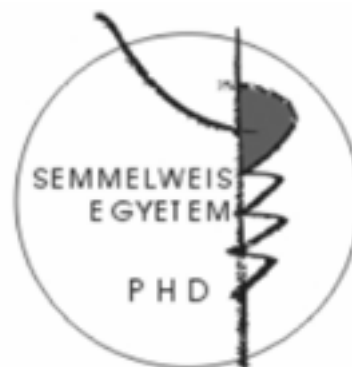


Csontműtéteknél alkalmazható antibiotikum-tartalmú lokális hatóanyagfelszabadító rendszerek tervezése és vizsgálata

Doktori tézisek

Laki Mónika

Semmelweis Egyetem
Gyógyszerésztudományok Doktori Iskola



Témavezető:

Dr. Antal István egyetemi docens, Ph.D.

Konzulens:

Dr. Hajdú Mária egyetemi adjunktus

Hivatalos bírálók:

Dr. Sátory Éva egyetemi tanár, D.Sc.

Dr. Bácskay Ildikó egyetemi adjunktus, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Tekes Kornélia egyetemi tanár, C.Sc.

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Újhelyi Gabriella c. egyetemi docens, Ph.D.

Dr. Vecsernyés Miklós egyetemi docens, Ph.D.

Budapest
2010

Összefoglalás

Csontpótlás során a lokálisan ható antibiotikumok előnyösek a kórokozók elleni (ortopédiában leggyakoribbak a *Staphylococcus aureus* és *Staphylococcus epidermidis* törzsek) küzdelemben, akár osteomyelitises üregek kitöltésekor, akár fertőzött endoprotézisek revíziója során. A nemzetközi szakirodalom szerint, az ortopéd sebészetben a csontinfekció megelőzésére elsősorban gentamicint, ciprofloxacint, vancomycint alkalmaznak a csontcemente, illetve csontörleményre impregnálva.

Vizsgálataink célja olyan technológia kifejlesztése és tanulmányozása, amely a revíziós műtéteknél a felhasználható csontgraftok és egyéb biokompatibilis anyagok antibiotikumokkal történő bevonását, impregnálását teszi lehetővé. Az antibiotikum csonthoz történő keverése, illetve a csontfelszín bevonása speciális technológiát igényel, mert a gyógyszer kiáramlását programozottan kell megvalósítani.

Doktori munkám során célul tűztem ki olyan specifikus hordozó rendszerek kifejlesztését, amelyek alkalmasak a csonthiányok pótlása során felhasznált csontgraftok antibiotikumokkal történő bevonására, és folyamatosan biztosítani tudják az alkalmazás helyén a hatékony koncentrációt.

Az előkísérletes vizsgálatok során különböző gélképző anyagok segítségével géleket állítottam elő, melyeknek vizsgáltam hatóanyagleadásuk és fizikai-kémiai tulajdonságaik tekintetében. A későbbiek folyamán viaszkeverékeket állítottam elő. Vancomycint, gentamicint, ciprofloxacint és oxytetracyclint inkorporáltam a különböző rendszerekbe. Ezen vizsgálati mintákat fizikai paramétereik, valamint hatóanyagleadásuk tekintetében vizsgáltam *in vitro* körülmények között. Az *in vitro* kioldódási vizsgálatok értékelésére megfelelő analitikai módszereket alkalmaztam, fejlesztettem és validáltam (HPLC, HPLC/MS).

Az alkalmas hordozórendszerek kiválasztásához mikrobiológiai értékmérést valamint *in vivo* állatkísérletes vizsgálatokat végeztünk, melyek eredményei alátámasztják az *in vitro* vizsgálati következtetéseket. Így lehetővé válik olyan hordozórendszerek kifejlesztése, melyek alkalmasak a hatóanyag több héten keresztül leadására megfelelő koncentrációban.

Summary

INVESTIGATION OF CARRIER SYSTEMS CONTAINING ANTIBIOTICS USED IN BONE SURGERY

During bone substitution surgeries, local drug delivery systems can be favourable against bacteria (in orthopaedic practice the most frequent strains are *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*), in case of the treatment of either osteomyelitis or the revision surgery of infectious prosthesis. According to international literature, in orthopaedic surgery principally gentamicin, ciprofloxacin and vancomycin impregnated on bone cement or allograft are principally applied for the prevention of bone infection.

The aim of our studies was to develop and study a technology that enables the impregnation process of bone grafts or biocompatible materials that are used in revision surgery. The mixing of antibiotics with bone and the impregnation of bone surface requires special technology because the drug release has to be strictly controlled.

During my doctoral work, I set the aim to develop specific carrier systems that are able to impregnate the bone grafts during orthopaedic surgeries and can assure the effective concentration at the site of action.

Gel systems were prepared in preformulation work using different gel forming agents. The gels were studied in physical and drug release aspects. Then waxy systems were prepared. Vancomycin, gentamicin, ciprofloxacin and oxytetracycline were applied as model drugs. These samples have been investigated in physical and drug release aspects in *in vitro* circumstances. For the determination of samples drawn in drug release studies, appropriate analytical methods have been developed and validated (HPLC, HPLC/MS).

For the selection of proper composition microbiological investigations as well as *in vivo* studies have been performed. The results of these studies confirmed the results of the *in vitro* investigations. Thus the development of carrier systems that are releasing the active ingredient for weeks, is becoming possible.

Bevezetés

Napjaink egyik leggyakoribb megbetegedései közé tartoznak a mozgásszervi megbetegedések. A hosszan tartó fájdalom és mozgáskorlátozottság háttérben általában a csont- és izomrendszer betegségei állnak. A kezelésben a konzervatív gyógymódoknak és a műtéti eljárásoknak egyaránt jelentőségük van.

A krónikus osteomyelitis kezelése különösen nehéz lehet, mivel a betegség gyakran a csont nekrozisával párosul, valamint a szöveti perfúzió romlásával a környező szövetek fertőzésének veszélye is fennáll. Az antibiotikumok orális, illetve intravénás adagolása a lehetséges mellékhatások miatt sokszor aggályos, ezért van nagy igény új módszerek kifejlesztésére.

A szervezetben hosszú ideje lévő implantátumok különböző technikai, biológiai szövődeményeket okozhatnak. A legközismertebb, az ízületi protézisek mechanikai kilazulása, ami átlagosan a beültetést követő 10-15 éven belül okoz a betegek számára panaszt. Ekkor a kilazult protézis a befogadó csontágyban csontvesztést, ún. osteolysist okoz. Másik szövődemény a beültetett idegen anyag körül kialakuló ízületi gennyesedés, az ún. periprotetikus infekció. Ilyenkor a protézis felszínén és a csontágyban baktériumok szaporodhatnak el, másodlagosan osteolysist okozva.

Az ortopéd sebészeti gyakorlatban az ún. revíziós műtéteknél (protézisek cseréje) széles körben használatosak különféle csontpótló eljárások, melyek közül a legelterjedtebb az ún. homológ csontgraft (csontbankból vett humán csont) alkalmazása. Mivel a beültetett csont nem rendelkezik saját keringéssel, bizonyos idő elteltével beépül a gazdaszervezetbe, a befogadó csonttal strukturálisan és vaszkularizációt tekintve is egyesül (ezt nevezzük oszteointegrációnak). A beültetés és az oszteointegráció közötti időben (4-6 hét) azonban a homogén csontgraft védtelen az exogén és endogén kórokozókkal szemben, melyek vagy a véráram segítségével jutnak a beültetés helyére, vagy közvetlen ráterjedés is előfordulhat.

Csont-izületi fertőzések során gyakran jelentkezik igény csontpótlásra. Lokálisan ható antibiotikumok alkalmazása előnyös a kórokozók elleni küzdelemben, akár osteomyelitises üregek kitöltésekor, vagy fertőzött endoprotézisek revíziója esetén. A lokális antimikrobás hatás előnye a szisztémás alkalmazás mellett, hogy a terápiás vérszintnél lényegesen magasabb koncentrációt lehet elérni a gazdaszervezet károsítása nélkül.

A Semmelweis Egyetem két intézete, az Ortopédiai Klinika és a Gyógyszerészeti Intézet a T049480 számú OTKA pályázat keretében foglalkozott olyan technológia és különleges hordozórendszerek kutatásával, amelyek lehetővé teszik csontgraftok és egyéb

biokompatibilis anyagok antibiotikumokkal történő bevonását, így ellenállóvá téve a csontágyat a kórokozókkal szemben.

Célkitűzés

A periprotetikus infekciókat (a protézist körülvevő területek gyulladását), melyek az ortopéd sebészeti gyakorlatban nagy jelentőséggel bírnak, elsősorban *Staphylococcus aureus* és *Staphylococcus epidermidis* törzsek okozzák. Ezen fertőzések gyakran csontvesztéshez, osteolysishez vezetnek.

A gyógyszer-formulálásnál alapvető követelmény, hogy olyan gyógyszer-hordozó rendszert állítsunk elő, amely képes a hatóanyagot a hatás helyére szállítani és ott biztosítani a megfelelő koncentrációt folyamatosan.

A klinikai gyakorlatban jelenleg nem érhető el olyan biodegradábilis, antibiotikumot tartalmazó rendszer, amely autológ vagy homológ csontgraftokhoz keverhető vagy köthető. A kutatások egy olyan hordozórendszer tervezésére és vizsgálatára irányultak, amely alkalmas antibiotikumok lokális felszabadítására csontműtét során a szervezetbe (intraartikuláris, intramedulláris, intraosseális) juttatva. Olyan specifikus hordozó rendszerek előállítására volt a feladat, amelyek tehát alkalmasak a csonthiányok pótlása során felhasznált csontgraftok antibiotikumokkal történő bevonására. Ezáltal folyamatosan biztosítani tudják – akár néhány héten keresztül – az alkalmazás helyén a hatékony koncentrációt. Az antibiotikum csontból történő kontrollált kiáramlása jelentősen lecsökkentheti a revíziós műtétek (protézisek cseréje) során kialakuló szeptikus következményeket.

Munkám során célul tűztem ki:

1. antibiotikum tartalmú hatóanyagleadó-rendszerek előállítását, melyek alkalmasak csontgraftok bevonására, csontörleményhez való keverésére, így biztosítani tudják a csont környezetében a megfelelő antimikrobás koncentrációt,
2. a hatóanyagleadás vizsgálatát, valamint a különböző segédanyagok hatóanyagleadás sebességét befolyásoló hatásának tanulmányozását,
3. a hatóanyagleadás nyomon követésére alkalmas analitikai módszerek fejlesztését és validálását,
4. az előállított gélek és hordozórendszerek fiziko-kémiai tulajdonságainak, valamint hatóanyagleadásának vizsgálatát,
5. *in vitro*-*in vivo* összefüggések vizsgálatát
6. alkalmazhatóság és *in vivo* viselkedés tanulmányozását.

Módszerek

Munkám során először vancomycin (VCM) és gentamicin (GEN) tartalmú géleket állítottam elő különböző gélképző segédanyagok alkalmazásával. A további vizsgálatokhoz lipofil hordozórendszereket állítottam elő, melyekbe hatóanyagként VCM-t, GEN-t, ciprofloxacint (CPFX) és oxytetracyclint (OTC) inkorporáltam.

A hordozórendszerek fizikai-kémiai tulajdonságait vizsgáltam. Meghatároztam az olvadáspontjaikat (Exstar 6000 DSC, Seiko Instruments Inc., TX, USA, készülékkel), cseppenéspontjukat (Ubbelohde-készülékkel), nyomószilárdságukat (Erweka-féle szilárdságvizsgáló készülékkel), valamint a nedvesedési peremszög értékeket (Sigma KSV 7010 készülékkel, KSV Instruments, Helsinki, Finnország).

A gélek hatóanyagleadását 100 ml kioldóközegben, pH=7,5 foszfát pufferben vizsgáltam. A vizsgálati hőmérséklet 37 °C volt, a lefedett kioldótartályokat klímaszekrényben (Heraeus Instruments Typ. 6030, Heraeus Holding GmbH, Hanau, Germany) tartottam.

A hordozórendszerek hatóanyagleadásának vizsgálatához szükséges volt új módszer kidolgozására a hosszú hatóanyagleadás nyomon követése miatt. A fiziológiás körülmények szimulálása érdekében a kioldóközeg fiziológiás sóoldat volt. A vizsgálatot 37 °C hőmérsékleten végeztem, a lefedett kioldótartályokat klímaszekrényben (Heraeus Instruments Typ. 6030, Heraeus Holding GmbH, Hanau, Germany) elhelyezve. A vizsgálat során nem alkalmaztam keverést. Az előállított, antibiotikum tartalmú mintákból (polimerek, viaszkeverékek) a hatóanyag-leadást fiziológiás sóoldatban 4 héten át követtem nyomon. 24 óra elteltével a sóoldatot friss oldatra cseréltem.

A hatóanyagleadási vizsgálatok során nyert minták analitikai meghatározására VCM és GEN esetében új analitikai HPLC módszert fejlesztettem és validáltam, a CPFX meghatározására egy már kifejlesztett és validált LC-MS módszert, OTC meghatározására USP módszert használtam.

A VCM meghatározását Agilent 1100 típusú nagyhatékonyságú folyadékkromatográffal (Agilent Technologies Inc. Palo Alto, CA, USA) végeztem. A készülék egy bináris pumpából, beépített gázmentesítőből, automata mintaadagolóból, kolonna termosztátból és diódasoros detektorból áll. Vizsgálataimhoz Zorbax Rx-C-18 (2.1x150 mm, 5 µm) analitikai kolonnát használtam (Agilent, Waldbronn, Germany). Az injektált mintatérfogat 20 µl volt, az áramlási sebesség 0,3 ml/perc. A kolonna hőmérséklete 30 °C. Az izokratikus elválasztás során a mozgófázis összetétele a következő volt: metanol:víz:ammónium-acetát puffer (0,02 M, pH=9 cc. ammóniával beállítva)= 25:70:5 v/v/v. A kromatogramok felvétele 230 nm-en történt.

A GEN meghatározását HP 1050 típusú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfval (Agilent Technologies Inc. Palo Alto, CA, USA) végeztem. A készülék egy bináris pumpából, beépített gázmentesítőből, automata mintaadagolóból, kolonna termosztátból és diódasoros detektorból áll. Vizsgálataimhoz Zorbax Rx-C-18 (2.1x150 mm, 5 µm) analitikai kolonnát használtam (Agilent, Waldbronn, Germany). Az injektált mintatérfogat 20 µl volt, az áramlási sebesség 0,3 ml/perc. A kolonna hőmérséklete 30°C. Az izokratikus elválasztás során a mozgófázis összetétele a következő volt: metanol:víz:ammónium-acetát puffer (0,02 M, pH=9 cc. ammóniával beállítva)= 23:60:5 v/v/v. A kromatogramok felvétele 280 nm-en történt.

A hatóanyagtartalom meghatározások esetén VCM és GEN esetében is külső standard módszert alkalmaztam. A mérési adatok értékelését ChemStation Rev. A.10.02 (Agilent Technologies) szoftverrel végeztem, a statisztikai értékeléshez Table Curve 2D Version 5.01 (Systat Software INC., Chicago, USA) szoftvert használtam.

A VCM tartalmú gyógyszerhordozó rendszer állatkísérletes vizsgálatát megelőzték az in vitro mikrobiológiai laborvizsgálatok. A vizsgálatok során a gátlási udvar kialakulásának megfigyelése, valamint a Minimális Inhibíciós Koncentráció (MIC) meghatározása volt a cél.

Az előállított vancomycin tartalmú gyógyszerhordozó rendszerrel dúsított csontgraftok alkalmazhatóságát, hatékonyságát és antimikrobás hatását vizsgáltuk nyúl MRSA osteomyelitis modellben. Állatkísérleteinket az OECD „Good Laboratory Practice” irányelvei, illetve a magyar állategészségügyi hatóság előírásai és engedélye alapján végeztük a Miskolci Állatkórházban. A vizsgálatok elvégzése előtt az előállított VCM tartalmú hordozórendszereket gamma-sugárral sterilizáltuk.

A kísérletekhez 40 felnőtt új-zélandi nyulat használtunk, melyeket három csoportba osztottunk. A negatív kontroll csoportban (I. csoport) nem indukáltunk osteomyelitist, a hordozórendszer biodegradabilitását, a befogadó csontágy szöveti reakcióját vizsgáltuk nem-infektív környezetben. A második csoportban (II. csoport) autológ spongiosa és vancomycines gyógyszerhordozó rendszer keverékével töltöttük ki az üreget. A harmadik csoportban (III. csoport) csak spongiosa kitöltés történt.

Eredmények

- **Analitikai vizsgálatok**

Új HPLC-UV módszert dolgoztam ki és validáltam 1-100 µg/ml koncentráció tartományban VCM és GEN meghatározására, kioldódási vizsgálatok kvantitatív értékelésére. A kidolgozott rendszerek szelektivitása megfelelőnek bizonyult, mivel a kromatogramokon nem jelentek meg a vizsgált anyagokkal interferáló csúcsok. Az LOD érték VCM esetén 0,2

$\mu\text{g/ml}$ -nek, GEN esetén pedig $0,1658 \mu\text{g/ml}$ -nek adódott. A LOQ érték VCM meghatározása esetén $0,6 \mu\text{g/ml}$, GEN esetén pedig $1,0 \mu\text{g/ml}$ volt. A vizsgált koncentrációtartományban a koncentráció-csúcs alatti terület arány lineáris (az r^2 értéke VCM esetén $0,9988$, GEN esetén $0,99908$). A vizsgált validálási paraméterek megfelelnek a nemzetközi előírásoknak.

CPFX meghatározására validált bioanalitikai módszert alkalmaztam. A kromatográfiai rendszer a kioldódásvizsgálatok során nyert minták hatóanyagtartalmának meghatározására is alkalmasnak bizonyult.

- **Fizikai-kémiai vizsgálatok eredményei**

A fizikai vizsgálatok alapján arra következtetésre jutottam, hogy az alkalmazott segédanyagok a hordozók fizikai paramétereit befolyásolják. A Precirol[®] (olvadáspontja 56°C) felhasználása az olvadás-, cseppenés-pontot és a nedvesedési peremszöget csökkentette, a nyomószilárdságot növelte. Ezen paraméterek változásának nagy jelentősége van a felhasználhatóság szempontjából is.

- **Kioldódási vizsgálatok**

A módszer kidolgozása során célom volt, hogy a fiziológiás körülményeket a lehető legjobban megközelítsem. Éppen ezért kioldóközegnek fiziológiás sóoldatot választottam, a kioldóközeget pedig a vizsgálat alatt 37°C -ra temperáltam. A vizsgálat során a közeget nem keverttem, így szimulálva a csont és környezetének szűkös vérellátását. A vizsgálati módszer egyszerűen kivitelezhetőnek bizonyult, költségkímélő, a fejlesztett analitikai módszerek pedig lehetővé teszik belőlük nyert mintákból a hatóanyag gyors és pontos meghatározását.

A fizikai vizsgálatok valamint az in vitro kioldódási vizsgálatok alapján a legmegfelelőbb összetétel kiválasztása lehetséges. Ezek alapján a legmegfelelőbbnek VCM esetén Cera alba:Precirol[®]:Vaselinum album (45:45:10) és Cera alba:Precirol[®] (50:50) összetételek, GEN hatóanyagú rendszereknél a Cera alba:Vaselinum album (90:10) és a Cera alba:Precirol[®] (50:50) összetételek, CPFX tartalmú mintáknál pedig a Cera alba:Precirol[®]:Vaselinum album (45:45:10) és a Cera alba:Precirol[®] (50:50) összetételek bizonyultak, mind a olvadás-, cseppenés-pont, nedvesedési peremszög értékek, mind a hatóanyagleadás tekintetében.

A gélek alkalmazása csontműtétek során nehezebb, mint a kifejlesztett hordozórendszereké. Nehézséget jelent a csont felszínére való felvitele, mely a műtéti körülmények között, ex tempore nem kivitelezhető. Ugyanakkor a fejlesztett hordozórendszerek mérete és alakja igény szerint változtatható, így lehetővé válik, hogy a

megfelelő méretű és alakú hordozórendszert az alkalmazott csonthoz keverjük. A hordozórendszerek másik felhasználási módja lehet a csontgraftok bevonása, akár ex tempore, akár előzőleg.

- **Mikrobiológiai vizsgálatok eredményei**

A vizsgálatok során a kialakuló gátlási zóna nagyságát figyeltük meg. A vizsgálatok során a hordozórendszerek hatékonynak bizonyultak mindhárom alkalmazott vizsgálati módszer alkalmazása esetén.

- **In vivo vizsgálatok eredményei**

Az állatkísérleteink során bizonyítást nyert, hogy az általunk korábban létrehozott viaszrendszer képes a csontgraftokkal együtt megfelelni a fenti igényeknek. Alkalmazhatóságát tekintve egyszerű, műtéti körülmények között könnyen felhasználható. A vancomycin tartalmú hordozórendszer elkeverhető a csontőrleménnyel és így azonnal beültethetővé válik. Lehetséges a csontgraftok impregnálása, fizikai bevonása is, de ehhez laboratóriumi körülmények szükségesek.

Kísérleteink igazolták, hogy az antibiotikumot tartalmazó gyógyszerhordozó rendszer alkalmas a *Staphylococcus* okozta osteomyelitis lokális kezelésére, a csontgraft beépülését nem gátolja, a gyulladásos folyamatok regresszióját idézi elő. Mivel nem toxikus, úgy fejt ki baktericid hatását, hogy a gazdaszervezetet nem károsítja.

Következtetések

Doktori munkám során antibiotikum tartalmú hordozórendszereket fejlesztettem ortopédiai célra. Ezen rendszereket hatóanyagleadásuk, fizikai paramétereik, valamint in vivo állatkísérletben mutatott hatékonyságuk szerint vizsgáltam.

A megfelelő antibiotikus kezelés feltétele, hogy helyes indikáció alapján, a legalkalmasabb antibiotikummal, kellő adagban, megfelelő ideig végezzük. Revíziós műtéteknél elsősorban a *Staphylococcus epidermidis* és *Staphylococcus aureus* törzsek okoznak leggyakrabban periprotetikus infekciót, de számolni kell sok esetben ún. multirezisztens kórokozókcal is.

A kioldódási vizsgálatok során nyert minták hatóanyagtartalmának (VCM, GEN) meghatározására kidolgozott folyadékkromatográfiás módszerek a validálási eredmények alapján alkalmasak a VCM és GEN tartalmú hordozórendszerek hatóanyagleadásának nyomon követésére. Ezen módszerek az irodalomban fellelhető eljárásokkal szemben gyorsak

és robosztusak. Az LOQ értékek megfelelőek a felszabaduló hatóanyag mennyiségének reprodukálható, megbízható meghatározására. A CPMX tartalmú hatóanyagleadásának nyomonkövetésére az alkalmazott validált módszer megfelelőnek bizonyult. Az OTC meghatározására gyógyszerkönyvi (USP) módszert alkalmaztam.

A mátrix rendszerből történő hatóanyagleadás mind a hordozórendszerrel (összetétel, porozitás, nedvesedés), mind a hatóanyag sajátosságaitól nagymértékben (oldékonyság, molekulatömeg) függ. Ezen paraméterek módosítása változást okoz a kioldódási profilban (idő, sebesség, leadott hatóanyag mennyisége). Így elmondható, hogy az alkalmazott hatóanyagoknak megfelelően a készítmények (mind a gélek, mind a hordozórendszerek) összetételét optimalni szükséges.

Újonnan kifejlesztett vancomycin tartalmú gyógyszerhordozó rendszerünk nyulakban biodegradábilisnak bizonyult és nem gátolta a csont újdonszövetképződést. Nyulakban MRSA-val okozott osteomyelitis esetében hatékony lokális antibiotikus hatást tudott kifejteni a rendszer. További vizsgálatok szükségesek a lehetséges ortopéd sebészeti illetve a humán alkalmazás tekintetében.

Az értekezés új tudományos eredményei

- Munkám során új hatóanyagleadó rendszerek formulálási és vizsgálati módszereit fejlesztettem ki ortopédiai alkalmazás számára. Az előkísérletek során gélrendszereket állítottam elő. A további fejlesztés során hidrofób hordozórendszereket állítottam elő. Modellhatóanyagként vancomycint alkalmaztam. A későbbi kísérletek során a hordozórendszerekbe gentamicint, ciprofloxacint és oxytetracyclint is inkorporáltam.
- In vitro vizsgálati módszert dolgoztam ki (fiziológiás sóoldat kioldóközegben) a műtött csont környezetében több héten keresztül végbemenő hatóanyagleadás tanulmányozására.
- Az alkalmazott antibiotikumok (vancomycin, gentamicin, ciprofloxacin) kioldóközegben való meghatározására alkalmas analitikai módszert fejlesztettem ki és validáltam.
- A hatóanyagleadás vizsgálati módszere alkalmasnak bizonyult a különböző segédanyagok hatóanyagleadás sebességét szabályozó hatásának tanulmányozására. A segédanyagok arányainak változtatásával több hetes hatóanyagleadás volt biztosítható.

- A hosszú hatóanyagleadást és a hordozók in vitro és in vivo viselkedését in vitro mikrobiológiai és in vivo állatkísérletes vizsgálatokkal igazoltuk. Az alkalmazott hordozórendszerek biodegradábilisnek mutatkoztak hat héttel az alkalmazást követően.

Az eredmények gyakorlati alkalmazhatósága

- Olyan új hordozórendszerek kerültek kifejlesztésre, amelyek alkalmasak különböző antibiotikumok hosszan elnyújtott, több héten keresztül hatóanyagleadására. Ezzel lehetőség nyílik revíziós műtéteknél profilaktikus felhasználásukra illetve szeptikus betegek esetében terápiás alkalmazásukra. A vizsgált hidrofób hordozórendszerek alkalmasak lehetnek humán készítmények fejlesztésére is, melyhez klinikai vizsgálatok még szükségesek. Az eddigi in vivo vizsgálatok eredményei alátámasztották az in vitro eredményeket. A kifejlesztett rendszerek hatékonyak és biodegradábilisnek bizonyultak.
- A fenti eredmények megelőzik az esetleges reoperáció kockázatát, így a betegek gyorsabb gyógyulásának az esélyét növelik, a rövidebb és hatékonyabb orvosi beavatkozással.
- A fejlesztett gyors, egyszerű analitikai módszerek alkalmasak a felhasznált antibiotikumok kvantitatív meghatározására. Humán vizsgálatok során alkalmasak lehetnek a hatóanyag szervezetbeni eloszlásának nyomon követésére megfelelően fejlesztett mintaelőkészítéssel. A kifejlesztett analitikai módszerek más kioldódási vizsgálatok esetén is alkalmazhatók gyógyszer technológiai fejlesztés során.

Saját publikációk jegyzéke

Az értekezés témaköréhez kapcsolódó közlemények

1. **M. Laki**, M. Hajdú, K. Ludányi, Á. Zahár, M. Szendrői, I. Klebovich, I. Antal: Evaluation of a New LC method for the determination of Vancomycin Released from an Orthopedic Drug Carrier System
Chromatographia, Supplement 68: S141-144 (2008)
2. **M. Laki**, K. Ludányi, M. Hajdú, Á. Zahár, M. Szendrői, I. Klebovich, I. Antal: Determination of Gentamicin Released from Orthopedic Carrier System by HPLC-UV Method
Journal of Chromatographic Sciences (2010)(közlésre elfogadva)
3. **Laki Mónika**, Hajdú Mária, Zahár Ákos, Sáska Zsófia, Klebovich Imre, Szendrői Miklós, Antal István: Csontműtéteknél alkalmazott antibiotikum tartalmú hordozórendszerek tervezése.
Acta Pharmaceutica Hungarica 77: 108-115. (2007)
4. Zahár Ákos, Kocsis György, Lengyel Béla, Puskás Gábor, **Laki Mónika**, Hajdú Mária, Antal István: Hosszú hatóanyagleadású antibiotikus csontgraftok alkalmazása állatkísérletes osteomyelitis modellben
Magyar Traumatológia·Ortopédia·Kézsebészet·Plasztikai Sebészet 52: 171-178 (2009)

Az értekezés témaköréhez kapcsolódó, teljes terjedelmében megjelent összefoglalók

1. **M. Laki**, M. Hajdú, Á. Zahár, M. Szendrői, I. Klebovich, I. Antal: Studies on Drug Carrier Systems with Long-term Local Antibiotic Release, 6th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Barcelona, Spanyolország, 2008. április 7-10., P-228
2. **Mónika Laki**, Mária Hajdú, Ákos Zahár, Miklós Szendrői, Imre Klebovich, István Antal: Development of an antibiotic containing drug delivery system for surgical application, Pharmaceutical Journal of Slovenia, 59: 270-271 (2008)

Az értekezés témaköréhez kapcsolódó előadások

1. Zahár Á., **Laki M.**, Hajdú M., Klebovich I., Antal I., Szendrői M.: Revíziós műtétek során csonthiányok pótlására alkalmazható antibiotikum tartalmú biológiai hordozók hatóanyag-felszabadulásának vizsgálata,
Magyar Traum. Ortop., 2006 (1. suppl.)
2. **Laki Mónika**: Egyenletes hatóanyagleadást biztosító vankomicin tartalmú gyógyszer-hordozórendszerek tervezése és mikrobiológiai vizsgálata. VIII. Clauder Ottó Emlékverseny, Budapest, 2007. április 12-13., 35.o.

3. **Laki Mónika**, Hajdú Mária, Zahár Ákos, Klebovich Imre, Antal István: Programozott hatóanyagleadású antibiotikum tartalmú biológiai hordozórendszerek tervezése és vizsgálata. Semmelweis Egyetem PhD Tudományos Napok, Budapest, 2007. április 12-13., E-VII/2, 78.o.
4. Zahár Ákos, Szász Máté, Kristóf Katalin, **Laki Mónika**, Hajdú Mária, Antal István, Szendrői Miklós: Antibiotikummal impregnált csontgraftok biológiai értékmérése. Magyar Ortopéd Társaság és Magyar Traumatológus Társaság 2007. évi közös Kongresszusa, Nyíregyháza, 2007. június 20-23., A0022
5. Zahár Ákos, **Laki Mónika**, Hajdú Mária, Antal István, Szendrői Miklós: Antibiotikus csontgraftok létrehozása, Magyar Ortopéd Társaság 50. Kongresszusa, Székesfehérvár, 2008. június 19-21., A0016
6. **Laki Mónika**, Hajdú Mária, Zahár Ákos, Szendrői Miklós, Klebovich Imre, Antal István: Nyújtott hatóanyagleadású antibiotikum tartalmú hordozórendszerek vizsgálata. Semmelweis Egyetem PhD Tudományos Napok, Budapest, 2009. március 30-31., E-VI/4, 92. o.
7. **Laki Mónika**: Nyújtott hatóanyagleadású antibiotikum tartalmú hordozórendszerek vizsgálata. IX. Clauder Ottó Emlékverseny, Budapest, 2009. április 23-24., 27.o., III. díj
8. **Laki Mónika**: Nyújtott hatóanyagleadású antibiotikum tartalmú hordozórendszerek vizsgálata. MTA Gyógyszerésztudományi Osztályközi Komplex Bizottság Ülése, Budapest, 2009. április 29.

Az értekezés témaköréhez kapcsolódó posztterek

1. M. Hajdú, E. Farkas, **M. Laki**, Á. Zahár, M. Szendrői, I. Klebovich , I. Antal: Preparation and characterization of controlled release gel systems containing antibiotics
1st BBBB Conference on Pharmaceutical Sciences, Siófok, 2005 szeptember 26-28., P-16
2. M. Hajdú, E. Farkas, **M. Laki**, Á. Zahár, M. Szendrői, I. Klebovich, I. Antal: Preparation and characterization of controlled release gel systems containing antibiotics
Pharmacy: Smart molecules for therapy. Semi-centennial conference of Semmelweis University, Faculty of Pharmacy. Budapest, 2005 október 12-14., P-40
3. **Laki Mónika**, Zahár Ákos, Hajdú Mária, Klebovich Imre, Antal István: Csonthiányok pótlására alkalmazható antibiotikum tartalmú hordozók hatóanyag-felszabadulásának vizsgálata, Semmelweis Egyetem, PhD napok, Budapest 2006. április 14-15., P-I/13
4. **Laki M.**, Hajdú M., Zahár Á., Klebovich I., Antal I.: Gyógyszertechnológiai kutatások antibiotikummal impregnált csont előállítására és vizsgálatára, XIII. Congressus Pharmaceuticus Hungaricus, Budapest, 2006 május 25-27., P-59, Poszter I. díj
5. Hajdú Mária, **Laki Mónika**, Zahár Ákos, Szendrői Miklós, Klebovich Imre, Antal István: Gyógyszertechnológiai lehetőségek antibiotikum tartalmú biológiai hordozórendszerek előállítására, Gyógyszer az ezredfordulón VI., Sopron, 2006. november 9-11., P-2
6. Zahár Á., **Laki M.**, Hajdú M., Klebovich I., Antal I., Szendrői M.: Drug release of vancomycin impregnated bone grafts in revision surgery, (EFORT Congress, Firenze 2007)

7. **Laki, M.**, Hajdú, M., Ludányi, K., Zahár, Á., Szendrői, M., Klebovich, I., Antal, I.: Application of Liquid Chromatography Method for the Determination of Antibiotics Released from Matrix Type Drug Delivery Systems, 7th Balaton Symposium, Siófok, 2007. szeptember 5-7., P-76
8. **Laki Mónika**, Hajdú Mária, Zahár Ákos, Szendrői Miklós, Klebovich Imre, Antal István: Antibiotikumot tartalmazó gyógyszerhordozó rendszerek előállítása, Gyógyszerkutatói szimpózium, "A molekulától a készítményig", Szeged, 2007. november 9-10., P-18
9. **M. Laki**, M. Hajdú, Á. Zahár, M. Szendrői, I. Klebovich, I. Antal: Studies on Drug Carrier Systems with Long-term Local Antibiotic Release, 6th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Barcelona, Spanyolország, 2008. április 7-10., P-228
10. **Laki Mónika**, Hajdú Mária, Zahár Ákos, Szendrői Miklós, Klebovich Imre, Antal István: Csonthiányok pótlására alkalmazott antibiotikum tartalmú hordozók vizsgálata, Farmakokinetika és Gyógyszermetabolizmus Továbbképző Szimpózium, Galyatető, 2008. április 2-4., P-13, *Poszter I. díj*
11. **Mónika Laki**, Mária Hajdú, Ákos Zahár, Miklós Szendrői, Imre Klebovich, István Antal: Development of an antibiotic containing drug delivery system for surgical application, 7th Central European symposium on Pharmaceutical Technology and Bidelivery Systems, Ljubjana, 2008. szeptember 18-20., PO127
12. **Laki Mónika**, Hajdú Mária, Zahár Ákos, Szendrői Miklós, Klebovich Imre, Antal István: Nyújtott hatóanyagleadású hordozórendszerek fejlesztése, Gyógyszer az ezredfordulón VI., Sopron, 2008. szeptember 25-27., P-15, 24 .o.
13. Hajdú Mária, Budai Marianna, **Laki Mónika**, Klebovich Imre, Antal István: Antibiotikum tartalmú szemészeti hordozórendszerek stabilitási problémái, Gyógyszer az ezredfordulón VI., Sopron, 2008. szeptember 25-27., P-8, 17 .o.
14. **Laki Mónika**, Hajdú Mária, Ludányi Krisztina, Zahár Ákos, Klebovich Imre, Antal István: Antibiotikum tartalmú hordozórendszerek hatóanyagleadásának analitikai vizsgálata, Elvásztástudományi Vándorgyűlés, Sárvár, 2008. november 5-7, P-30, 108.o.
15. **Laki, M.**, Hajdú, M., Pápai, K., Zahár, Á., Szendrői, M., Klebovich, I., Antal, I.: Determination of Ciprofloxacin, Gentamicin and Vancomycin in Drug Carrier Systems, 8th Balaton Symposium, 2009. szeptember 2-4., Siófok, P-93
16. **Laki Mónika**, Hajdú Mária, Zahár Ákos, Szendrői Miklós, Klebovich Imre, Antal István: Csontműtéteknél alkalmazható antibiotikum-tartalmú hatóanyagleadó rendszerek vizsgálata, Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XIV. 2009. november 13-15., Budapest, P-59, *Nívódíj*

Egyéb közlemények

1. **M. Laki**, M. Hajdú, I. Antal, I. Klebovich: Modern pharmaceutical facilities in the formulation of rectal dosage forms
European Journal of Pharmaceutical Sciences, 25 Suppl. 1: 144-146 (2005)

2. Sáska Zsófia, Hajdú Mária, **Laki Mónika**, Klebovich Imre, Antal István: Szemészeti hatóanyag-felszabadító rendszerek fejlesztésének lehetőségei
Acta Pharmaceutica Hungarica 78: 156-164 (2008)

3. M. Hajdú, M. Budai, **M. Laki**, H. Pap, I. Klebovich, I. Antal: Preparation and characterization of ocular drug delivery systems containing antibiotics, 6th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Barcelona, Spain, 2008. április 7-10., P-203

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Antal Istvánnak, hogy doktori munkámat mindvégig figyelemmel kísérte, útmutatásával és tanácsaival segítette, így lehetővé vált értekezésem elkészítése.

Hálás köszönettel tartozom Dr. Hajdú Máriának, aki tudományos diákkörösként felkeltette érdeklődésemet a gyógyszer technológia és a kutatás iránt, és doktorandusz éveim során mindvégig mellettem állt, tanácsaival segítette munkámat.

Köszönöm Prof. Dr. Klebovich Imrének, a Semmelweis Egyetem Gyógyszerészeti Intézetének igazgatójának, hogy lehetőséget adott arra, hogy doktori munkámat intézetében folytassam.

Hálás köszönet illeti Dr. Ludányi Krisztinát, akinek az analitikai módszerek mélyebb megismerését és megszeretését köszönhetem. Köszönöm neki publikációim elkészítése és validálási munkám során nyújtott mérhetetlen segítséget.

Köszönettel tartozom Dr. Zahár Ákosnak, az ortopédiai kérdésekben nyújtott szakmai segítségéért. Köszönöm Dr. Kocsis Györgynek az állatkísérletek, Dr. Szász Máté Sándornak a mikrobiológiai vizsgálatok során nyújtott segítséget.

Köszönettel tartozom Dr. Pápai Katalinnak, Dr. Budai Mariannának, Dr. Dávid Ádám Zoltánnak, valamint Horváthné Gyenge Ildikónak, akik méréseim során nyújtottak nagy segítséget.

Köszönetet mondok a Semmelweis Egyetem Gyógyszerészeti Intézet valamennyi, munkámat segítő munkatársának.

Köszönöm vőlegényemnek, családomnak és barátaimnak a rengeteg segítséget és támogatást, amit egyetemi és doktori éveim alatt nyújtottak, és amely nélkül értekezésem nem születhetett volna meg. *Köszönöm Szüleimnek*, hogy lehetővé tették számomra, hogy olyan hivatást válasszak magamnak, amelyhez kedvet éreztem. Köszönöm nekik, hogy munkám során mindvégig támogatást nyújtottak.