

ACTA

PHARMACEUTICA HUNGARICA

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság tudományos folyóirata

2.

2015

APHGAO 85, (043) 41–80. (2015)



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

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság folyóirata

Főszerkesztő:

Noszál Béla, Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet
1092 Budapest, Hőgyes E. u. 9.
Tel.: 217-0891;
E-mail: nosbel@hogyes.sote.hu

Felelős szerkesztő:

Zelkó Romána, Semmelweis Egyetem, Egyetemi Gyógyszertár,
Gyógyszerügyi Szervezési Intézet,
1092 Budapest, Hőgyes E. u. 7–9.
Tel.: 217-0927;
E-mail: zelrom@hogyes.sote.hu

A szerkesztőbizottság tagjai:

Báthori Mária, Erős István, Gunda Tamás, Perjési Pál,
Tóthfalusi László

A szerkesztőség címe – Correspondence:

Acta Pharmaceutica Hungarica
1092 Budapest, Hőgyes Endre u. 9.

A főszerkesztő munkatársa:

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

TARTALOM

<i>Szunyogh Tímea, Ambrus Rita, Szabóné Révész Piroska: Az elektroporlasztás elmélete és gyakorlata a szemcseméret csökkentésben</i>	43
<i>Rácz Ákos, Tóth Livia: Gyógyszerek okozta fényérzékenységi reakciók és gyógyszerészi kémiai hátterük.</i>	51
<i>Sipos Barbara, ifj. Regdon Géza, Sovány Tamás: Titanát nanocsövek a gyógyászatban</i>	71

CONTENTS

<i>Szunyogh, T., Ambrus, R., Szabó-Révész, P.</i> : Theory and practice of electrospray crystallization in particle size reduction.	43
<i>Rácz, Á., Tóth, L.</i> : Pharmaceutical chemistry of drug-initiated photosensitivity	51
<i>Sipos, B., Regdon, G. jun., Sovány, T.</i> : Titanate nanotubes in the therapy	71

Acta Pharmaceutica Hungarica: www.mgyt.hu

„Acta Pharmaceutica Hungarica” a Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság tudományos folyóirata
Kiadja a Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság, 1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16. Telefon: 235-09-99; E-mail: szerkesztoseg@mgyt.hu

Felelős kiadó: Prof. Dr. Szőkő Éva

Előfizethető: Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság, 1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16., belföldi postautalványon vagy átutalással
az MGYT átutalási számlájára: OTP VIII. kerületi fiók, Budapest, József krt. 33.

MGYT elszámolási számla sz. 11708001-20530530

Adószám: 19000754-2-42

Előfizetési díj egész évre: 6000 Ft + 300 Ft áfa

Megjelenik negyedévenként. Példányszám: 700 db

Tördelőszerkesztő: *Oláh Csaba*

Sokszorosítás: Print Invest Magyarország-H Zrt., 1053 Budapest, Papnövelde út 8. II. em. 26.

Felelős vezető: Ványik László ügyvezető igazgató

Az elektroporlasztás elmélete és gyakorlata a szemcseméret csökkentésben

SZUNYOGH TÍMEA, AMBRUS RITA, SZABÓNÉ RÉVÉSZ PIROSKA*

Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszertechnológiai Intézet, Szeged, Eötvös utca 6.

*Levelezési cím: revesz@pharm.u-szeged.hu

Summary

SZUNYOGH, T., AMBRUS, R., SZABÓ-RÉVÉSZ, P.: *Theory and practice of electrospray crystallization in particle size reduction*

Nowadays, one of the most challenges for the researchers is the formulation of poorly water soluble drugs. Reduction of particle size of active agents to submicron range could result in a faster dissolution rate and higher bioavailability. Integration as crystallization process is an often used particle size decreasing technique. The aim of this study was to show the theoretical background and practical application of the electrospray crystallization as an innovative particle size decreasing technique. Our model drug was the niflumic acid (NIF), which belongs to the BCS Class II. After the optimization of the process parameters, the physico-chemical properties of the samples were characterized. Particle size and shape were visualized by scanning electron microscopy (SEM). Crystalline state of NIF and the samples were investigated using differential scanning calorimetry (DSC) and X-ray powder diffraction. Physico-chemical properties were determined using dissolution test from simulated media. The electrospray crystallization resulted in particle size reduction but the aggregation of nanonized NIF crystals (NIF-nano) could not avoid without excipient. Aggregates with poor secondary forces are suitable for production of the interactive physical mixture. It was found that NIF-nano could be well distributed on the surface of the mannitol as carrier and the Poloxamer[®] protected the NIF-nano crystals (320 nm) from aggregation. Consequently, the physical mixture resulted in product with higher polarity, better wettability and faster dissolution rate of NIF as raw NIF or NIF-nano.

Keywords: niflumic acid, particle size decreasing, electrospray crystallization, nanonization

Összefoglalás

Napjainkban az egyik legnagyobb kihívást a rossz vízoldékonyságú hatóanyagok formulálása jelenti. A hatóanyag szemcseméretének nanoméret-tartományba történő csökkentésével javíthatjuk annak oldódási sebességét és biohasznosíthatóságát. Az integráló eljárás gyakran alkalmazott szemcseméret-csökkentő művelet, ami lényegében a hatóanyagok kristályosítását jelenti. Jelen tanulmány célja az elektroporlasztásos kristályosítás, mint innovatív szemcseméret csökkentő eljárás elméleti hátterének, valamint gyakorlati jelentőségének bemutatása. Kutatócsoportunk által választott modell anyag a BCS II. osztályba tartozó nifluminsav (NIF) volt. Az eljárási paraméterek optimalizálását követően az előállított nanoméretű részecskék fizikai-kémiai tulajdonságait vizsgáltuk. A részecske méretét és morfológiát pásztázó elektronmikroszkóppal (SEM), termikus viselkedését differenciál pásztázó kalorimetriával (DSC), valamint szerkezetét porröntgen diffrakció (XRPD) segítségével határoztuk meg. Megállapítottuk, hogy az elektroporlasztásos eljárás alkalmas a szemcseméret csökkentésére, azonban segédanyag nélkül a nanonizált NIF (NIF-nano) kristályok (320 nm) aggregációja nem kerülhető el. A laza, kevés kötőerővel rendelkező aggregátum viszont alkalmas interaktív fizikai keverék előállítására. Az eredmények azt mutatták, hogy a NIF-nano jól elosztható a hordozó anyagok (mannit és Poloxamer[®]) felületén. Ebből adódóan, a fizikai keverék nagyobb polaritású, jobb nedvesedési sajátsággal rendelkező terméket eredményez, amiből a hatóanyag kioldódása is gyorsabb volt, mint a kiindulási NIF vagy a NIF-nano mintákból.

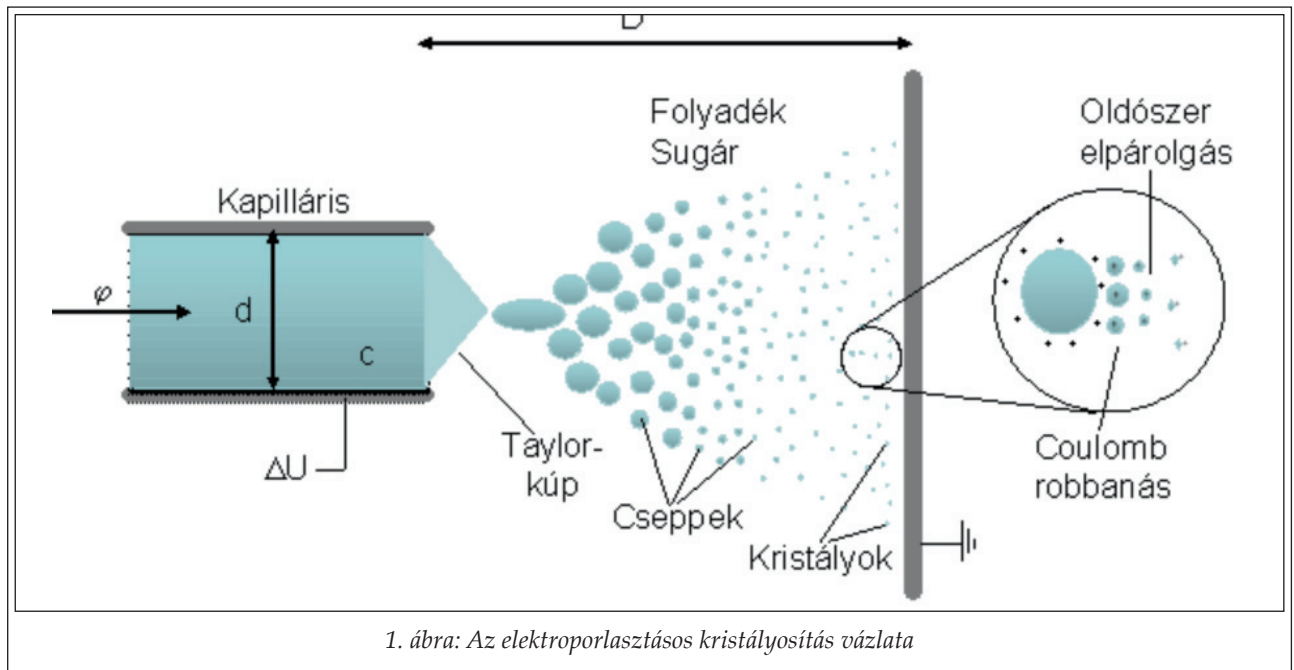
Kulcsszavak: nifluminsav, szemcseméret csökkentés, elektroporlasztásos kristályosítás, nanonizálás

1. Bevezetés

Napjainkban a modern gyógyszerkutatás és a gyógyszer technológia egyik legfontosabb feladata a hatóanyagok tulajdonságainak javítása a preformuláció során. Az utóbbi időben a mikroméret-tartomány alatti részecskék előállítását egyre nagyobb érdeklődés övezi, mind laboratóriumi, mind ipari méretekben. A szemcseméret csökkentése által a hatóanyagok oldódási sebessége növekszik, ami a biológiai hasznosulás növekedését

eredményezheti. Ez nagyon fontos tényező, mivel a hatóanyagok nagy része nagyon rosszul vagy egyáltalán nem oldódik vízben. A hatóanyagok nanonizálására az irodalomban sokféle alternatíva létezik, pl.: precipitáció, őrlés, nagynyomású homogenizátor, szuperkritikus folyadéktechnológia vagy porlasztva szárítás alkalmazása. Használhatunk vizes közeget, vízzel elegyedő folyadékot, valamint száraz körülmények között is előállíthatjuk a megfelelő szemcseméretű részecskéket.

Az iparban az elektroporlasztásos technológiát



leginkább különböző felületek bevonására, valamint festésére alkalmazzák. Az elektroporlasztásos kristályosítás ígéretes és költség-hatékony eljárás a szemcseméret nanoméret tartományba csökkentésére, a gyógyszer technológia területén is egyre inkább előtérbe kerül, mint mikro-, és nanorészecskék előállításának módszere, amelynek használatával megváltozott fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkező részecskék állíthatók elő, a megnövelt felületnek köszönhetően.

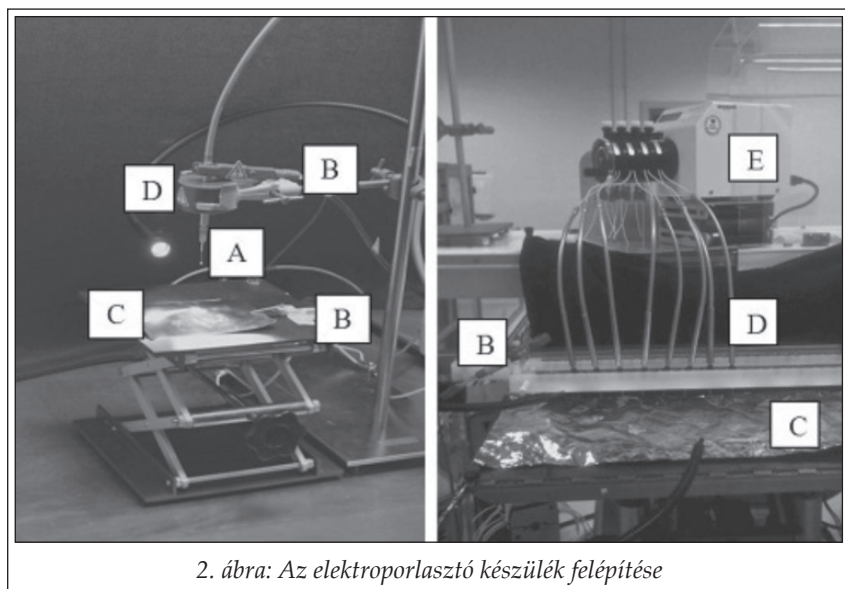
Jelen tanulmány célja az elektroporlasztásos kristályosítás elméleti és gyakorlati vonatkozásainak bemutatása, valamint egy modell hatóanyag, a nifluminsav szemcseméretének nanoméret tartományba csökkentése.

2. Az elektroporlasztásos kristályosítás gyógyszer technológiai vonatkozásai

Az 1. ábrán az elektroporlasztásos kristályosítás vázlatja látható. Az szerves oldószerben feloldott hatóanyag kapillárison keresztül jut az ionforrásba, ahol nagy feszültség alkalmazása, porlasztó gáz és fűtés segíti az ionizációt. A kapilláris és a vele szemben elhelyezkedő ellenelektrod között elektrosztatikus tér jön létre és ennek következtében a kapillárisból kilépő folyadék, töltéssel rendelkező cseppekre esik szét. A folyamatot leginkább befolyásoló paraméterek az alábbi betűkkel vannak jelölve: fúvóka átmérője (d), áramlási sebesség (ϕ), kezdeti oldat koncentráció (c), feszültség különbség (ΔU), kapilláris és a földelt tálcá távolsága (D).

A folyamat során első lépésként a fém kapillárisban levő folyadék feszültség indukálásával vezetőképpé válik. Ha az alkalmazott feszültség eléri egy bizonyos határértéket, a folyadék kúp formában jelenik meg a kapilláris végén, ami meghatározott szögben jelentkezik. Ezt *Taylor kúp*nak nevezük. Ha tovább növeljük a feszültséget, az elektrosztatikus erők legyőzik a felületi feszültséget, a kúp elválk a kapilláris falától és folyadéksugarat bocsát ki a földelt tálcára. Ezeknek a cseppeknek a mérete körülbelül $15 \mu\text{m}$, egyenletes töltöttséggel rendelkeznek, negatívak vagy pozitívak, taszítják egymást, így az aggregáció elkerülhető. A folyamat során az alkalmazott oldószer elpárolog, ezáltal a szemcsék térfogata csökken, de a töltés változatlan marad, aminek következtében a térfogat/töltés arány csökken. Amikor az elektrosztatikus erők legyőzik a felületi feszültséget a cseppek szétszakadnak, ezáltal a felületük megnövekszik. Ezt a folyamatot *Coulomb-hasadás*nak nevezik. Amikor az összes oldószer elpárolog, nano/mikro-kristályok keletkezésére van mód [1-3].

Az egy fúvókás (single nozzle) készülék (2. ábra bal oldala) a paraméterek beállítására szolgál, majd nagyobb mennyiségű termék előállításához a több fúvókás modell (2. ábra jobb oldala) alkalmazható (eight nozzle system). A folyadéksugarat egy egyszerű orvosi fecskendő alkalmazásával bocsátjuk ki, amire a fúvóka (A) és a magas feszültséget szolgáltató elektród (B) kapcsolódik. Végül tartalmaz a rendszer egy fém lemezt, (pl.: alufólia), ami a földelt tálcához (C) kapcsolódik. A



2. ábra: Az elektroporlasztó készülék felépítése

fűvóka rögzítésére szolgáló eszközt D betűvel jelöltük. A perisztaltikus pumpa a jobb oldali képen látható (E).

Az irodalomban számos esetben leírták már az elektroporlasztásos kristályosítást. Az alkalmazott anyagokat és a keletkezett részecskék méretét az **I. táblázat** szemlélteti.

Sample és Bollini [4-6] bebizonyították, hogy a folyadék viszkozitása befolyásolja a folyadéksugár szélességét, és frekvenciáját. Alacsony viszkozitású folyadékok pl. víz esetében könnyebb a cseppképzés.

dottak két anyagot 3-1000 µg/ml koncentrációban.

Gomez és munkatársai [11] az elektroporlasztásos kristályosítás segítségével monodiszperz és biológiailag aktív inzulin részecskéket állítottak elő. Az inzulint etanol és víz elegyében oldották fel, majd az inzulin receptorhoz való kötődését vizsgálták.

Kaerger és Price [12] 1-5 µm nagyságú paracetamol részecskéket állítottak elő elektroporlasztás alkalmazásával. Szerves oldószerként etanolt használtak. Az eljárás során a hatóanyag kémiai tulajdonsága nem változott.

I. táblázat

Elektroporlasztással előállított termékek különböző paraméterek használatával

Folyadék/ Szuszpenzió	Kapilláris anyaga és átmérője	Frekvencia	Feszültség	Folyadék sugár	Részecske vagy cseppméret	Ref.
Desztillált víz	Rozsdamentes acél 53 µm	10-27 kHz	4,5 kV (15 mm)	21-34,4 ml/h (20.000 csepp/s)	28-120 µm (cseppek)	[4-6]
Dextrán vizes oldata	0,23 mm (forgó többfűvókás rendszer)	2-4,5 kHz (800- 3000 rpm)	3,6 kV+4kV (10 mm)	14,5 l/h (100 fűvókára)	100-150 µm (szilárd részecskék)	[7-8]
Dextrán vizes oldata	0,23 mm (forgó többfűvókás rendszer)	2-4,5 kHz (800- 3000 rpm)	4-7 kV+1,5 kV (10 mm)	0,14 l/h	80-120 µm (cseppek)	[7-8]
Nátrium szilikát oldata	Üveg 10 µm	5-45 kHz (mechanikai vibráció)	-	18-30 µl/h	50-250 µm (szilárd részecskék)	[9]
Biológiai molekulák	Olvasztott szilícium oxid 9 µm	Egyenáram	1,8 kV	3,6 µl/h	3 nm (biológiai molekulák)	[10]
Insulin	0,15 mm	-	5 kV	0,23 mg/h	88-117 nm (insulin részecskék)	[11]
Paracetamol	Rozsdamentes acél 16 mm	Egyenáram	105 kV	4,2 µl/h	1-5 µm	[12]

3. Kísérleti rész

Az általunk választott modell anyag a nifluminsav (NIF), amely rossz vízoldékonyságú, BCS II. csoportba tartozó nem szteroid gyulladáscsökkentő, fájdalomcsillapító farmakon. Kutatócsoportunk korábban már foglalkozott a NIF oldódási sebességének növelésével, elsősorban a szemcseméret csökkentéssel, majd ciklo-dextrin és polyvinylpirrolidon használatával értünk el gyorsabb hatóanyag kioldódást [13-16]. Nedves őrlés, valamint oldószer evaporációs és oldószer diffúziós technológiák segítségével 5 μ m-es NIF részecskéket állítottunk elő. Ez utóbbi esetekben a Poloxamer 188 és a mannit volt az alkalmazott segédanyag [17-18].

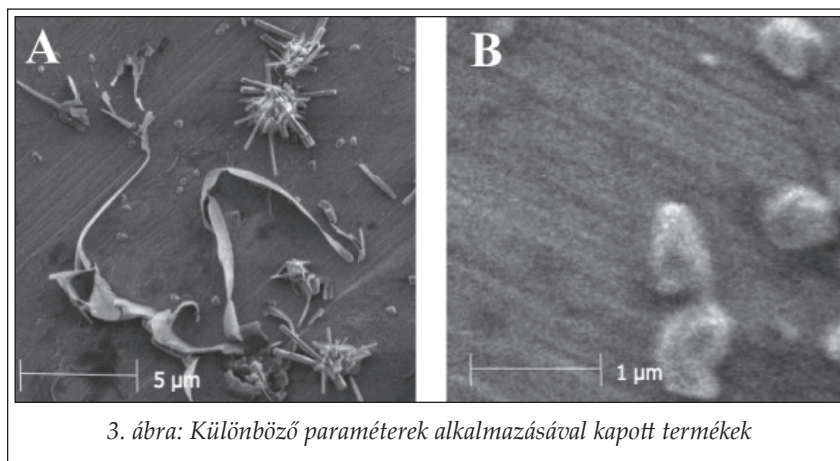
3.1. Anyagok

Felhasznált anyagok: *Nifluminsav (NIF)*: Richter G. Gyógyszergyár (Budapest, Magyarország); *Nanoméretű nifluminsav (NIF-nano)*: TNO (Rijswijk, Hollandia); β -D *Mannit (M)*: Hungaropharma (Budapest, Magyarország); *Poloxamer 188 (P)* (polietilén-polipropilén glikol): Fluka, (Ljubljana, Szlovénia); *Aceton*: VWR International (Fontenay-sous-Bois, Franciaország).

3.2. Elektroporlasztással végzett előkísérletek nanoméretű NIF előállítására céljából

Az elektroporlasztásos kristályosítás kivitelezéséhez a NIF-et acetonban oldottuk fel. A NIF acetonban való oldékonysága fontos paraméter a rendszer működése szempontjából. A hatóanyag acetonban való oldékonysága 110 mg/ml, ami nagy koncentrációt jelent a hatóanyagot tekintve, s ebből adódóan a fúvókák könnyen eldugulhatnak. Tehát kisebb koncentrációjú oldat készítésére volt szükség. A termék előállítás szempontjából a másik fontos paraméter a kapilláris átmérője és a földelt tálcától való távolsága volt. Ezen paraméterek változtatása, mind a kibocsátott folyadéksugar szélességére, mind a keletkezett részecskék alakjára és méretére hatással van. A különböző paraméterek alkalmazásával előállított termékeket a 3. ábrán láthatjuk.

A $d=0,41$ mm, $\phi=1,8$ ml/h, $c=25$ mg/ml, $\Delta U=+4$ kV and $D=20$ mm értékek alkalmazásával pácika



3. ábra: Különböző paraméterek alkalmazásával kapott termékek

alakú képződmények keletkeztek (3/A ábra). A módosított paraméterek alkalmazásával, vagyis $d=0,33$ mm, $\phi=1,8$ ml/h, $c=20$ mg/ml, $\Delta U=+4,7$ kV and $D=17$ mm mellett, sokkal kisebb kerekded terméket kaptunk (3/B ábra). A kitermelési sebesség 150 mg/h volt mindkét esetben.

Az elővizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy az optimális NIF koncentráció, amellyel megfelelő alakú és méretű, aggregációtól mentes szemcsék állíthatók elő, 19-20 mg/ml volt.

3.3. Termékek előállítása

Eltávolítva a földelt tálcáról a keletkezett nanoméretű NIF-et, a kristályok 20-30 μ m-es csoportokban tapadtak össze. Az aggregáció elkerülése érdekében M és P alkalmazásával interaktív fizikai keverékeket (ható-, illetve segédanyagok aránya NIF-M-P=1:2,5:0,25) állítottunk elő Turbula keverő alkalmazásával, 50-es fordulatszámmal és 10 perc keverési időt alkalmazva (Willy A. Bachofen Maschinenfabrik Basel, Svájc). A termékek összetételét a II. táblázat tartalmazza.

Az M, mint vivőanyag, biztosítja a NIF homogén eloszlását a rendszerben, a P pedig stabilizáló, nedvesedést elősegítő segédanyag, a hatóanyag aggregációját gátolja.

A referencia termékeket (fizikai keverék-PM), mind a NIF, mind az elektroporlasztással előállított NIF-nano esetében elkészítettük (NIF-PM és NIF-nano-PM).

II. táblázat

Termékek összetétele

	NIF	M	P
NIF	1	-	-
NIF-PM	1	2,5	0,25
NIF-nano	1	-	-
NIF-nano-PM	1	2,5	0,25

4. Vizsgálati módszerek

4.1. Morfológia, szemcseméret-megoszlás

A termékekben levő NIF szemcsék morfológiáját pásztázó elektronmikroszkóppal (SEM) vizsgáltuk (Hitachi S4700, Hitachi Scientific Ltd., Japán). A szemcsék bevonása a Bio-Rad Sc 502 (VG Microtech, Anglia) készülékkel történt, a termékek felületén az elektromos vezetés kiváltására 1,3-13 mPa nyomású levegőt alkalmaztunk.

A szemcsék méretét az ImageJ program (ImageJ Software, National Institute of Health) segítségével kalkuláltuk a pásztázó elektronmikroszkópos felvételek használatával.

4.2. Szerkezeti jellemzők

A termékek termoanalitikai viselkedését Mettler Toledo STAR^o termoanalitikai készülékkel (Mettler Inc., Schwerzenbach, Svájc) határoztuk meg. A DSC (differenciál pásztázó kalorimetria) méréseket argon gáz átáramoltatásával (10 l/óra) végeztük. (2–5 mg-os minta, 25–300°C, 5°C/perc fűtési sebesség.)

A mintákban levő hatóanyag kristályos jellegét porröntgen diffraktométerrel határoztuk meg (Bruker D8 Advance por-röntgen diffraktométer, Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Germany). Mérési paraméterek: Cu ($K\alpha=1,5405 \text{ \AA}$), 30kV, 15 mA.

4.3. Fizikai-kémiai sajátosságok

A nedvesedési peremszög, felületi szabadenergia (γ), illetve a polaritás meghatározásához 0,15 g terméket Perkin Elmer hidraulikus préssel 1 tonna erővel préseltük pasztillává, majd felszínükre poláros, illetve apoláros oldószert cseppentettünk. A nedvesedési peremszög változása 1-30 másodpercig került detektálásra Dataphysics OCA 20 készülékkel (Dataphysics Inc. GmbH, Németország), majd a Wu összefüggés [25] alkalmazásával, a vizsgált minták felületi szabadenergiát (γ) a poláros és apoláros komponens felületi szabadenergiájának összegéből kalkuláltuk. A vizsgálatok során használt oldószerek, a desztillált víz ($\gamma^p=50,2 \text{ mN/m}$, $\gamma^d=22,6 \text{ mN/m}$) és a dijódmétán ($\gamma^p=1,8 \text{ mN/m}$, $\gamma^d=49 \text{ mN/m}$) voltak. A po-

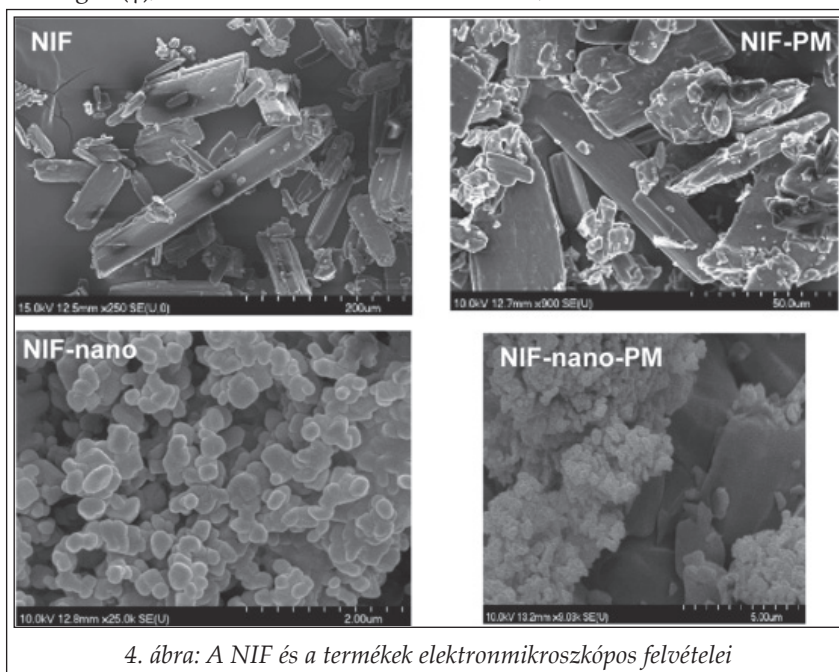
laritás kiszámítása a γ^p és a γ értékekből a $(\gamma^p/\gamma)*100$ képlet segítségével történt [26].

A termékek kioldódását a Magyar Gyógyszerkönyvben is hivatalos forgólapátos kioldókészülékkel (Pharmatest forgólapátos kioldókészülék, Hamburg, Germany) határoztuk meg, 14 mg NIF-et tartalmazó terméket az 50 ml 37 °C-os gyomornedvbe, illetve bélnedvbe helyeztünk, mert bár a NIF nagy része bélből szívódik fel, kismértékű felszívódás gyomorból is tapasztalható (fordulatszám 100/perc). A mintavételt követően, szűrés (0,2 μm , Minisart SRP 25, Sartorius AG, Göttingen, Németország) és megfelelő hígítás után, a hatóanyag kioldódását spektrofotométerrel (ATI-Unicam UV2-100 UV/vis spektrofotométer, Cambridge, UK) detektáltuk.

5. Eredmények értékelése

5.1. Morfológia, szemcseméret-megoszlás

Az elektronmikroszkópos felvételeken láthatóak a NIF sima felületű, hasáb alakú 81 μm körüli kristályai. A kristályok alakjában a NIF-PM termék esetében változás nem tapasztalható, kis mértékű szemcseméret-csökkenés azonban itt is megfigyelhető, ami a Turbula keverő hatásának tulajdonítható. Ezzel szemben az elektroporlasztással előállított NIF-nano morfológiája lényeges eltérést mutat a NIF-hoz képest, gömbölyű 500 nm átlagos szemcseméretű kristályokat kaptunk. Eltávolítva a terméket a földelt tálcáról, 20 μm nagyságú aggregátumokba rendeződtek a részecskék, aminek oka a szemcsék



4. ábra: A NIF és a termékek elektronmikroszkópos felvételei

III. táblázat

Az elektroporlasztás szemcseméretre gyakorolt hatása

Hatóanyag	Átlagos szemcseméret (μm)
NIF	86,15
NIF-nano	0,32

töltöttségével magyarázható. A 4. ábrán a termékek elektronmikroszkópos felvételei láthatók.

Az elektronmikroszkópos felvételek alapján elvégeztük a NIF és az elektroporlasztással előállított NIF-nano szemcseméret analízisét. A III. táblázatban látható, hogy az alkalmazott eljárás szignifikáns szemcseméret-csökkenést eredményezett a modell hatóanyag esetében.

5.2. Szerkezeti jellemzők

Felvettük a NIF és az elektroporlasztással előállított nanonizált NIF DSC görbéit, amivel termodynamikai viselkedésüket vizsgáltuk (olvadáspont, kristályosság, polimorfia). Az éles endoterm csú-

csok a minták olvadáspontját jelzi. A NIF olvadáspontjában nagymértékű változás nem tapasztalható, a kiindulási NIF 202,70°C-os olvadáspontjához képest a NIF-nano olvadáspontja 200,37°C-ra csökkent. A NIF-nano esetében megjelenő szélesebb csúcs a felületen feldúsuló töltött részecskék jelenlétének tulajdonítható. Ezek módosíthatják az anyagok fizikai-kémiai tulajdonságait, köztük a kristályosságot is.

Az anyagok kristályossági fokát a termékek görbéiből kapott normalizált integrálokból határoztuk meg. A NIF kristályosságát 100%-nak véve, az elektroporlasztással előállított NIF-nano kristályossága kismértékben csökkent, de 81,93%-ban kristályos formában volt jelen. Ez egyrészt a jelentős szemcseméret-csökkenésnek tulajdonítható, illetve elmondható, hogy a maradék amorf formában van jelen.

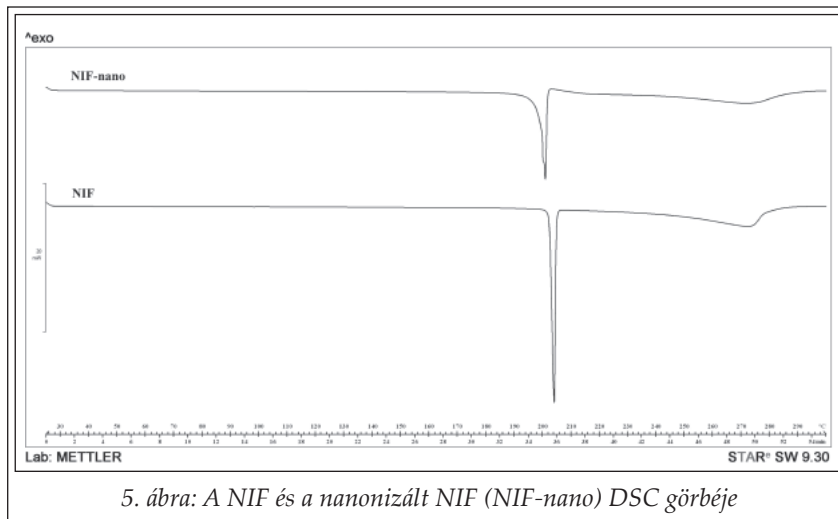
A porróntgen felvételek alapján (6. ábra) megállapítható, hogy a nanonizált nifluminsav esetében a csúcsok intenzitása jelentősen csökkent, azonban

a nifluminsavra jellemző karakterisztikus csúcsok a 8,2, 12,88, 16,16, 23,18, 25,74 2θ értékeknél megtalálhatóak. Az intenzitás csökkenése a nagymértékű szemcseméret csökkenésnek, valamint a 18,07 %-ban jelen levő amorf frakciónak tulajdonítható.

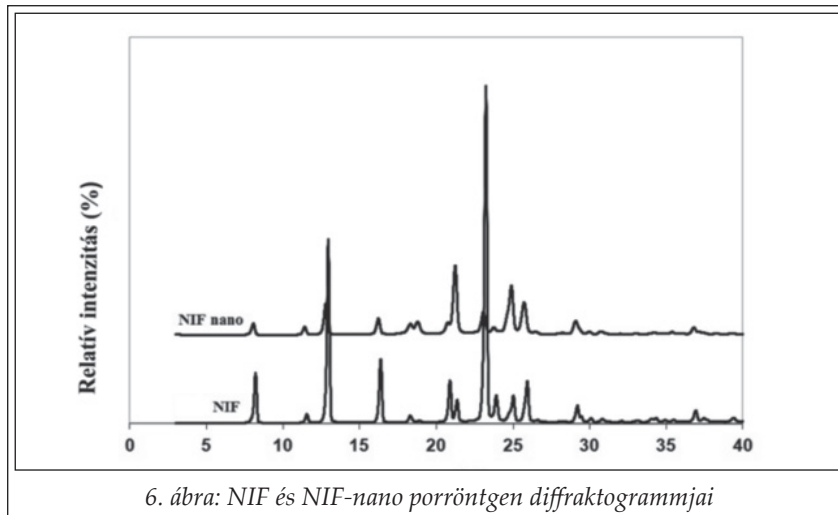
5.3. Fizikai-kémiai sajátosságok

A hatóanyag nedvesedési és polaritási vizsgálata annak lipofil jellegére utal (IV. táblázat). A kiindulási NIF-hez képest a NIF-nano vízben, illetve dijudmetánban mért peremszög értéke nőtt, aminek oka valószínűleg a töltött részecskék határfelületen való feldúsulása. A polaritás 16,10 %-ról 27-30 %-ra történő növekedése a kioldódás kismértékű javulását vetíti előre. A NIF-nano minta esetében nem tapasztalható számottevő változás a nedvesedés tekintetében, a fizikai keverékek (NIF-PM és NIF-nano-PM) azonban hidrophil sajátosságot mutatnak, ami nagyrészt a segédanyagok nedvesedést fokozó hatásának tulajdonítható.

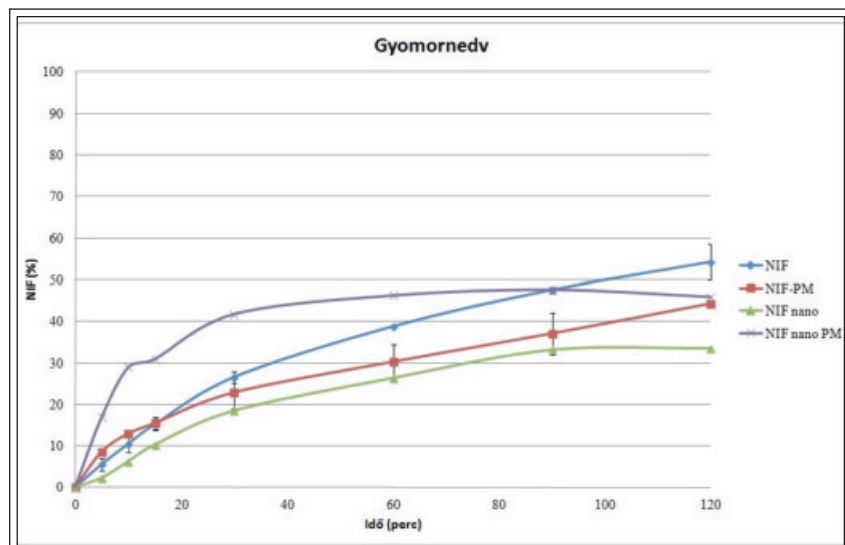
Az *in vitro* kioldódás vizsgálatok



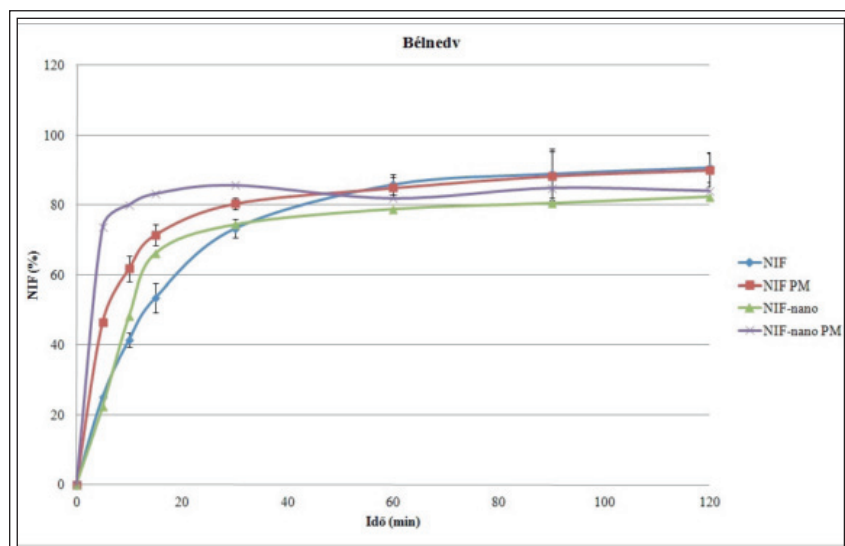
5. ábra: A NIF és a nanonizált NIF (NIF-nano) DSC görbéje



6. ábra: NIF és NIF-nano porróntgen diffraktogramjai



7. ábra: A NIF és a termékek *in vitro* kioldás vizsgálata mesterséges gyomornedvben (pH= 1,2)



8. ábra: A NIF és a termékek *in vitro* kioldódás vizsgálata mesterséges bélmedvben (pH= 6,8)

Nedvesedési tulajdonságok vizsgálata

Minták	$\Theta_{\text{viz}} [^\circ]$	$\Theta_{\text{dijódmétán}} [^\circ]$	$\gamma [\text{mN m}^{-1}]$	Polaritás [%]
NIF	81,0	32,4	47,45	16,10
NIF-PM	39,9	26,2	56,36	28,34
NIF-nano	96,5	33,0	54,35	27,86
NIF-nano-PM	31,4	17,4	58,23	30,10

eredménye alapján megállapítható, hogy a segédanyagok megnövelték az oldódási sebességet. A NIF nanonizálása önmagában nem eredményezett számottevő változást annak oldódásában. Ennek oka valószínűleg a 20-30 μm -es aggregátumok jelenléte.

Az eredmények alapján az is elmondható, hogy

a NIF bélmedvben jobb kioldódást mutatott, mint gyomornedvben, mivel az oldékonysága pH függő.

A 7. és a 8. ábra alapján megállapítható, hogy mind gyomornedv, mind bélmedv esetén a NIF-nano-PM minta tekintetében már az első 10 percben 30 illetve 80 %-a kioldódott a hatóanyagoknak.

6. Összefoglalás

Munkánk során egy innovatív technológia, az elektroporlasztásos kristályosítás elméleti hátterét, valamint egy gyenge vízoldékonyságú modell hatóanyag a NIF fizikai-kémiai tulajdonságainak megváltoztatására irányuló kutatási eredményeket mutattuk be. Azt tapasztaltuk, hogy az eljárási paraméterek, illetve a segédanyagok helyes megválasztásával, a hatóanyag fizikai-kémiai tulajdonságai kedvezően befolyásolhatók, az aggregátumok keletkezése elkerülhető. Az eljárás alkalmazása 320 nm-es kristályok előállítását tette lehetővé. Eredményeink alapján elmondható, hogy a megváltozott szemcseméret kedvező nedvesedést eredményezett, valamint az eljárás alkalmazásával javítható a kioldódás mesterséges gyomor-, illetve bélmedvben is. A segédanyaggal előállított fizikai keverék esetében az első 10 percben a hatóanyag 30 (gyomornedvben), illetve 80 %-a kioldódott (bélmedvben).

IV. táblázat

Köszönetnyilvánítás

A munka a Bolyai János kutatási ösztöndíj támogatásával valósult meg (2014-2017).

IRODALOM

- Jaworek A.: Powder Techn. Vol. 176, 18–35 (2007).
- Ambrus R., Radacsi N., Szunyogh T., Heijden A. E. D. M. Van Der, Ter Horst J. H., Szabó-Révész P.: J. Pharm. Biomed. Anal, Vol. 76, 1-7 (2013).

3. Radacsi N., Ambrus A., Szunyogh T., Stankiewicz A. I., Heijden A.E.D.M van der, Ter Horst J. H.: *Crystal Growth Des.* 12(7), 3514-3520 (2012).
4. Sample S. B., Bollini R.: *J. Colloid Interface Sci.* 4,1(2) 185-193 (1972).
5. Bollini R., Sample S. B., Seigal S. D., Boarman J. W.: *J. Colloid Interface Sci.* 51(2), 272-277 (1975).
6. Sato M.: *J. Electrostat.* 15, 237-247 (1984).
7. Sato M.: *IEEE Trans. Ind. Appl.* 27(2), 316-322 (1992).
8. Sato M., Miyazaki H., Sadakata M., Sakaki T.: Production of uniformly sized liquid droplets under applied AC field by means of rotating multinozzle system. 4th Int. Conf. Liquid Atomization and Spray Systems 22-24. Aug. Sendai, Japan, pp. 161-165. (1988)
9. Verma R.L., Bapna R.C., Joshi D.N.: *J. Phys. E: Sci Instrum.* 22(3), 189-190 (1989).
10. Lewis K. C., Dohmeler D. M., Jorgenson J. W., Kaufman S. L., Zarrin F., Dorman F. D.: *Anal. Chem.* 66(14), 2285-2292 (1994).
11. Gomez A., Bingham D., Juan de L., Tang K.: *J. Aerosol Sci.* 29(5/6), 561-574 (1998).
12. Kaerger J. S., Price R.: *Pharm. Res.* 21(2), 372-381 (2004).
13. Kata M., Ambrus R., Aigner Z.: *J. Inc. Phenom.* 44, 123-126 (2002).
14. Ambrus R., Aigner Z., Catenacci L., Bettinetti G., Szabó-Révész P., Sorrenti M.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 104, 291-297 (2011).
15. Ambrus R., Aigner Z., Dehelean C., Soica C., Szabó-Révész P.: *Rev. Chim.* 58, 60-64 (2007).
16. Ambrus R., Aigner Z., Soica C., Peev C., Szabó-Révész P.: *Rev. Chim Vol.* 58, 206-209 (2007).
17. Szunyogh T., Ambrus R., Szabó-Révész P.: *J. Drug Del. Sci. Tech.* 22(4), 307-312 (2012).
18. Szunyogh T., Ambrus R., Szabó-Révész P.: *Acta Pharm. Hung.* 81, 29-36 (2011).

Érkezett: 2015. június 8.

Gyógyszerek okozta fényérzékenységi reakciók és gyógyszerészi kémiai háttérük

RÁCZ ÁKOS*, TÓTH LÍVIA

Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet, Budapest, Hőgyes Endre u. 9. – 1092
Levelezési cím: racz.akos@pharma.semmelweis-univ.hu

Summary

RÁCZ, Á., TÓTH, L.: *Pharmaceutical chemistry of drug-initiated photosensitivity*

The photosensitivity originated from drugs is a common problem in medical and pharmaceutical practice. It is of prominent importance in drug development and in regulatory issues. The photosensitizer effect of drug substances is determined by their chemical structures, and it mainly originates from aromatic chromophore systems and photo-dissociable bonds forming free radicals. The photodegradation may happen in many different types of chemical reaction pathways. Our aim is to demonstrate in this review the interrelations between structure and photodegradation. We show examples for the different reaction types, with drugs from different pharmacologic/therapeutic classes. The *in vivo* chemical reactivity of photodegradates of pharmaceutical substances, the *in vitro* methods of investigation for testing photoreactivity and phototoxicity, and briefly the clinical tests for photosensitivity disorders are also discussed.

Keywords: photochemistry, free radicals, excitation, photosensitization, UV light

Összefoglaló

A gyógyszerek okozta fényérzékenység a mindennapi orvosi és gyógyszerészi gyakorlatban sokszor előforduló probléma. A kérdést kiemelten kezelik mind a gyógyszerfejlesztés, mind a hatósági előírások szintjén. A gyógyszerek fotoszenzibilizáló hatását döntően meghatározza kémiai szerkezetük, elsősorban a könnyen gerjeszthető aromás kromofór rendszerek, ill. a fényhatásra gyökös disszociációra hajlamos kötések. A gyógyszerek fény előidézte bomlása számos típusú kémiai átalakulás útján valósulhat meg. A közlemény célja a gyógyszer-hatóanyagok szerkezet-fotoreaktivitás összefüggéseinek megvilágítása. Tárgyalásra kerülnek a fotokémiai folyamatok különböző típusai, az egyes funkciós csoportok reaktivitására külön kitérve. Különböző hatástani csoportokból vett példákon mutatjuk be a gyakrabban előforduló reakciókat. Összefoglaljuk a gyógyszer-fototoxicitás alapját képező *in vivo* kémiai reakciókat, valamint a fotokémiai reaktivitás és fototoxicitás legfontosabb *in vitro* vizsgálati módszereit, azok technikai háttérét, és röviden a fotoszenzibilizáció klinikai vizsgálati módszereire is kitérünk.

Kulcsszavak: fotokémia, szabad gyökök, gerjesztés, fotoszenzibilizáció, UV fény

Bevezetés

Fototoxicitás és fotoallergia

A fototoxicitás és fotoallergia fogalmak olyan kóreléletani állapotokat jelölnek, melyek fény (szélesebb értelemben elektromágneses hullám) és valamilyen kémiai ágens (esetünkben valamely gyógyszer-molekula) együttes hatásának eredményeként jönnek létre [1, 2-5]. A fotokémiai eredetű gyógyszer-ártalmak által elsődlegesen érintett szerv a bőr. A betegen külön-külön sem a fény sem a gyógyszer nem váltja ki az adott reakciót. Azt, hogy milyen típusú és súlyosságú tünetek jelennek meg, a gyógyszer-molekula fotoreaktivitása határozza meg. Fényérzékenységi tünetek a sötétebb bőrtípusok esetén is előfordulhatnak [4]. A fototoxicitás előfordulása gyakori, az adott gyógy-

szer nagyobb dózisánál jelentkezik, többnyire gyorsan kialakul (24 órán belül, de esetenként akár fél órán belül is), már az első alkalmazáskor fellép, és a napfénynek kitett bőrfelületekre korlátozódik [1, 2]. Általában a napfény okozta leégésre emlékeztető tünetekkel jelentkezik [1, 2, 4]. A gyulladáshoz vezető reakció a közvetlen sejtkárosodásból ered, ami a kémiai fotoszenzibilizáló ágens és a bőrt érő sugárzás közti fotokémiai reakció eredményeként jön létre [1, 2]. A fotoallergia esetében a hatás nem dózisfüggő, már igen kis dózissal, de csak ismételt alkalmazás esetén jelentkezik. Ez általában késleltetett (IV. típusú) túlérzékenységi reakció, amely 24-72 órával a gyógyszernek és fénynek való kitettség után jelenik meg [1-3]. Az ultravioleta sugárzás hatására a gyógyszer, vagy fotokémiai bomlásterméke hapténként viselkedik, a fehérjéhez köt az epidermális sejteken, antigéneket létre-

hozva, amelyek a környező limfocitákat szenzitivizálják. Az előzetesen ily módon már érzékenyített egyéneknek a tünetek az ismételt fénybehatás után, és nem csak a besugárzott területen jelentkezhetnek [1, 2]. A fotoallergiás reakciók általában viszkető ekcémás kiütések formájában jelentkeznek, megjelenésük hasonló az allergiás kontakt dermatitiszhez [1]. Ha egyértelműen a gyógyszer okozza ezeket, akkor abba kell hagyni az alkalmazást, mivel súlyosabb tünetek is kialakulhatnak. Mivel a fototoxicitásra ill. fotoallergiára jellemző tüneteket, kórképeket nem csak ezek okozhatják, hanem bármely más okból eredő gyógyszer-toxicitás/allergia is, vagy éppen nem gyógyszer eredetű fotoszenzitivitás (pl. lupus erythematosus vagy AIDS [6] esetében), ezért mindig tisztázni kell, hogy ténylegesen fényérzékenység áll-e a problémák hátterében (ld. később).

Fontos még megemlíteni a *fotofobiát*, mint külön problémát. Ez azt jelenti, hogy a beteg kerüli a fényt, mert a szemei érzékenyek rá, a fényhatás fájdalmat okoz [4].

A fotoszenzibilizáló szerek vonatkozásában számos esetben leírtak karcinogenitást is [4,5].

A fotoszenzibilizációért felelős gyógyszermolekulák

A fotoszenzibilizáló gyógyszereket a gyógyszer-mellékhatások különböző nemzeti bejelentési

rendszere alapján gyűjtik össze, az egészségügyi ellátásban dolgozó szakemberektől és a gyógyszeriparból származó önkéntes bejelentések alapján. Ezekből számítógépes adatbázisokat hoztak létre, pl. a WHO Programme for International Drug Monitoring adatbázisa, vagy az FDA adatbázisai [5].

Gyakorlati szempontból, alkalmazásuk és az azzal kapcsolatos fotoszenzibilizáció elterjedtsége révén, a fentiek közül is külön kiemelendő gyógyszerhatóanyagok ill. gyógyszerhatóanyag csoportok: az amiodaron, a furoszemid, a hidroklorotiazid, a fenotiazin vázas neuroleptikumok, a nem-szteroid gyulladáscsökkentők, az antihisztaminok, a fluorokinolonok és a tetraciklinek [1, 8, 11, 12].

A gyógyszermolekulák fotokémiai reakcióinak fizikai-kémiai háttere

A fotokémia első törvénye [13-15] (Grotthus-Draper) szerint, csak az a fény tud kiváltani fotokémiai reakciót, amelyet a molekula abszorbeál. A második törvény (Stark-Einstein) pedig kimondja, hogy egy kvantumnyi abszorbeált foton egy molekulában idéz elő fizikai és/vagy kémiai változást, vagyis a teljes elnyelt energia (E) a foton frekvenciájával (ν) (ebből következően a hullámhosszával) és az anyagmennyiséggel (molekulák számával, N) arányos (h a Planck-állandó).

$$E = N h \nu$$

I. táblázat

Példák fotoszenzibilizáló gyógyszerekre [1, 4, 6-10]

Terápiás csoport	Gyógyszerek	
Antidepresszánsok	triciklusos antidepresszánsok (pl. imipramin, amitriptilin), SSRI-k (fluoxetin), <i>Hypericum perforatum</i>	
Szedatohipnotikumok, anxiolitikumok	diazepám, klórdiazepoxid, alprazolám	
Antipszichotikumok	fenotiazinok (klórpromazin, trifluoperazin, flufenazin), tioxantének (flupentixol, tiotixén, klórprotixén), haloperidol, klozapin	
Epilepszia ellenes szerek	karbamazepin, lamotrigin, fenitoin	
Kardiovaszkuláris szerek	amiodaron, kinidin, klofibrát, sztatinok, Ca-csatorna blokkolók (amlodipin, nifedipin)	
Antidiabetikumok	szulfonil-karbamidok (glipizid, gliburid, stb.)	
Diuretikumok	hidroklorotiazid, klórtalidon, furoszemid	
Nem-szteroid gyulladáscsökkentők	ketoprofén, diklofenák, indometacin, ibuprofén, fenilbutazon, naproxén	
Antihisztaminok	ciproheptadin, difenhidramin, dimetindén, loratadin, cetirizin	
Kórokozó-ellenes szerek	Antivirális szerek	aciklovir, saquinavir, efavirenz, ritonavir, zalcitabin
	Antimaláriás szerek	kinin, klorokin
	Antifungális szerek	vorikonazol, flucitozin, grizeofulvin, terkonazol
	Antibakteriális szerek	szulfonamidok, fluorokinolonok, tetraciklinek
Daganatellenes szerek	fluorouracil, vinblasztin, dakarbazin, metotrexát, imatinib, paclitaxel	
Szisztémás bőrgyógyászati szerek	izotretinoin, methoxsalen	

A Lambert-Beer törvény alapján pedig a fényabszorpció mértéke arányos az anyag koncentrációjával.

Ezekből a törvényekből logikusan következnek az alábbiak:

- A fotokémiai reakciók lezajlásához feltétlenül szükséges a fényvel való közvetlen kölcsönhatás.
- A reakciók létrejötte függ a fény hullámhosszától, nem képes tetszőleges fényforrás tetszőleges változást előidézni.
- Nagyobb fényerősség adott időegység alatt több foton abszorpcióját eredményezi, ezért a fotokémiai bomlás mértéke arányos a fényhatás erősségével.
- Adott fényerősség mellett a reakció mértéke a koncentrációval (dózissal) is arányos.

A molekulák és a fény kölcsönhatásának első lépése tehát a foton abszorpciója, ami a molekula gerjesztődését, azaz többlet energia felvételét jelenti:



A molekula gerjesztése ugyan feltétele a reakciónak, de azok végbemenetele nem mindig történik meg, mert a felvett energiát a molekula fénykibocsátás révén is leadhatja, ezen kívül átadhatja a környezetében lévő más molekuláknak is. Amennyiben az előbbieket nem következnek be, akkor a molekula kémiailag bomlik. Az, hogy mi történik, az a molekulában található kémiai kötések erősségének a függvénye. A fentiek alapján a következők lehetségesek [13-16]:

- fényemisszió: $M^* \rightarrow M + hv$ (vagy $h\nu$ 'azaz az eredetitől eltérő hullámhosszú fény kibocsátása), ebben az esetben megszűnik a kémiai reakció lehetősége.
 - intermolekuláris energiaátvitel: $M^* + N \rightarrow M + N^*$, ahol ezután N^* molekulával az itt felsoroltak bármelyike megtörténhet, míg M molekula kémiailag változatlan marad.
 - fotoionizáció: $M^* \rightarrow M^{\cdot+} + e^-$, ami általában gyökképződést jelent, amennyiben a molekula nem volt már eredetileg gyökös szerkezetű. Ez a gyök további reakciókban vehet részt, oxidálhat más molekulákat: $M^{\cdot+} + N \rightarrow M + N^{\cdot+}$
 - photodisszociáció: $M^* \rightarrow N^{\cdot} + P^{\cdot}$, ami homolitikus kötésfelhasadást jelent, és két gyök képződésével jár.
 - fotoaddíció: $M^* + N \rightarrow M-N$
 - fotoizomerizáció: $M^* \rightarrow N$, kovalens kötések intramolekuláris átrendeződése történik.
- Bizonyos esetekben a termékek további fotonok

elnyelésével újabb fotokémiai reakciókban vehetnek részt.

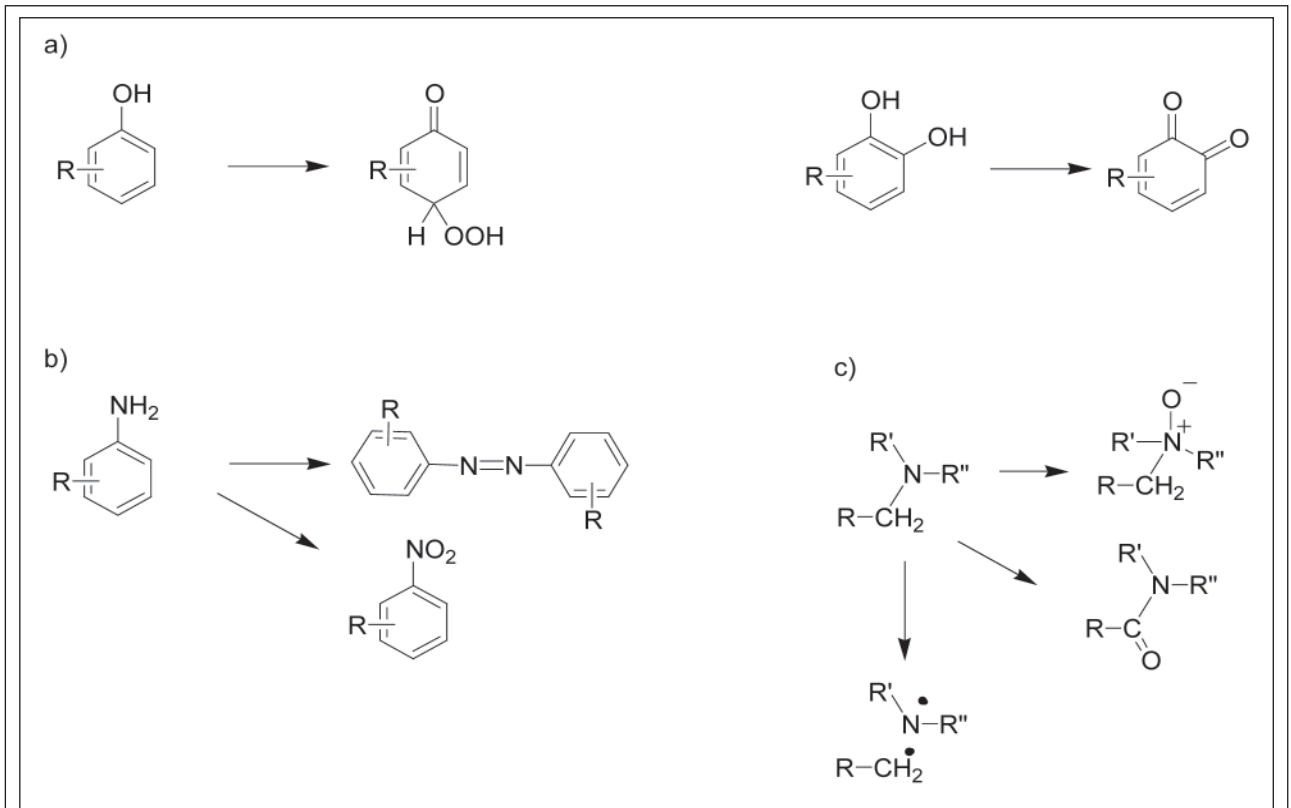
Az itt felsorolt folyamatok, ha gyógyszermolekulákkal történnek meg, lehetnek sejt-, ill. szövetkárosító mechanizmusok alapjai. Az *intermolekuláris energiaátvitel* tipikusan aromás policiklusok és a nukleotid bázisok közt mehet végbe, ez utóbbiak kémiai fotoaddíciós reakciókra való hajlamát növeli, egymással vagy akár az energiaátvitelben közreműködő vegyülettel is reagálhatnak, ami pontmutációkhoz vezethet (ld. később). A *fotoionizáció* és *photodisszociáció* révén képződő gyökök igen reaktívak. A *fotoaddíció* végbemehet a gyógyszermolekula és a biomolekula közt is, ezen túlmenően, a gyógyszermolekulák nem biomolekulákkal képződő fotoadduktjai is lehetnek toxikusak. A *fotoizomerizáció* szintén eredményezhet toxikus termékeket.

A gyógyszermolekulák funkciós csoportjainak szerepe a fotoreaktivásban

A tárgyaltak alapján, fotokémiai reaktivitást azoknál a gyógyszereknél várhatunk, amelyek könnyen gerjesztődnek fény hatására. Ez általában valamilyen π -elektron-rendszert feltételez (minél kiterjedtebb a delokalizáció, annál reaktívabb általában), és/vagy oxidábilis heteroatomot (pl. kénatomot), vagy könnyen felbontható egyszeres kötéseket.

Fotokémiai oxidációk

A fotokémiai oxidáció alapesete a c) eset, a *fotoionizáció*, a fotokémiai reakciók legegyszerűbb esetének mondható. Ez egy elektron kilépését jelenti a molekulából, és gyökkationt eredményez. Gyökös termékek képződése egyéb, nem-fotokatalizált redoxreakciókban is megtörténhet, és sokszor jelentős összefüggés van a vegyületek nem-fotokémiai oxidabilitása és a fotokémiai reaktivitásuk közt (ld. klórpromazin). A fotokémiai oxidációk másik fontos esete az e) ponthoz sorolható *fotooxigenizáció*, amikor a fotokémiai gerjesztés a levegő oxigénjével végbemenő gyökös addíciót katalizálja. Kiterjedt elektron-delokalizációval rendelkező molekulák a b) pontbeli *energiaátvitel* útján, maguk is hozzájárulhatnak az O_2 molekulák reaktivitásának növeléséhez, az igen reaktív szingulett oxigén képzése révén. A *fenolok* fotokémiai úton könnyen oxidálódnak kinoidális oxidációs termékekké, amelyek a levegő oxigénjével peroxid adduktot képeznek (**1. ábra**, (a)) [15]. A



1. ábra. Néhány gyakori funkciós csoport fotokémiai bomlása

polifenolok, pl. a pirokatechin származékok, kinonná oxidálódnak, az *aromás primer aminok* pedig azovegyületekké és nitrovegyületekké (1. ábra, (b)) [15]. Az *alifás aminok* esetében (1. ábra, (c)) a nitrogénatom N-oxidá oxidálódhat, az alfa szénatom oxidációjával pedig savamid származékok keletkezhetnek, valamint előfordulhat a C-N kötés felhasadása[15].

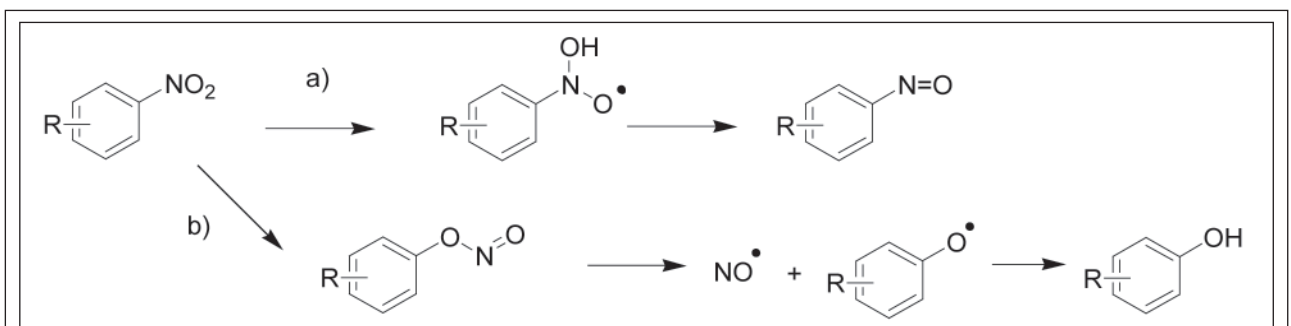
Az aromás nitrocsoportok reakciói

Az aromás nitrocsoportok esetében két általános fotokémiai reakciót kell kiemelni (2. ábra). Az egyik reakció a nitrozó csoporttá történő redukció

(a). Redukálószerként az oldószerből vagy a molekulából származó hidrogén szolgál. A másik reakció a salétromossav észterre történő átrendeződés (b). A keletkező észter nitrogén-monoxid és fenoxi gyök képződésével bomlik, és további átalakulással fenolok képződnek [15].

Fotodisszociációs folyamatok

A gyógyszerek előidézte fotoszenzibilizációban kiemelt szerepe van azoknak az egyszerűs kötéseknek, amelyeknek kicsi a homolitikus disszociációs energiája, vagyis az az energia, amelyet ahhoz kell befektetni, hogy a kötés egyenlő módon,

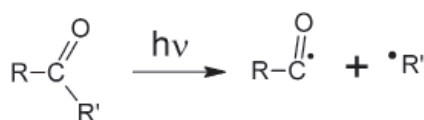


2. ábra: Az aromás nitro csoport jellemző fotokémiai átalakulásai

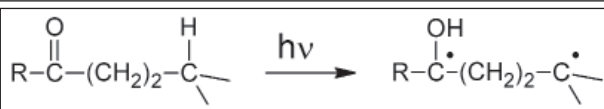
II. táblázat

A fontosabb egyszeres kötések reprezentatív homolitikus disszociációs energiái (kcal/mól, és zárójelben eV) [17]

C-C	88 (3,78)	C-F	108 (4,64)	O-H	119 (5,11)
C-H	100 (4,30)	C-Cl	80 (3,44)	N-H	107 (4,60)
C-O	94 (4,04)	C-Br	68 (2,92)	O-O	51 (2,19)
C-N	84 (3,61)	C-I	53 (2,28)	N-N	66 (2,83)



3. ábra. A karbonilvegyületek Norrish I típusú fotodisszociációja



4. ábra: A karbonilvegyületek Norrish II típusú reakciója

két gyökös részre hasadjon – szemben például a hidrolitikus bomlásokkal, ahol heterolitikus kötésfelhasadás történik, elektronpár-vándorlással, amelyben anionos és kationos termékek vagy köztermékek keletkeznek. A kétféle kötésfelbomlás energiája természetesen más érték.

Ha megnézzük a különböző kémiai kötések reprezentatív disszociációs energiáit (II. táblázat) (amelyek természetesen funkciós csoportonként és vegyületenként némileg változhatnak), látszik, hogy vannak kifejezetten könnyen felbomló kötések, mint pl. a C-Br, C-I, az N-N, vagy az O-O kötés, mely utóbbi gyógyszerekben ugyan ritka, de bomlástermékeikben előfordulhat. Ezek alapján

értelmezhető, hogy a jódtartalmú gyógyszerek (pl. amiodaron) és a hidrazidszármazékok (pl. aminofenazon, metamizol, fenilbutazon) különösen érzékenyek a fényre. Igen fontos és jellemző fotodisszociációs bomlástípusok a karbonil csoportot tartalmazó vegyületek Norrish I és Norrish II reakciói [13-15, 18]. A Norrish I reakció (3. ábra) a karbonil szénatom és az α -szénatom közti C-C kötés gyökös felhasadása.

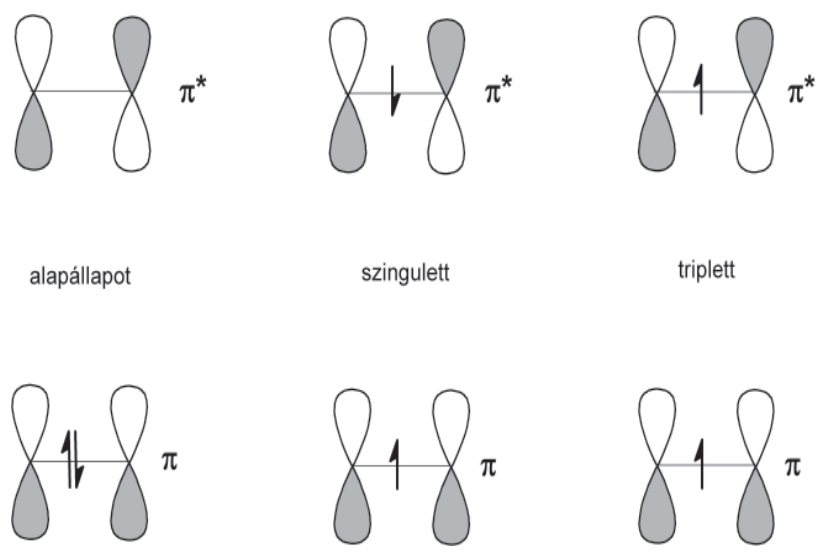
A Norrish II reakció során (4. ábra) pedig a γ -helyzetű C-H kötés gyökös bomlása következtében keletkező hidrogén gyök lép reakcióba a karbonilcsoporttal, aminek az eredménye egy hidroxilcsoport kialakulása lesz, valamint két gyökös szénatom képződése.

Kettős kötések gerjesztése, és következményei

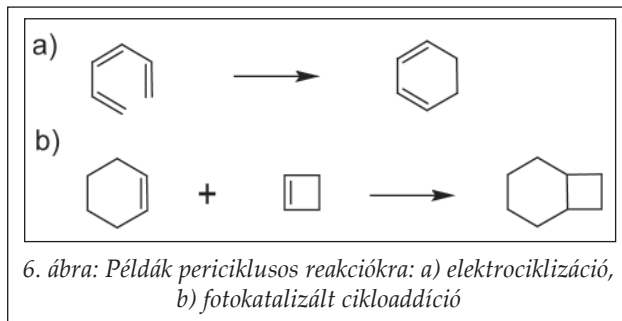
A fotokémiai reakciók természetéhez hozzátartozik, hogy olyan átalakulások is előfordulnak, amelyek az alapállapotú molekulákra nem jellemzőek. Ennek az az alapja, hogy a gerjesztés hatására megváltozik a molekulák elektroneloszlása, és a geometriájuk is [13, 14]. Az olefinkötések, és a karbonil csoportokban lévő kettős kötések esetében a gerjesztés hatására a betöltött π pályán lévő elektronok egyike felkerül a π^* lazító pályára (5. ábra),

ami párosítatlan elektronokat eredményez. A karbonil csoport esetében ezzel analóg módon, $n-\pi^*$ gerjesztés is történhet, amelyhez a $\pi-\pi^*$ gerjesztésnél kisebb energiájú (nagyobb hullámhosszú) fény szükséges. A gerjesztett állapotban a lazító pályán az elektron lehet az eredeti spinállapot megtartásával (szingulett állapot), vagy azal ellentétesen (triplett állapot).

A triplett állapot a szingulettből a spin átfordulásával alakulhat ki, mivel a triplett állapot a Hund-szabálynak megfelelően kedvezőbb ener-



5. ábra: A kettős kötések elektroneloszlásának változása gerjesztés hatására



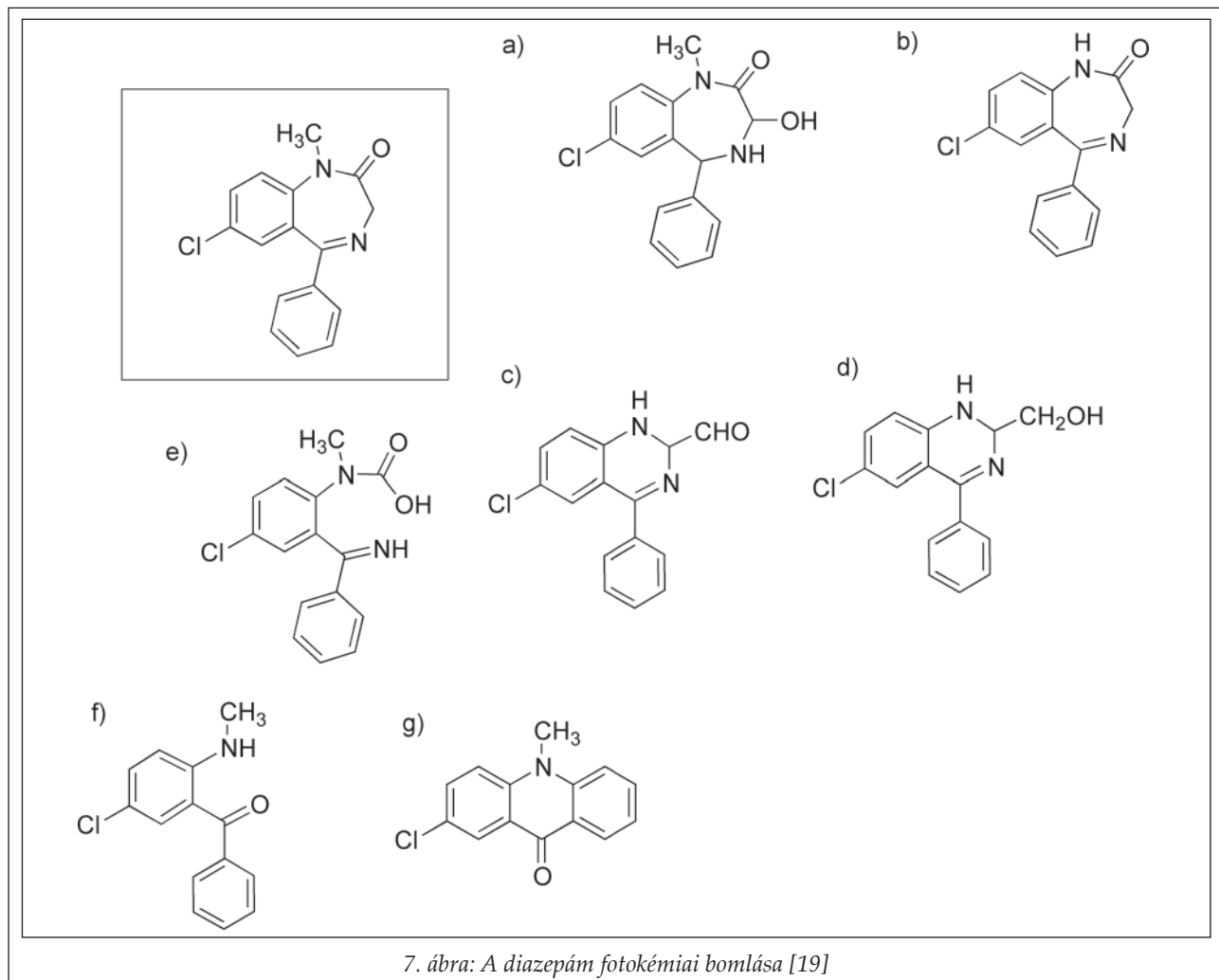
giájú [13, 14]. Ennek fordítottja is előfordul: a molekuláris oxigén egy triplett állapotban létező kettős gyök, amely intermolekuláris energiaátvitel révén szingulett állapotba kerülhet ($^1\text{O}_2$), amely szingulett oxigén igen reaktív, és fontos szerepe van a gyógyszerek fotoszenzibilizációjában is.

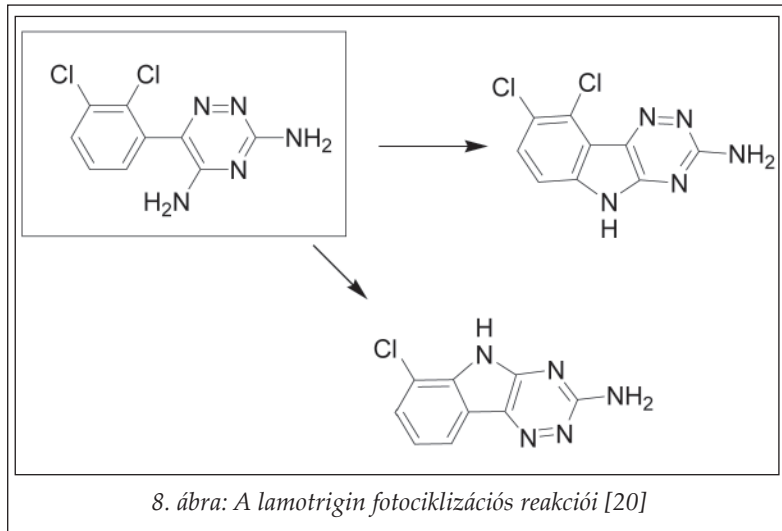
A gerjesztés egyrészt megnövekedett reaktivitáshoz vezet, másrészt a kettős kötések átmenetileg egyszeres kötésekkel alakulhatnak, így például a C=C kötések izomerizálódhatnak a cisz formából a transz formába.

Periciklusos reakciók, szigmatróp átrendeződések

A konjugált kettős kötések tartalmazó molekulák esetében az ún. periciklusos reakciók (6. ábra) igen jellemzőek (ezek nem csak fény hatására következhetnek be, de igen gyakran fénykatalizáltak) [13-15]. Az *elektrociklusos reakciók* során egy π -kötésből szigma kötés lesz (6/a), aminek a következménye egy gyűrűzáródás; valamint ide tartozik az is, amikor ennek a fordítottja történik (gyűrűfelnyílás, és új kettős kötés képződése).

A *fotokatalizált cikloaddíciókban* két π -kötésből lesz két szigma kötés, amelyek egy új gyűrűt hoznak létre (6/b). A *szigmatróp átrendeződések* során a kettős ill. egyszeres kötések száma nem változik, hanem a molekulában egy hidrogén, vagy egy szénatom vándorol, a szigma-váz átrendeződésével, ez utóbbi esetben gyűrűk is képződhetnek ill. rendeződhetnek át. A reakció csak akkor mehet végbe, ha az adott szubsztituens telítetlen szénatomhoz kötődik, mert kettős kötések átrendeződésével jár (a helyük megváltozik, a számuk nem). A reakciók-





ban közbeékelődött oxigén ill. nitrogén atomok is részt vehetnek, a nemkötő elektronpárjaik révén.

Fontosabb példák a gyógyszerek fotokémiai bomlására

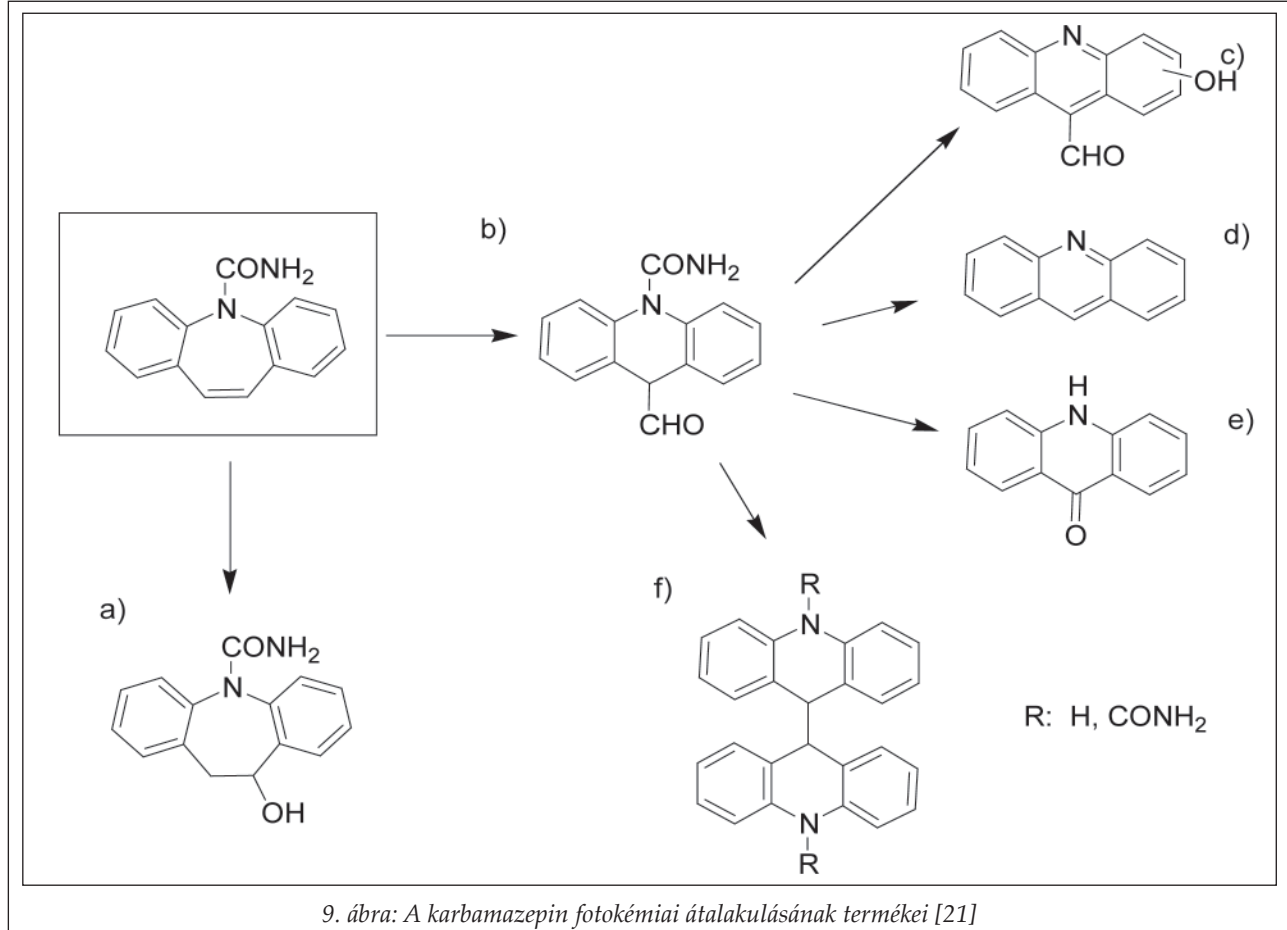
Központi idegrendszerre ható gyógyszerek

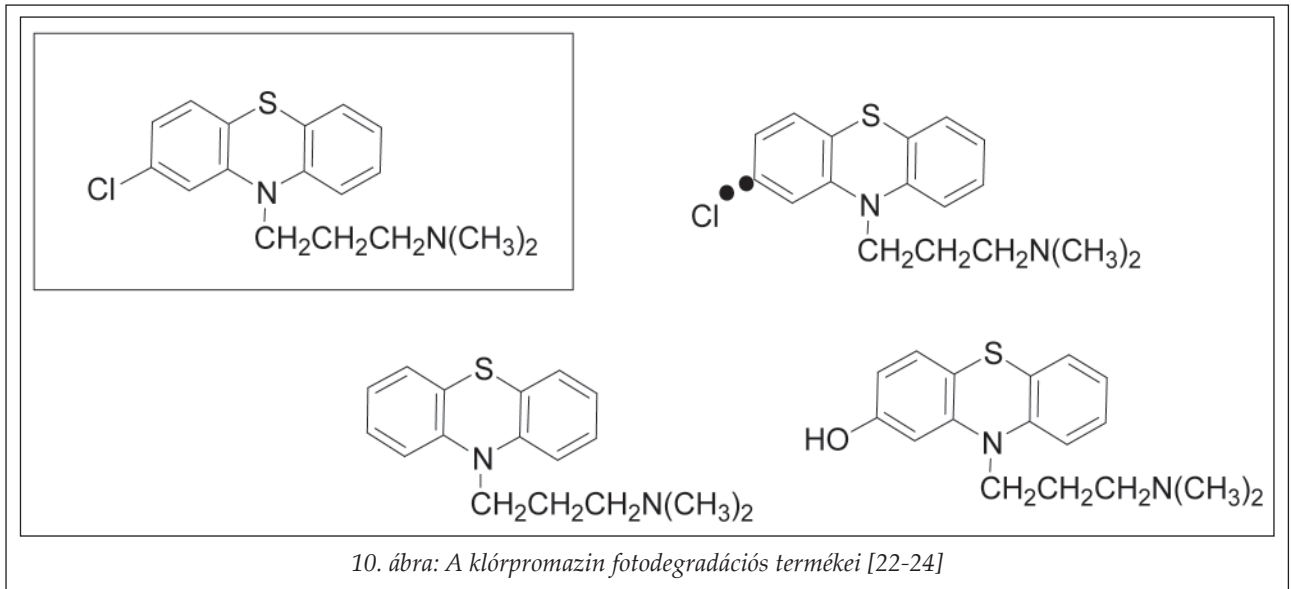
A központi idegrendszerre ható szerek körében

gyakoriak a heterociklusos gyűrűket tartalmazó policiklusos kondenzált gyűrűrendszerek, valamint az aromás halogén (főként klór) szubsztituensek, így sok esetben fordul elő fotokémiai reaktivitás.

Az anxiolitikus hatású 1,4-benzodiazepinek fotokémiai reaktivitásának jellegzetes példája a diazepam bomlása (7. ábra) [15, 19]. Az (a) és (b) termékekben az 1,4-benzodiazepin gyűrűrendszer megmarad, az a) esetben fotoaddíció (vízaddíció) történik, a b) esetben pedig az N-CH₃ kötés fotolízise. A (c) és a (d) termékek esetében a benzodiazepin váz fotoizomerizáció révén dihidro-kinazolin (dihidro-benzopirimidin) szerkezetté alakul, az eredetileg gyűrűben lévő savamidot alkotó szénatomból pedig formil csoport ill. alkoholos hidroxil csoport lesz. Az (e) és az (f) termékek a diazepin gyűrű felhasadásával keletkeznek.

A főként antiepileptikumként alkalmazott lamotrigin igen súlyos fototoxikus tüneteket okozhat [20]. E molekula esetében fotolitikus klórvesz-





tés révén keletkezhetnek szabad gyökök, valamint fenolok, amelyekről azt feltételezzük, hogy elsősorban ezek felelősek a fototoxicitásért. Ezen kívül jellegzetes fotociklizációs reakciók játszódnak le (8. ábra).

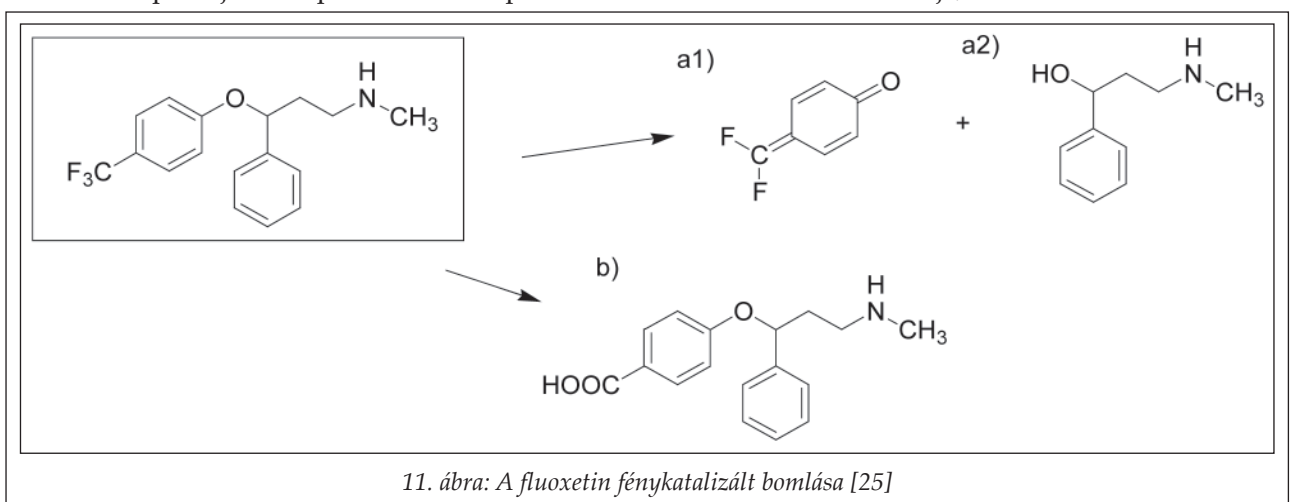
A szintén elsősorban antiepileptikus alkalmazású karbamazepin (9. ábra) esetében is több esetben leírtak súlyos fototoxikus reakciókat. A dibenzo-azepin gyűrű a vízáddícióval keletkező (a) termék esetében megmarad, azonban leginkább jellemző a bomlás első lépéseként a karbamazepin-9-karboxaldehyddé (b) történő átalakulás [21]. Ebből aromatiszáció, N-C kötések, C-C kötések hasadása, ill. dimerizáció révén keletkeznek a (c-f) bomlástermékek. Ez a séma a direkt fotolítikus bomlásra vonatkozik, Fe^{3+} ionok katalitikus mennyiségének jelenlétében további bomlástermékek is keletkeznek [21].

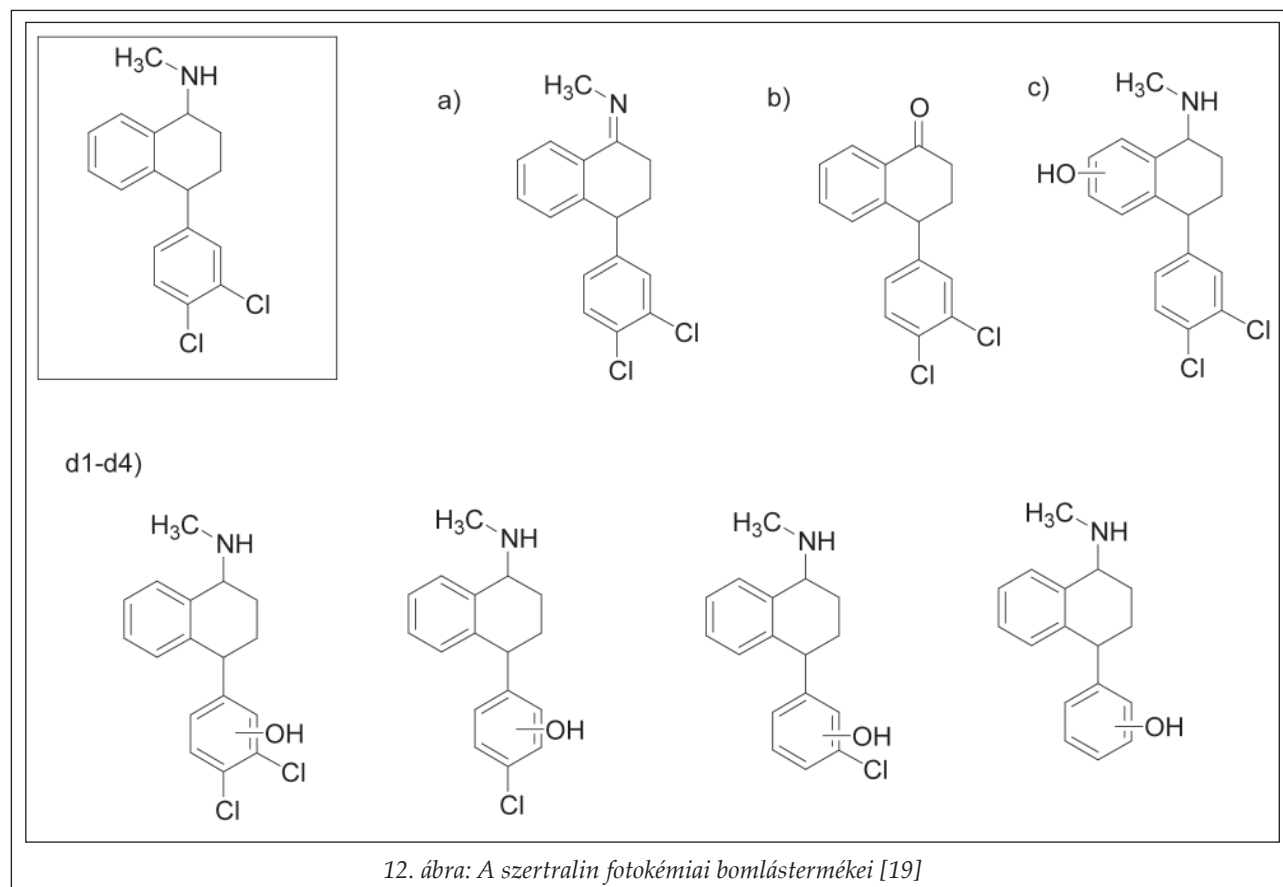
A gyógyszer-fototoxicitásnak talán a legismertebb iskolapéldája a típusos neuroleptikumok

közé tartozó klórpromazin bomlása (10. ábra) [15, 22-24]. Az egyébként is igen oxidálható, kéntartalmú fenotiazin gyűrűhöz kapcsolódó klóratom nagyon könnyen távozik homolítikus kötésfelhasználással. A keletkező fenotiazin gyök ill. klór gyök rendkívül reaktív, kovalens kötést létesíthetnek mind a fehérjékkel, mind a DNS nukleotidok bázisaival.

Az antidepresszáns fluoxetin esetében (11. ábra) a fenoléter kötés fény hatására felbomolhat, és a p-trifluorometilfenol tovább is oxidálódhat: így keletkezik az (a1) kinoidális termék, és az (a2) alkohol [25]. Jellegzetes módosulás még a trifluorometil csoport átalakulása karboxil csoporttá (b).

A szintén antidepresszánsként használatos szertralin esetében [19] a tetrahidronaftalin gyűrűrendszer általában egyben marad (12. ábra). Jellegzetes az aminocsoport és az aminocsoportot hordozó szénatom oxidációja, átalakulása Schiff-bázissá





(a), vagy a nitrogén lehasadásával ketonná (a). A tetrahidronaftalin gyűrű aromás része hidroxileződhet (c), és igen sokféle termék keletkezhet a diklór-fenil szubsztituens hidroxilációjával és részleges dehalogéneződésével (d1-d4).

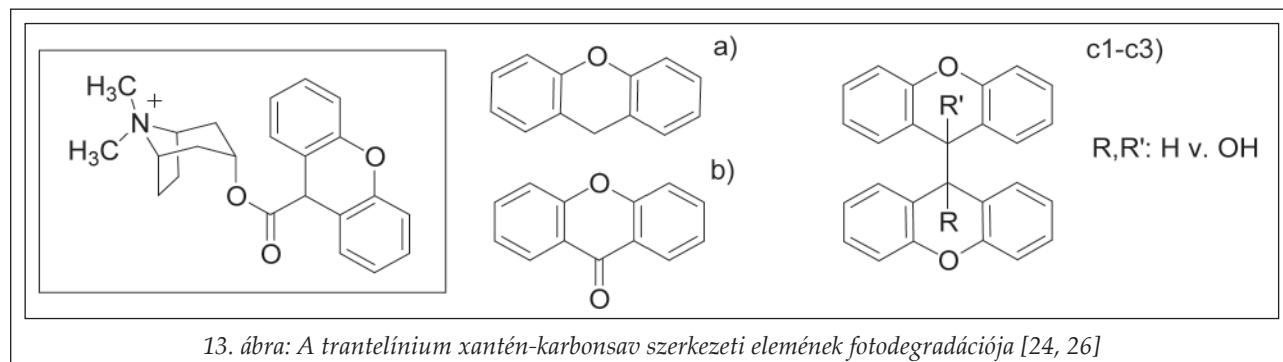
A perifériás idegekre és izmokra ható gyógyszerek

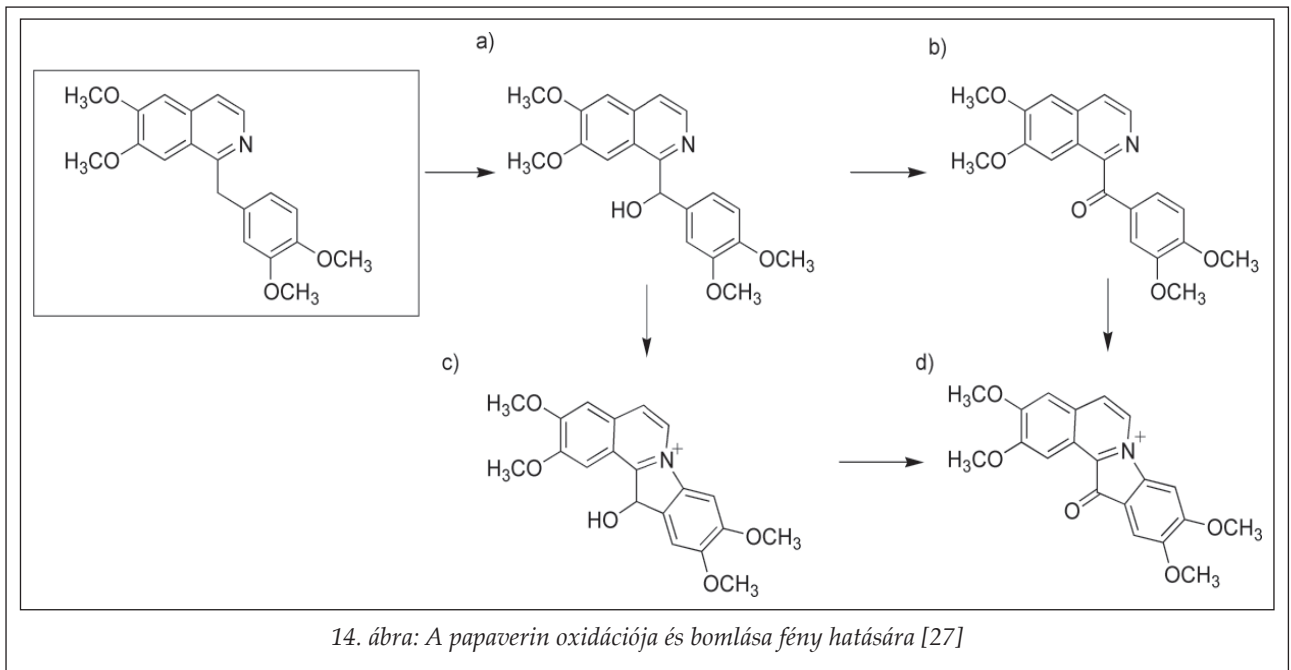
A paraszimpatolitikus hatású, elsősorban gyomorbélrendszeri panaszokban alkalmazott trantelínium egy xantén-karbonsav észter származék (13. ábra). A xanténgyűrű fotokémiaailag érzékeny, dekarboxileződhet, az így keletkező metilénsoport (a) pedig ketocsoporttá oxidálódhat (b). Az a és b termékek dimerizálódhatnak (c1-c3) [24, 26].

A papaverin molekulája (14. ábra) közismerten oxidábilis, a levegő oxigénjének hatására papaverinollá (a) ill. papaveraldinné (b) oxidálódhat, amely utóbbi toxikus. Ezt a bomlást a fény elősegíti, valamint a papaverinol ill. a papaveraldin gyűrűkondenzációval tovább is alakulhat (c és d) [27].

A kardiovaszkuláris rendszerre ható szerek

A keringésre ható szerek körében jól ismert az antianginás és antihipertenzív hatású 1,4-dihidropiridin származékok nitro szubsztituenst tartalmazó képviselőinek fényérzékenysége [15, 28]. Logan és Patrick vizsgálták a nitrocsoport helyzeté-





nek hatását a fotoreaktivitásra, és arra a következtetésre jutottak, hogy a 2-nitro szubsztituált nifedipin (**15. ábra**) fotokémiaiag a 3-nitro szubsztituált nitrendipinhez képest jelentősen reaktívabb [29].

A koleszterinszint csökkentőként használatos klofibrát aktív metabolitja, a klofibrinsav is fotoreaktív molekula, TiO_2 szuszpenzió fotokémiai katalizátor jelenlétében [30], a klór szubsztituens lecserélődése hidroxil csoportra (a) egy jellegzetes reakciója (**16. ábra**). A másik fő folyamat a fenoléter kötés felhasadása, amely további lépések révén változatos szerkezetű fenolokat (b1-b3) és izovajsavat, ill. hidroxiszármazékait (c1-c3) eredményezi.

Diuretikumok

A diuretikumok közül a furoszemid és a hidroklorotiazid a legelterjedtebben alkalmazott szerek közé tartoznak. Mindkét molekula hajla-

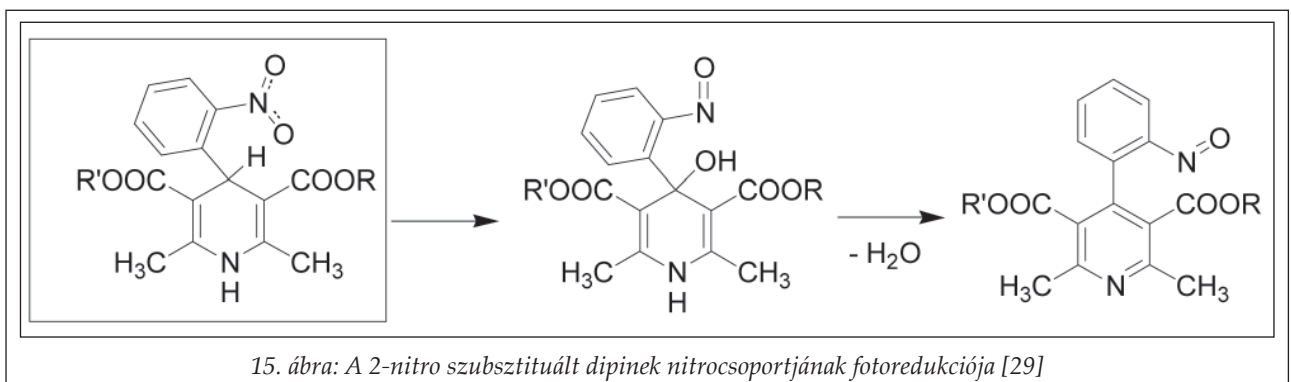
mos fotokémiai bomlásra. A furoszemid fotokémiai oxidációja [31,32] (**17. ábra**) során az (a) gyök szerkezet keletkezik, amely (b1-b3) termékekké alakul tovább.

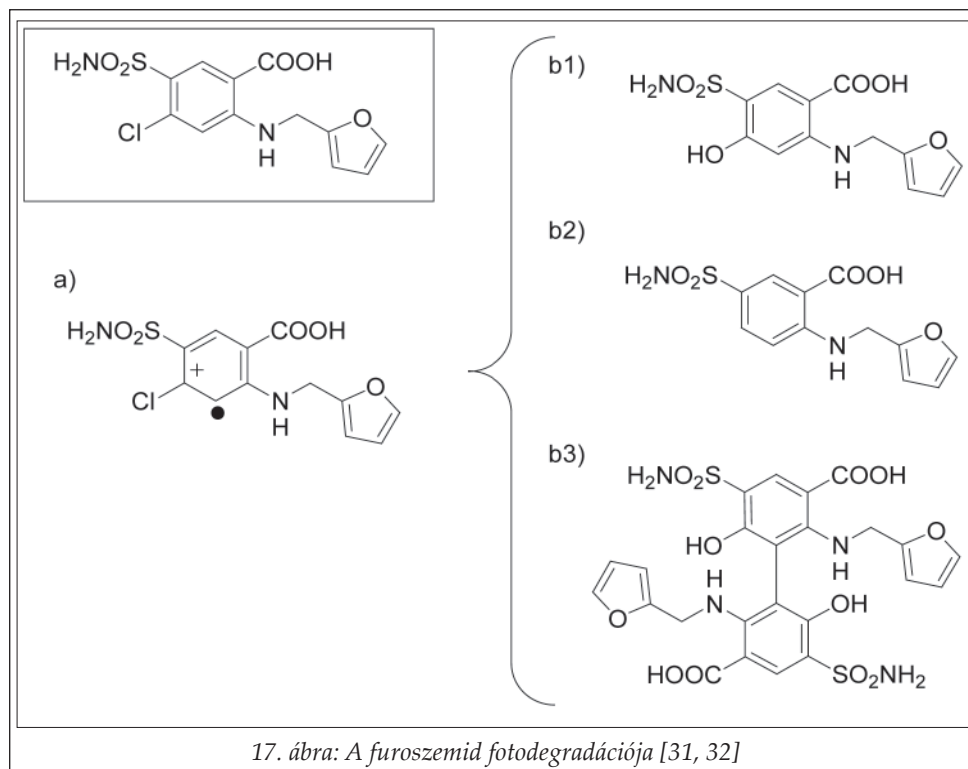
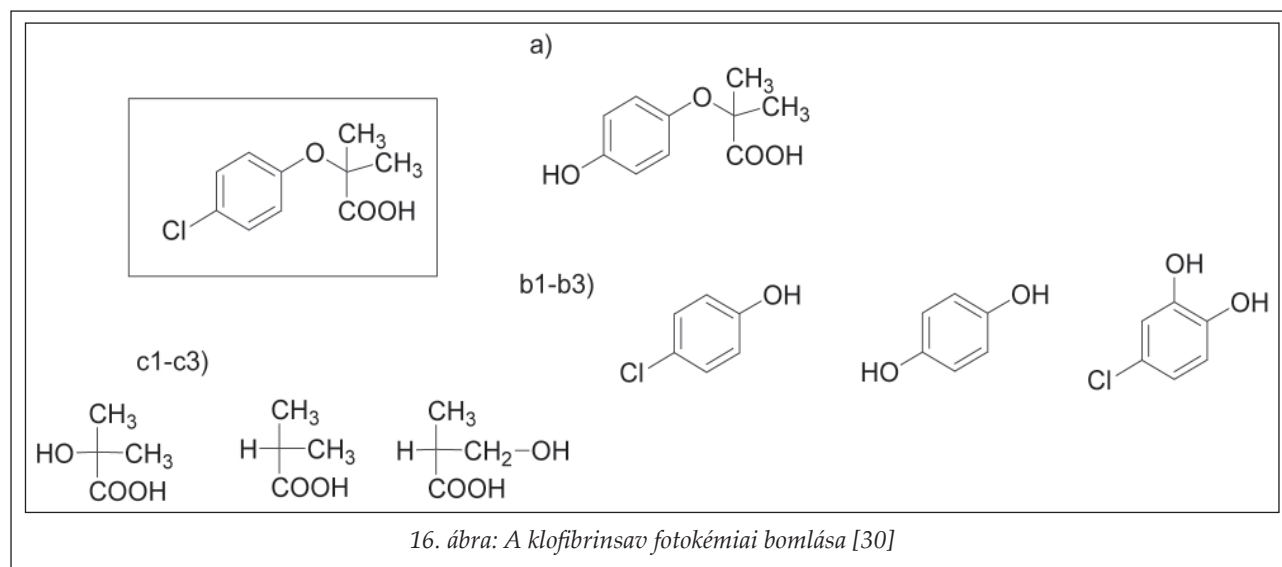
A hidroklorotiazid bomlását a **18. ábra** szemlélteti [33]. Itt is a klór szubsztituens lecserélődése az egyik fő folyamat, ezen túlmenően a dihidrotiadiazin gyűrű felbomolhat vagy tiadiazin gyűrűvé oxidálódhat.

Nem-szteroid gyulladásgátlók és minor analgetikumok

A nem-szteroid gyulladásgátlók, és a – napjainkban sokszor már tőlük külön nem választott – minor analgetikumok, gyakori használatuk, és aromás szerkezetük révén, a pszichofarmakonokhoz hasonlóan, fotoszenzibilizáció szempontjából kiemelten kezelendő hatóanyagok.

A ketoprofén az egyik legelterjedtebb arilpropionsav típusú nem-szteroid gyulladásgátló (**19.**





ábra). Jellegzetes bomlásterméke a fotokémiai dekarboxileződéssel keletkező (a) kettős gyök, amely tovább alakul a (b) vegyületté, vagy oxigénaddícióval a (c) peroxo-gyökké [34]. Az (a) és (c) bomlástermékek gyökös karakterük révén toxikusak.

A szintén aril-propionsav származék naproxén (20. ábra) hasonlóan dekarboxileződik, és a propionsav rész ketonná (a), alkohollá (b) vagy alkilcsoporttá (c) alakul [15, 35, 36].

A diklofenák esetében (21. ábra) a legfontosabb átalakulás a dehalogénezéssel egybekötött fotociklizáció (a) [15, 25, 30, 36], amelyet követhet a má-

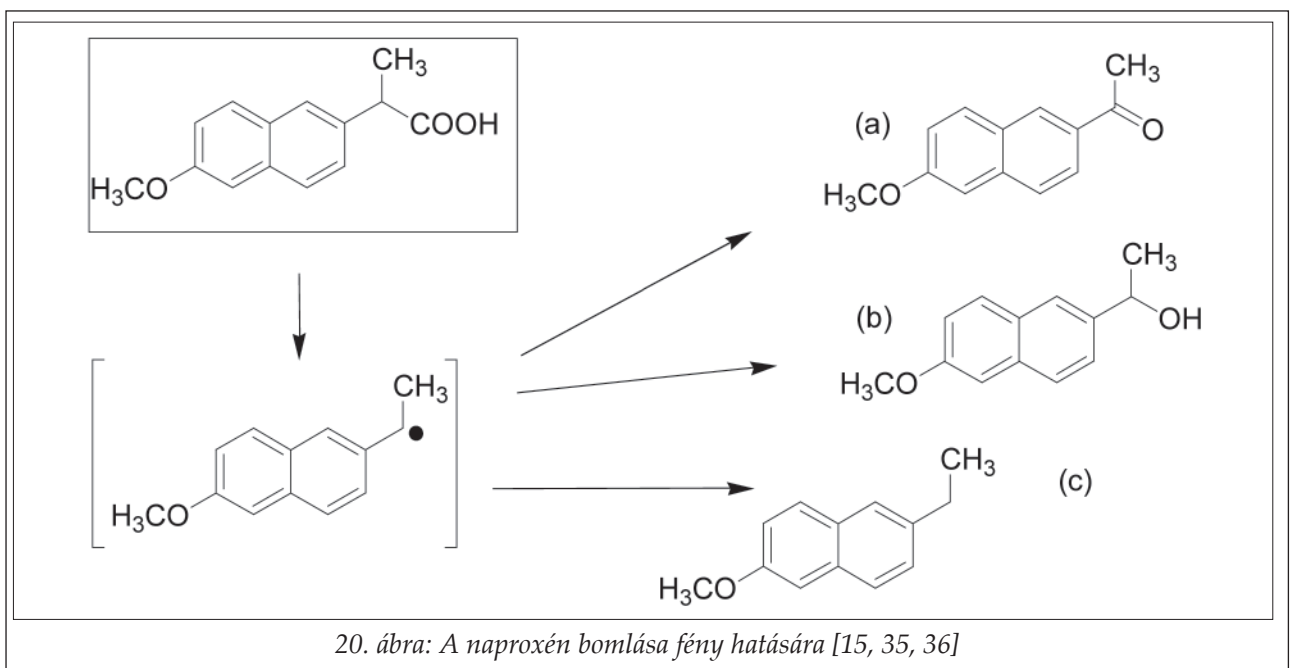
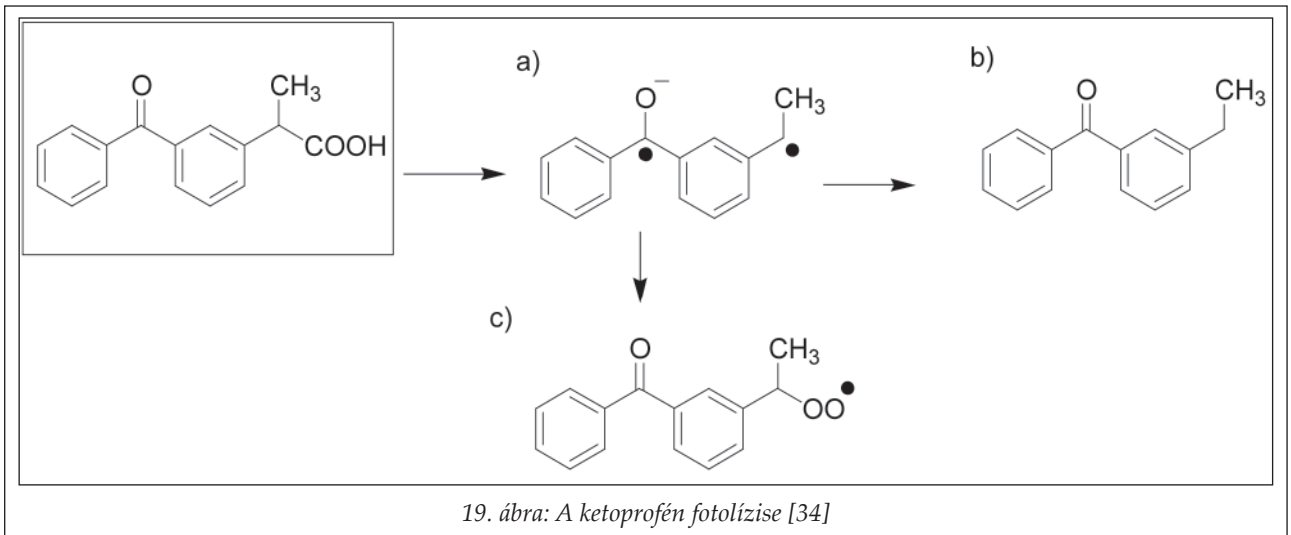
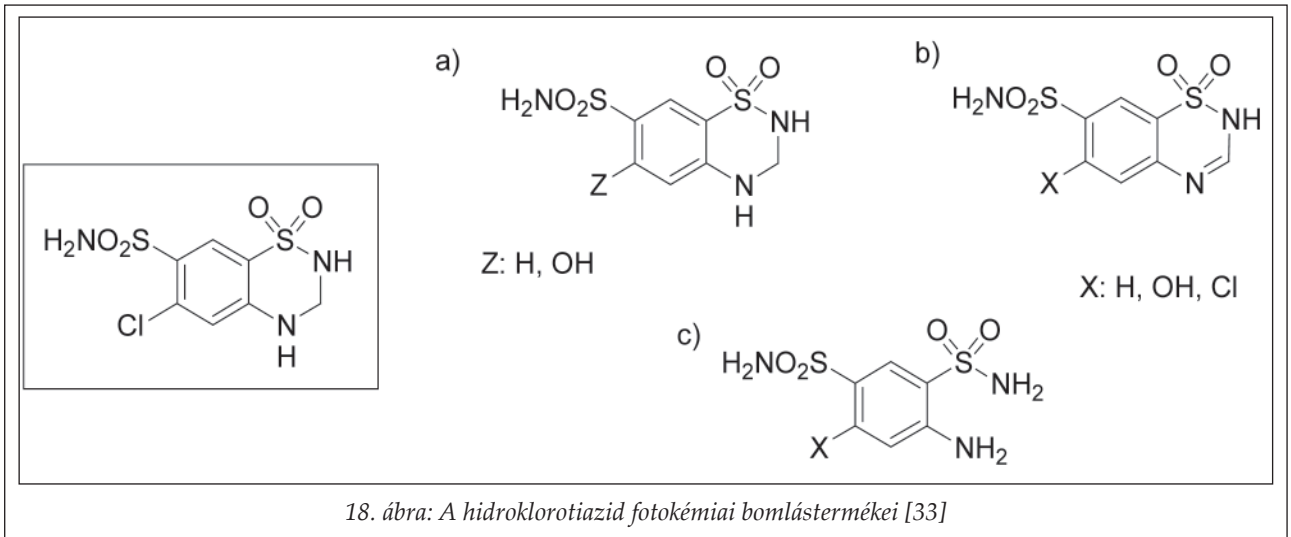
sodik dehalogéneződés is, amely révén a még megmaradt klór szubsztituens hidrogénre (a) vagy hidroxil csoportra (c) cserélődik. Másik jellegzetes reakciója a fotodekarboxiláció (d).

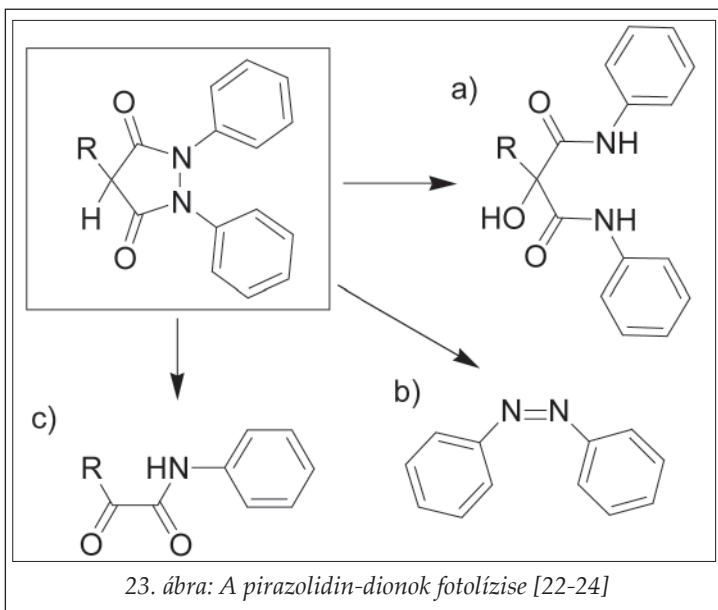
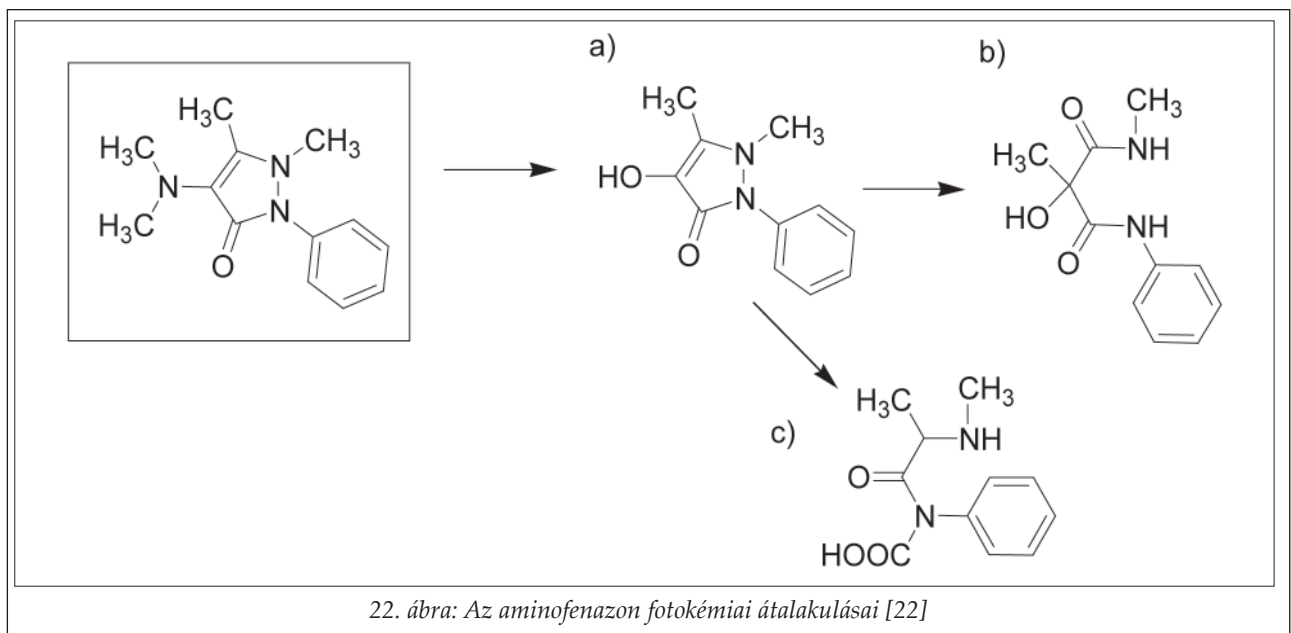
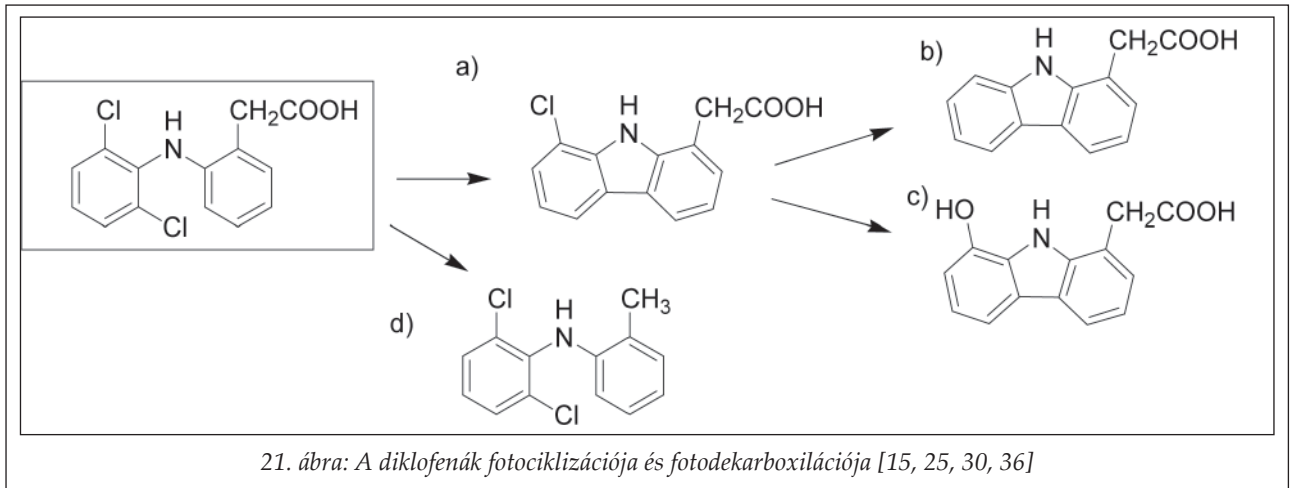
A pirazonon (22. ábra) és pirazolidin-dion (23. ábra) szerkezeti elemet tartalmazó vegyületek ciklusos hidrazidok, amelyek N-N kötést tartalmaznak. A kötés homolitikus felbontásához kis energia szükséges (ld. II. táblázat), így az ide tartozó vegyületek esetében jellegzetes bomlás a gyűrű felnyílása a nitrogénatomokat összekapcsoló kö-

tés mentén [22-24]. Ezen kívül a C-N kötések is felhasadhatnak, ami az aminofenazon esetében a dimetilamino csoport lecserélődését eredményezi hidroxil csoportra (a), a pirazolidin-dionok esetében pedig, további átalakulásokat is magában foglalva, a (b) és (c) termékek keletkezését.

Vitaminok

A vitaminok körében is előfordulnak fotokémiai reakciók [22, 23]. Erre példa a retinoidok cisztransz izomerizációja (24. ábra) és a dehidro-

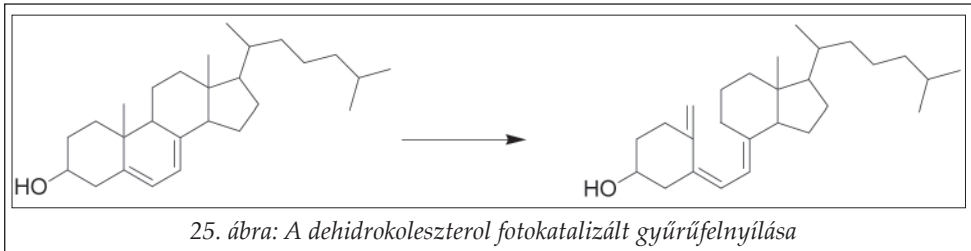
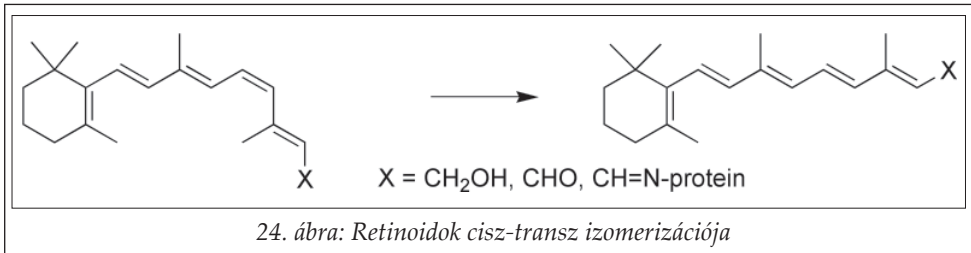




koleszterol gyűrűfelynyílása (25. ábra) mely utóbbi egy periciklusos reakció. Ezek fontos fotokémiai folyamatok, amelyek e vitaminok biológiai funkciójához szükségesek, egyben jól példázzák, hogy léteznek a szerkezet számára hasznos és szükséges fotokémiai átalakulások is.

Antimikrobiális szerek

A kórokozókra ható szerek körében jól ismert, és igen problematikus a fluorkinolonok fototoxicitása. Ezen szerek alkalmazása adott esetben életmentő lehet, mert több polirezisztens baktérium van, amelyekre csak ezek hatnak. A fotoreaktivitás szerkezeti elemei így alapvető fontosságúak [15, 30, 36, 37]. Hayashi, Nakata és mtsaik.

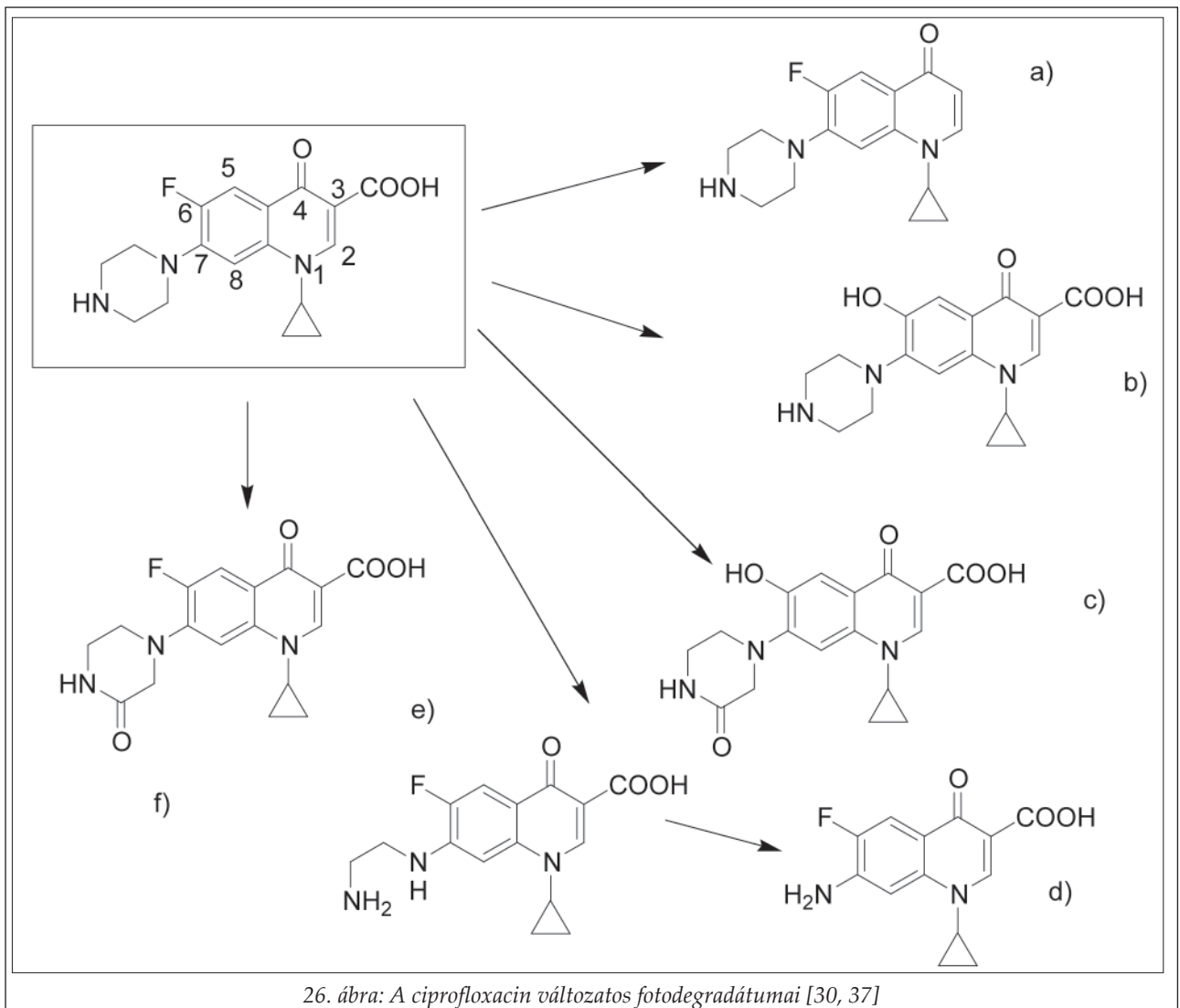


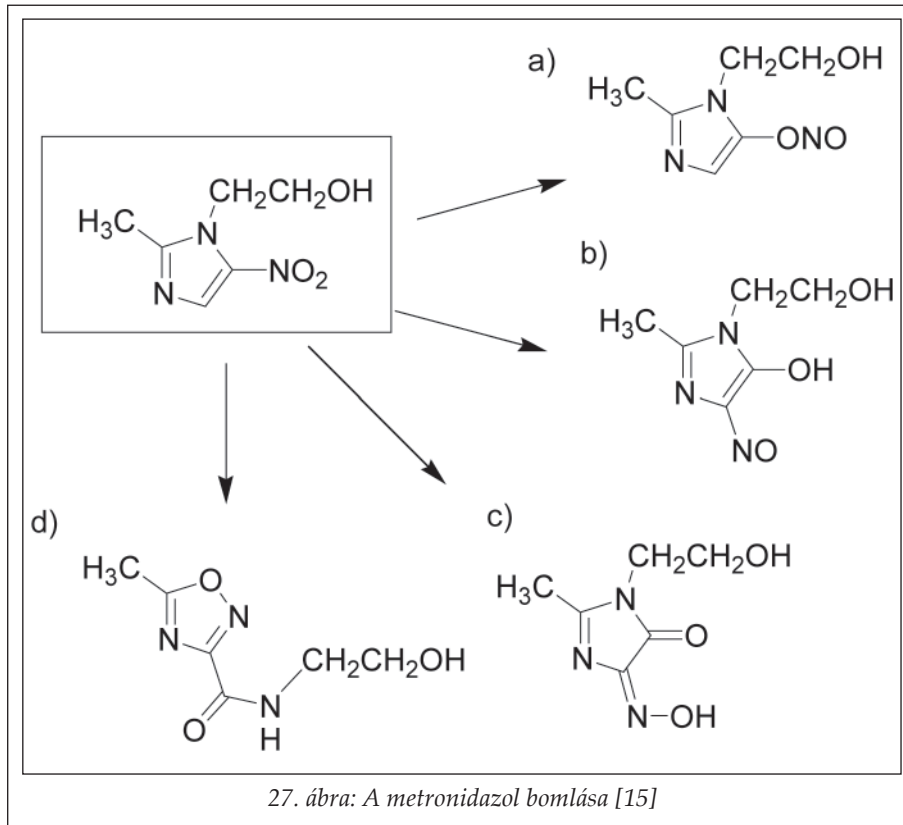
floxacin, kinafloxacín), valamint – függetlenül a C8 szubsztituensztől – az N1 nitrogénen etil vagy ciklopropil csoportot tartalmazó fluorokinolonok (pl. norfloxacin, ciprofloxacín) kiemelten fototoxikusak.

A ciprofloxacín példáján (26. ábra) jól látható [30,37], mennyire változatos lehet az ilyen típusú vegyületek fotodegradációja. Lehetsé-

vizsgálatai [38] alapján ebben döntő szerepe van az N1 és C8 szubsztituenseknek. Azok a fluorokinolonok amelyek a C8 szubsztituensként halogénatomot tartalmaznak (pl. lomefloxacín, spar-

ges fotodekarboxiláció (a), a C6 fluor kicserélődése fenolos hidroxil csoportra (b), (c), a piperidin gyűrű nitrogénje melletti alfa szénatom oxidációja (c) és (f), valamint a C-N kötések felhasadása (d) és (e).



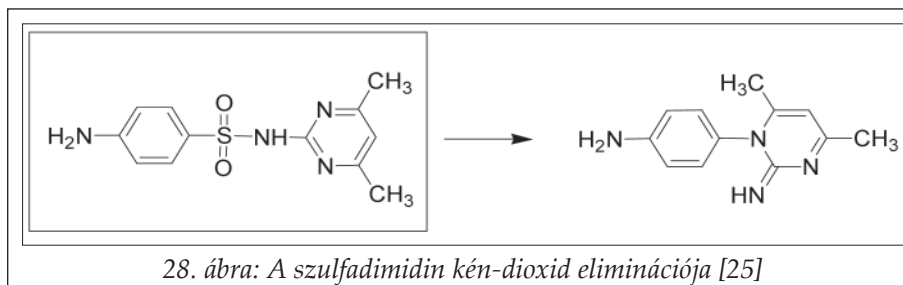


kulások még a nitrozó csoportot és fenol csoportot tartalmazó termék fototauto-mériája (c), ill. a gyűrű felnyílása, és az ezt követő átrendeződés következtében egy oxadiazol gyűrű képződése (d).

A szulfadimidin esetében fotokatalizált kén-dioxid elimináció történik, és a p-aminofenil csoport vándorlása (28. ábra) [25].

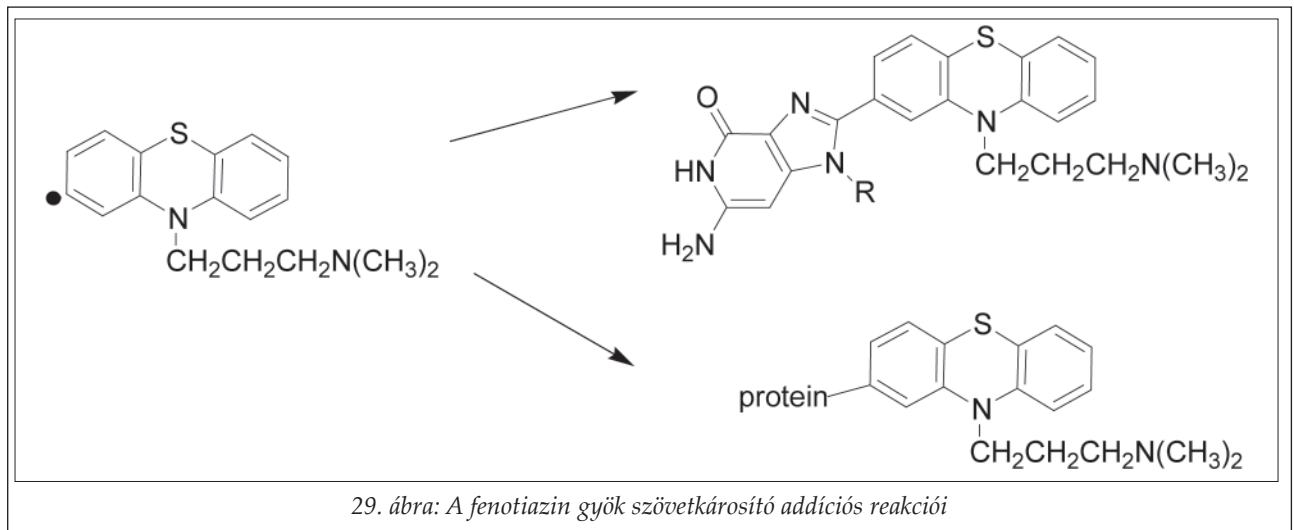
A gyógyszerek fotokémiai bomlástermékeinek *in vivo* reaktivitása

A fény indukálta gyógyszer-toxicitásnak az általános mechanizmusa, hogy a toxikus molekulák (M) kémiai reakcióba lépnek a biomolekulákkal (M'), kovalens kötésekkel létesítenek velük, és/vagy gyökké alakítják őket. A szövetkárosodásnak egyrészt vannak direkt következményei az adott szervek (elsősorban a bőr) károsodása révén, másrészt indirekt hatásai, pl. fotoallergia. A toxicitáshoz vezető alapfolyamatok leg-



A metronidazol fotodegradációjának (27. ábra) [15] fő elemét képezik a nitro csoportnak a bevezetőben tárgyalt bomlástípusai (a, b). További átala-

gyakrabban a *fotoionizációs*, *fotodisszociációs* vagy *fotoaddíciós* folyamatok, de jelentős szerep jut az *intermolekuláris energiaátvitelnek* is.

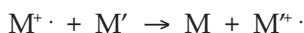


A) A fotoionizáció és fotodisszociáció esetében szabad gyökök keletkeznek, amelyek többféle mechanizmussal eredményezhetnek szöveti károsodást [1, 5, 11, 39, 40].

A/1) Direkt gyökös addícióval, mint például a klórpromazinból a C-Cl kötés fotodisszociációjával keletkező fenotiazin gyök esetében, amely reakcióba léphet mind fehérjékkel, mind nukleotid bázisokkal (29. ábra) [23, 24]. Itt nem az addíciós lépés fénykatalizált, csak a reaktív gyök képződése.

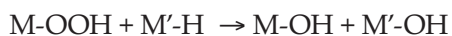
A szabad gyökök bizonyos esetekben a DNS láncok hasadását is okozhatják [5, 34].

A/2) Oxidálhatják a biomolekulákat, amely révén gyök jellegüket - és az ebből eredő kiemelt reaktivitásukat - átadják azoknak:



A/3) A szervezetben jelenlévő, többféle oxidációs állapotot felvenni képes fémionokkal is reagálhatnak, ezek elsősorban a vas- és rézionok, amelyek katalizálják a gyökös reakciókat, egyben a gyökök bomlását is elősegítik, és a nem katalizált reakciókkal szemben más bomlástermék-profilist is eredményezhet a jelenlétük (ld. a karbamazepin példáját [21]).

A/4) Szintén fontos tényező a szabad gyökök oxigénaddíciójával keletkező peroxi gyököket ill. peroxid funkciós csoportokat tartalmazó vegyületek oxidatív szövetkárosító hatása.



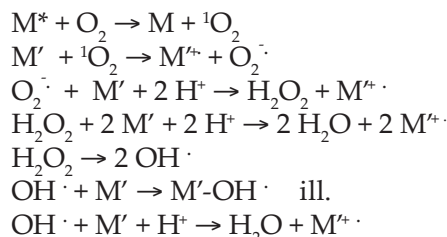
A monofenolok tipikus reakciója (1. ábra), valamint a ketoprofén esete (19. ábra) jól példázza ezt [15, 34].

A nem szabad gyök szerkezetű fotoaddícióra hajlamos vegyületek a DNS nukleotidok bázisaival reagálhatnak. Erre jó példa a furanokumarinok citotoxicitása (30. ábra), amelyet terápiás céllal is használnak a bőrgyógyászatban (psoriasisis terápia), de a közelmúltban az érdeklődés fókuszába került kaukázusi medvetalp (*Heracleum mantegazzianum*) vonatkozásában is fontos probléma [40, 41].

B) Az energiaátvitel szerepe szintén fontos, mert növeli az érintett biomolekulák reaktivitását [1, 5, 11, 39, 40].

B/1) Ez előfordul egyrészt közvetlen úton, amikor a biomolekula reaktivitását növeli meg az energiaátvitel útján a xenobiotikum.

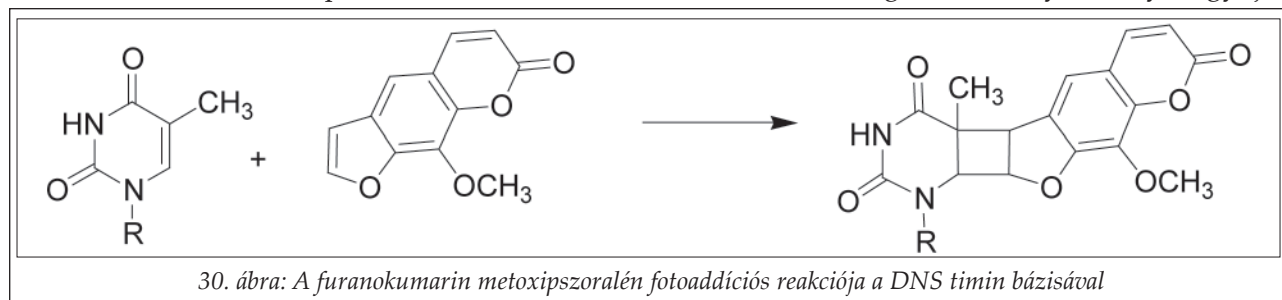
B/2) Másik típusa az energiaátvitelnek a levegő oxigénjének triplett állapotból szingulett formába történő aktiválása, mivel a szingulett oxigén igen reaktív, az őt aktiváló molekulával, vagy a biomolekulákkal reakcióba léphet, aminek következtében szuperoxid és hidrogén-peroxid képződik, amelyek szintén erős oxidálószerke, és további reakciókban vesznek részt:



A keletkező szuperoxid anion, hidrogén-peroxid és a hidroxil gyök kis méretük miatt jó szöveti penetrációval rendelkeznek, így kiterjedtebb szövetkárosításra képesek.

A gyógyszerek fotokémiai stabilitásának és fotoszenzibilizáló tulajdonságuknak *in vitro* vizsgálómódszerei

A hatóanyagok és gyógyszerkészítmények fotokémiai stabilitása kiemelten fontos kérdés, amint a felvázolt problémák is mutatják. Minden gyógyszerrel kapcsolatos stabilitási probléma vonatkozásában érvényes, hogy a szakmai hatóság szintjén, lehetőség szerint nemzetközi érvényességű előírások, irányelvek révén definiálni kell a minőségi követelményeket és a vizsgálati módszereket egyaránt. Míg a minőségi követelmények értelemszerűen mind általános, mind anyagspecifikus előírásokat tartalmaznak, addig a módszereknek lehetőleg a hatóanyagok és készítmények körében teljes mértékben általánosan használhatóaknak kell lenniük. A legfontosabb ilyen irányelv-gyűjte-



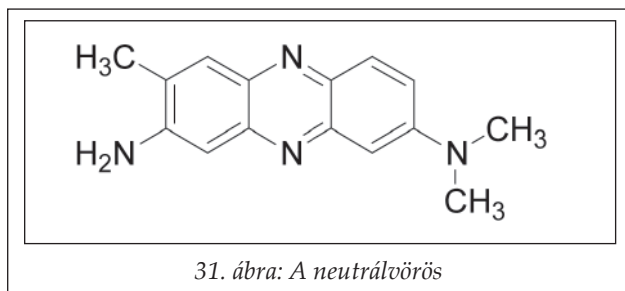
mény az S10 ICH Guideline, „*Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals*” [42], amely érvényes az EU országokban – így Magyarországon is –, az USA-ban és Japánban, ezen alapul az FDA „*S10 Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals, Guidance for Industry*” irányelv-gyűjteménye is [43]. Természetesen az elméleti tudományos kutatási célú vizsgálatokban a szakmai hatóságok előírásaitól eltérő módszereket is felhasználnak. Külön kell választani fogalmilag az *in vitro* vizsgálatok körében a *fotostabilitási* és *fotoszenzitivitási* (elsősorban fototoxicitásra) vizsgálatokat (*in vivo* értelemszerűen ez már nem tehető meg). A *fotostabilitási* vizsgálatok olyan vizsgálatok, amelyeket elméleti tudományos kutatások vagy gyógyszerfejlesztési kutatások során, a gyógyszermolekulák fény hatására történő bomlásának vizsgálatára alkalmaznak. Ez magában foglalja mind a bomlástermékek előállításának standardizált módjait, mind a kimutatásukra, szerkeztigazolásokra és kvantifikációjukra használt analitikai vizsgálómódszereket. Nyilvánvalóan, amennyiben az adott vegyület fotokémiai nem stabil, potenciálisan fototoxikusnak tekinthető, amely azonban fototoxicitási vizsgálatokkal alátámasztandó. Az *in vitro* fototoxicitási vizsgálatok a gyógyszermolekula és a fény együttes alkalmazásának hatását vizsgálják nem teljes szervezet szintű biológiai rendszereken. Minden fotostabilitási és fototoxicitási vizsgálatnak döntő fontosságú eleme a megfelelő fényforrás kiválasztása [15]. Ennek olyan fényforrásnak kell lennie, amely jól definiált hullámhossz-tartományban, stabil teljesítménnyel (fényintenzitással) képes folyamatos fénykibocsátásra (a lézereket alkalmazó módszereket itt nem tárgyaljuk, mert a lézérfény tulajdonságai jelentősen eltérnek attól a fényhatástól, ami a mindennapok során a gyógyszermolekulát, ill. a pácienseket éri). Ennek tükrében a természetes napfény általában nem alkalmazható, helyette olyan mesterséges fényforrás ill. fényforrások kombinációja szükséges, amely azzal megegyező hullámhossz-tartományban, de nem időben változó jelleggel képes fénykibocsátásra. A fény sugárzás fototoxicitás szempontjából releváns tartományát a következőképpen osztják fel [5, 13, 15, 42]:

– *látható (VIS)*: 400-800 nm (< 3,1 eV), kis energiája miatt biológiailag közvetlenül többnyire ártalmatlan (kivéve extrém intenzitások esetén a retinára), de pl. a C-Br, C-I, O-O, N-N kötések homolitikus disszociációs energiája (ld. 2.táblázat) ebbe a tartományba esik, így fotokémiai szempontból korántsem tekinthető indifferens-

nek. Az ebben a tartományban abszorbeáló molekulák esetében nagy a kockázata a retinára kifejtett toxikus hatásnak, és az ebből eredő esetleges látáskárosodásnak [15, 42].

- *UV-A*: 320-400 nm (3,1 - 3,88 eV), reaktív gyökök képződését indukálhatja, a bőrbeli áthatolóképesége nagy, így a kapillárisokban lévő vérben található molekulákkal is reakcióba léphet [42].
- *UV-B*: 280-320 nm (3,88 - 4,43 eV), közvetlenül képes gerjeszteni a DNS bázisokat, és más aromás rendszereket, ami fotoaddíciós reakciókat (pl. DNS bázisok dimerizációja) eredményezhet. Áthatolóképesége kisebb, mint az UV-A sugárzásé, így csak a bőr felsőbb rétegeiben, vagy a bőr felületén lévő gyógyszermolekulák találkoznak vele *in vivo* [42].
- *UV-C*: 280-200 nm (4,43 - 6,2 eV), a napfény esetében ezt a légkör elnyeli, de mesterséges fényforrásokban (pl. germicid lámpák) előfordul, és szintén közvetlenül károsíthatja a DNS-t.

Az ICH irányelvek szerint azoknak a molekuláknak az esetében várhatunk fotoreaktív viselkedést, amelyek moláris abszorpciós koefficiense metanolos oldatban nagyobb, mint 1000 (l/mól·cm), bármely hullámhossznál, amely a 290-700 nm tartományba esik. A megfelelő fényforrások kiválasztásánál ezt kell figyelembe venni. Fontos vizsgálati körülmény továbbá, hogy az UV fény egy részét kiszűrő ablaküveggel (lakásbeli fényviszonyok) vagy nélküle (szabadtéri fényviszonyok) történik-e a megvilágítás [15]. A *xenonlámpák* fénye az UV-A és VIS tartományokban használható folytonos spektrumú besugárzásra, a napéhoz leginkább hasonló fényt ezek bocsátják ki. A *higanygőz lámpák* intenzív UV emittálók, de az emisszió sávos, nem folytonosan fedi le a különböző hullámhosszakokat [15,44-46]. A kisnyomású Hg-gőz lámpák fő sávja 254 nm-nél van (UV-C), a közepes és nagy nyomású Hg-gőz lámpáknál a 254 nm-es sáv mellett van egy 313 nm-es (UV-B), és egy 366 nm-es sáv is (UV-A), valamint négy másik sáv a látható tartományban [15,44-46]. Intenzív fényük miatt tájékozódó vizsgálatok esetében használják őket, amikor gyors fotodegradációra van szükség [24]. A mesterséges napfényként használható *fémhalogenid* lámpák [15] olyan nagy nyomású higanygőz-lámpák, amelyek az adalékanyagként bennük lévő fém-halogenidek keverékének minőségétől függő hullámhossz-tartományban bocsátanak ki fényt. Megfelelő ionok keverékével széles spektrumtartomány fedhető le, és így mesterséges napfénynek tekinthetők ezek a fényforrások. Kévsébé hasonlít a színeképük a természetes napfény-



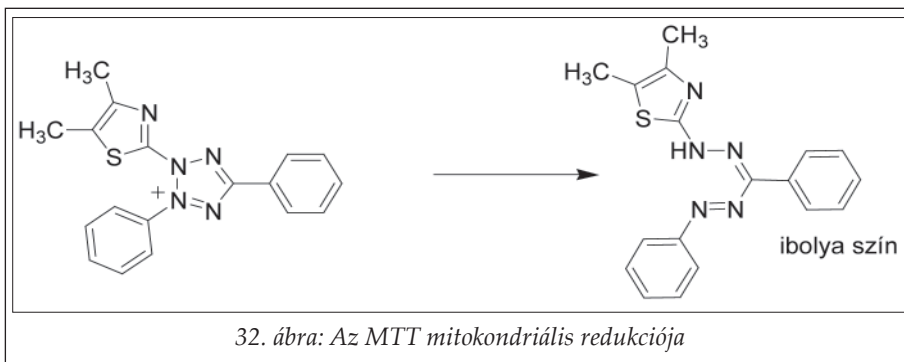
hez, mint a xenonlámpáé, de jóval olcsóbbak (viszont rövidebb az élettartamuk) [15]. A fluoreszcens lámpák kis nyomású higanygőz lámpák, melyek esetében a higanygőz UV fénye a lámpa falán lévő lumineszcens bevonatot gerjeszti, amely látható fényt bocsát ki. Ezek a kis fényintenzitás és rossz reprodukálhatóság miatt csak gyors, tájékozódó vizsgálatokra alkalmasak [15]. A deutérium lámpák színképe a 200-350 nm közti részen folytonos [47], így az UV-A és B tartományokra ideálisak lennének, viszont meglehetősen drágák. A fotostabilitási vizsgálatokat végezhetik oldatban vagy szilárd fázisban, levegőn, vagy inert atmoszférában. A vizsgálati körülményeknél oldatban a pH szerepe igen fontos. További lehetőség a különböző fémionok (elsősorban a többféle oxidációs állapotban létezők) hatásának a vizsgálata, valamint a fototermekek elemzése explicit módon hozzáadott hidrogén-peroxid ill. szingulett oxigén jelenlétében. A fotodegradációs termékek vizsgálatában elsődleges szerep jut a kromatográfiának, így a modern kromatográfiás kapcsolt technikáknak (LC/MS, GC/MS) is. Schröder és Surmann online UV-A besugárzással kombinált HPLC analízist alkalmaztak, a klórpromazin bomlásának vizsgálatára, a fotoreaktort a kromatográfiás injektorral kapcsolták össze [48]. Takács, Kertész, Végh és Reisch több anyagra is végeztek olyan fotokémiai vizsgálatot, amely során az oldatokat egy vékonyréteg-kromatográfiás lemez startpontjára vitték fel, és azt Hg-gőz lámpával sugározták be, majd a kifejlesztett kromatogram alapján detektálták az anyagok fény hatására bekövetkező bomlását.

Vizsgálták többek közt a nitrazepám, és a fluorokino-
lonok fotodegradációját [24]. A fototoxicitás *in vitro* vizsgálatára legelterjedtebben alkalmazott, és az ICH irányelvekben is szereplő teszt a 3T3 Neutral Red Phototoxicity (3T3 NRU PT) módszer [42, 49]. A neutrálvörös festékanyagot (31. ábra) az élő sej-

tek képesek felvenni, és felhalmozni intracellulárisan.

Ha citotoxikus anyagok vannak jelen, akkor a festék felvétele a sejtekbe csökken. Amennyiben az anyag citotoxikus hatása dózisfüggő, akkor a neutrálvörös felvétel is ennek arányában dózisfüggő módon csökken. A vizsgálat során UV-A sugárzással világítják meg a sejtenyészetet, olyan besugárzási dózisban, amely sugárzásként önmagában még nem okoz direkt módon sejtkárosodást, csak a fotoreaktív anyagok bomlásán, és toxikus termékeiken keresztül. A vizsgálandó anyaggal kezelt, és besugárzott mintát összehasonlítják a sötétben tárolt mintával. Üres kísérlet és pozitív kontroll is szükséges, ez utóbbira a klórpromazint használják, mint bizonyítottan, és rendkívül nagy mértékben fototoxikus anyagot. Sejtes célpontként a BALB/c T3T 31-es klón típusú egér fibroblaszt sejteket használják. A másik lehetőség mesterséges keratinocita tenyészet felhasználása. Ez az alapja az ún. EpiSkin[®] módszernek [50]. A keratinociták megfelelő tenyészetben a bőr epidermiszének különböző rétegeit képesek létrehozni. Az így kapott differenciált sejt kultúra jó modellje a valódi bőrnek. Az egyes anyagok fényhatásra bekövetkező citotoxicitását szintén a sejtek túlélése alapján vizsgálják, de nem a neutrálvörös felvételével, hanem az MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólium bromid) élő sejtek mitokondriális redukáz enzimei által katalizált reakciójának (ill. a reakció dózisfüggő gátlásának) vizsgálatával (32. ábra), valamint az interleukin-1-alfa felszabadulás mérésével, amely jellemző a sejtpusztulás mértékére [51].

A fototoxicitás potenciáljának *in vitro* vizsgálatára alkalmas további módszer a reaktív oxigéngyökök mérése [52, 53], amely első lépésben alkalmas lehet a fototoxikus kockázat felmérésére, viszont számos hátránnyal rendelkezik, mint a hosszú mérési idő vagy az adatok és az irányítás komplexitása, és sokszor produkál hamis pozitív eredményt [42]. Ezen kívül alkalmazzák a kapillá-



ris gélelektroforézis-alapú DNS-fotohasítási vizsgálatot is. [53]

A fotoszenzibilizáció *in vivo* vizsgálata és klinikai diagnosztizálása

A fototoxicitás tesztelésére az *in vitro* módszereknél leírt 3T3 NRU tesztet alkalmazzák, *in vivo* pedig egereket, tengerimalacokat, patkányokat vizsgálnak [42]. A *fotoallergia in vivo* vizsgálatára általában tengerimalacokat használnak, a fotokarcinogenitás tesztelésére alkalmas, a GLP előírásainak megfelelő tesztelés az SKH1 kopasz albínó egér modell [42, 54]. A klinikai vizsgálatokra az European Dermatology Forum (EURODERM) irányelveket dolgozott ki. (<http://www.euroderm.org/edf/index.php/edf-guidelines/category/3-guidelines-on-photodermatoses>). Ha egy beteg esetében a tünetek esetleg utalhatnak valamilyen fényérzékenységi reakcióra, akkor megtörténik az *anamnézis* felvétele [6]. Fontos kideríteni, hogy mikor kezdődtek a tünetek, mikor volt esetleg új gyógyszerre váltás, pontosan milyen gyógyszereket szed a beteg, stb. A különböző gyógyszerek fényérzékenyítő hatásának felderítésére az egyik módszer a *fototesztelés*, amelynél a minimális erythema dózist (MED) mérik mesterséges UV-A és UV-B fény használatával azalatt, amíg a beteg szedi a gyógyszert, majd akkor is, amikor nem szedi [6, 55, 56]. A fotodermatitis diagnosztizálására használt további módszer az úgynevezett *photopatch tesztelés* [6, 55, 56]. Ennek során a gyógyszert lokálisan alkalmazzák a beteg hátán, és miután felvitték a gyógyszert, letakarják a hátat 24 órára. Ezután a réteg egyik felét UV-A sugárzásnak teszik ki, amelynél alacsony, a MED alatti dózissal a fototoxikus reakciók nem jelentkeznek, míg a fotoallergia igen [6]. További 24 óra múlva ellenőrzik a hátat, és ha csak a fénynek kitett oldalon van változás, akkor az fény indukálta gyógyszer reakciót jelent. Ez a módszer azonban nem validált, és így nem teljesen megbízható [6]. Ehhez hasonló módszer a *fotoscratch tesztelés*, amely során pedig a gyógyszert nem a bőr felületére juttatják, hanem túvel a mélyebb rétegekbe kerül. Ezt ritkán alkalmazzák [6].

IRODALOM

1. Renz, M., Stege, H., Krutmann, J.: Mechanisms of Phototoxic and Photoallergic Reactions in: Textbook of Contact Dermatitis: pp. 133-143. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2001.
2. Lugovic, L. et al.: Coll. Antropol. 31, Suppl. 1, 63-67 (2007).
3. Svensson, C.K. et al.: Pharmacol. Rev. 53, 357-379 (2000).
4. Elek, S.: Gyógyszereink, 58(4), 129-131 (2008).
5. Moore, D.E.: Drug Saf., 25(5), 345-372 (2002).
6. Drucker, A.M., Rosen, C.F.: Drug Saf. 34(10), 821-837 (2011).
7. Shields, K.M.: Drug-Induced Photosensitivity, Pharmacist's Letter / Prescriber's Letter, May 2004, Vol. 20., No. 200509 (2004).
8. Levine, J.I.: Medications That Increase Sensitivity To Light: A 1990 Listing, HHS Publication FDA (1990).
9. Brazzelli, V. et al.: Photodermatol. Photoimmunol. Photomed., 28(1), 2-5 (2012).
10. Cohen, P.R.: J. Drugs Dermatol., 8(1), 61-4 (2009).
11. Quintero, B. et al.: Ars Pharmaceutica, 41(1), 27-46 (2000).
12. Lee, A., Thomson, J.: Drug Induced Skin Reactions, in: Adverse Drug Reactions, 2nd edition, Pharmaceutical Press, London, 2006.
13. Coyle, J.D.: Introduction to Organic Photochemistry, John Wiley & Sons, 1989.
14. Rohatgi-Mukherjee, K.K.: Fundamentals of Photochemistry New Age International, New Delhi, 1978.
15. Tonnesen, H.H.: Photostability of Drugs and Drug Formulations, CRC Press, 2004
16. Kornblum, Z.C.: Photochemistry, Encyclopedia Americana, Grolier Online, 2010
17. Fox, M.A., Whitesell, J.K.: Organic Chemistry, Jones & Bartlett Learning, 2004.
18. Dauben, W.G., Salem, L., Turro, N.J.: Acc. Chem. Res., 8(2), 41-54 (1974).
19. Jakimska, A. et al.: J. Chromatogr. Sep. Tech., 5(6) (2014).
20. Young, R.B. et al.: Environ. Sci.: Processes Impacts, 16, 848-857 (2014).
21. Chiron, S.: Environ. Sci. Technol., 40, 5977-5983 (2006).
22. Szász, Gy., Takács, M., Végh, A.: Gyógyszerészi Kémia Egyetemi Tankönyv, Medicina Kiadó, Budapest, 1990.
23. Fülöp, F., Noszál, B., Szász, Gy., Takácsné Novák, K.: Gyógyszerészi Kémia Egyetemi Tankönyv, Semmelweis Kiadó, Budapest, 2010.
24. Takács, M.: Gyógyszerészet, 34(11), 563-573 (1990).
25. Arnold, W.A., McNeill, K.: Comprehensive Analytical Chemistry 50, 361-385 (2007).
26. Takács, M., Kertész, P., Tóth, G., Vajda, J.H.: Arch. Pharm., 309(9), 735-741 (1976).
27. Piotrowska, K. et al.: J. Pharm. Biomed. Anal., 41, 1391-1395 (2006).
28. Tömpe, P., Hoffmanné Fekete, V., Bárczay, E.: Acta Pharm. Hung., 66(1), 15-19 (1996).
29. Logan, B.K.: J. Chromat., 529, 175-181 (1990).
30. Khetan, S.K., Collins, T.J. Chem. Rev., 107, 2319-2364 (2007).
31. Della Greca, M. et al. Environ. Chem. Lett., 2, 155-158 (2004).
32. Bundgaard, H et al. Int. J. Pharm., 42, 217-224 (1988).
33. Brigante, M, Della Greca, M. et al. Environ. Chem. Lett., 2, 195-198 (2005).
34. Musa, K.A.K. et al.: J. Med. Chem., 50(8), 1735-1743 (2007).
35. Hsu, Y-H. et al.: Biomed. Chromatogr., 20, 787-793 (2006).
36. Borren, A.L. et al.: Aquatic. Sci., 65, 320-341 (2003).
37. Guo, H-G.: Environ. Sci. Pollut. Res., 20, 3202-3213 (2013).
38. Hayashi, N. et al.: Antimicrob. Agents Chemother., 48(3), 799-803 (2004).
39. Emri, G., Horkay I., Remenyik É.: Orvosi Hetilap, 147(16), 731-735 (2006).

40. Harber, L.C. : J. Invest. Dermatol., 58(6), 327-342 (1972).
41. Glowniak, K. et al. : Pharm. Biol., 38(4), 308-312 (2000).
42. ICH Harmonised Tripartite Guideline, Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals, S10, Current Step 4 version, 13 November 2013.
43. S10 Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals, Guidance for Industry, U. S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), January 2015.
44. Burns, K., Adams, K.B., Longwell, J.: The J. Opt. Soc. Am. 40, 339-344 (1950).
45. Sansonetti, C.J., Salit, M.L., Reader, J.: Appl. Optics, 35(1), 74-77 (1996).
46. Heering, W.: IUVA News, 6(4), 7-13 (2004).
47. Saunders, R.D., Ott, W.R., Bridges, J.M.: Appl. Optics, 17(4), 593-600 (1978).
48. Schröder, S., Surmann, J.P.: Anal. Bioanal. Chem., 386, 1695-1700 (2006).
49. Test No. 432: In vitro 3T3 NRU phototoxicity test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, 2004 Nov.
50. Lelievre, D. et al.: Toxicol. in Vitro, 21, 977-995 (2007).
51. Mosmann, T.: J. Immunol. Methods, 65, 55-63 (1983).
52. Onoue, S. et al.: J. Pharm. Biomed. Anal., 47, 967-972 (2008).
53. Onoue, S. et al.: Pharm. Res., 27, 1610-1619 (2010).
54. EMEA Note for Guidance on Photosafety Testing, 2002, London, CPMP/SWP/398/01
55. Murphy, G.M.: Photodermatol. Photoimmunol. Photomed., 20, 305-311 (2004)
56. Yashar, S.S., Lim, H.W.: Dermatol. Ther., 16, 1-7 (2003).

Érkezett: 2015. május 4.

Titanát nanocsövek a gyógyászatban

SIPOS BARBARA, IFJ. REGDON GÉZA*, SOVÁNY TAMÁS

Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszertechnológiai Intézet
6720. Szeged, Eötvös utca 6.

*Levelezési cím: geza.regdon@pharm.u-szeged.hu

Summary

SIPOS, B., REGDON, G. JUN., SOVÁNY, T.: **Titanate nanotubes in the therapy**

The demand for revealing the medical advantages offered by nanotechnology is increasing more and more. Titanate nanotubes deserve consideration in many aspects. Their production is easy, cost-effective and environmentally friendly. Due to their special physico-chemical properties, titanate nanotubes can play an important role in different fields of therapy, such as medical diagnostics, implantology, or even as cancer treatment. The aim of our work is to present the titanate nanotubes and give an overview on their medical applicability through the results of previous researches.

Keywords: nanotube, titanate nanotube, nanotechnology

Összefoglaló

A nanotechnológia gyógyászatban nyújtott előnyeinek feltárására egyre nagyobb igényt mutat a gyógyszerészi szakma. A titanát nanocsövek több szempontból is érdekesebbek lehetnek a figyelemre. Előállításuk egyszerű, költséghatékony és környezetbarát. Speciális fizikai-kémiai tulajdonságaik révén jelentős szerepet tölthetnek be a gyógyászat különböző területein, mint pl. az orvosi diagnosztika, az implantológia, vagy akár a rákterápia. Munkánk célja, hogy bemutassuk a titanát nanocsöveket és áttekintést adjunk gyógyászati alkalmazhatóságukról az eddigi kutatások eredményeinek bemutatásával.

Kulcsszavak: nanocső, titanát nanocső, nanotechnológia

Bevezetés

A rohamosan fejlődő és mára már számos iparágat meghódító nanotechnológia egyik szegmensét képezik a nanocsövek, azokon belül is a titanát nanocsövek. Szerepük nemcsak ipari, de gyógyászati szempontból is jelentős lehet. Célunk, hogy átfogó képet adjunk a titanát nanocsövekről, bemutatva mind a szintézisüket és a fizikai-kémiai sajátságait, mind pedig azokat a terápiás lehetőségeket, amiket a jövőben nyújthatnak. A titanát nanocsövek előnyösen alkalmazhatóak különböző hatóanyagok hordozóiként, de számos lehetőséget rejt a titanát nanocsövek implantátumok felületén való alkalmazása is. Megjelenhetnek továbbá olyan területeken is, mint az orvosi diagnosztika, ahol bioszenzorok kifejlesztésének alapjául szolgálhatnak.

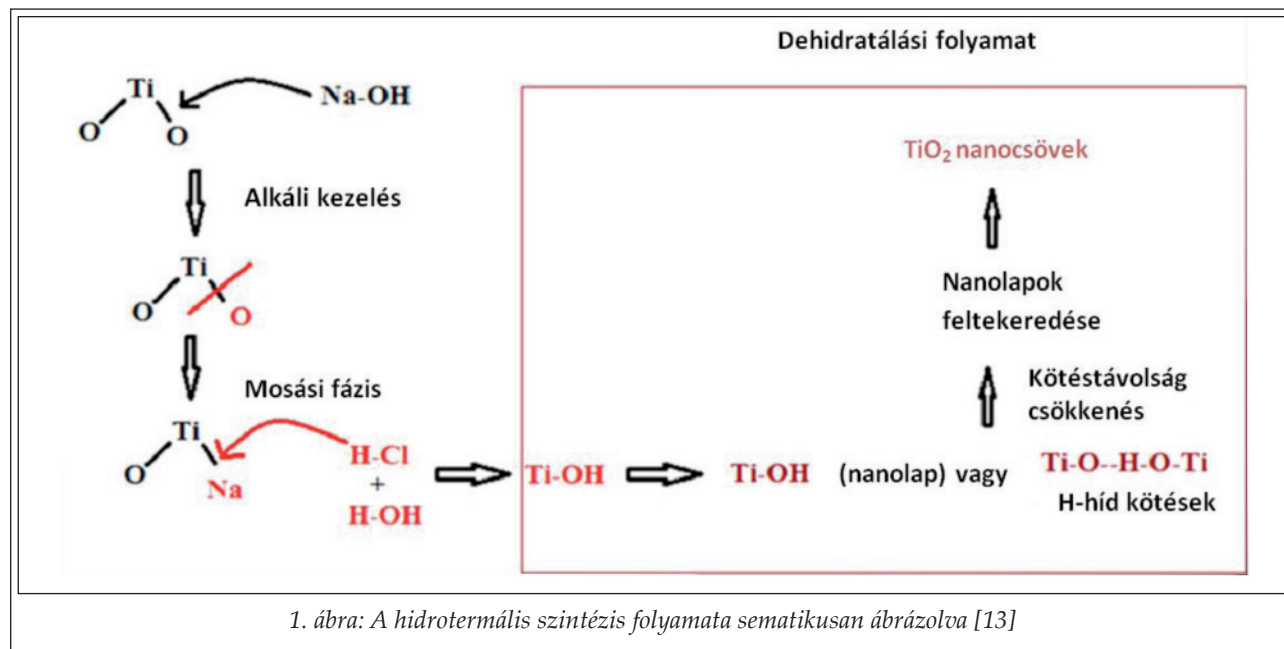
A titanát nanocsövek előállítása

Titanát nanocsövet alig több mint 10 éve szintetizáltak először. A ma ismert szintézis típusok

(templát molekulát alkalmazó módszerek, elektro-kémiai eljárások, másodlagos technikák és alkáli hidrotermális szintézisek [1]) közül a leggyakrabban alkalmazott módszer az alkáli hidrotermális eljárás, amelynek nagy előnye a többivel szemben, hogy ipari méretekben is kiválóan alkalmazható. Kiemelendő, hogy környezetbarát módszernek minősül, tekintve, hogy alacsony energiaigényű és a reakció vizes oldatokban, zárt rendszeren belül zajlik [2-4]. Bár a reakcióút igen érzékeny a kísérlet körülményeire (pH-ra, hőmérsékletre, hidrotermális kezelés hosszára), a paraméterek optimalizálásával viszonylag egyszerűen, olcsón és nagy mennyiségben állítható elő titanát nanocső [4, 5].

Alkáli hidrotermális eljárás

Az eljárás során titán-dioxid port adott töménységű NaOH oldatban elkeverve, és azt megfelelő ideig, megfelelő hőmérsékleten tartva nanocsövek kialakulása tapasztalható. Chen és Mao kutatásaik során úgy találták, hogy titanát nanocsövek akkor keletkeznek, ha a TiO₂ porokat magas hőmérsékle-



ten, tömény NaOH oldatban kevertetik. A feltételezett mechanizmus szerint a NaOH oldat hozzáadásával néhány Ti-O-Ti kötés felszakad, a Ti⁺ ionok Na⁺ ionokra cserélődnek, és Ti-O-Na és Ti-OH kötések alakulnak ki [6]. A kötésfelhasadás következtében a Na⁺ töltéséből adódó elektrosztatikus tasztítás révén TiO₂ nanolapok keletkeznek, melyek azután csövé tekerednek fel [7].

A szintézis különböző titán-dioxid porokból indulhat ki. Az alkalmazott TiO₂ típusok függvényében a kapott termékek szerkezeti tulajdonságai jelentős mértékben eltérhetnek egymástól [3].

A szintézis optimális hőmérséklet tartománya 100-180 °C közé tehető [8]. 100 °C alatt nem képződnek nanocsövek, míg 180 °C felett a nanocsövek kialakulása csökkenni kezd, és ezzel egyidejűleg nanorudak jelennek meg a rendszerben [9]. A hőmérséklet emelésével a végtermék kristályossági foka növekszik [10], ami arról árulkodik, hogy a hőmérséklet jelentős szerepet játszik a titanát nanocsövek göcképződésének és kristálynövekedésének elősegítésében [11]. Az eljárás időtartamának befolyásoló hatásáról megállapították, hogy 150 °C-on a keverési időt 2 h-ról 72 h-ra növelve a nanocső kitermelés 0%-ról 80%-ra nő [10]. Mindezen kutatási eredmények ismeretében és figyelembevételével a módszer kivitelezése általában autoklávban, kontrollált hőmérsékleten és/vagy nyomáson történik. A művelet során a hőmérsékletet a víz forráspontja fölött tartják, hogy ezzel szaturált gőznyomást generáljanak. Az autoklávban gerjesztett nyomást a hőmérséklettel és a jelenlévő vizes oldatokkal szabályozzák [3, 6].

Kasuga és mtsai továbbgondolva a fent leírt szintézis elméletet, beiktattak egy újabb, a hidrotermális kezelést követő savas mosási lépést, amelyet trititanát nanocsövek kialakítása céljából alkalmaztak. A savas utókezelés jelentősége, hogy a HCl saját protonjait a titanát nanocsövekben lévő Na⁺ ionokra cseréli le. Eltávolítva a Na⁺ ionokat a mintákból, Ti-OH kötések, majd ezek dehidratációját követően Ti-O-Ti, illetve Ti-O--H-O-Ti kötések alakulnak ki. Az elektrosztatikus tasztítások eltűnnek, következésképpen a nanolapok fotokatalitikus felszínén lévő Ti-Ti közti kötéstávolság csökken, ami megkönnyíti, illetve elősegíti a lapok felgöngyölődését. A töltött komponensek további ioncserélt vizes mosással fokozatosan eltávolíthatóak. A kutatócsoport feltételezése szerint a savas és vizes mosás két, döntő szereppel bíró lépés ahhoz, hogy nagy aktívású titanát nanocsövet lehessen előállítani [6, 12]. Az 1. ábra az előállítás lépéseit mutatja röviden.

A hidrotermális módszerrel előállított titanát nanocsövek kalcinációs utókezelésével változatos morfológiájú termékekhez juthatunk [3]. Megfigyelések szerint a kalcináció hőfokának emelésével nő a nanocsövek kristályossága, ugyanakkor a csőstruktúra károsodik és magas hőmérsékleten részecske struktúráig redukálódik [14]. Weng és mtsai leírták, hogy 400 °C-on a TiO₂ porok vékony falú nanotubuláris struktúrát öltenek, 600 °C-on viszont a nanocsövek elkezdnek összeesni, egybeolvadnak, a nanokristályok pedig növekedésnek indulnak [15]. Yu és mtsai 700 °C fölött aggregálódást figyeltek meg, ami az anataz fázis rutil fázissá való transzformációjával párosult [16].

A fentiekből látható, hogy a különböző kutatócsoportok különböző módokon alkalmazzák a hidrotermális szintézist (eltérő kiindulási anyagokkal dolgoztak, különböző szintézis körülmények mellett, mosás beiktatásával vagy a nélkül). Ebből is adódik talán, hogy a nanocső forma kialakulási mechanizmusáról a mai napig megoszlanak a vélemények. Kutatók egy csoportja úgy véli, hogy a tubuláris szerkezet kialakulása a hidrotermális szakaszhoz kötött, míg mások szerint éppen a mosási lépés a prekursor nanolapok nanocsővé csavarodásának kritériuma [17]. Bár a tubuláris szerkezet kialakulási mechanizmusának teljes megértése és bizonyítása még várat magára, általában elfogadott az a nézet, hogy a TiO_2 (különböző kiindulási formáit ide értve) alkalikus körülmények között intermedierekké (egy-, és többrétegű titanát nanolapokká) alakul át és ezek tekerednek fel tubuláris szerkezetűvé [18].

A titanát nanocsövek szerkezete

A titanát nanocsövek az előző fejezetben leírt mechanizmus alapján lapokból, szőnyegszerű feltekeredéssel keletkeznek. Ennek megfelelően nyitott végű, több falú, csigavonal keresztmetszetű struktúrával rendelkező csövek. A csövek két oldalán a falak száma eltérő, ami aszimmetrikus szerkezetet eredményez.

A titanát nanocsövek átlagos külső átmérője 8-10 nm, átlagos belső átmérője 3-4 nm. A falak közti távolság megközelítőleg 0,78 nm. Statisztikai adatok alapján a titanát nanocsövek legtöbbször 5 fallal rendelkeznek, de előfordulnak 3, illetve 6 fallúak is [1]. Hosszukat tekintve széles intervallumon belül (100-500 nm) mozoghatnak az előállítás paramétereinek függvényében (2. ábra).

A titanát nanocsövek felszínére különböző szubsztituensek illeszthetők, vagyis a nanocsövek szükség szerint funkcionálizálhatók. Ez előrevetíti a célzott terápiában való alkalmazásuk lehetőségét.

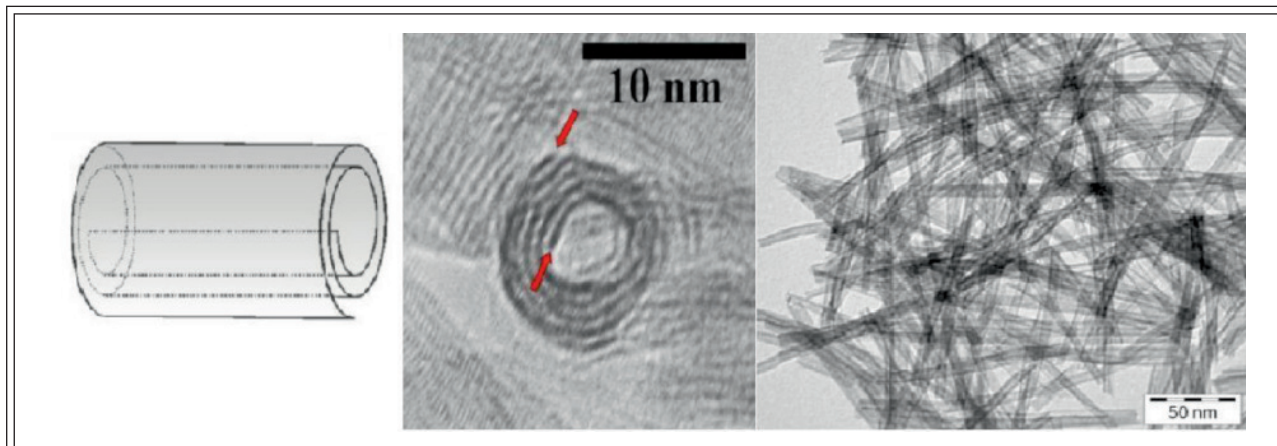
A titanát nanocsövek toxicitása, biokompatibilitása

A titanát nanocsövek (csakúgy, mint más nanocsövek és egyéb nanorendszerek) gyógyászati alkalmazásának egyik alapvető feltétele az ártalmatlanság biztosítása. Ez széleskörű és átfogó biztonsági vizsgálatok, elsősorban biokompatibilitási és toxicitási vizsgálatok elvégzését követeli meg.

Tekintettel arra, hogy a titán-dioxid emberi fogyasztásra alkalmas és a gyógyászatban is széles körben használatos, a titanát nanocsövek esetében is kedvező toxicitási eredményekre lehet számítani. Habár a titanát nanocső összetételét tekintve nem titán-dioxid, az eddigi kutatások a várakozásoknak megfelelő eredményeket hozták [1].

Tüdő epiteliális sejteken végzett citotoxicitási vizsgálat

Wadhwa és mtsai a titanát nanocsövek A549 sejtvoalából származó tüdő epiteliális sejtekre gyakorolt toxicitását próbálták feltárni szén nanocsövekkel párhuzamosan végzett, egy hetes időintervallumot felölelő *in vitro* vizsgálatban. Egyfalú szén nanocsövek, többfalú szén nanocsövek és titanát nanocsövek (TNT) azonos koncentrációjú oldatait használták fel a kísérlethez. Az első nap után a kontrollhoz viszonyítva szignifikáns sejt életképesség növekedés volt mérhető a TNT oldattal kezelt minták esetében. Az egyfalú szén nanocső oldattal kezelt sejtek esetében nem tapasztaltak elté-



2. ábra: A titanát nanocsövek szerkezete. Transzmissziós elektronmikroszkópos felvétel 5-8 nm átmérőjű, 100 nm hosszúságú titanát nanocsövekről [19].

rést, míg a többfalú szén nanocső oldattal kezelt mintáknál a sejtaktivitásban szignifikáns csökkenés következett be. A harmadik napi mintavételkor a TNT oldattal kezelt minta változatlanul mutatkozott, azonban mindkét típusú szén nanocső oldattal kezelt mintában sejt életképesség csökkenést detektáltak. Az utolsó, hetedik napon vett minták az előző mintavétel eredményeinek tendenciáját mutatták.

Összegezve a megfigyeléseket, a szén nanocsövek – ahogyan az a korábbi kutatási eredmények alapján várható is volt – szignifikáns citotoxicitást mutattak, ezen belül is a többfalú szén nanocső mutatkozott károsabbnak az egyfalúval szemben. Ezzel ellentétben a titanát nanocsövek esetében az A549 tüdő epitheliális sejtet érintő toxicitás jelei nem voltak észlelhetők a vizsgálati időintervallum leteltével [20].

Caco-2 sejtvonalon végzett citotoxicitási vizsgálat

A titanát nanocsövek és a titán-dioxid gasztrointesztinális traktusra kifejtett toxikus hatását *Fenyvesi és mtsai* Caco-2 sejteken vizsgálták. A Caco-2 sejteket titán-dioxid, illetve titanát nanocső különböző koncentrációjú oldataival kezelték 120 percig. Pozitív kontrollként Triton X-100 2%-os oldatát alkalmazták. A sejtek életképességét ezután MTT tesztekkel vizsgálták. Míg a Triton X-100 2%-os oldata teljes sejtpusztulást eredményezett, addig a titán-dioxiddal, valamint titanát nanocsövekkel kezelt mintáknál jelentős változás nem volt megfigyelhető. A vizsgálat tehát kimutatta, hogy 120 perces kezelés mellett, 5 mg/ml koncentrációig a titanát nanocsövek nincsenek (MTT-vel kimutatható) toxikus hatással a Caco-2 sejtekre [21].

Biokompatibilitás vizsgálat

Zhao és mtsainak felvetése szerint a sterilizációs típusa is nagyban befolyásolja a titanát nanocsövek biokompatibilitását. A különböző sterilizációs módszerek ugyanis különböző módon és mértékben módosíthatják a titanát nanocsövek felületét, ami kihatással van a sejt-titanát felület közötti interakciókra is. A vizsgálat során három, általánosan elterjedt sterilizációs módszert alkalmaztak: autoklavozást, UV besugárzást és etanolba merítést. Az autoklavozással szemben, mind az UV besugárzás, mind az etanolba merítéses módszer nagyobb felületi szabad energiát idézett elő a felületen, ami fokozottabb sejt adhéziót és proliferációt eredményezett. Egy hetes inkubációs időt alkalmazva a 3

módszer közül az UV besugárzás bizonyult a legkedvezőbbnek, ezzel a módszerrel detektálták a legjobb adhéziós, proliferációs és sejt differenciációs értékeket. A tanulmány arra is rámutat, hogy a titanát nanocsövekkel borított (anodizált), és a sima titánium felület összehasonlításában nem állítható fel ilyen egyértelmű sorrend a sterilizációs módszerek biokompatibilitására gyakorolt hatásának tekintetében. Ezt támasztják alá azok a megfigyelések, melyek során UV és etanol használata mellett szignifikánsan magasabb mineralizációs értékeket mutatott az anodizált felület, míg autoklav alkalmazása mellett nem adódott különbség a mineralizáció mértékében a felületek között. A sejt adhéziójának vizsgálata során pedig az autoklav sterilizáció esetén figyeltek meg fokozottabb sejt adhéziót az anodizált felületen, míg ez a felületek közötti különbség elmaradt UV besugárzás, valamint etanolba merítés esetén [22].

A széleskörű toxicitási vizsgálatok elvégzése ugyan még folyamatban van, a már megszerzett ismeretek meggyőzőek arra nézve, hogy a titanát nanocső nem káros az emberi szervezetre. Ezen pozitív eredmények hozzájárulnak ahhoz, hogy a titanát nanocsövek – a szén nanocsövek alternatívájaként - alkalmasak legyenek terápiás felhasználásra, mint hatóanyag hordozó rendszerek.

Hatóanyag inkorporálása titanát nanocsövekbe

A titanát nanocsövek tubuláris szerkezetüknél fogva képesek nanonizált hatóanyagok befogadására és szállítására. A titanát nanocsőről, csigavonal keresztmetszete révén egyfajta rugalmasság feltételezhető, ami felveti azt a lehetőséget is, hogy a részecskék nem csak a nanocső csatornájában és külső felületén, de akár a falak között is elhelyezkedhetnek. Tekintettel arra, hogy a nanocső szükség esetén tágulni képes, ha a részecske a falak között helyezkedik el és méreténél fogva feszülést idéz ott elő, a nanocső átmérője (rugalmas mivoltának köszönhetően) megnövekszik, ezzel csökkentve a feszülést [1]. A titanát nanocsövek gyógyszerbefogadó kapacitása a nanocsövek struktúrájának (pórus átmérő, pórus hossz) függvénye is, vagyis a paraméterek megfelelő változtatásával a befogadó képesség bizonyos mértékig módosítható [23].

A hatóanyagok inkorporálására nincsen standard eljárás. A módszer egyrészt az inkorporálni kívánt hatóanyag tulajdonságainak függvénye, másrészt azonos hatóanyagok bevitele is többféle módon valósítható meg, ahogy az a következő példákban is bemutatásra kerül.

Dong és mtsai, valamint *Lin és mtsai* ezüsttel töltött titanát nanocsöveket állítottak elő más-más módszert alkalmazva. *Dong és mtsai* a következőképpen jártak el: etilén-glikolhoz NaOH-ot adagoltak, hogy 8-as pH értékű oldatot kapjanak. Az oldathoz anatóz TNT-t adtak, majd ezt a keveréket ultrahangos kavitációnak vetették alá. A kapott kolloid szuszpenzióhoz szaturált - oldószerként etanol tartalmazó - AgNO_3 oldatot adtak, 9 órán át 50 °C-on kevertették, majd szobahőmérsékletre hűtötték. Ezt követően etanollal centrifugás mosást végeztek, majd a csapadékot teljesen kiszáritották. Eredményül sötétbarna port kaptak [24].

Lin és mtsai N-borított titanát nanocsövekbe inkorporálták az ezüstöt. Az ezüst forrásul ők is AgNO_3 -ot használtak. A N-borított titanát nanocső szuszpenzióhoz AgNO_3 -ot keverték, majd 3 órán át tartó UV sugárzásnak vetették alá folyamatos levegőellátás mellett. A szuszpenziót ezután 2 órán át, 333K-en vákuumszáritóban száritották, majd 1 órás kalcinációnak tették ki, melynek eredményeként a kívánt végtermékhez jutottak [25].

Több kutatócsoport is vállalkozott implantátum felületét képező titanát nanocsövek hatóanyaggal való feltöltésére különböző terápiás céllal. *Aw és Losic* egy nem szteroid gyulladáscsökkentőt, indometacint kívántak micellába zárva a nanocsövekbe juttatni. 10 μl indometacin tartalmú micellát pipettáztak cseppenként az orientált titanát nanocsövek alkotta felületre, ügyelve az egyenletes eloszlásra. A micellákkal töltött mintákat 1 órára vákuumszáritóba helyezték, hogy a felületen maradt oldószert eltávolítsák. Száradás után annyiszor ismételték meg a töltés folyamatát, ameddig a nanocsövek teljesen meg nem teltek a micellákkal. Telítődést követően a felületen maradt felesleges oldatot eltávolították [26]. *Gulati és mtsai* az előző csoportéval közel azonos módszert dolgoztak ki ugyancsak indometacin inkorporálására. Az indometacin oldatát a nanocsövek felszínére pipettázták, majd hagyták levegőn megszáradni. Száradást követően puha szöveggel letörölték, hogy eltávolítsák a felületen akkumulálódott felesleges hatóanyagot. Ezt a folyamatot hússzor ismételték a megfelelő mennyiségű hatóanyag betöltése céljából [23]. Egy másik kutatócsoport, *Zhao és mtsai* a titanát nanocsövekkel borított implantátumot oszteogenezis hatóanyaggal, stronciummal kívánták feltölteni, hogy általa megfelelő és gyors oszteointegrációt biztosítsanak. A nanocsövekkel borított titánium mintát $\text{Sr}(\text{OH})_2$ oldatba helyezték és teflonbevonatú autoklávban megfelelő ideig 200 °C-on hevítették. A mintát végezettel 1 M-os sósav

oldattal végzett ultrahangos tisztításnak vetették alá, hogy a mintán visszamaradó $\text{Sr}(\text{OH})_2$ -ot eltávolítsák. Ezzel az egyszerű eljárással stronciummal töltött nanocsövekhez jutottak [27].

A hatóanyagok titanát nanocsövekbe történő inkorporálásának egy egyszerű és általánosan használható módszerét fejlesztették ki a Szegedi Tudományegyetem Környezeti Kémia tanszékén. Az inkorporálást, melyet már számos hatóanyagra (diklofenák-Na, diltiazem-HCl, atenolol, stb.) alkalmaztak, a következőképpen valósították meg: az inkorporálni kívánt hatóanyagot oldékonyságának megfelelő oldószerben (aceton, etanol) oldották, ezzel párhuzamosan az oldószer azonos mennyiségében, azonos tömegű titanát nanocsövet keverték el. Az oldatot és a szuszpenziót mágneses kevertetés után összeöntötték és nagynyomású ultrahangos kezelésnek vetették alá. A művelet utolsó lépéseként a keletkezett kompozitokat bepárlással kiszáritották. Ezzel az eljárással 1:1 arányú titanát nanocső-hatóanyag kompozitok készültek.

A hatóanyag jelenlétéről, illetve bezárási hatékonyságáról különböző analitikai módszerekkel nyerhetünk információt. Ilyenek többek között a FESEM, a TEM, a TGA, az EDX, az ESP, vagy a XRD.

A titanát nanocsövek alkalmazási területei a gyógyászatban

Bioszenzorok

Az egydimenziós struktúrával rendelkező titanát nanocsövek rendkívül jó vezető, félvezető, fotokatalitikus és fényelektromos tulajdonsággal rendelkeznek. Ebből fakad, hogy az elmúlt években egyre gyakrabban alkalmazzák őket elektrokémiai bioszenzorok kifejlesztésére is [28].

A Parkinson-kór diagnózisának felállítása és neurotranszmissziós folyamatok monitorozása céljából kutatók egy új elektrokémiai bioszenzort dolgoztak ki a dopamin szint extracelluláris folyadékban történő mérésére. Öntéses technikával (TNT szuszpenziót öntve az elektródra) stabil titanát nanocső filmet állítottak elő GC (glassy carbon/üvegszerű szén) elektródra. Miután a dopamin pH=7,4 puffer oldatban pozitív töltésű, az elektrosztatikus vonzás értelmében a sok OH^- csoporttal rendelkező, negatív töltésű TNT felülethez közelít. A TNT OH^- csoportja és a dopamin molekula $-\text{NH}_2$ és OH^- csoportja között H-híd kötés is kialakul. A dopamin molekulák bediffundálva a

nanocsövek közti pórusokba, akumulálódnak azok felületén, valamint néhány dopamin molekula a nanocső belsejébe is bejuthat H-híd kötés és elektrosztatikus kölcsönhatás révén. E folyamatokkal a TNT prekonzentrálni képes a kationos dopamint fiziológiás, pH=7,4 értéken, ami által a dopamin az TNT/GC elektród felszínén kvázi-reverzibilis redox csúcsot mutat. Az eddigi módszerekkel szemben az eljárás nagy előnye, hogy lehetővé teszi a dopamin szelektív kimutatását a biológiai szövetekben vele együtt előforduló, és tőle nehezen elkülöníthető voltametrias jelet adó aszkorbinsav és húgysav mellett [29]. Ez a példa is bizonyítja, hogy a titanát nanocsövek előnyösen alkalmazhatóak bioszenzorokként, újabb utakat nyitva ezzel a diagnosztika világában.

Implantátumok

A titániumot és ötvözeteit széles körben és sikeresen alkalmazza a klinikum implantátumként tekintettel arra, hogy semmiféle gyulladásos folyamatot nem okoznak a szervezetben. Csak néhány fontosabbat kiemelve a sorból: ide tartoznak a pacemakerok, sztentek, szívbillentyű ketrecek, csípő- és térdizületi protézisek, csont- és koponyalemezek, illetve a fog implantátumok is [30].

Számos tanulmány alátámasztja azt az elképzelést, hogy a nanostruktúrákkal ellátott implantátumok a természetes csonthoz hasonlatos felülettel és/vagy kémiai tulajdonságokat képesek biztosítani és ezáltal ideális táptalajt jelenthetnek a csont regenerációjának. A sejtek optimális működése és fenntartása az extracelluláris mátrixszal való interakciójuk függvénye. In vitro kísérletek alapján úgy vélik, hogy implantátumok felszínére juttatott nanoanyagok a természetes extracelluláris mátrixszal azonos módon képesek befolyásolni a sejtek morfológiáját. Nanostruktúrákkal módosítható a sejtek felületi adhéziója, a felületen történő szétterjedése, biokémiai működése, sőt még a sejt differenciálódása is. Ebből kifolyólag az utóbbi időben egyre nagyobb figyelmet vívtak ki az elektrokémiai anodizációs módszerrel készült, TiO₂ nanocsövekkel borított Ti implantátumok. A titanát nanocsövekkel borított Ti implantátumok felgyorsítják a mesenchymális őssejtek csontsejteké differenciálódását, ami gyors csontregenerációt és integrációt eredményez, valamint stimulálják az osteoblasztokat, ezáltal serkentik a csontképződést és a mineralizációt [31].

Popat és mtsai Ti, valamint TiO₂ nanocsővel borított Ti lemezeket ültettek be patkányokba szub-

kután, hogy a biokompatibilitást összehasonlító jelleggel vizsgálják. Az implantáció után 4 héttel a szövettani eredmények azt mutatták, hogy a TiO₂ nanocsöves implantátumot körülvevő szövetek az egészséges szövetekhez hasonlóak voltak és nem tartalmaztak kötőszövetet. Ez a kísérlet rámutatott arra, hogy a nanotubuláris morfológia in vivo sem okoz adverz immunreakciót [32].

Bjursten és mtsai TiO₂ nanocső és homokfúvott TiO₂ felület összehasonlítását végezték el nyúl sípcsontba ültetve. Ebben az esetben is a TiO₂ nanocső bizonyult jobbnak. 4 hét elteltével azt tapasztalták, hogy nagyobb törési erőt igényelt a TiO₂ nanocső sípcsontból való eltávolítása, mint a homokfúvott TiO₂ felületé. A kutatás során feltárták, hogy nagyobb volt a csont-implantátum kapcsolódási felület a TiO₂ nanocsöves implantátum esetében, illetve, hogy a TiO₂ nanocső felületen nagy koncentrációban volt jelen kalcium és foszfor, ellentétben a homokfúvott Ti implantátum felületével. Ez mutatja, hogy a TiO₂ nanocső erős felületi kötéssel kötődik a csonthoz, így a törés valójában a növekvő csonton belül jelentkezett, és nem az implantátum-csont határfelületen. Szövettani elemzésre alapozva megállapították, hogy a TiO₂ nanocső felületén erősebb csont-implantátum kapcsolat, magasabb kalcium koncentráció és fokozottabb csontnövekedés valósult meg, összességében tehát a titanát nanocső a csont kötőanyag szakítószilárdságának szignifikáns növelésére képes [33].

Az előzőhöz hasonló kísérletet végeztek *Wilmowsky és mtsai* sertésen. A sertés morfológiai és anatómiai jellemzőinek emberekéhez való hasonlósága optimálisabb összehasonlíthatóságot tett lehetővé. Ebben a tanulmányban is kimutatták, hogy a TiO₂ nanocsövek képesek stimulálni a csont növekedését az implantátum körül, amit az bizonyított, hogy nőtt a kollagén 1-es típusának mennyisége, mely az új csont képződésének korai indikátora. Úgy vélik, hogy fokozza az osteoblaszt differenciálódását és gyors csontnövekedést indukál az implantátum környezetében. Ugyanakkor nem vélték különbséget felfedezni a két összehasonlított implantátum között az oszteokalcin (a csontfejlődés késői markere) megjelenési idejében, ami azt jelezheti, hogy a nanocsöves felszínnek nincsenek hatással a mineralizációra a csont fejlődése és remodellingje alatt. Kísérletükben megállapították, hogy nem volt különbség a csontnövekedés mértékében a két implantátumnál, vagyis a TiO₂ nanocső fokozza az osteoblaszt aktivitást, de nincs hatással a sejtproliferációra [34]. További kísérle-

tek szükségesek tehát a nanocső optimalizálására abból a szempontból, hogy az a sejtfunkciót és proliferációt egyaránt befolyásolja. Az átmérő optimalizációjával foglalkozó Wang és mtsai arra a következtetésre jutottak, hogy a 70 nm átmérőjű TiO_2 nanocsövek a legkiválóbbak osteoblaszt differenciáció, mátrix képződés és mineralizáció serkentése céljából, és ennél az átmérőnél mutatkozott a legerősebb csont-implantátum kapcsolat is [35].

Antibakteriális implantátumok

Biomatériák implantációjakor gyakran előfordul bakteriális fertőzés, ami akár a beavatkozás siker telenségéhez is vezethet. Ezért az aszeptikus körülmények alkalmazása mellett jellemző, hogy az implantációs beavatkozás után orális vagy parenterális antibiotikus terápiában részesítik a beteget. Habár így az egész szervezetet ellátják antibiotikummal, ez gyakran mégsem eredményez megfelelő hatást az infekció helyén. Ebből adódóan manapság egyre inkább az antibakteriális tulajdonsággal rendelkező implantátumok kerülnek előtérbe [36].

A titánát nanocsövek antibakteriális tulajdonsága többek között a kristály fázisuk függvénye. E. Coli baktériumtenyészetben tesztelve kimutatták, hogy az anatáz, a rutil és az amorf titán-dioxid közül a legnagyobb antibakteriális aktivitással az anatáz nanocsövek rendelkeznek. Az átmérő és a hossz befolyásoló hatását vizsgálva arra derült fény, hogy a nanocsövek hossza nincs hatással azok antibakteriális tulajdonságaira, ugyanakkor az átmérő tekintetében a 200 nm átmérőjű nanocsöveknek tulajdonítható a legnagyobb, kb. 40%-os antibakteriális aktivitás. Ez utóbbi eredményt annak tulajdonítják, hogy az eddigi ismeretek alapján a TiO_2 antibakteriális aktivitása a fajlagos felület által meghatározott fotokatalitikus képességéből ered, és a 200 nm-es nanocsövek rendelkeznek a legnagyobb fajlagos felülettel.

A titánát nanocső antibakteriális tulajdonsága önmagában azonban nem kielégítő, ezért a kutatócsoport nanoezüstöt kötött a titánát nanocsövek felszínére, hogy létrehozzanak egy antibakteriális titánium implantátumot. A titánát nanocsöveket anódos oxidációval juttatták a titán felületre, az ezüstöt pedig ezüst-tükör reakcióval kötötték a nanocsövekhez. Az ezüstöt alkalmazva oly mértékben megnőtt az antibakteriális hatást, hogy az megközelítőleg 100%-osnak mutatkozott. Ezzel bebizonyosodott, hogy az ezüst-kapcsolt titánát

nanocsövek alkalmazhatóak antibakteriális implantátumok előállításához [36].

Gyógyszeres implantátumok

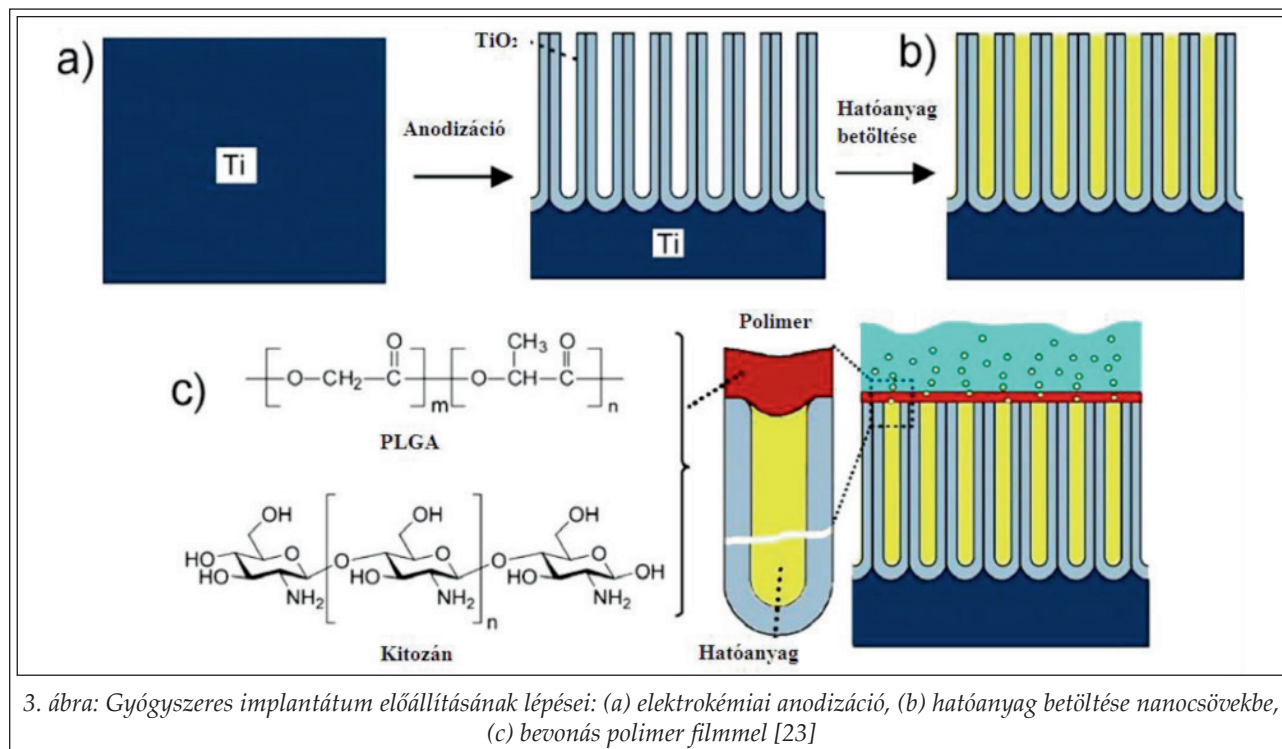
Ahogy az a fent bemutatott kutatásokban bebizonyosodott, a titánát nanocsövek kiválóan alkalmazhatóak implantátumként a klinikumban. Ugyanakkor az is ismert, hogy a titánát nanocsövek alkalmasak hatóanyagok befogadására, ami pedig gyógyszerészeti szempontból rendkívül előnyös. Kutatók e két tulajdonságot ötvözve egy gyógyszer tartalmú, jósolható hatóanyag leadású implantátumot állítottak elő.

Gulati és mtsai a titánium implantátum felületét borító titánát nanocső réteget indometacinnal töltötték meg, majd az egészet biokompatibilis polimer filmmel vonták be (3. ábra) [23]. Ahogy azt a 3. ábra is mutatja elsőként elektrokémiai anodizációval titánát nanocsöveket szintetizáltak a titánium implantátum felületére, majd azokba hatóanyagot juttattak a „Hatóanyag inkorporálása titánát nanocsövekbe” pontban leírtak szerint. Végül merítéses bevonással kitozán, illetve PLGA (poli(tejsav-ko-glikolsav)) polimer filmmel vonták be a nanocsöveket. A polimereket a megfelelő permeabilitás és degradabilitás szempontjai szerint választották ki, hogy biztosítsák a gyógyszer polimer rétegen keresztüli diffúzióját. Az említett polimereket alkalmazva megállapították, hogy a hatóanyag felszabadulás a polimer kémiai összetételének függvényében módosul. A merítéses bevonás során a nanocsöves titánium implantátumot merítették bele a polimer oldatába, majd 70 °C-on szárították 10 percig. A merítések számával (1-5 alkalom) szabályozni tudták a polimer réteg vastagságát és ezáltal a hatóanyag felszabadulás kinetikáját is módosítani tudták [23].

Rákterápia

A gyógyszerhordozó rendszerek – így a titánát nanocsövek is – új utakat nyithatnak a rákterápiában, tekintve, hogy alkalmasak lehetnek célzott hatóanyag leadás megvalósítására. A nanorendszerek passzív, illetve aktív targetálás révén juttathatnak hatóanyagot a tumoros sejtekhez.

Az úgynevezett passzív targetálás alapja, hogy a nanoképletek méretüknél fogva könnyen bejutnak a sejtekbe és ott képesek leadni a hatóanyagot. Mivel a rákos sejteket ellátó erek nagy permeabilitással rendelkeznek, ugyanakkor a nyirokvezetésük alulfejlett, a gyógyszerhordozó rendszer



3. ábra: Gyógyszeres implantátum előállításának lépései: (a) elektrokémiai anodizáció, (b) hatóanyag betöltése nanocsövekbe, (c) bevonás polimer filmmel [23]

könnyedén bejut és felhalmozódik a rákos sejtekben. A hatóanyagot helyben leadva, kiváló hatékonysággal képes pusztítani a tumort. A célzott terápia másik formája az aktív targetálás módszere, amikor a nanorészecskék felszínéhez különböző szubsztituensek (pl. antitestek) kapcsolódnak. Az ilyen módon funkcionizált nanorendszerek alkalmazásával szelektívebb, kevesebb szisztémás mellékhatással járó, alacsonyabb hatóanyag dózist igénylő terápia válhat elérhetővé [37].

A titánát nanocsövek funkcionizálására már több kísérlet is történt, igaz, nem terápiás céllal. *Sović és mtsai* tormaperoxidáz enzimet kapcsoltak titánát nanocső felületére. A sósavas mosással kiegészített hidrotermális szintézissel előállított titánát nanocsöveket diklórmétánban diszpergálták, majd a szuszpenzióhoz 3-aminopropil-trimetoxiszilánt adták. Három óra szobahőmérsékleten végzett kevertetéssel 3-aminopropil-trimetoxiszilánnal módosított nanocsövekhez jutottak, mely NH₂ csoportokkal ruházta fel a felületet. A kinyert mintát ezután 1,4-benzokinon tartalmú dimetil-formamidban diszpergálták, mely során az 1,4-benzokinon az NH₂ csoportokhoz kötődött. Ezt követően a mintát tormaperoxidáz tartalmú foszfát pufferhez adták és szobahőmérsékleten két órán át rázták. A tormaperoxidáz a kapcsoló ágensként funkcionál 1,4-benzokinonhoz kötődött a reakcióban. A három lépésből álló reakciósor végére tormaperoxidáz-funkcionizált végtermék keletkezett [38].

Az előzőekben említett és ehhez hasonló funkcionizálási kísérletek kiváló alapját képezhetik a későbbi, terápiás célú felületmódosításoknak.

Összefoglalás

A titánát nanocsövek ipari felhasználásuk mellett egyre nagyobb szerephez jutnak a gyógyászati célú kutatásokban is. A titánát nanocsövek előállításának, valamint fizikai-kémiai sajátságainak ismertetésével rámutattunk azokra a tulajdonságokra, melyek alkalmassá teszik őket terápiás felhasználásra. Bemutattuk továbbá, hogy milyen terápiás előnyöket nyújthatnak, és milyen formában terjedhetnek el az érintett terápiás területeken. Valószínűsíthető, hogy a bemutatottak csak kis hányadát képezik a lehetőségek teljes táráának, és a jövőbeni kutatások további alkalmazási lehetőségeket fednek majd fel, ezért is kezdtünk el mi is foglalkozni a különböző BCS típusú hatóanyagok titánát nanocsövekbe történő bevitelével, azok fizikai-kémiai sajátságainak jellemzésével, szilárd gyógyszerformában való alkalmazási lehetőségeinek vizsgálatával.

Köszönetnyilvánítás

A titánát nanocsövek alkalmazhatóságával kapcsolatos kutatásainkat a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047 azonosító számú projekt támogatta.

IRODALOM

1. Hodos M.: Titanát nanocsövek szintézise, jellemzése és egy lehetséges képződési modellje, Ph. D. Értekezés Szegedi Tudományegyetem (2007)
2. Sayilkan, F., Erdemoğlu, S., Asiltürk, M., Akarsu, M., Şener, S., Sayilkan, H., Erdemoğlu, M., Arpaç, E.: *Mater. Res. Bull.* 41, 2276-2285 (2006).
3. Wang, B., Xue, D., Shi, Y., Xue, F.: Titanium 1D nanostructured materials: synthesis, properties and applications. In: Prescott, W. V., Schwartz, A. I.: *Nanorods, Nanotubes and Nanomaterials Research Progress*. Nova Science Publishers Inc., New York, 163-201 (2008)
4. Yu, J. G., Wang, G. H., Cheng, B., Zhou, M. H.: *Appl. Catal. B.* 69, 171-180 (2007).
5. Hafez, H. S.: *Mater. Lett.* 63, 1471-1474 (2009).
6. Chen, X., Mao, S. S.: *Chem. Rev.* 107, 2891-2959 (2007).
7. Tan, A. W., Pingguan-Murphy, B., Ahmad, R., Akbar, S. A.: *Ceramics International* 38, 4421-4435 (2012).
8. Yuan, Z. Y., Su, B. L.: *Colloids Surf. A* 241, 173-183 (2004).
9. Sreekantan, S., Lai, L. C.: *J. Alloys Compounds* 490, 436-442 (2010).
10. Thorne, A., Kruth, A., Tunstall, D. P., Irvine, J. T. S., Zhou, W.: *J. Phys. Chem. B.* 109, 5439-5444 (2005).
11. Lan, Y., Gao, X. P., Zhu, H. Y., Zheng, Z. F., Yan, T. F., Wu, F., Ringer S. P., Song, D. Y.: *Adv. Funct. Mater.* 15, 1310-1318 (2005).
12. Kasuga, T., Hiramatsu, M., Hoson, A., Sekino, T., Nihara, K.: *Langmuir* 14, 3160-3163 (1998).
13. Wong, C. L., Tan, Y. N., Mohamed, A. R.: *J. Environ. Manag.* 92, 1669-1680 (2011).
14. Vuong, D. D., Tram, D. T. N., Pho, P. Q., Chien, N. D.: Hydrothermal synthesis and photocatalytic properties of TiO₂ nanotubes. In: Cat, D. T., Pucci, A., Wandelt, K. (Eds.): *Physics and Engineering of New Materials*. Springer Berlin Heidelberg Inc, Germany, 95-101 (2009).
15. Weng, L. Q., Song, S. H., Hodgson, S., Baker, A., Yu, J.: *J. Eur. Ceram. Soc.* 26, 1405-1409 (2006).
16. Yu, J. G., Yu, H. G., Cheng, B., Trapalis, C.: *J. Mol. Catal. A Chem.* 249, 135-142 (2006).
17. Liu, S. S., Lee, C. K., Chen, H. C., Wang, C. C., Juang, L. C.: *Chem. Eng. J.* 147, 188-193 (2009).
18. Bavykin, D. V., Friedrich, J. M., Walsh, F. C.: *Adv. Mater.* 18, 2807-2824 (2006).
19. <http://nanobakt.hu/titanat-nanocso> [2015. 06. 10.]
20. Wadhwa, S., Rea, C., O'Hare, P., Mathur, A., Roy, S. S., Dunlop, P. S. M., Byrne, J. A., Burke, G., Meenan, B., McLaughlin, J. A.: *Journal of Hazardous Materials* 191, 56-61 (2011).
21. Fenyvesi F., Kónya Z., Rázga Zs., Vecsernyés M., Kása P. jr., Pintye-Hódi K., Bácskay L.: *AAPS PharmSciTech* 15, 858-861 (2014).
22. Zhao, L., Mei, S., Wang, W., Chu, P. K., Wu, Z., Zhang, Y.: *Biomaterials* 31, 2055-2063 (2010).
23. Gulati, K., Ramakrishnan, S., Aw, M. S., Atkins, G. J., Findlay, D. M., Losic, D.: *Acta Biomaterialia* 8, 449-456 (2012).
24. Dong, H., Wu, Z., Gao, Y., El-Shafei, A., Ning, S., Xi, J., Jiao, B., Hou, X.: *Organic Electronics* 15, 2847-2854 (2014).
25. Lin, X., Rong, F., Ji, X., Fu, D., Yuan, C.: *Solid State Sciences* 13, 1424-1428 (2011).
26. Aw, M. S., Losic, D.: *International Journal of Pharmaceutics* 443, 154-162 (2013).
27. Zhao, L., Wang, H., Huo, K., Zhang, X., Wang, W., Zhang, Y., Wu, Z., Chu, P. K.: *Biomaterials* 34, 19-29 (2013).
28. Kristó K., Sovány T., Hódi K., ifj. Regdon G.: *Acta Pharm. Hung.* 84, 137-143 (2014).
29. Liu, A., Wei, M., Honma, I., Zhou, H.: *Adv. Funct. Mater.* 16, 371-376 (2006).
30. Tan, A. W., Pingguan-Murphy, B., Ahmad, R., Akbar, S. A.: *Ceramics International* 38, 4421-4435 (2012).
31. Brammer, K. S., Frandsen, C.J., Jin, S.: *Trends in Biotechnology* 30, 315-322 (2012).
32. Popat, K. C., Leoni, L., Grimes, C. A., Desai, T. A.: *Biomaterials* 28, 3188-3197 (2007).
33. Bjursten, L. M., Rasmusson, L., Oh, S., Smith, G. C., Brammer, K. S., Jin, S.: *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 92, 1218-1224 (2010).
34. Wilmosky, C., Bauer, S., Lutz, R., Meisel, M., Neukam, F. W., Toyoshima, T., Schmuki, P., Nkenke, E., Schlegel, K. A.: *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* 89, 165-171 (2009).
35. Wang, N., Li, H., Lü, W., Li, J., Wang, J., Zhang, Z., Liu, Y.: *Biomaterials* 32, 6900-6911 (2011).
36. Li, H., Cui, Q., Feng, B., Wang, J., Lu, X., Weng, J.: *Applied Surface Science* 284, 179-183 (2013).
37. Juhász Szalai A., Dojcsákné Kiss-Tóth É., Koska P., Kiss-Tóth E., Szabeni J., Fodor B.: *Egészségtudományi Közlemények* 1, 43-48 (2011).
38. Sović, D., Gajović, A., Iveković, D.: *Electrochimica Acta* 56, 9953-9960 (2011).

Érkezett: 2015. június 13.

