás (permeabilitás) – a maximális hatás elérésére – a segédanyagokkal való komplexképzés által kedvezően befolyásolható.

A kísérletes munkája elvégzéséhez **Fülöp I.** a CEEPUS program által, a Szegedi Gyógyszerésztudományi Kar Gyógyszertechnológiai Intézetében szerzett értékes tapasztalatokat és kapott támogatást. A DSC vizsgálatok elvégzése a MOGYE Orvosi Biokémiai Tanszékének támogatásával történt.

Következtetések

A gyógyszerhatóanyagok és segédanyagok kölcsönhatásainak megismerésére, feltárására számos fizikai-kémiai módszerre van szükség. E komplex vizsgálatok garantál-



12. ábra. Meloxicám és HP- β -CD gyúrt termékek (PM) VRK vizsgálata.

hatják a gyógyszerkészítmények megfelelő stabilitását, a maximális hatékonysághoz szükséges biofarmáciai és farmakokinetikai szempontok teljesítését. Ilyen gyakorlati célkitűzések jellemezték a Gyógyszerészeti Kémiai Tanszék keretében készített doktori értekezéseket. A gyógyszerekkel kapcsolatos mai ismeretek és a helyes gyakorlatok (good practices - GP) normáinak szintjén ezek a kutatások csupán interdiszciplinárisan, széleskörű együttműködéssel valósíthatók meg.

Doktoranduszaink színvonalas munkájuk során nyert tapasztalataikkal magasan képzett, értékes szakemberei a gyógyszerészképzésnek, oktatásnak, gyógyszergyártásnak, minőségbiztosításnak és a gyógyszerári tevékenységnek egyaránt.

Irodalom

1. Fülöp I., Gyéresi Á., Ludányi Kr. et al. – Meloxicám ciklodextrinekkel való kölcsönhatásának vizsgálata fizikai-kémiai módszerekkel, Orvostudományi Értesítő, 2008, 81(3):199-202.
2. Fülöp I., Gyéresi Á., Szabó-Révész P. et al. – Physicochemical characterization of flufenamic acid and sulfobutyl-eter-beta-cyclodextrin binary system, Acta Medica Marisiensis, 2010, 56(2):129-131.
3. Fülöp I., Gyéresi Á., Hobai S. – Fenamátok hidroxi-propil-beta-ciklodextrinnel való kölcsönhatásának vizsgálata, Orvostudományi Értesítő, 2010, 83(1):58-62.
4. Fülöp I., Gyéresi Á., Laczkó-Zöld E. et al. – Nonsteroidal anti-inflammatory drugs complexes with cyclodextrins - molecular modelling study, Acta Medica Marisiensis, 2011, 57(5):467-470.
5. Fülöp I., Gyéresi Á., Szabó-Révész P. et al. – Solid dispersions of flufenamic acid with PEG 4000 and PEG 6000, Farmacia, 2011, 59(1):60-69.
6. Gagy L., Gyéresi Á., Naran Gombosuren et al. – Egyes beta-blokkolók és H1-antihisztaminok enantiomerjeinek szétválasztása királis szelektor alkalmazásán alapuló kapilláris elektroforézissel, Orvostudományi Értesítő, 2005, 78(2):203-209.

7. Gagyí L., Gyéresi Á., Kilár F. – Role of chemical structure in stereoselective recognition of beta-blockers and H1-antihistamines by human serum transferrin in capillary zone electrophoresis, *Electrophoresis*, 2006, 27(8):1510-1516.
8. Gagyí L., Gyéresi Á., Kilár F. – Egyes H1-antihisztaminok enantiomerjeinek szétválasztása kapilláris zónaelektroforézissel és királis szelektorok alkalmazásával, *Orvostudományi Értesítő*, 2006, 79(3):382-388.
9. Gagyí L., Gyéresi Á., Gergely A. – Beta-blokkolók enantiomerjeinek folyadékkromatográfiás elválasztása teicoplanin tartalmú királis állófázison, *Orvostudományi Értesítő*, 2007, 80(1):54-57.
10. Gyéresi Á., Hohmann J., Dombi Gy. – Comparative study on the photostability of nifedipine and nitrendipine, *Rev. Med. Farm.-Orv. Gyógysz. Szemle*, 1992, 38(1):99-104.
11. Gyéresi Á., Zsigmond A. Zs. – Investigations on the colour reactions and thin-layer chromatographic separation of five cyclodextrin derivatives, In: *Proceedings of the 10th International Symposium on Instrumental Planar Chromatography, Visegrád (Hungary)*, May 16-19, 1998, 133-144.
12. Gyéresi Á., Kata M. – Gyógyszervegyületek vékonyréteg-kromatográfiás minőségvizsgálata, 2000, Kontraposzt Kiadó Bt., Budapest.
13. Gyéresi Á., Péter M., Fülöp F. – Beta-Receptor gátlók enantiomerjeinek folyadékkromatográfiás elválasztása egy új izotiocianát típusú derivatizáló reagens segítségével, *Acta Pharm. Hung.*, 2000, 60(3-6):138-145.
14. Hancu G., Kilár F., Gáspár A., Gyéresi Á. – Actualități în domeniul electroforezei capilare în analiza substanțelor medicamentoase, *Rev. Med. Farm.-Orv. Gyógysz. Szemle*, 2004, 50(supl. II.):150-153.
15. Hancu G., Gáspár A., Gyéresi Á. – 1,4-Benzodiazepin származékok elválasztása kapilláris elektroforézissel, *Orvostudományi Értesítő*, 2005, 78(2):191-196.
16. Hancu G., Gáspár A., Gyéresi Á. – Applications of capillary electrophoresis for the separation of some benzodiazepine derivatives, *Farmacia*, 2006, 54(6):46-55.
17. Hancu G., Gyéresi Á. – Egyes 1,4-benzodiazepin származékok elválasztása és stabilitásának vizsgálata, *Orvostudományi Értesítő*, 2006, 79(3):389-394.
18. Hancu G., Gáspár A., Gyéresi Á. – Separation of 1,4-benzodiazepines by micellar electrokinetic capillary chromatography, *J. Biochem. Biophys. Methods*, 2007, 69:251-259.
19. Hancu G., Gyéresi Á., Gáspár A. – 1,4-Benzodiazepinek elválasztása micelláris kapilláris elektroforézissel ciklodextrinek segítségével, *Orvostudományi Értesítő*, 2007, 80(1):58-61.
20. Hancu G., Gyéresi Á., Gáspár A. – Benzodiazepin származékok elválasztása micelláris kapilláris elektroforézissel, *Acta Pharm. Hung.*, 2007, 77:123-131.
21. Hancu G., Simon Br., Kelemen H. et al. – Thin-layer chromatographic analysis of beta-lactam antibiotics, *Analele Universității din București-Chimie*, 2011, 20:1-8.
22. Hancu G., Rusu A., Simon Br. et al. – Simultaneous separation of ciprofloxacin, norfloxacin and ofloxacin by micellar electrokinetic chromatography, *J. Braz. Chem. Soc.*, 2012, 23(10):1889-1994.
23. Hancu G., Simon Br., Rusu A. et al. – Principles of micellar electrokinetic capillary chromatography applied in pharmaceutical analysis, *Adv. Pharm. Bull.*, 2013, 3(1):1-8.
24. Hancu G., Simon Br., Kelemen H. et al. – Thin-layer chromatographic analysis of beta-lactam antibiotics, *Adv. Pharm. Bull.*, 2013, 3(2): 367-371.
25. Kelemen É.K., Gyéresi Á., Kelemen L. et al. – Kioldódási módszerek fejlesztése vízben oldhatatlan hatóanyagot tartalmazó gyógyszerkészítményeknél, *Orvostudományi Értesítő*, 2011, 84(1):26-27.
26. Kelemen É.K., Kelemen L., Gyéresi Á. et al. – Development of a dissolution method for a modified release tablets containing insoluble active substance, *Acta Medica Marisiensis*, 2012, 58(5): 300-303.
27. Kelemen É.K., Obreja M., Gyéresi Á. – Screening the dissolution performance of the modified release tablets containing insoluble active substance in different dissolution media, *Acta Medica Marisiensis*, 2012, 58(6):401-404.
28. Kelemen É.K., Obreja M., Kelemen L. et al. – Bioreleváns kioldóközégek alkalmazása a gyógyszerfejlesztésben, *Orvostudományi Értesítő*, 2012, 85(2): 20-21.
29. Molnár J., Gyéresi Á. – Aktuális gyógyszerfejlesztés a dipinek körében: az azelnidipin, *Orvostudományi Értesítő*, 2006, 79(1): 102-107.
30. Molnár J., Gyéresi Á. – A dipinek egyes képviselőinek rétegekromatográfiás és UV-spektrofotometriás összehasonlító vizsgálata, *Orvostudományi Értesítő*, 2006, 79(2): 251-256.
31. Mondea C., Vlase L., Gyéresi Á. et al. – High throughput quantification of cefuroxime sodium in cattle plasma by LC/MS/MS, *Farmacia*, 2010, 58(4):408-415.
32. Mondea C., Gyéresi Á. – Pharmacokinetic study of the cefuroxime sodium and the cefquinome sulfate in cattle plasma by liquid chromatography/mass spectrometry, *Acta Medica Marisiensis*, 2010, 56(5):453-456.
33. Mondea C., Arcaș N., Gyéresi Á. – Determinarea reziduurilor de cefuroximă sodică din lapte de vacă prin metoda HPLC, *Revista Română de Medicină Veterinară*, 2010, 20(1):121-128.
34. Mondea C., Arcaș N., Gyéresi Á. – Determinarea reziduurilor de cefquinomă sulfat din lapte de vacă prin metoda HPLC, *Revista Română de Medicină Veterinară*, 2010, 20(2):73-80.
35. Péter M., Gyéresi Á., Fülöp F. – Liquid chromatographic enantioseparation of beta-blocking agents with (1R,2R)-1,3-diacetoxy-1-(4-nitrophenyl)-2-propyl isothiocyanate as chiral derivatizing agent, *J. Chromatog. A*, 2001, 910:247-253.
36. Rad I., Croitoru M.D., Pálffy Á. et al. – Stability studies of ampicillin trihydrate in suspensions and acidic aqueous solutions, *Acta Medica Marisiensis*, 2011, 57(1):47-51.
37. Rad I., Croitoru M.D., Gyéresi Á. – Improvements of amoxicillin stability in acidic environment, *Acta Medica Marisiensis*, 2011, 57(2):102-106.
38. Rad I., Croitoru M.D., Gyéresi Á. – Improvements of oxacillin stability in a pH=1,2 acidic environment, *Acta Medica Marisiensis*, 2011, 57(4):328-330.
39. Rad I., Croitoru M.D., Gyéresi Á. – Improvements of benzylpenicillin and phenoxymethylpenicillin stability in acidic environment, *Acta Medica Marisiensis*, 2011, 57(5):501-505.
40. Rusu A., Gyéresi Á., Hancu G. – Metode moderne de analiză a chinoloneilor, *J. Med. Brașovean*, 2010, 3:11-20.
41. Rusu A., Merdar M., Hancu G. et al. – Thin-layer chromatographic study regarding the separation of some quinolone derivatives, *Med. in evolution*, 2011, 17(3):61-66.

42. Rusu A., Gyéresi Á., Hancu G. – New perspectives: quinolones as complexation agents, *Acta Medica Marisiensis*, 2011, 57(2):149-154.
43. Rusu A., Hancu G., Gyéresi Á. – Optimization of a capillary electrophoresis method for the separation of quinolone derivatives, *Acta Medica Marisiensis*, 2011, 57(3):236-239.
44. Rusu A., Tóth G., Szócs L. et al. – Triprotic site-specific acid-base equilibria and related properties of fluoroquinolone antibacterials, *J.Pharm.Biomed.Anal.* 2012, 66:50-57.
45. Rusu A., Hancu G., Völgyi G. et al. – Separation and determination of quinolone antibacterials by capillary electrophoresis, *J.Chrom.Sci*, 2013, 1-7.
46. Simon Br., Gyéresi Á. – Gyógyszerek mint környezeti szennyezők, *Orvostudományi Értesítő*, 2007, 80(2):152-155.
47. Simon Br., Gyéresi Á. – Beta-laktám szerkezetű antibiotikumok elválasztása kapilláris elektroforézissel, *Orvostudományi Értesítő*, 2010, 83(3):206-209.
48. Simon Br., Hancu G., Gyéresi Á. – Development of a separation method of four penicillin derivatives by capillary electrophoresis, *Acta Medica Marisiensis*, 2011, 57(4):342-344.
49. Simon Br., Hancu G., Gyéresi Á. – Separation by capillary electrophoresis of six extensively used antibacterial compound, *Acta Medica Marisiensis*, 2012, 58(5):337-340.
50. Őoica C., Gyéresi Á., Aigner Z. et al. – Preparation and investigation of acetazolamide products containing randomly methylated-beta-cyclodextrin, *Timișoara Medical J.*, 2005, Supl.5:83-85.
51. Őoica C., Gyéresi Á., Aigner Z. et al. – Preparation and investigation of inclusion complexes of indapamide with randomly methylated-beta-cyclodextrin, *Timișoara Medical J.*, 2006, Supl.2:266-270.
52. Őoica C., Gyéresi Á., Aigner Z. et al. – Analiza fizico-chimică a unor complexe de incluziune ai clortalidonei cu beta-ciclodextrină, *Farmacia*, 2006, 54(2):13-22.
53. Őoica C., Gyéresi Á., Aigner Z. et al. – The influence of polyvinylpyrrolidone on furosemide complexation with randomly methylated-beta-cyclodextrin, *Revista de Chimie*, 2006, 57(7):726-730.
54. Székely P., Gyéresi Á. – Doxepin-hidroklorid fotostabilitásának vizsgálata, *Orvostudományi Értesítő*, 2008, 81(4):263-266.
55. Székely P., Gyéresi Á., Hancu G. – Triciklikus antidepresszánsok fotobomlástermékeinek vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálata, *Orvostudományi Értesítő*, 2009, 82(4):289-293.
56. Székely P., Gyéresi Á., Hancu G. – Analysis of the photodegradation products of tricyclic antidepressants by thin-layer chromatography with UV-mode densitometry, *Acta Medica Marisiensis*, 2010, 56(5):460-463.
57. Székely P., Gyéresi Á., Hancu G. et al. – Study regarding the phototoxicity of some tricyclic antidepressants, *Acta Medica Marisiensis*, 2011, 57(5):519-523.
58. Tóth G., Mohácsi R., Rácz A. et al. – Equilibrium and structural characterization of ofloxacin-cyclodextrin complexation, *J.Incl.Phenomena and Macrocyclic Chem.*, 2013, 77(1-4):291-300.
59. Trandafirescu Cr., Gyéresi Á., Kata M. et al. – Studiu privind efectul beta-ciclodextrinei asupra hidrosolubilității bifonazolului, *Farmacia*, 2005 53,(5):83-93.
60. Trandafirescu Cr., Gyéresi Á., Aigner Z. et al. – Study of improvement of some physicochemical properties of bifonazole by complexation with cyclodextrins, *Timișoara Medical J.*, 2005, Supl.5:76-82.
61. Trandafirescu Cr., Gyéresi Á., Kata M. et al. – Interaction study of albendazole with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin, *Farmacia*, 2006, 54(5):86-94.
62. Trandafirescu Cr., Gyéresi Á., Kata M. et al. – Preparation and characterization of albendazole – random methyl-beta-cyclodextrin binary systems, *Farmacia*, 2007, 55(1):98-107.
63. Trandafirescu Cr., Gyéresi Á., Kata M. et al. – Study of albendazole – hydroxypropyl-beta-cyclodextrin binary systems, *Farmacia*, 2007, 55(5):580-589.
64. Trandafirescu Cr., Gyéresi Á., Kata M. et al. – Study of influence of citric acid on albendazole complexation with random methylated-beta-cyclodextrin, *Farmacia*, 2008, 56(1):24-29.
65. Trandafirescu Cr., Gyéresi Á., Szabadai Z. et al. – A study upon the dissolution properties of bifonazole through complexation with cyclodextrins, *Acta Medica Marisiensis*, 2011, 57(4):364-366.
66. Trandafirescu Cr., Gyéresi Á., Szabadai Z. et al. – Solid state characterization of bifonazole – random methyl-beta-cyclodextrin binary systems, *Farmacia*, 2013, 61(3):609-616.