

# ACTA

## PHARMACEUTICA HUNGARICA

# 2.

## 2016

APHGAO 86, (043) 41–72. (2016)

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság tudományos folyóirata





# 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>Fülöp Viktor, Balogh Emese, Jakab Géza, Antal István: A nanogyógyszerek és nanotechnológia formulálási vonatkozásai I. Bevezetés, biofarmáciai szempontok . . . . .</i>	43
<i>Kazsoki Adrienn, Szabó Péter, Zelkó Romána: Nano- és mikroszálalás rendszerek gyógyászati alkalmazási lehetőségei . . . . .</i>	53
<i>Király Márton, Dalmadiné Kiss Borbála, Drahos László, Vékey Károly, Antal István, Ludányi Krisztina: Tömegspektrometria alkalmazása a fehérjék vizsgálatában . . . . .</i>	61
<i>Argay Márton, Zelkó Romána: Metformin hatóanyagú készítmények expedálása során végzett gyógyszerbiztonsági ellenőrzés vizsgálata. Kérdőíves felmérés első eredményei . . . . .</i>	68

## CONTENTS

<i>Fülöp V., Balogh E., Jakab G., Antal I.</i> : Formulation aspects of nanopharmaceuticals and nanotechnology I. Introduction, biopharmaceutical aspects . . . . .	43
<i>Kazsoki, A., Szabó, P., Zelkó, R.</i> : Medical application possibilities of nano- and microfibrous systems	53
<i>Király, M., Dalmadi-Kiss, B., Drahos, L., Vékey, K., Antal, I., Ludányi, K.</i> : Application of Mass Spectrometry in Proteomics. . . . .	61
<i>Argay, M., Zelkó, R.</i> : Examination of drug safety control during the dispensing of medicines containing metformin. First results of a questionnaire survey . . . . .	68

Acta Pharmaceutica Hungarica: [www.mgyt.hu](http://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

# A nanogyógyszerek és nanotechnológia formulálási vonatkozásai I. Bevezetés, biofarmáciai szempontok

FÜLÖP VIKTOR, BALOGH EMESE, JAKAB GÉZA, ANTAL ISTVÁN\*

Semmelweis Egyetem Gyógyszerészeti Intézet, 1092 Budapest, Hőgyes Endre u. 7.

\*Email: antal.istvan@pharma.semmelweis-univ.hu

## Summary

FÜLÖP V., BALOGH E., JAKAB G., ANTAL I.: **Formulation aspects of nanopharmaceuticals and nanotechnology I. Introduction, biopharmaceutical aspects**

Active pharmaceutical ingredients may have unique properties when applied as nanoparticles or in nanostructured carrier systems due to the size and shape, as well as to the high surface to volume ratio. Therefore nanopharmaceuticals are surrounded by huge expectations on the part of nanomedicine and today nanotechnology is crucial for the development of pharmaceutical products. Nanopharmaceuticals have several benefits such as improved dissolution and bioavailability, targeted drug delivery, and they allow the introduction of nanotheranostics. All these advantages offer an unprecedented opportunity for personalized therapy, aiding also the patient-centered formulation in order to ensure the efficacy and tolerability. Nanoparticle or nano-structured drugs offer unique advantages, but on the other hand the formulation could be a challenge which can be compared to their specific characteristics.

## Összefoglalás

A nanorészecskéként vagy nanoszerkezetű hordozó rendszerben alkalmazott hatóanyag méretből és alakból, illetve felület-térfogat arányból következő tulajdonságai egyedülállóak, ezért óriási várakozás övezi a nanomedicina területén. Napjainkban a nanotechnológia a gyógyszerkészítmények kutatás-fejlesztésének és gyártásának is sarkalatos alapját képezi. A nanotechnológia felhasználásával előállított nanogyógyszerek elsődleges előnyei a jobb oldódás és felszívódás, a célzott hatóanyag-szállítás, és a diagnosztika és terápia társítása a nanoteranosztikumok révén. Mindezek az előnyök páratlan lehetőséget teremtenek a személyre szabott terápiára, segítségükkel a betegközpontú formulálás dinamikusan fejlődő területté vált a tolerálhatóság és hatékonyság biztosítása érdekében. A hatóanyag nanorészecskéként vagy nanoszerkezetű hordozórendszerben történő formulálása egyrésztől egyedülálló előnyöket kínál, másrésztől azonban a különleges tulajdonságokkal összemérhető kihívást is jelent.

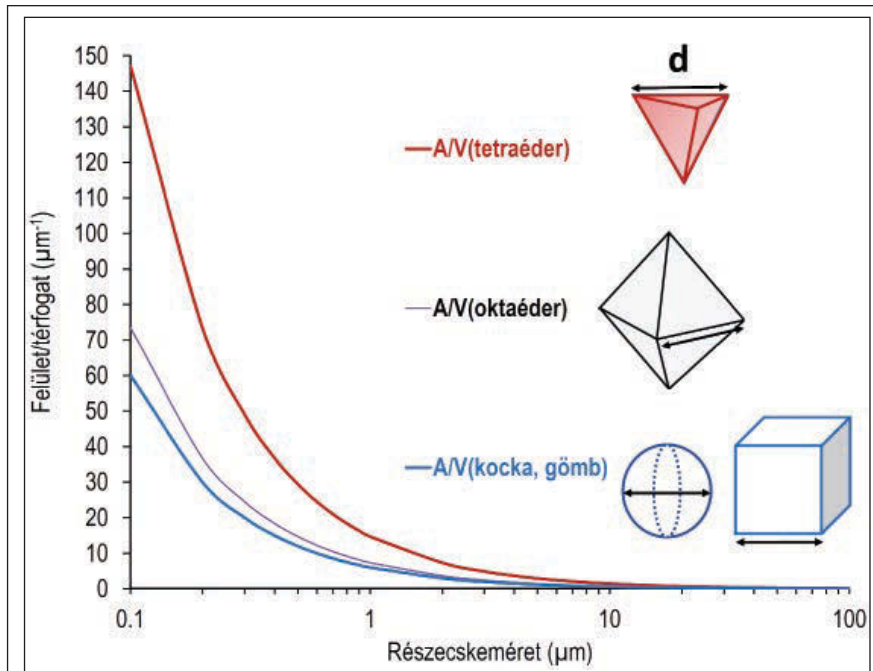
## Bevezetés

A „nano” kifejezés eredete a „törpe” szó (görögül νάνος, „nánosz; illetve latinul *nānus*), így az SI mértékegységrendszerben magától értetődően vált a  $10^{-9}$  szorzótényező, azaz milliárdod törtrészt jelentő előtétsszóvá (pl. nm, ns, ng) 1960-ban [1]. Szemléltetésként megemlíthető, hogy 1 nm úgy aránylik egy 100  $\mu\text{m}$  átmérőjű hajszálhoz, mint az elhullott hajszál vastagsága egy 10 m széles épülethez.

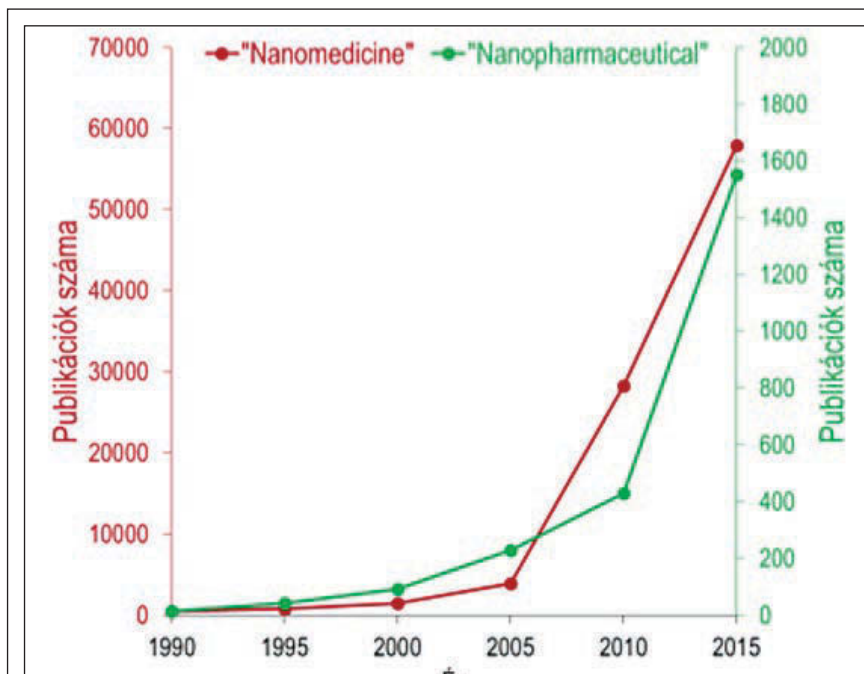
A nanotechnológia kifejezés először 1974-ben jelent meg, rámutatva a nanoméretű anyagok előállításában rejlő lehetőségekre [2]. A nanotechnológia kutatásának és felhasználásának elsődleges tárgyát azok a részecskék, illetve anyagszerkezetek képezik, amelyek méretei a szűkebb 1 és 100 nm közé esnek. Tágabb értelemben a tartomány kiterjed a kolloid (1-500 nm), valamint bizonyos esetekben a szubmikronos (<1000 nm) mérettartományra is [3].

A nanoanyagok méretből, illetve felület-térfogat arányból következő tulajdonságai egyedülállóak, ezért óriási a várakozás számos területen. Ennek magyarázata abban rejlik, hogy az 1-100 nm tartományban az anyag kölcsönhatásait és tulajdonságait alapvetően a kvantumeffektusok szabályozzák, túllépve a nagyobb mérettartományban érvényes klasszikus fizika összefüggéseire [4, 5].

Alapvető megfontolás, hogy ugyanazon nanoanyag a parányi méretből adódóan eltérő tulajdonságokkal bír a szabad szemmel még érzékelhető makroszkópos valamint mikroszkópos anyaggal összehasonlítva. Jól szemlélteti ezt a részecske felület- és térfogat arányának változása a méret csökkenésével (**1. ábra**). Általánosan különbség mutatható ki például a nagy fajlagos felület és reakciókészség, valamint a megváltozott fizikai kémiai tulajdonságok (pl. oldhatóság) tekintetében, illetve nyilvánvaló az élő szervezetbeni eltérő viselkedés is [6].



1. ábra: Különböző geometriájú részecskék felület-térfogat arányának változása



2. ábra: A nanomedicinával és nanogyógyszerrel kapcsolatos közlemények és szabadalmak együttes számának változása

A nanotechnológia a nanomedicina, illetve a gyógyszerkutatás és fejlesztés számára is új lehetőségeket nyit [7, 8]. A nanotechnológiát a kulcsfontosságú innovatív alaptermotechnológiák közé sorolják, amelyek a gyógyszerkészítmények kutatás-fejlesztésének és gyártásának is sarkalatos alapját képezik [9].

A 2. ábra a nanomedicina („nanomedicine”) és

nanogyógyszer („nanopharmaceutical”) kifejezésekkel kapcsolatos közlemények és szabadalmak együttes számának ugrásszerű növekedését szemlélteti [10].

A nanotechnológia felhasználásával előállított nanogyógyszerek legfontosabb előnyei a következők [11, 12]:

- jobb oldódás és felszívódás [13],
- célzott hatóanyag-szállítás [14],
- a diagnosztika és terápia társítása (nanoteranosztikumok) [15].

A felsorolt előnyök lehetőséget teremtenek a személyre szabott terápiára, segítségükkel a betegközpontú formulálás dinamikusan fejlődő területté vált a tolerálhatóság és hatásosság biztosítása érdekében [16, 17].

A nanoméretű hatóanyag-részecskék, illetve nanohordozókhoz kötött hatóanyagmolekulák alkalmazásával a gyógyszernek a biofarmáciai és farmakokinetikai tulajdonságai szabályozhatók [18], mert a farmakon a nanorendszer által meghatározott módon viselkedik [19]. Kiemelkedő jelentőséggel bír, hogy a LADME (Liberáció, Abszorpció, Disztribúció, Metabolizmus, Exkréción) folyamatai mind befolyásolhatók, a megoszlás megváltoztatásával célzott hatóanyag-szállítás és -felszabadítás is biztosítható [20, 21].

Bár környezetünkben természetes és szándékolatlanul

előállított mesterséges nanorészecskék mindenütt előfordulnak, ugyanakkor a szándékosan előállított nanorészecskék biztonságosságának és mellékhatásainak vonatkozásában még csak korlátozott mértékben állnak rendelkezésre adatok. A nanogyógyszerek engedélyezésében nehézséget jelent a nanotoxicitás megítélése, a mellékhatásprofiljának meghatározása [22].

Nanorészecskék előállítására lehetőségként szolgál nagyobb méretű anyagból („*top down*” megközelítés) pl. őrléssel vagy nagynyomású homogenizálással a részecskeméret csökkentése [23], vagy molekulárisan diszpergált hatóanyagból kiindulva jól ellenőrzött integrálási műveletek alkalmazása („*bottom up*”- alulról építkezés) [24, 25].

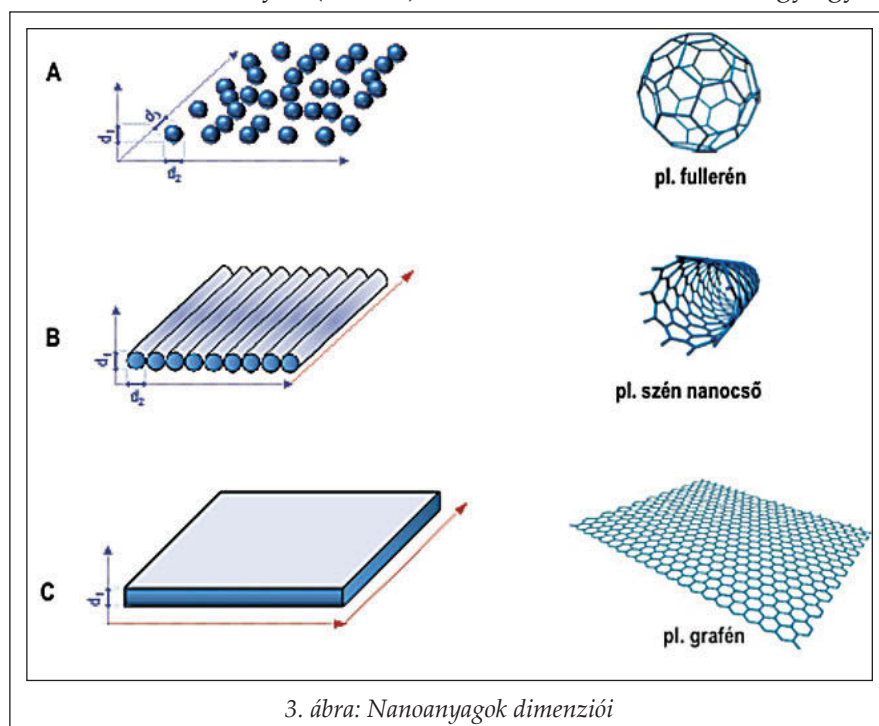
Az összeállítás első részének célja az általános és biofarmáciai vonatkozások átgondolása, amely megfontolások hozzájárulhatnak a nanogyógyszerek lehetőségeinek és korlátainak megismeréséhez.

### Alapfogalmak

A Nemzetközi Szabványügyi Szervezet (ISO) meghatározása szerint a nanoméret tartománya megközelítőleg az 1 nm-től ( $10^{-9}$  m) 100 nm-ig terjedő mérettartományt jelenti [26]. Ennek megfelelően a nanoanyag olyan anyagot jelent, amelynek bármely külső mérete vagy a belső, illetve a felületi struktúrája a nanotartományba esik. További osztályozás szerint a nanoanyagok két típusba sorolhatók:

- a *nanoanyagok (nano-objects)* legalább egy nanoméretű külső mérettel rendelkeznek,
- a *nanoszerkezetű anyagok* nanoméretű belső vagy felszíni szerkezettel rendelkeznek.

A nanorészecskék három külső mérete ( $d_1$ ,  $d_2$ ,  $d_3$ ), a nanoszálak két külső mérete ( $d_1$ ,  $d_2$ ), és a nanobevonatok vagy lapok egy külső mérete ( $d_3$ ) esik a nanotartományba (1. ábra).



3. ábra: Nanoanyagok dimenziói

A nanoanyag fogalmának meghatározásáról szóló, 2011. október 18-i EU bizottsági ajánlás szerint [27]: „A „*nanoanyag*” olyan természetes anyag, szándékatlanul előállított mesterséges anyag vagy szándékosan előállított anyag, amely nem kötött állapotban, aggregátum formájában vagy agglomerátum formájában olyan részecskéket tartalmaz, amelyeknek legalább egy külső mérete a részecskének a darabszám szerinti méreteloszlás alapján vett legalább 50%-a esetében az 1 nm-től 100 nm-ig terjedő mérettartományba esik. Konkrét esetekben, továbbá akkor, ha azt környezetvédelmi, egészségügyi, biztonsági vagy versenyképességi szempontok indokolják, a darabszám szerinti méreteloszláshoz tartozó 50%-os küszöbérték helyett 1%-nál nagyobb, de 50%-nál kisebb küszöbérték alkalmazható.”

További szempont, hogy ha egy anyag térfogat-egységre vetített fajlagos felülete  $60 \text{ m}^2/\text{cm}^3$ -nél nagyobb, akkor úgy tekinthető, hogy az adott anyag teljesíti a nanoanyag feltételeit. A fajlagos felület méréséből és a darabszám szerinti méreteloszlás alapján kapott eredmények különböző anyagok esetében különböző mértékben feleltethetők meg egymásnak. Ezért indokolt, hogy a fajlagos felület alapján nem mutatható ki egy anyagról, hogy az nem nanoanyag, inkább a darabszám szerinti méreteloszlás alapján tett megállapítások a mértékadók.

Fontos kérdés, miként vehető figyelembe az elsődleges és másodlagos részecskeméret. Az értelmezés szerint az aggregátum egymáshoz erősen kötött vagy egymással egyesült primer részecskéből felépülő másodlagos részecske, míg az agglomerátum az egymáshoz gyengén kötött részecskék vagy aggregátumok olyan együttese, amelynek külső felülete hasonló kiterjedésű, mint alkotóelemeinek felülete együttvéve.

A nanoanyag számára az elsődleges részecskeméret a meghatározó, így a meghatározás kiterjed az agglomerátumokban és az aggregátumokban lévő másodlagos, azaz kötött részecskékre is, amelyek azonos viselkedést tanúsíthatnak a nem kötött részecskékel. Ezt indokolja, hogy a primer részecskék adott körülmények között leválhatnak az agglomerátumról vagy az aggregátumról.





*Nanorészecskék fizikai kémiai jellemzőinek legfontosabb vizsgáló módszerei*

<b>Jellemző</b>	<b>Analitikai módszer</b>
Részecskeméret és -eloszlás	Dinamikus fényszórás (DLS, Dynamic Light Scattering) Statikus fényszórás (SLS, Static Light Scattering) Turbidimetria Pásztázó elektronmikroszkópia (SEM, Scanning Electron Microscopy) Transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM, Transmission Electron Microscopy) Atomerő mikroszkópia (AFM, Atomic Force Microscopy) Konfokális mikroszkópia (CM, Confocal Microscopy) Erőtérbeli folyó frakcionálás (FFF, Field Flow Fractionation) Elektroforézis, Kapillár-elektroforézis (CE, Capillary Electrophoresis) Ultraszűrés, szűrés Centrifugálás Nanorészecske nyomonkövetéses elemzés (NTA, Nanoparticle Tracking Analysis) Méretkizárásos kromatográfia (SEC, Size Exclusion Chromatography) Szelektált területű elektrondiffrakció (SAED, Selected Area Electron Diffraction) Lézer indukált plazma spektrometria (LIPS, Laser Induced Plasma Spectroscopy) Hidrodinamikus kromatográfia (HDC, Hydrodynamic Chromatography) Lézerrel indukált letörési detektálás (LIBD, Laser Induced Breakdown Detection)
Részecskealak	Pásztázó elektronmikroszkópia (SEM, Scanning Electron Microscopy) Transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM, Transmission Electron Microscopy) Atomerő mikroszkópia (AFM, Atomic Force Microscopy) Konfokális mikroszkópia (CM, Confocal Microscopy) Erőtérbeli folyó frakcionálás (FFF, Field Flow Fractionation) Dinamikus fényszórás (DLS, Dynamic Light Scattering) Statikus fényszórás (SLS, Static Light Scattering)
Agglomeráció	Turbidimetria Pásztázó elektronmikroszkópia (SEM, Scanning Electron Microscopy) Transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM, Transmission Electron Microscopy) Atomerő mikroszkópia (AFM, Atomic Force Microscopy) Konfokális mikroszkópia (CM, Confocal Microscopy) Erőtérbeli folyó frakcionálás (FFF, Field Flow Fractionation) Dinamikus fényszórás (DLS, Dynamic Light Scattering) Statikus fényszórás (SLS, Static Light Scattering)
Felületi töltés	Zétopotenciál mérés Ultraszűrés Gázadszorpció (BET) Röntgen fotoelektron spektroszkópia (XPS, X-ray Photoelectron Spectroscopy)
Felület nagysága	Transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM, Transmission Electron Microscopy) Atomerő mikroszkópia (AFM, Atomic Force Microscopy) Gázadszorpció (BET)
Szerkezet, felépítés	Röntgen diffrakció (XRD, X-ray Diffraction) Pásztázó elektronmikroszkópia (SEM, Scanning Electron Microscopy) Transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM, Transmission Electron Microscopy) Erőtérbeli folyó frakcionálás (FFF, Field Flow Fractionation) Szelektált területű elektrondiffrakció (SAED, Selected Area Electron Diffraction) Termogravimetria (TG), Differenciál pásztázó kalorimetria (DSC)) Szilárd fázisú mágneses magrezonancia (SSNMR) Raman spektroszkópia FTIR spektroszkópia

A hatóanyag oldódását befolyásoló fizikai kémiai, formulálási és fiziológiás tényezők

Paraméter	Fizikai kémiai formulálási tényező	Fiziológiás körülmény
Felület* ( $A$ )	szemcseméret, nedvesíthetőség, felületaktív anyag	fiziológiás felületaktív anyagok (epe), gázképződés
Oldhatóság* ( $c_s$ )	hidrofil-lipoid jelleg, kristályszerkezet, amorf állapot szolubilizáltság, komplexképzők nanokristály mérete	pH, pufferkapacitás, epe táplálék összetevők (pl. komplexképzők)
Diffúziós filmréteg vastagsága* ( $h$ )	polimer bevonat permeabilitása, vastagsága	motilitás, hidrodinamikai viszonyok
Diffúziós állandó ( $D$ )	molekulatömeg, segédanyag viszkozitása, polimer kristályos/amorf jellege	lumentartalom viszkozitása
Oldott hatóanyag-koncentráció ( $dX/V$ )		magas permeabilitás a hígulás következtében
Térfogat ( $V$ )		emésztőnedv elválasztás és bevételhez használt folyadék térfogat

\*nanorészecske mérete által jelentősen meghatározott

### Oldódási sebesség

A nanogyógyszerek gyógyszerforma-tervezéssel valamint az innovatív gyógyszer technológiájú készítmények biológiai hatékonyságával kapcsolatos lehetőségeinek és korlátainak megítéléséhez elengedhetetlen a legfontosabb elméleti, fiziológiás és biofarmáciai szempontok figyelembevétele [35].

Az egyik legnagyobb kihívás a hatóanyagok rossz vízoldhatósága, különösen az új originális gyógyszer vegyületek esetén [36]. Az oldódás elősegítése fő kutatási feladattá vált, melynek egyik fontos eszköze nanokristályok előállítása. Vizes nanoszuszpenzióban <100 nm (átlag 85 nm) danazol részecskéket alkalmazva a biológiai hasznosíthatóság 16-szorosára nőtt az alacsony vízoldhatóság ( $\approx 10 \mu\text{g/ml}$ ) ellenére [37].

A hatóanyag oldódása függ számos olyan fizikai kémiai jellemzőtől, amely számára a fiziológiás körülmények mellett a formulálás tényezői is meghatározóak (II. táblázat). Az oldódási sebességet leíró Noyes-Whitney összefüggés alapján a szemcseméret jelentősége azon alapul, hogy az aktív felületet nagyságát, az oldhatóságot, és a diffúziós burokréteg vastagságát is befolyásolják a szemcse tulajdonságai [38,39]:

$$\frac{dX_d}{dt} = \frac{AD}{h_H} \left( C_s - \frac{X_d}{V} \right) \quad (1)$$

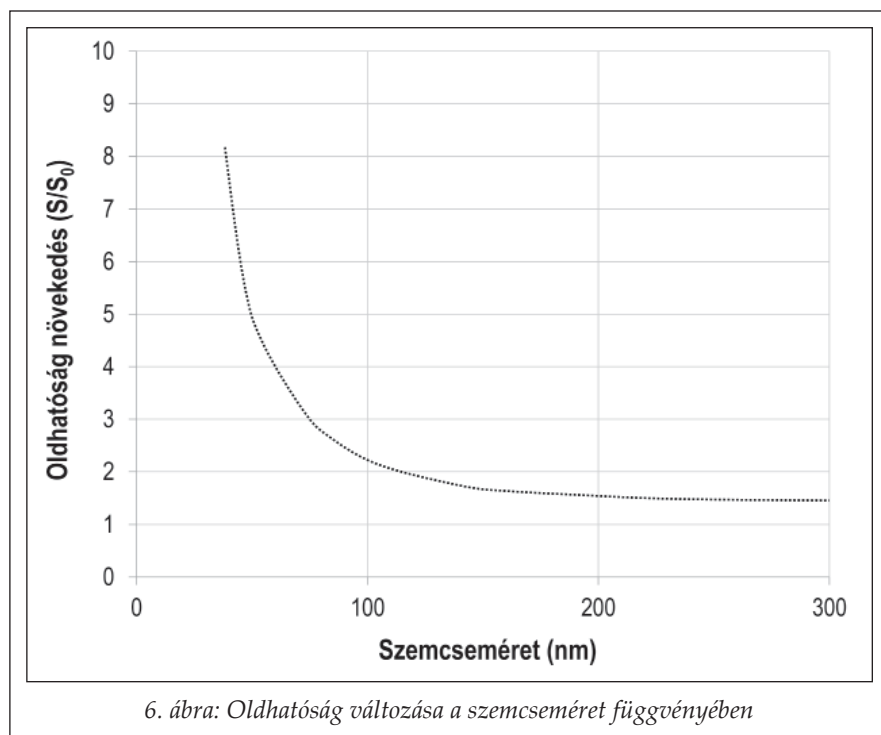
ahol  $D$  a diffúziós állandó,  $A$  a szilárd hatóanyag

oldószerezrel érintkező aktív felülete,  $h_H$  a felületet körülvevő diffúziós burokréteg hidrodinamikai viszonyok által befolyásolt vastagsága,  $C_s$  a telítési koncentráció a helyi fiziológiás körülmények között,  $V$  a kioldóközeg térfogata, és  $X_d$  az oldatba került hatóanyag mennyisége.

A szemcseméret csökkentése elsősorban a szilárd-folyadék határfelület növelésével javítja az oldódást, ugyanakkor a részecskék agglomerációs hajlama miatt elmaradhat az eredmény [40]. Az elsődleges szemcseméret eltérhet a fiziológiás kioldóközegben esetleg kialakuló másodlagos aggregátumoktól, hiszen utóbbiak nyilvánvalóan kisebb aktív felülettel rendelkeznek. Az oldódáshoz szükséges szilárd-folyadék határfelületet biztosító aktív felület a meghatározó. Előfordulhat, hogy a szemcseméret csökkentése nem megfelelő, vagy ellenkező hatást vált ki, mert lassítja az oldódást, pl. ha a hatóanyag hidrofób, nem nedvesedik [41].

### Oldhatóság

Az 1900-as évek elején Ostwald és Freundlich állított fel összefüggést az oldhatóság és szemcseméret kapcsolatára, amely szerint kisebb részecskék esetén nagyobb az oldhatóság [42]. Az Ostwald-féle szemcse-durvulás jelenségének alapja, hogy polidiszperz szuszpenzió esetén a nagyobb szemcsék mérete a kisebbek oldódásának rovására növekszik a monomerek vándorlása következtében. Az összefüggés kifejezhető a következő egyenlettel [43]:



6. ábra: Oldhatóság változása a szemcseméret függvényében

$$S_r = S_\infty e^{\frac{\alpha}{r}} \quad (2)$$

ahol  $S$  az  $r$  sugarú szemcse oldhatósága,  $S_\infty$  a végtelen nagy sugarú szemcse oldhatósága. A kapilláris hossz  $\alpha$ :

$$\alpha = \frac{2f_a \sigma V_m}{3f_v RT} \quad (3)$$

ahol  $V_m$  a diszperz fázis moláris térfogata,  $R$  az egyetemes gázállandó,  $T$  az abszolút hőmérséklet,  $\sigma$  a határfelületi feszültség,  $f_a$  a területi és  $f_v$  a térfogati alaki tényező.

Az oldhatóság szemcsemérettől való függése hosszú időn keresztül inkább elvi jelentőségű volt [44], mert a gyakorlatban szignifikáns különbség

csak 200 nm részecskeméret alatt várható [45, 46]. Ugyanakkor nanokristályok esetén az oldhatóság növekedése már szignifikáns (6. ábra).

#### Diffúziós burok

A részecske alakja az oldódás és szervezetbeni transzport szempontjából egyaránt meghatározó.

Oldódás szempontjából a részecskealak diffúziós burokréteget befolyásoló hatása a Prandtl-egyenlet alapján értelmezhető [47]. A diffúziós burok rétegvastagsága függ a felület hosszúságától ( $L_H$ ) a hidrodinamikai áramlás irányában valamint a folyadék felülethez viszonyított áramlási sebességétől ( $v_H$ ):

$$h_H = k_H \sqrt{\frac{L_H}{v_H}} \quad (4)$$

ahol  $k_H$  konstans.

Belátható, hogy a szemcseméret csökkentése  $L$  változását okozza. Kisebb szemcséknél a diffúziós burok rétege is vékonyabb [48], ami megkönnyíti a molekulák gyors diffúzióját és eloszlását a kioldó közegben [49]. Ezen túlmenően, kisebb szemcseméret esetén ráadásul a felszívódást kevésbé befolyásolják a gasztrointesztinális motilitás által is befolyásolt hidrodinamikai viszonyok, amelyek szintén hatnak a diffúziós burok rétegvastagságára [50].

A diffúziós burokréteg vastagsága függ a szemcse alakjától is [51]. Azonos méretű szemcséknél

III. táblázat

Nanogyógyszerek alkalmazásának előnyei különböző gyógyszerbevitelnél [52]

Adagolási mód	Előny
Orális	oldódás elősegítés, biohasznosíthatóság növelés, gyorsabb hatás (csúcskoncentráció elérési ideje csökken), étel-interakciók csökkenése, viszonylag egyszerű formulálás
Parenterális	intravénásan adható, nincs felszívódás, célzott hatóanyag-szállítás, jobban tolerálható segédanyagok (szerves oldószerek és felületaktív anyagok elkerülhetők)
Pulmonáris	inhalálható folyadékcepp vagy por

egyértelműen lassabb oldódási sebesség volt tapasztalható szabálytalan alak esetén.

A részecskék alakja a legkülönbözőbb lehet, az osztályozás során általában három alakfajta különböztetünk meg:

- izometrikus részecskék: a részecskék mérete mindhárom egymásra merőleges térbeli irányban megközelítően azonos,
- szálás, fibrilláris részecskék: ezek egy irányban erősen megnyúltak, szálak, pálcikák, tűk stb.
- lapos, lamináris részecskék: két méret lényegesen nagyobb a harmadiknál, lamellák, réteges lemezek.

#### Biofarmáciai vonatkozások

Különböző adagolási módok esetén foglalja össze a nanogyógyszerek alkalmazásának előnyeit a **III. táblázat** [52].

A részecskeméret csökkentésének orális biológiai hasznosíthatóságot növelő hatásának elemzése során az oldódási folyamatot a fiziológiás tényezők alapján szükséges értékelni. A Biofarmáciai Osztályozási Rendszer (*Biopharmaceutical Classification System, BCS*) segítségével a hatóanyagok oldhatósági és a membránbarrierrel kapcsolatos permeabilitási tulajdonságaik szerint négy osztályba sorolhatók [53]:

- I. osztály: jó oldhatóság és jó permeabilitás
- II. osztály: rossz oldhatóság és jó permeabilitás
- III. osztály: jó oldhatóság és rossz permeabilitás
- IV. osztály: rossz oldhatóság és rossz permeabilitás

Különös figyelmet érdemelnek a II. osztályba tartozó hatóanyagok (rossz oldhatóság, jó permeabilitás), amelyeknél a kioldódás szerepe sarkalatos a biológiai hasznosíthatóság szempontjából, hiszen meghatározza a membrán felszínénél a felszívódásra képes oldott hatóanyag koncentrációját.

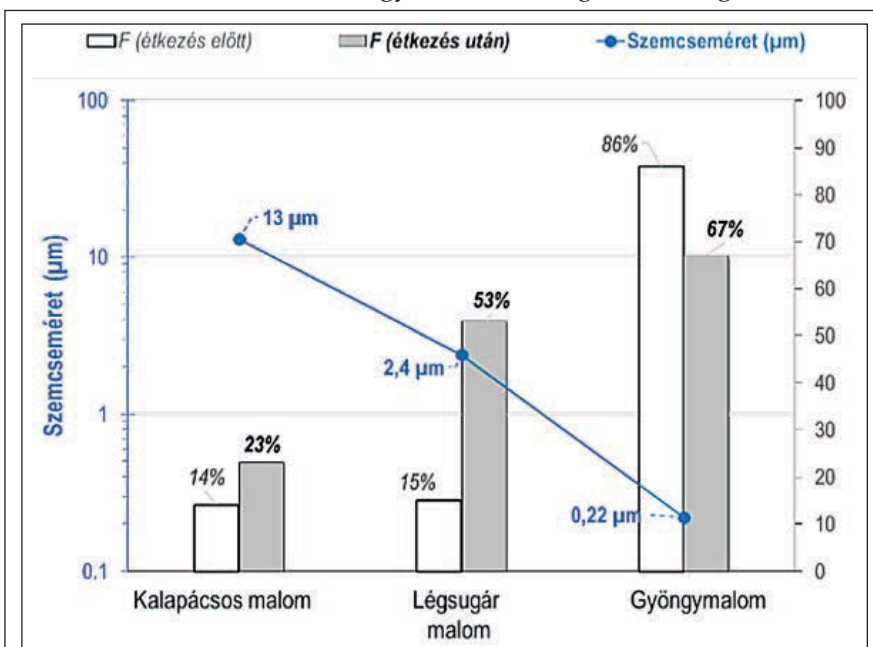
A részecskeméret csökkentésétől (mikronizálás, nanonizálás) elsősorban az alacsony dózisu hatóanyagok esetében várhatunk eredményt a felszívódás növelése céljából. Általában szolubilizáló segédanyag alkalmazása is szükséges az oldódáshoz szükséges és elégséges folyadékterefogat hiányában [54, 55].

A biológiai hasznosíthatóságot növelő szerep összetett módon és több szempont alapján értékelhető, az együtt alkalmazott felületaktív anyag jelenlét egyrészt nélkülözhetetlen lehet a nedvesedés illetve oldódás elősegítésén keresztül is [56]. A fiziológiás kioldóközeg felületi feszültségét a jelenlévő epesavok és lecitin csökkenthetik. Ezek elősegíthetik micellák képződését is, de figyelembe kell venni, hogy a vékonybél felső részeiben (duodenum és jejunum) az epesavok koncentrációjának középértéke éhgyomri állapotban 3-5 mmol/l, étkezés után 30 perccel a csúcskoncentráció a 15 mmol/l-t éri el [57].

Az oldódás elősegítése révén a szemcseméret csökkentése által kivédhető az ételinterakciók hatása, a szubmikronos méret általában kedvezően befolyásolja az *in vivo* farmakokinetika variabilitását is [58, 59].

A nanokristályok és mikronizált szemcsék tulajdonságainak összehasonlítására biztosít lehetőséget a különböző őrlési eljárásokkal nyert szemcsék eredményeinek értékelése [60]. A BCS II. osztályába tartozó cilostazol hatóanyag esetében (vízoldhatósága 25 °C-on 3 µg/ml) kapott kísérleti eredmények szerint (7. ábra) a nanokristály szemcsék esetén nemcsak a biohasznosíthatóság növekedett, hanem az ételinterakció hatása is elkerülhetőnek mutatkozott

A részecskeméret csökkentése elsősorban a II. osztályba tartozó hatóanyagok esetében hatékony lehetőség a biológiai hasznosíthatóság növelésére, azonban gyakran szükség lehet kiegészítő mód-



7. ábra: A biológiai hasznosíthatóság (F%) változása a szemcseméret függvényében

szer alkalmazására, pl. szolubilizáló segédanyag együttes felhasználására [61]. A IV. osztályba tartozó hatóanyagoknál az oldódás elősegítése mellett a permeabilitás fokozása is feladat.

A nanokristályok előállítása során alapvető feladat a megnövelt fajlagos felület stabilizálása. Némely nanométeres részecskék rendkívül érzékenyek környezetük változásaira (hőmérséklet, atmoszféra, stb.). A nagy felület-térfogat arány következményeként nagy felületi szabadenergiával rendelkeznek, ezért instabilisak, és a termodinamikai hajtóerő a részecskék aggregációjához vezet [62]. A részecskék összetapadását vagy összeolvadását, azaz a felületi energia csökkenését korlátozhatjuk, ha a nanorészecskéket egymástól viszonylag távol, szilárd felületű hordozóhoz kötjük. A felületaktív anyagok mellőzésére ad lehetőséget hidrofilizálás céljából a felület plazma-kezelése [63]. Ugyancsak előnyös lehet hidrofil segédanyagok (pl. hidroxipropil-metilcellulóz, karmellóz-nátrium) együttes használata a mikronizálás során [64]. Epesav és ciklodextrin alkalmas lehet komplexképzés céljából [65].

A hordozórendszer legtöbb esetben felületaktív anyagot is tartalmaz, így önmagában nehéz megítélni a szubmikronos szemcseméret szerepét a felszívódás növelésében. Ugyanakkor felületaktív anyag nélkül jelentős különbség adódhat a gyógyszerformában jól definiálható elsődleges és a kioldódás során képződő, kisebb aktív felületet biztosító másodlagos agglomerátumok között.

A gyógyszerforma összetett anyagi rendszer, a nanokristályos hatóanyag és a segédanyagok jellemző tulajdonságaival (részecskeméret, oldhatóság, hidrofil/hidrofób tulajdonság, nedvesítő hatás stb.) együtt alakítják ki az eredő hatást az oldódás során.

Mindazonáltal a nanonizálás jelentős eszköz a hatóanyagok oldódási tulajdonságainak fokozásában illetve a biológiai hasznosíthatóság biztosításában, különösen a Biofarmáciai Osztályozási rendszer II. csoportjába tartozó, 1 mg/ml-nél kisebb vízoldhatósággal rendelkező hatóanyagok esetében.

A részecskeméret csökkentése szerepe a biológiai hasznosíthatóság növelésében csak összetett szempontok alapján ítélni lehet meg, figyelembe kell venni a felszívódási arányszám ( $A_n$ ), a dózis arányszám ( $D_0$ ) és a kioldódási arányszám ( $D_n$ ) értékeit egyaránt [23]. A nanorészecskék előállítása önmagában nem jelent minden esetben megoldást a biológiai hasznosíthatóság növelésére, ezért

mintegy 0,1 mg/ml oldhatóság alatt szerepet kell kapjon a felület hidrofilizálása, illetve más, pl. felületaktív segédanyagok felhasználása.

### Következtetések

A hatóanyag nanorészecskéként vagy nanoszerkezetű hordozórendszerben történő formulálása egyrésztől egyedülálló előnyöket kínál, másrésztől a különleges tulajdonságokkal összemérhető kihívást is jelent. A kedvező biofarmáciai és farmakokinetikai paraméterek biztosítása jelentős feladat a stabilizálás, fizikai kémiai és szerkezeti jellemzés vonatkozásában.

### IRODALOM

1. The International System of Units (SI), 8th Edition, Bureau International des Poids et Mesures, 2006.
2. *Taniguchi, N.*: On the Basic Concept of "Nano-Technology". In: Proc. Intl. Conf. Prod. Eng. Tokyo, Part II., Japan Society of Precision Engineering, 1974.
3. *Jain K.K.*: The handbook of nanomedicine, 1st ed., Humana Press, Totowa, 2008.
4. *Feynman R.P.*: There's Plenty of Room at the Bottom, Eng. and Sci. 23, 22-36 (1960).
5. *Lindsay, S.*: Introduction to Nanoscience, OUP Oxford, 2009, 22-100. old.
6. *Zentai, A., Frecskáné Csáki, K., Szeitzné Szabó, M., Farkas, J., Beczner, J.*: Magy. Tud. 983-992 (2014).
7. *Szebeni, J.*: Neuropsychopharm, Hung, 13, 15-23 (2011).
8. *Duncan, R., Gaspar, R.*: Mol. Pharm. 8(6), 2101-2141 (2011).
9. *Bawa, R.*: Eur. J. Nanomedicine, 3(1), 34-40 (2010).
10. <https://scholar.google.hu> találatai alapján (2016.06.16.).
11. *Kingsley, J. D., Dou, H., Morehead, J., Rabinow, B., Gendelman, H. E., Destache, C. J.*: J. Neuroim. Pharmacol. 13, 340-350 (2006).
12. *Bamrungsap, S., Zhao, Z., Chen, T., Wang, L., Li, C., Fu, T., Tan, W.*: Nanomedicine, 7(8), 1253-1271 (2012).
13. *Junghanns J.U.A.H., Müller R.H.*: Int. J. Nanomedicine. 3, 295-310 (2008).
14. *Panchangam, R. B. S., Dutta, T.*: J. Pharm. Drug. Deliv. Res. doi:10.4172/2325-9604.1000127 (2015).
15. *Hafner, A., Lovrić, J., Lakoš, G. P., & Pepić, I.*: Int. J. Nanomedicine, 9, 1005-1023 (2013).
16. *Sun, T., Zhang, Y. S., Pang, B., Hyun, D. C., Yang, M., Xia, Y.*: Angew. Chem. 53, 12320-12364 (2014).
17. *Kaialy, W., Al Shafiee, M.*: Adv. Coll. Int. Sci. 228, 71-91 (2016).
18. *Toy, R., Peiris, P. M., Ghaghada, K. B., & Karathanasis, E.*: Nanomedicine, 9, 121-134 (2014).
19. *Moghimi SM, Peer D, Langer R.*: ACS Nano 5(11), 8454-8458 (2011).
20. *Truong, N. P., Whittaker, M. R., Mak, C. W., Davis, T. P.*: Exp. Opin. Drug Deliv. 12, 129-142 (2015).
21. *Maeda H, Nakamura H, Fang J*: Adv. Drug Deliv. Rev. 65, 71-79 (2013).
22. *Pallagi, E., Paál, T., Csóka, I.*: Gyógyszerészet, 59, 387-395 (2015).
23. *Antal, I.*: Acta Pharm. Hung., 76, 149-154 (2006).

24. *Rasenack, N., Müller, B.W.*: Pharm. Dev. Technol. 9, 1-13 (2004).
25. *Ambrus, R., Aigner, Z., Simándi, B., Szabóné Révész, P.*: Gyógyszerészet, 50, 287-291 (2006).
26. <http://cdb.iso.org> (2016.05.21.)
27. A Európai Bizottság ajánlása (2011. október 18.) a nanoanyag fogalmának meghatározásáról (2011/696/EU).
28. DBP 762 723, Degussa AG (1942).
29. *Brünner, H.*: Dtsch. Apoth. Ztg. 98, 1005 (1958).
30. *Domingo, C, Saurina, J.*: Anal. Chim. Acta, 744, 8-22 (2012).
31. *Sitterberg, J., Ozcetin, A., Ehrhardt, C., Bakowsky, U.*: Eur. J. Pharm. Biopharm. 74, 2-13 (2010).
32. *Filipe, V., Hawe, A., Jiskoot, W.*: Pharm. Research, 27, 796-810 (2010).
33. *Hooton, J.C., German, C.S., Allen, S., Davies, M.C., Roberts, C.J., Tendler, S.J. B., Williams, P.M.*: Pharm. Res. 20, 508-514 (2003).
34. *Kovács-Kiss D.*: Gyógyszerészet, 54, 544-550 (2010).
35. *Antal, I.*: Acta Pharm. Hung., 76, 95-103 (2006).
36. *Lipinsky, C.*: Am. Pharm. Rev. 6, 82-85 (2002).
37. *Liversidge, G.G., Cundy, K.C.*: Int. J. Pharm. 125, 91-97 (1995).
38. *Noyes, A.A., Whitney, W.R.*: J. Am. Chem. Soc. 19, 930-934 (1897).
39. *Antal, I.*: Acta Pharm. Hung., 71, 280-288 (2001).
40. *Leuner, C., Dressman, J.*: Eur. J. Pharm. and Biopharm. 50, 47-60 (2000).
41. *Finholt, P.*: Influence of formulation on dissolution rate, in: L.J. Leeson, J.T. Carstensen (Eds.), Dissolution Technology, Whitlock Press, Washington, DC, 1974, pp. 106-146.
42. *Wang, Q., Robert, F., Xu, H., Li, X.*: J. Zhejiang Univ. Sci. B. 6(8), 705-707 (2005).
43. *Adamson, W., Gast, A.P.*: Physical Chemistry of Surfaces. New York: Wiley; 1997.
44. *Smet, Y.D., Deriemaeker, L., Finsy, R.*: Langmuir. 13, 6884-6888 (1997).
45. *Carstensen, J.T.*: Advanced Pharmaceutical Solids, Marcel Dekker Inc., New York, 2001. p 46.
46. *Kipp JE*: The role of solid nanoparticle technology in the parenteral delivery of poorly water-soluble drugs. Int. J. Pharm. 284(1-2), 109-122 (2004).
47. *Mosharraf, M., Nyström, C.*: Int. J. Pharm. 122, 35-47 (1995).
48. *Müller R.H., Jacobs, C., Kayser, O.*: Adv. Drug Del. Rev. 47, 3-19 (2001).
49. *Bisrat, M.; Nyström, C.*: Int. J. Pharm. 47, 223-231 (1988).
50. *Scholz, A., Abrahamsson, B., Diebold, S.M., Kostewicz, E., Polentarutti, B.I., Ungell, A.L., Dressman, J.B.*: Pharm. Res. 19, 42-47 (2002).
51. *Chakrabarti, S., Van Severen, R. and Braeckman, P.*: Pharmazie, 33, 338-339 (1978).
52. *Shah D.A., Murdande S.B, Dave R.H.*: J. Pharm. Sci. doi: 10.1002/jps.24694 (2015).
53. *Amidon, G. L., Lennernas, H., Shah, V.P., Crison J.R.*: Pharm. Res. 12, 413-420 (1995).
54. *Jounela, A.J., Pentikainen, P.J., Sothmann, A.*: Eur. J. Clin. Pharmacol. 8, 365-370 (1975).
55. *Dressman, J.B. , Fleisher, D.*: J. Pharm. Sci. 75, 109-116 (1986).
56. *Shah, V.P., Konecny, J.J., Everett, R.L., McCullough, B., Noorizadeh, A.C. , Skelly, J.P.*: Pharm. Res. 6, 612-618 (1989).
57. *Dressman J.B., Amidon G.L., Reppas C., Shah V.P.*: Pharm. Res. 15, 11-22 (1998).
58. *Lim, J.G. P; Shah, B.; Rohatagi, S., Bell, A.*: Am. J. Ther. 13, 32-42 (2006).
59. *Martinez, M., Augsburg, L., Johnston, T., Jones, W.W.*: Adv. Drug Del. Rev. 54, 805-824 (2002).
60. *Jinno, J., Kamada, N., Miyake, M., Yamada, K., Mukai, T., Odomi, M., Toguchi, H., Liversidge, G.G., Higaki, K., Kimura, T.*: J. Cont. Rel. 111, 56 - 64 (2006).
61. *Strickley, R.G.*: Pharm. Res. 21, 201-230 (2004).
62. *Horváth, A., Beck, A., Sárkány, A., Gucci, L.*: Magy, Kém, Foly. 111, 62-69 (2005).
63. *Naseem A, Ollif C.J., Martini, L.G.*: Int. J. Pharm. 269, 443-450 (2004).
64. *Rasenack, N., Steckel H., Müller B.W.*: Powder Technol. 143-144, 291-296 (2004).
65. *Wongmekiat, A., Tozuka, Y., Oguchi, T., Yamamoto, K.*: Pharm. Res. 19, 1867-1872 (2002).

Érkezett: 2016. június 17.

## Nano- és mikroszálás rendszerek gyógyászati alkalmazási lehetőségei

KAZSOKI ADRIENN, SZABÓ PÉTER, ZELKÓ ROMÁNA

Egyetemi Gyógyszertár Gyógyszerügyi Szervezési Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest, Hőgyes E. u. 7-9. – 1092  
\*Levelezési cím: zelko.romana@pharma.semmelweis-univ.hu

### Summary

KAZSOKI, A., SZABÓ, P., ZELKÓ, R.: **Medical application possibilities of nano- and microfibrinous systems**

The nano- and micro fibrous systems in the textile- and plastics industry have already been used, although the opportunity for using them as medical devices has only come in recent years into view. Since then in medical sciences they have shown promise in different therapeutic purposes.

The manuscript summarizes the opportunities for medical use of the nano- and micro fibrous systems.

**Keywords:** nano- and microfibrinous systems, medical applications, wound dressing, stents, tissue engineering, nanofiber scaffolds, grafts

### Összefoglalás

A nano- és mikroszálás rendszerek felhasználása a textil- és a műanyagiparban hosszabb múltra visszatekintő történettel rendelkezik, azonban a gyógyászati alkalmazásukban rejlő lehetőségek csak az utóbbi években kerültek előtérbe. Azóta az orvostudomány számos területén ígéretesnek bizonyultak.

A közlemény áttekintést nyújt a nano-és mikroszálás rendszerek gyógyászati alkalmazási lehetőségeiről.

**Kulcsszavak:** nano- és mikroszálás rendszerek, gyógyászati alkalmazás, sebkezelés, sztentek, háromdimenziós szövettenyésztés, nanoszálás vázszerkezet, szövetépítés

### Bevezetés

A nano- és mikroszálás rendszerek gyógyászati alkalmazása az utóbbi években került az érdeklődés középpontjába, és vált egyre intenzívebben kutatott területté. A sokféle alapanyagból, többféle szálképzési eljárással, változatos körülmények között előállított szálak illetve szálás rendszerek az orvostudomány számos területén teret nyertek. Gyógyszer bevitelére alkalmas hordozók, vérzés-csillapító eszközök, kötszerek, sebtapaszkok, mesterséges véredények, bőr analógok, térbeli vázszerkezetek előállítása során egyaránt használatosak. A sebfedés, a sebgyógyítás és az igen intenzíven fejlődő regeneratív szövetépítés területén igen ígéretesnek bizonyultak [1, 2].

Jelen összefoglaló célja a nano- és mikroszálás rendszerek sokrétű gyógyászati felhasználási lehetőségeinek bemutatása.

### Sebkezelő rendszerek

A sérülések következtében kialakult szövethiányok sebgyógyulással pótlódnak. A pótlás lehet teljes (*restitutio ad integrum*), amikor közel eredeti állapot áll vissza, de néha csak ún. reparáció törté-

### Rövidítésjegyzék:

BMS stent)	csupasz fém sztent (bare-metal stent)
DES	gyógyszert kibocsátó sztent (drug-eluting stent)
ISR	insztent restenózis (in-stent restenosis)
MMA-BMA-MAA	metil-metakrilát-butil-metakrilát-metakrilát-sav
PAA	poli(akrilsav)
PAN	poli(akrilnitril)
PBMA	poli(n-butyl-metakrilát)
PBT	poli(butylén-tereftalát)
PCL	poli(kaprolakton)
PEO	poli(etilén-oxid)
PEVA	etilén-vinil-acetát-kopolimer
PGA	poli(glikolsav)
PHBV	poli(hidroxibutirát-valerát) kopolimer
PLA	poli(tejsav)
PLGA	poli(tejsav-glikolsav)
POE	poli(ortoészter)
PPC	polipropilén-karbonát
PSSA-MA	poli(sztírol-szulfonsav-maleinsav) kopolimer
PVA	poli(vinil-alkohol)
PVAc	poli(vinil-acetát)
PVP	poli(vinilpirrolidon)
SIBS	poli(sztírol-b-izobutylén-b-sztírol)
ST	sztent trombózis

nik, ekkor a seb kiterjedt hegesedéssel gyógyul. A sebgyógyulás során szövetsarjadzással járó, ún. proliferatív gyulladáshoz hasonló reakció zajlik. Célja a primer vérzéscsillapítás, a kiszáradás és fertőzés elleni védekezés. A zavartalan sebgyógyulás feltételei: a tiszta sebviszonyok, a kielégítő oxigénellátottság és a kielégítő makrofág funkció [3, 4].

Krónikus sebek kezelésére kiemelt figyelmet kell fordítani, mert a fertőzések és szövődmények kialakulásának kockázata igen magas [5]. A kezelés nedves sebkörnyezetet igényel. Ez serkenti a sebgyógyulást, mert védi a sebet a kiszáradástól. A sebgyógyulás fázisainak történéseit felgyorsítja, mivel megfelelő közeget biztosít a növekedési faktorok és immunsejtek számára. Elősegíti az angiogenezist, a celluláris regenerációt és proliferációt, valamint az epitelizációt [3].

Az elektrosztatikus, rotációs és pneumatikus szálképzéssel előállíthatók rendezetlen struktúrájú, ún. nem-szőtt nano- és mikroszálas szövetek önállóan, vagy segédhordozó rendszerrel együtt alkalmazhatók.

A polimer alapú nanoszálás sebkezelő rendszerek számos előnnyel rendelkeznek a krónikus sebkezelés területén. Képesek a hemosztázis indukciójára. Porózus tulajdonságuknak köszönhetően megkönnyítik a sejtlegzést, ezáltal biztosítják a megfelelő oxigénellátottságot a zavartalan sebgyógyuláshoz [6].

A seb típusától, valamint a kezelés céljától függően a hordozó polimerként alkalmazható a szervezet számára tolerálható biokompatibilis, vagy a szervezetben lebomló biodegradábilis polimer is. Egyes polimerek (pl. az alginátok vagy a polivinilpirrolidon (PVP)-származékok) képesek a sebváladékot megkötve hidrogéllé alakulni, és szabályozni a nedvességtartalmat a seb környezetében. Más polimerek, mint pl. a kitozán antibakteriális tulajdonsággal rendelkeznek [7-9].

Számos antibakteriális hatású anyagot építettek be változatos összetételű polimer mátrixokba különböző szálképzési eljárásokkal [10]. A sebkötöző rendszerek antibakteriális hatóanyaga biztosítja a sebek alacsony baktériumterhelését. A lokális antibiotikum terápiával elkerülhetők a szisztémás kezelés okozta nem-kívánatos mellékhatások, így kevésbé megterhelő a szervezet számára.

Ciprofloxacin-HCl hatóanyagot tartalmazó nanoszálás sebkötöző rendszer előállítását több kutatócsoport is megvalósította. Az antibakteriális anyagot változatos összetételű polimer mátrixokba építették be elektrosztatikus szálképzéssel. *Unnithan és társai* dextrán-poliuretán (PU) [11],

*Serincay és társai* poli(vinil-alkohol) (PVA) – poli(akrilsav) (PAA) [12], *Parve és társai* poli(tejsav) (PLA) [13], míg *Jannesari és társai* PVA-poli(vinil-acetát) (PVAc) [14] polimerhordozót alkalmaztak. Valamennyien vizsgálták hatóanyag tartalmú nanoszálak morfológiáját, hatóanyag-leadását, antibakteriális aktivitását, melyet különböző Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumokon teszteltek. Mindegyik rendszer ígéretesnek bizonyult. *Khampieng és társai* doxiciklint épített be PAA nanoszálba. A kérdéses rendszerre a vizsgált Gram-pozitív baktériumok nagyfokú érzékenységet mutattak, míg a Gram-negatívoknál az antimikrobiális aktivitás némileg független volt a hatóanyag koncentrációjától [15]. A neomicin poli(sztírol-szulfonsav-maleinsav)kopolimer (PSSA-MA) - PVA polimer mátrixba való beépítése is megtalálható az irodalomban [16]. Az *in vivo* sebgyógyulási eredményeket összehasonlítva, az aminoglikozid antibiotikumot tartalmazó nanoszálás rendszer szignifikánsan jobbnak bizonyult a sima géz, illetve a kereskedelmi forgalomban elérhető Sofra-tulle® antibakteriális géz köztűzűhöz képest. A tetraciklin-hidrokloridot *Zahedi és társai* poli(kaprolakton) (PCL) - PLA [17], míg egy másik munkacsoport tagjai (*Kenawy és társai*) PLA - etilén-vinil-acetát-kopolimer (PEVA) [18] mátrixba építették be. *Yang és társai* a béta-laktám ampicillinből egy poli(akrilnitril) (PAN) - agar alapú nanoszálás rendszert formuláltak [19].

Az antibiotikum előnyösen kombinálható más hatóanyagokkal a hatékonyabb sebgyógyulás elérése céljából. *Thauker és társai* az antibiotikum mupirocinból és a helyi érzéstelenítő lidokainból álló, kettős hatóanyagú nanoszálás rendszer előállítását valósították meg. A PLA szálas készítése során kétféle készüléket: egy és két porlasztófejes elektrosztatikus szálképzőt is alkalmaztak. Az egy porlasztófejes alkalmazása során kedvezőtlen kölcsönhatás lépett fel a hatóanyag és a polimer között. A két porlasztófejes esetben olyan rendszert kaptak, ahol a két hatóanyag eltérő kioldódás-profillal rendelkezett. A lidokain esetében gyors hatóanyag-leadás, míg a mupirocin esetében nyújtott hatóanyag-leadás volt tapasztalható, ami 72 órán keresztül antibiotikus aktivitást biztosított [20].

Mivel az ezüst antibakteriális hatással rendelkezik, manapság nagy jelentősége lehet az újabb és újabb antibiotikumokra is rezisztenssé váló baktériumok elleni küzdelemben [21]. *Hong és társai* PVA és ezüst-nitrát vizes oldatából állítottak elő nanoszálakat UV és 150 °C-os hőkezeléssel. Az



AgNO<sub>3</sub> mindkét esetben ezüstté redukálódott, de csak a hőkezelésnél alakultak ki keresztkötések a polimerláncok között. Az antibakteriális aktivitást *Staphylococcus aureus* és *Klebsiella pneumonies* baktériumokon végezték el, amely pozitív eredménnyel zárult [22].

Az előnyös hatóanyag-kombinációkat a sebkezelők nemcsak egyrétegű rendszerben tartalmazhatják, hanem megfelelő eljárással többrétegű rendszer fejlesztésére is lehetőség nyílik. Olyan kétrétegű fájdalomcsillapító sebkötöző rendszert állítottak elő karboximetilcellulóz és poli(etilén-oxid) (PEO) polimerből, amely a hatékony fájdalomcsillapítás érdekében két hatóanyagot, a nemszteroid gyulladáscsökkentő diklofenákot és a helyi érzéstelenítő lidokaint tartalmazta. A kereskedelemben elérhető Aquacel® impregnálásával és elektrosztatikus szálképzéssel állítottak elő kétrétegű rendszert [23].

Kereskedelmi forgalomban elérhető a Bio-brane™ (*Smith & Nephew*) kollagén-nejlon-szilikon nanoszálal sebkötöző rendszer [24]. A HemCon Medical Technologies INC kitozán nanoszálal ChitoFlex® kötőzője is forgalomban van [25].

### Szent

Napjainkban az epidémiának tekinthető kardiovaszkuláris betegségek patomechanizmusában az ateroszklerózis kulcsfontosságú. A gyógyszeres terápia mellett, a sebészi revaszkularizáció (érszűkítés pótlás vagy áthidalása), valamint a minimál invazív perkután transzluminális angioplasztika lehet a kezelés módja.

A sztentek a kardiovaszkuláris rendszerbe ültetett endoprotézisek, amelyek az érfal kitámasztásáról gondoskodnak. Rendeltetésük, hogy meggátolják az ér visszaszűkülését. Csúszás fémszentek (BMS) alkalmazása utáni insztent resztenózis (ISR) aránya jelentős volt. A sztenteket bevonattal látták el, hogy a vérlemezkék aktivációját megakadályozzák. Ez azért fontos, mert a tágitott érszakaszban sztent nélkül is megnő a trombocita-aktiváció. Aktív bevonat alatt a szabályozott gyógyszerleadású rendszereket értjük, míg a passzív bevonatok elhatároló rétegeként működnek. Biodegradábilis (poli(tejsav-glikolsav) PLGA, poli(kaprolakton) (PCL), poli(hidroxibutirát-valerát)kopolimer (PHBV), poli(ortoészter) (POE), PEO/ poli(butilén-tereftalát) (PBT) és nem biodegradábilis polimerekből (PU, szilikon, metil-metakrilát-butil-metakrilát-metakrilát-sav (MMA-BMA-MAA)) is készíthetők passzív és aktív bevonatok. A leghaté-

konyabb módja az ISR megakadályozásának a gyógyszerbevonatos sztentek alkalmazása. A relatív magas helyi koncentrációban jelen lévő gyógyszerek citosztatikus vagy immunszuppresszív hatásuk révén gátolják a simaizom sejtek migrációját. A gyógyszert kibocsátó sztentek (DES) első generációját egy speciális polimer vonja be, mely megköti a palcitaxelt (TAXUS®) vagy a sirolimust (CYPHER®) és lassan bocsátja ki a sztent környezetébe. TAXUS sztentnél gyógyszerrel kevert réteget vittek fel a sztent felszínére [26]. A bevonat elkészítéséhez poli(sztírol-b-izobutilén-b-sztírol) (SIBS) polimert használtak. CYPHER sztentnél etilén-vinil-acetát-kopolimer (PEVA) és poli(n-butil-metakrilát) (PBMA) polimerek alkotják a bevonat alaprétegét, amit egy PBMA alapanyagú külső szabályozó réteggel láttak el, elkerülve ezzel az első napokban bekövetkező túlzott hatóanyag-felszabadulást [27].

Annak ellenére, hogy a DES szignifikánsan csökkentette a BMS implantációhoz képest az ismételt revaszkularizációt igénylő resztenózist [28], a késői (egy éven belül bekövetkező), valamint a nagyon késői (egy éven túl jelentkező) sztent trombozissal (ST) aránya magasabb volt [28-30], ami különösen a kettős trombocita-aggregáció gátló kezelés (acetilszalicilsav és tienopiridin) elhagyása után jelentkezett [31]. A sztent felszín tökéletlen endotelizációja, a gyógyszert hordozó polimer gyulladást okozó hatás, valamint helyi gyógyszer toxicitás állhatott a kedvezőtlen hatások hátterében.

A második generációs sztentek fejlesztése során DES alapját képező fémszentek flexibilitását, radiális erejét növelték, míg a bordázat vastagságát csökkentették. Más gyógyszereket (zotarolimus és everolimus) is felvittek a részlegesen felszívódó biokompatibilis polimer hordozó rétegre [32-34]. Elsősorban hidrofób bevonatokat pl. PGA, PLA PCL alkalmaznak, mivel ezek csak hosszabb idő után (hónapok alatt) bomlanak le. A Conor Costar (Biotronik) sztent egy vékony polimer réteggel lefedett gyógyszerrezervoár, melynél a kioldódás sebességét a polimer réteg szabályozza. A paklitaxelt a rezervoároknak lévő PLGA-mátrixba ágyazták be [27]. A második generációs DES-ek biztonságosnak és hatékonyak bizonyultak, az ST előfordulása nem volt jellemző.

A polimerek lehetséges gyulladást kiváltó hatása miatt, a gyógyszer felvitelét polimer nélkül is megvalósították. Achieve sztentnél palcitaxel hatóanyagot vittek fel a felületre, palcitaxel-etanol oldatba való mártással. Ezzel folyamatos, de nem egyenletes hatóanyag-leadást értek el [27].

A fejlesztések következő lépcsője felszívódó polimer alapú, gyógyszerkibocsátó sztent volt. Forgalomban van az Abbott cég által kifejlesztett PLA alapú Absorb sztent, mely everolimus hatóanyagot ad le [35]. A beültetés után kb. 18 hónappal eltűnik az érfalból. Előnye, hogy nem marad permanens fémimplantátum a szervezetben. A fejlesztés hátránya, hogy fagyasztva kell tárolni, rövid a felhasználhatósági időtartama és törékeny.

A fentiek alapján megállapítható, hogy a különböző összetételű polimer-gyógyszer réteg változatos módon felvihető a fém sztentre. A sztentek polimer nano- és mikroszálakkal való borítása kifejezetten előnyös porózus tulajdonságot is biztosít a bevonatnak. Az irodalomban megtalálható nedves szálképzéssel előállított poliuretán szál as bevonat is [36]. Azonban ennél ígéretesebb módszernek bizonyult a bevonat elektrosztatikus szálképzéssel való létrehozása. Ezzel a módszerrel egyenes rétegvastagságú, jó tapadási tulajdonsággal rendelkező, biokompatibilis bevonat állítható elő. A szálakba különböző hatóanyagokat is be lehet építeni, melyek szabályozott módon való felszabadulása is biztosítható. Az eljárás kifejezetten jól alkalmazható több rétegű és/vagy több komponensű bevonat előállításra is [37].

Kereskedelmi forgalomban elérhető a Biotronik Papyrus sztent rendszere, amelyet elektrosztatikus szálképzéssel előállított poliuretán membrán borít. Rugalmasabb és kisebb átmérőjű sztent a behelyezés szempontjából kifejezetten előnyös [38].

### Szövet- és szerv regeneráció (*tissue engineering*)

A háromdimenziós szövettenyésztés (*tissue engineering*) az emberi test egyes részeinek regenerálásával vagy újraelőállításával foglalkozik, mely különféle sejtenyésztési módszerek, biológiai anyagok valamint megfelelő biológiai és biokémiai faktorok segítségével valósul meg. Fontos, hogy *in vitro* olyan szöveteket állítsunk elő, hogy azok mind szerkezetük, mind élettani tulajdonságaik vonatkozásában a lehető legjobban megközelítsék a természetes szövetekét [39, 40]. A szövetek előállítása sejtek élettani környezetének szimulálására képes bioreaktorokban történik, amely során gyakran alkalmaznak különböző biológiai anyagokat, amelyek térbeli vázként szolgálnak a szövetet alkotó sejtek számára [41].

A különféle *tissue engineering* célra használt természetes vagy szintetikus anyagoknak szigorú követelményeknek kell megfelelni. Nagyon fontos

kritérium a biokompatibilitás. Nem válhatnak ki immunreakciót, mert így a beültetett anyag csak krónikus gyulladást okozna. Az anyag felszínének fizikai-kémiai tulajdonságai is nagy jelentőséggel bírnak: fontos, hogy a sejtek és a természetes extracelluláris mátrix molekulák kapcsolatba tudjanak lépni. A porozitás is rendkívül fontos tényező, ez biztosítja a sejtek egyenletes eloszlását kiültetéskor, valamint a későbbi sikeres vaszkularizációt. Éppen ezért sok egymással kapcsolatban lévő pórust kell tartalmaznia; 90% feletti porozitás az ajánlott. A szabályozott biodegradáció biztosítja, hogy a beültetett anyag fokozatosan lebomlik a recipiens szervezetében, és a helyét átveszi a sejt közötti állomány, melyet a beültetett vagy később odavándorló sejtek termelnek [39, 42].

A vázszerkezetek előállíthatók elektrosztatikus szálképzéssel is [43]. A technika előnye, hogy a szövet előállításához nem szükséges extrém nyomás vagy hőmérséklet. Az alkalmazás függvényeként optimalizálható a szálvastagság, a porozitás és a pórusátmérő, valamint a szálorientáció is kontrollálható [1]. Sokféle alapanyagú vázszerkezet előállítására is van lehetőség pl. kollagén, selyem, fibrinogén, kitozán, alginát, agaróz, hialuronsav PLA, PLGA stb. kombinálásával [44]. Az anyagba gyógyszereket vagy más bioaktív anyagokat (növekedési vagy sejtdifferenciációt irányító faktorokat) ágyazhatunk be, melyek a degradáció során kontrolláltan szabadulnak fel. Ezzel megoldhatóvá válik a növekedési faktorok hatásidejének elnyújtása és lokális koncentrációjának szabályozása [45].

Ez a gyors ütemben fejlődő tudományos terület a lehetőségek széles skáláját foglalja magába. Gyakorlatban elsősorban a bőr-, a csontszövet és az erek regenerációját jelenti.

#### *Mesterséges erek*

A súlyosan károsodott vagy elzáródott ereket, ha azok természetes úton nem helyettesíthetők, graftokkal kell helyettesíteni, amelyek készülhetnek a szervezet más helyéről származó saját erekből, de mesterséges erek alkalmazása is lehetséges. A vázszerkezet alapját leggyakrabban az alábbi polimerek képezik: PCL, PLGA, poli(propilén-karbonát) (PPC), selyem, kollagén, elasztin [46-55].

#### *Mű-véredény hemodialízishez*

Veseelégtelenségben szenvedő betegek jelentős ré-

szének hemodialízisre van szüksége, amely során egy vénából vezetik ki a vért egy szűrőberendezésbe, onnan pedig vissza a test egyik artériájába. Az állandó túszúrás a hetente több alkalommal végzett eljárás velejárója, ami az érfal számára nagyon megterhelő lehet. Az erek állapota nagyban meghatározza az eljárás alkalmazhatóságát. A probléma kiküszöbölésére a graftok beültetése lehet egy kézenfekvő megoldás, melyet elsősorban rossz saját érrendszerű betegeknél alkalmaznak. Forgalmában van a Nicast AVflo™ mű-véredénye [56]. A biokompatibilis, nanoszálalás poliuretán implantátumot egy artéria és egy véna közé ültetik be, majd ezt követően ebből történik a vér ki- és bevezetése.

#### Csontszövet-regeneráció

A csontszövet előállításánál a vázszerkezet mechanikai tulajdonságai különösen fontosak, mivel ezek a szövetek fizikai terhelésnek vannak kitéve. Természetes és szintetikus polimereket is alkalmaznak a vázszerkezetek előállításához. Gyakori a kitozán, a kollagén, az alginát, PCL, PGA, PLA, PLGA vagy ezek kombinációinak alkalmazása. A kitozán alkalmazása kifejezetten előnyös, mivel serkentően hat az oszteoblaszt-differenciálódásra. A megfelelő mechanikai tulajdonságot hidroxipatit vagy kerámia alapú bioanyagok (pl. bioaktív üveg) hozzáadásával érik el [57-63].

#### Bőr graftok

A tissue engineering útján előállított bőrnek kiemelkedő szerepe van súlyos, nagy bőrfelületet érintő sérülések, különösen a nagyon súlyos égési sérülések kezelésében, ahol a limitáló faktor általában az autológ bőr hiánya.

A bőr graftok előállításánál gyakran alkalmazzák a hialuronsavat, mivel fontos szerepet játszik a sebgyógyulásban és a regenerációban. Leggyakrabban hidrogél formájában alkalmazzák önmagában vagy polimerekkel kombinálva. Gyakori a kollagén, a zselatin és a PCL felhasználása is [64-68].

Az Integra® (Integra Life Sciences) egy nanoszálalás kollagén-glikozaminoglikán-szintetikus polisziloxán alapú bőr analóg. A két rétegből álló bőr-regenerációs templát a bőr teljes mélységét segít regenerálni. A külső réteg az első, azaz a szilikon réteg, ez funkcionál epidermiszként. A második réteg egy porózus mátrix, amely a dermiszt pótolja. Az égett területre helyezve a dermális rész váz-

ként funkcionál és stimulálja a bőr regenerációját. A szilikon réteg pedig védi az égési sérülést a fertőzésektől és a hőveszteségtől [39, 69].

Forgalmában van még az Apligraf® (Novartis) [70-73] és a Dermagraft-TC® (Advanced Tissue Sciences INC) [74, 75] bőr analóg is.

#### Összefoglalás

A nano- és mikroszálalás rendszerek gyógyászati felhasználása igen sokrétű. Számos előnnyel rendelkeznek a krónikus sebek kezelésében. A változatos összetételű polimer mátrixba beépíthető akár egy vagy több hatóanyag is, melyek eltérő kioldódás-profillal rendelkezhetnek, elősegítve ezzel a hatékonyabb sebgyógyulást. Jól alkalmazhatóak gyógyszerbevonatos sztentek előállításában. A fém sztent különböző polimer nano- és mikroszálalakkal való borítása kifejezetten előnyös porózus tulajdonságot biztosít az aktív bevonatnak, melyből a hatóanyag szabályozott módon szabadul fel. A nano- és mikroszálalás rendszerek a nagyon gyors ütemben fejlődő regeneratív medicina területén is ígéretesnek bizonyultak. Sokféle funkciójú, változatos térbeli vázszerkezet előállítására is alkalmasak.

#### IRODALOM

1. Sill, T.J. and H.A. von Recum: Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials*, 29(13), 1989-2006 (2008).
2. Sharma, J., et al.: Multifunctional nanofibers towards active biomedical therapeutics. *Polymers*, 7(2), 186-219 (2015).
3. Gaál, C.: Sebészet, ed. M.K. Zrt. 2007, Budapest.
4. Vágvolgyi, Á.: Gyógyszertan, ed. K. Bt. 2013.
5. Boateng, J. and O. Catanzano: Advanced Therapeutic Dressings for Effective Wound Healing - A Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 104(11), 3653-3680 (2015).
6. Zahedi, P., et al.: A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages. *Polymers for Advanced Technologies*, 21(2), 77-95 (2010).
7. Archana, D., P.K. Dutta, and J. Dutta: Chitosan: A potential therapeutic dressing material for wound healing, in *Chitin and Chitosan for Regenerative Medicine*. 2015. p. 193-227.
8. Abdelgawad, A.M., S.M. Hudson, and O.J. Rojas: Antimicrobial wound dressing nanofiber mats from multicomponent (chitosan/silver-NPs/polyvinyl alcohol) systems. *Carbohydrate Polymers*, 100, 166-178 (2014).
9. Torres-Giner, S., M.J. Ocio, and J.M. Lagaron: Development of active antimicrobial fiber based chitosan polysaccharide nanostructures using electrospinning. *Engineering in Life Sciences*, 8(3), 303-314 (2008).
10. Ulubayram, K., et al.: Nanofibers based antibacterial

- drug design, delivery and applications. *Current Pharmaceutical Design*, 21(15), 1930-1943 (2015).
11. *Unnithan, A.R., et al.*: Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun polyurethane-dextran nanofiber mats containing ciprofloxacin HCl. *Carbohydrate Polymers*, 90(4), 1786-1793 (2012).
  12. *Serinçay, H., et al.*: PVA/PAA-Based Antibacterial Wound Dressing Material with Aloe Vera. *Polymer - Plastics Technology and Engineering*, 52(13), 1308-1315 (2013).
  13. *Parwe, S.P., et al.*: Synthesis of ciprofloxacin-conjugated poly (L-lactic acid) polymer for nanofiber fabrication and antibacterial evaluation. *International Journal of Nanomedicine*, 9(1), 1463-1477 (2014).
  14. *Jannesari, M., et al.*: Composite poly(vinyl alcohol)/poly(vinyl acetate) electrospun nanofibrous mats as a novel wound dressing matrix for controlled release of drugs. *International journal of nanomedicine*, 6, 993-1003 (2011).
  15. *Khampieng, T., G.E. Wnek, and P. Supaphol*: Electrospun DOXY-h loaded-poly(acrylic acid) nanofiber mats: In vitro drug release and antibacterial properties investigation. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 25(12), 1292-1305 (2014).
  16. *Nitanan, T., et al.*: Neomycin-loaded poly(styrene sulfonic acid-co-maleic acid) (PSSA-MA)/polyvinyl alcohol (PVA) ion exchange nanofibers for wound dressing materials. *International Journal of Pharmaceutics*, 448(1),71-78 (2013).
  17. *Zahedi, P., et al.*: Preparation and performance evaluation of tetracycline hydrochloride loaded wound dressing mats based on electrospun nanofibrous poly(lactic acid)/poly( $\beta$ -caprolactone) blends. *Journal of Applied Polymer Science*, 124(5), 4174-4183 (2013).
  18. *Kenawy, E.R., et al.*: Release of tetracycline hydrochloride from electrospun poly(ethylene-co-vinylacetate), poly(lactic acid), and a blend. *Journal of Controlled Release*, 81(1-2), 57-64 (2002).
  19. *Yang, H., et al.*: Antibacterials loaded electrospun composite nanofibers: Release profile and sustained antibacterial efficacy. *Polymer Chemistry*, 5(6), 1965-1975 (2014).
  20. *Thakur, R.A., et al.*: Electrospun nanofibrous polymeric scaffold with targeted drug release profiles for potential application as wound dressing. *International Journal of Pharmaceutics*, 364(1), 87-93 (2008).
  21. *Rai, M., A. Yadav, and A. Gade*: Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 27(1), 76-83 (2009).
  22. *Hong, K.H.*: Preparation and properties of electrospun poly (vinyl alcohol)/silver fiber web as wound dressings. *Polymer Engineering and Science*, 47(1), 43-49 (2007).
  23. *Maver, T., et al.*: Electrospun nanofibrous CMC/PEO as a part of an effective pain-relieving wound dressing. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 2015.
  24. <http://www.smith-nephew.com/key-products/advanced-wound-management/other-wound-care-products/biobrane/>. (2016.05.04)
  25. <http://www.hemcon.com/products/hemconchitoflexhemostat/icddressingoverview.aspx>. (2016.05.04)
  26. *Okner, R., et al.*: Electrocoating of stainless steel coronary stents for extended release of Paclitaxel. *Materials Science and Engineering C*, 27(3), 510-513 (2007).
  27. *Bognár, E.*: Koszorúértentek passzív és aktív bevonatai és bevonatolási technológiai PhD-értekezés. 2009.
  28. *Jensen, L.O., et al.*: Stent Thrombosis, Myocardial Infarction, and Death After Drug-Eluting and Bare-Metal Stent Coronary Interventions. *Journal of the American College of Cardiology*, 50(5), 463-470 (2007).
  29. *Baory, A.A., et al.*: Late Thrombosis of Drug-Eluting Stents: A Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *The American Journal of Medicine*, 119(12), 1056-1061 (2006).
  30. *Daemen, J., et al.*: Early and late coronary stent thrombosis of sirolimus-eluting and paclitaxel-eluting stents in routine clinical practice: data from a large two-institutional cohort study. *The Lancet*. 369(9562), 667-678.
  31. *Cook, S., et al.*: Impact of incomplete stent apposition on long-term clinical outcome after drug-eluting stent implantation. *European Heart Journal*, 33(11), 1334-1343 (2012).
  32. *Sun, D., et al.*: Coronary drug-eluting stents: From design optimization to newer strategies. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 102(5), 1625-1640 (2014).
  33. *Whitbeck, M.G. and R.J. Applegate*: Second generation drug-eluting stents: A review of the everolimus-eluting platform. *Clinical Medicine Insights: Cardiology*, 7, 115-126 (2007).
  34. *Maeng, M., et al.*: Zotarolimus-eluting versus sirolimus-eluting coronary stent implantation. *Interventional Cardiology*, 2(6), 807-812 (2010).
  35. *Ormiston, J.A., M.W.I. Webster, and G. Armstrong*: First-in-human implantation of a fully bioabsorbable drug-eluting stent: The BVS poly-L-lactic acid everolimus-eluting coronary stent. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 69(1), 128-131 (2007).
  36. *Cottone, R.J.*: Endoprosthesis having graft member and exposed welded end junctions, method and procedure. 1996, Google Patents.
  37. *Dubson, A. and E. Bar*: Medicated polymer-coated stent assembly. 2004, Google Patents.
  38. [http://www.biotronik.com/wps/wcm/connect/en\\_de\\_web/biotronik/sub\\_top/healthcareprofessionals/Products+and+Therapies/coronary\\_vascular\\_intervention/#jump](http://www.biotronik.com/wps/wcm/connect/en_de_web/biotronik/sub_top/healthcareprofessionals/Products+and+Therapies/coronary_vascular_intervention/#jump). (2016.05.04.)
  39. *Bartis Domonkos: D.P.J., Háromdimenziós szövet-tenyésztés*. 2011.
  40. *Katari, R.S., A. Peloso, and G. Orlando*: Tissue Engineering. *Advances in Surgery*, 48(1), 137-154 (2014).
  41. *Zhao, J., et al.*: Bioreactors for tissue engineering: An update. *Biochemical Engineering Journal*, 109, 268-281 (2016).
  42. *Bambole, V. and J.V. Yakhmi*: Chapter 14 - Tissue engineering: Use of electrospinning technique for recreating physiological functions A2 - Grumezescu, Alexandru Mihai, in *Nanobiomaterials in Soft Tissue Engineering*. 2016, William Andrew Publishing. p. 387-455.
  43. *Repanas, A., S. Andriopoulou, and B. Glasmacher*: The significance of electrospinning as a method to create fibrous scaffolds for biomedical engineering and drug delivery applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 31, 137-146 (2016).
  44. *Unnithan, A.R., R.S. Arathyram, and C.S. Kim*: Chapter 3 - Electrospinning of Polymers for Tissue Engineering A2 - Thomas, Sabu, in *Nanotechnology Applications for Tissue Engineering*, Y. Grohens and N. Ninan, Editors. 2015, William Andrew Publishing: Oxford. p. 45-55.
  45. *Rambhia, K.J. and P.X. Ma*: Controlled drug release for tissue engineering. *Journal of Controlled Release*, 219, 119-128 (2015).
  46. *Shalumon, K.T., et al.*: Fabrication of poly (l-lactic acid)/gelatin composite tubular scaffolds for vascular

- tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 1048-1055 (2015).
47. Stitzel, J., et al.: Controlled fabrication of a biological vascular substitute. *Biomaterials*, 27(7), 1088-1094 (2006).
  48. Xu, C.Y., et al.: Aligned biodegradable nanofibrous structure: a potential scaffold for blood vessel engineering. *Biomaterials*, 25(5), 877-886 (2004).
  49. Liu, H., et al.: Electrospun sulfated silk fibroin nanofibrous scaffolds for vascular tissue engineering. *Biomaterials*, 32(15), 3784-3793 (2011).
  50. Zhang, X., C.B. Baughman, and D.L. Kaplan: In vitro evaluation of electrospun silk fibroin scaffolds for vascular cell growth. *Biomaterials*, 29(14), 2217-2227 (2008).
  51. Zhang, X., M.R. Reagan, and D.L. Kaplan: Electrospun silk biomaterial scaffolds for regenerative medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61(12), 988-1006 (2009).
  52. He, W., et al.: Fabrication and endothelialization of collagen-blended biodegradable polymer nanofibers: Potential vascular graft for blood vessel tissue engineering. *Tissue Engineering*, 11(9-10), 1574-1588 (2005).
  53. Lee, S.J., et al.: In vitro evaluation of electrospun nanofiber scaffolds for vascular graft application. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 83(4), 999-1008 (2007).
  54. Zhang, J., et al.: Engineering of vascular grafts with genetically modified bone marrow mesenchymal stem cells on poly (propylene carbonate) graft. *Artificial Organs*, 30(12), 898-905 (2006).
  55. Liu, S., et al.: Bilayered vascular grafts based on silk proteins. *Acta Biomaterialia*, 9(11), 8991-9003 (2013).
  56. <http://www.nicast.com/index.aspx?id=2930>. (2016.05.04.)
  57. Thomas, V., et al.: Mechano-morphological studies of aligned nanofibrous scaffolds of polycaprolactone fabricated by electrospinning. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 17(9), 969-984 (2006).
  58. Sui, G., et al.: Poly-L-lactic acid/hydroxyapatite hybrid membrane for bone tissue regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 82(2), 445-454 (2007).
  59. Mohammadi, Y., et al.: Nanofibrous poly( $\epsilon$ -caprolactone)/poly(vinyl alcohol)/chitosan hybrid scaffolds for bone tissue engineering using mesenchymal stem cells. *International Journal of Artificial Organs*, 30(3), 204-211 (2007).
  60. Burger, C. and B. Chu: Functional nanofibrous scaffolds for bone reconstruction. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 56(1-2), 134-141 (2007).
  61. Ahmadzadeh, E., et al.: Osteoconductive composite graft based on bacterial synthesized hydroxyapatite nanoparticles doped with different ions: From synthesis to in vivo studies. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 12(5), 1387-1395 (2016).
  62. Ma, X., et al.: Preparation of collagen/hydroxyapatite/alendronate hybrid hydrogels as potential scaffolds for bone regeneration. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 143, 81-87 (2016).
  63. Pangon, A., et al.: Hydroxyapatite-hybridized chitosan/chitin whisker bionanocomposite fibers for bone tissue engineering applications. *Carbohydrate Polymers*, 144, 419-427 (2016).
  64. Chong, E.J., et al.: Evaluation of electrospun PCL/gelatin nanofibrous scaffold for wound healing and layered dermal reconstitution. *Acta Biomaterialia*, 3(3 SPEC. ISS.), 321-330 (2007).
  65. Ji, Y., et al.: Electrospun three-dimensional hyaluronic acid nanofibrous scaffolds. *Biomaterials*, 27(20), 3782-3792 (2006).
  66. Powell, H.M. and S.T. Boyce: Fiber density of electrospun gelatin scaffolds regulates morphogenesis of dermal-epidermal skin substitutes. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 84(4), 1078-1086 (2008).
  67. Rnjak-Kovacina, J., et al.: Electrospun synthetic human elastin:collagen composite scaffolds for dermal tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 8(10), 3714-3722 (2012).
  68. Uppal, R., et al.: Hyaluronic acid nanofiber wound dressing-production, characterization, and in vivo behavior. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 97 B(1), 20-29 (2011).
  69. <http://www.integralife.com/index.aspx?redir=detailproduct&product=549&ProductName=INTEGRA%AE%20Dermal%20Regeneration%20Template&ProductLineName=Soft%20Tissue%20Solutions&ProductLineID=78&PA=Plastic-and-Reconstruction>. (2016.05.04.)
  70. Dolynchuk, K., et al.: The role of Apligraf in the treatment of venous leg ulcers. *Ostomy/wound management*, 45(1), 34-43 (1999).
  71. Trent, J.F. and R.S. Kirsner: Tissue engineered skin: Apligraf, a bi-layered living skin equivalent. *International Journal of Clinical Practice*, 52(6), 408-413 (1998).
  72. Zaulyanov, L. and R.S. Kirsner: A review of a bi-layered living cell treatment (Apligraf) in the treatment of venous leg ulcers and diabetic foot ulcers. *Clinical interventions in aging*, 2(1), 93-98 (2007).
  73. [http://www.apligrif.com/professional/what\\_is\\_apligrif/index.html](http://www.apligrif.com/professional/what_is_apligrif/index.html). (2016.05.04.)
  74. <http://www.dermagraft.com/composition/>. (2016.05.04.)
  75. Nicholls, H.: FDA approves Dermagraft® for diabetic foot ulcers. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 12(10), 433 (2001).

Organizers:



Semmelweis University,  
Department of Pharmaceutics  
Budapest, HU



Hungarian Academy of Sciences,  
Committee on Pharmaceutical Sciences,  
Working Committee on Separation Sciences  
Budapest, HU

Non Biological  
Complex Drugs  
working group



Non-Biological Complex Drugs – Working Group  
Leiden, NL



Hungarian Society for Pharmaceutical Sciences  
Budapest, HU



International Pharmaceutical Federation  
Hague, NL



European Federation for  
Pharmaceutical Sciences  
Stockholm, SE

Workshop Co Chairs:

Prof. Imre Klebovich  
Budapest, HU  
klebovich.imre@pharma.semmelweis.univ.hu

Prof. Daan J. A. Crommelin  
Utrecht, NL  
D.J.A.Crommelin@uu.nl

Prof. Stefan Mühlebach  
Glattbrugg, Basel, CH  
stefan.muehlebach@viforpharma.com

Prof. Vinod P. Shah  
North Potomac, MD, US  
dr.vpshah@comcast.net

International Scientific Advisory Board:

Erem Bilensoy, Ankara, TR  
Gerrit Borchard, Geneva, CH  
Daan J. A. Crommelin, Utrecht, NL  
László Endrényi, Toronto, ON, CA  
Beat Flühmann, Glattbrugg, CH  
István Greiner, Budapest, HU  
A. Atilla Hincal, Ankara, TR  
Imre Klebovich, Budapest, HU  
Stefan Mühlebach, Glattbrugg, Basel, CH  
Tamás L. Paál, Szeged, Budapest, HU  
Vinod P. Shah, North Potomac, MD, US  
Jon S. B. de Vlieger, Leiden, NL  
Vera Weinstein, Petah Tikva, IL

Local Organizing Committee:

Imre Klebovich (Chair), Budapest  
István Antal, Budapest  
György Bagdy, Budapest  
Zsolt Holló, Budapest  
Tamás Janáky, Szeged  
Éva Székő, Budapest  
György Thaler, Budapest  
László Tóthfalusi, Budapest  
Romána Zalkó, Budapest

## Challenges in the Assessment of Similarity or Equivalence of Biologicals and Complex Drugs

### 2<sup>nd</sup> International Symposium on Scientific and Regulatory Advances in Complex Drugs

Budapest, Hungary, October 10-11, 2016



#### Igen Tisztelt Kollégák!

A Szervezőbizottság nevében örömmel és tisztelettel hívjuk a 2016. október 10-11. között, Európában másodszor megrendezésre kerülő, egyedülálló, a biológiai gyógyszerekre fókuszáló nemzetközi gyógyszerkutatói konferenciára, a *Challenges in the Assessment of Similarity or Equivalence of Biologicals and Complex Drugs* témakörrel foglalkozó 2<sup>nd</sup> International Symposium on Scientific and Regulatory Advances in Complex Drugs rendezvényünkre (SRACD 2016), amely területet korunk gyógyszerkutatásának új kihívása.

A Szimpózium rendkívüli találkozási lehetőséget biztosít a résztvevők számára az originális és generikus/bioszimiláris gyógyszerfejlesztés Európából és a tengerentúlról érkező vezető kutatóival. Az előadások felölelik a különböző típusú bioszimiláris, terápiás ekvivalencia, bioanalitikai, fehérjeszerkezeti spektroszkópiai (MS, NMR), gyógyszer technológiai, speciális formulációs vizsgálatok új lehetőségeit és előírásait, valamint a biológiai és nem biológiai komplex gyógyszerek vizsgálati követelményeit is; külön hangsúlyt kapnak mindezek hatósági és klinikai szempontjai.

Amint azt a mellékelt First Circular / Első értesítő is bizonyítja, a Szervezőbizottság szándéka az volt, hogy átfogó képet adjon e multidiszciplináris terület jelenéről és várható dinamikus fejlődéséről. A Szimpóziumon előadással képviselteti magát a WHO, az FDA, az EMA és az OGYÉI, valamint számos egyetemi és ipari kiválóság. A tudományos rendezvényen a szakterület hazai és nemzetközi kiállítói és CRO i is reprezentálják magukat.

A Szimpózium kiemelkedő tudományos programjához a Margitszigeten a Hotel Danubius Health Spa Resort Margitsziget\*\*\*<sup>Superior</sup> biztosít méltó helyszínt, ahol várhatóan több kontinensről érkeznek résztvevők. A First Circular ban meghirdetett tudományos témakörökben poszterbemutatói lehetőségre is mód nyílik, melyet egy nemzetközi szakmai zsűri bírál el és jutalmaz.

Abban a reményben várjuk regisztrációjukat, hogy a Szimpózium szakmai és társasági programja minden elvárásuknak meg tud felelni.

A Szimpózium kedvezményes részvételi díja hazai tudományos társasági tagsággal rendelkező magyar résztvevők számára 2016. szeptember 1. ig történő befizetéssel: 80 000 Ft,  
Ph.D. hallgatók számára 65 000 Ft.

2016. szeptember 1. után történő befizetések esetén a részvételi díj: 90 000 Ft,  
Ph.D. hallgatók számára 75 000 Ft.

#### A részvételi díj tartalmazza:

- az áfát,
- a tudományos előadások és a poszterszekciók látogatását,
- a kiállítás megtekintését,
- a Szimpózium nyomtatott anyagát,
- a konferenciátskát,
- az orgonahangversenyt és a bankettet,
- a kávészüneteket és az ebédeket.

A rendezvény pontszerző továbbképzésként akkreditált a GYOFTEX és OFTEX portálokon. Gyógyszerészek és orvosok számára a megszerezhető „Szabadon választható” típusú továbbképzési pontszám: 24.

A Szervezőbizottság nevében sok szeretettel várjuk jelentkezésüket Kollégáikkal együtt.

Szívélyes üdvözléssel:

Prof. Klebovich Imre Prof. Daan J. A. Crommelin Prof. Stefan Mühlebach Prof. Vinod P. Shah

az SRACD 2016 Szimpózium társelnökei

Workshop Secretariat:

Diamond Congress Ltd. Attila Varga H-1255 Budapest, P.O. Box 48, Hungary  
Phone: +36 1 225 0210 Fax: +36 1 201 2680 E-mail: diamond@diamond-congress.hu  
www.sracd.hu

## Tömegspektrometria alkalmazása a fehérjék vizsgálatában

KIRÁLY MÁRTON<sup>1</sup>, DALMADINÉ KISS BORBÁLA<sup>1</sup>, DRAHOS LÁSZLÓ<sup>2</sup>, VÉKEY KÁROLY<sup>3</sup>,  
ANTAL ISTVÁN<sup>1</sup>, LUDÁNYI KRISZTINA<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészeti Intézet, 1092 Budapest, Hőgyes Endre u. 7-9

<sup>2</sup>MTA Természettudományi Kutatóközpont, MS Proteomika Kutatócsoport, 1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2

<sup>3</sup>MTA Természettudományi Kutatóközpont, Műszercentrum, 1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2

\*Levelezési cím: ludanyi.krisztina@pharma.semmelweis-univ.hu

### Summary

KIRÁLY, M., DALMADI-KISS, B., DRAHOS, L., VÉKEY, K., ANTAL, I., LUDÁNYI, K.: *Application of Mass Spectrometry in Proteomics*

Mass spectrometry is a high sensitivity, highly selective, high throughput analytical technique. It is well suited to characterize polar, high mass molecules. It is one of the prime analytical techniques to study proteins, to determine their molecular mass, their amino acid sequence and their post-translational modifications. The objective of the present article is to introduce the most important mass spectrometry based methods relevant for protein analysis, like ionization techniques, mass analyzers and tandem mass spectrometry. We shall also introduce „top-down” and „bottom-up” protein sequencing and protein quantitation as well.

**Keywords:** protein, proteomics, mass spectrometry, „top-down”, „bottom-up”

### Összefoglalás

A tömegspektrometria nagy érzékenységű, szelektív „high throughput” analitikai technika, amely alkalmas nagy molekula-tömegű, poláros makromolekulák jellemzésére. A módszer a fehérje kutatások egyik legfontosabb analitikai módszere, segítségével a fehérje molekulatömege és elsődleges szerkezete is meghatározható, speciális tandem tömegspektrometriás technikákkal pedig lehetőség van a poszttranszlációs módosulások helyspecifikus analizésére, a molekulák heterogenitásának jellemzésére. Jelen összefoglaló célja, hogy bemutassa a fehérje analitikában használt legfontosabb tömegspektrometria alapú technikákat és készülékeket (ionforrások, speciális analizátorok és fragmentációs technikák, „hibrid” készülékek), valamint a szekvencia meghatározás módszereit („top-down”, „bottom-up”, natív fehérje meghatározás). Külön fejezet foglalja össze a kvantitatív fehérje analízis lehetséges módszereit.

**Kulcsszavak:** fehérje, proteomika, tömegspektrometria, „top-down”, „bottom-up”

## 1. Bevezetés

A proteom az élő szervezetben előforduló teljes fehérjeállomány, a proteomika ennek szerkezeti és funkcionális vizsgálatával, megértésével foglalkozó tudományterület. Míg a genomika egy szervezet génkészletét vizsgálja, a proteomika az abból keletkező fehérjéket jellemzi [1, 2]. A proteomika célja a sejt folyamatok, szabályozó folyamatok megismerése, a gének és termékeik funkciójának megértése, fehérjék, biomarkerek meghatározása és biológiai gyógyszerek (biologikumok), bioszimiláris hatóanyagok kutatása, fejlesztése [3]. Fontos megemlíteni, hogy a genom egy adott szervezetben állandónak tekinthető, a proteom azonban a szervezet állapotától nagymértékben függ, így időben és térben is változó, más lehet az agyszövetben, egy adott sejtben, vagy akár egy sejt különböző részeiben, mint például a mitokondriumban vagy a sejt-magban.

Az emberi genom közel huszonötezer gént tartalmaz, a gének több mint százezer fehérjésekven-

ciát kódolnak. A fehérjék intakt és módosult változatban, pl. foszforilálva vagy glikozilálva is előfordulnak. A fehérjék szerkezetének lehető legpontosabb meghatározására, működésük részletes megismerésére irányuló kutatás napjainkban az egyik legdinamikusabban fejlődő tudomány terület.

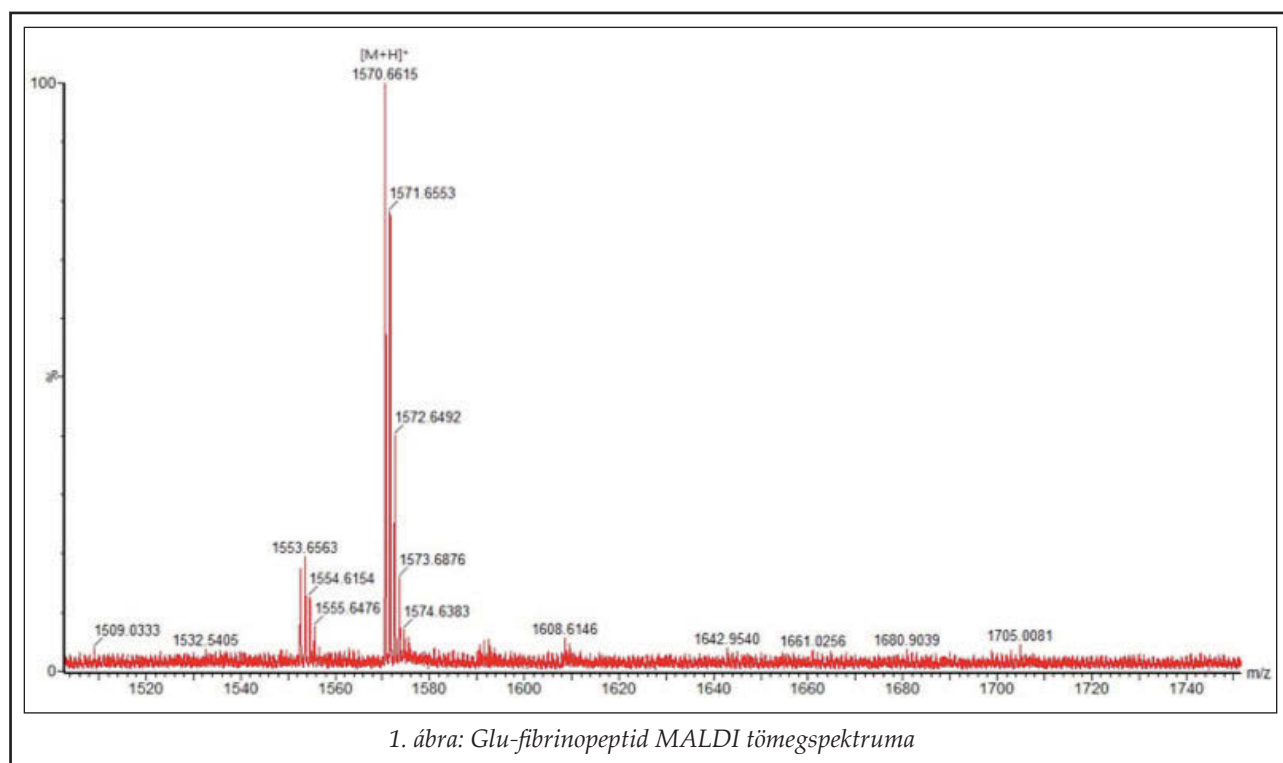
Az elmúlt néhány évtizedben a fehérjék szerkezetének felderítésére számos új analitikai módszer fejlesztettek, amelyek megjelenése előtt a fehérjeszerkezet pontos megismerése szinte lehetetlen feladatnak számított. Az első fehérje vizsgáló módszert 1975-ben J. Klose, P.H. O’Farrel és K. Scheele párhuzamosan fejlesztette ki [4-6]. A nagy-felbontású, fehérje-elválasztásra alkalmas módszerrel, a kétdimenziós gélelektroforézissel lehetővé vált a fehérjék molekulatömegének (MW) azonosítása ill. mennyiségi jellemzése (közelítő MW és félkvantitatív mennyiségi meghatározás) [7]. Ezt követően a 90-es években a tömegspektrometria területén bekövetkező készülék fejlesztések komoly áttörést jelentettek a fehérjék szekvenciájának és a poszttranszlációs módosulások (PTM)

meghatározásában. Az MS alapú proteomika elterjedéséhez nagymértékben hozzájárult a mátrixszal segített lézer deszorpciós technika (MALDI) és az elektroporlasztásos ionforrás (electrospray, ESI) kifejlesztése, valamint az ún. „hibrid” készülékek elterjedése. Fontos előre lépést jelentettek azok a módszerek is, amelyeket a kis mennyiségben rendelkezésre álló fehérjék proteolitikus hasítására fejlesztettek ki. Ma az irodalomban számos olyan módszer található, amelyekkel a szekvencia meghatározása mellett a PTM-ek (glikoziláció, diszulfid hidak stb.) is nagy pontossággal azonosíthatók. Az elmúlt években az adatbázisok segítségével történő fehérje azonosítás nagymértékben felgyorsította az értékelést, amely ma már manuálisan kivitelezhetetlen az óriási mennyiségű adathalmaz miatt [8]. Az ún. „high throughput screeninggel” és az MS-sel kapcsolt elválasztási módszerekkel lehetővé vált igen kis mennyiségű proteinek (femtomol) szerkezetének meghatározása is bonyolult biológiai mintákban. Ezek a fejlesztések nemcsak a biológia és az orvostudomány kérdéseinek megválaszolásához nyújtanak segítséget, hanem a gyógyszerkutatás területén is, főként a biológikumok kutatásában töltenek be alapvető szerepet. Az orvostudományban főként a patofiziológiai folyamatok feltérképezése, a betegségek molekuláris alapjainak megértése, ill. az orvosi diagnosztika területén van jelentősége a tömegspektrometriának.

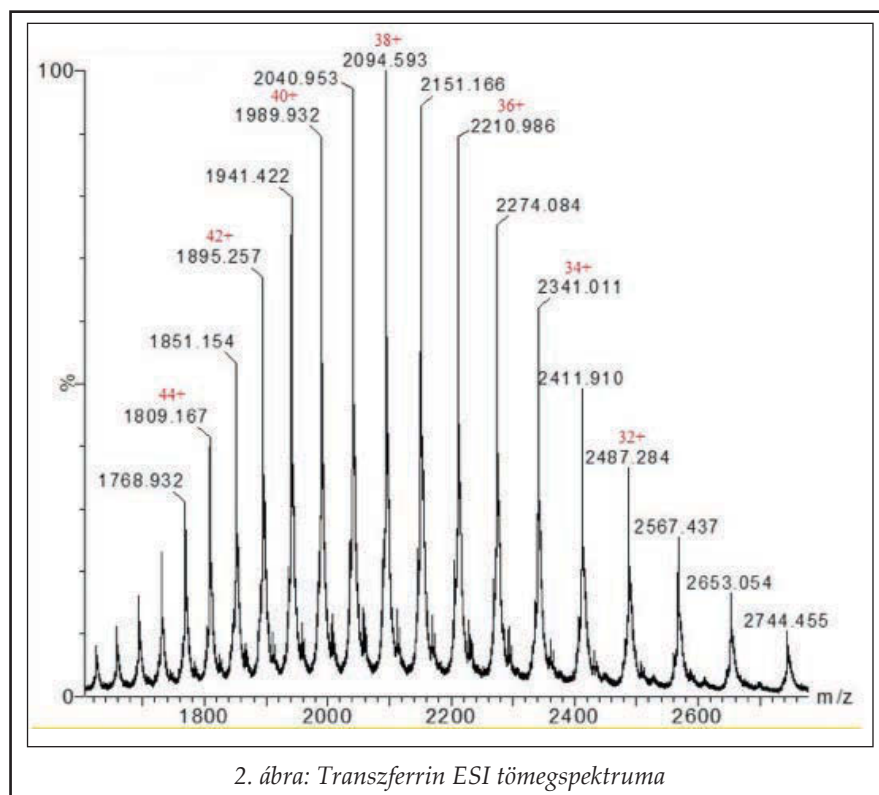
Napjainkban a gyógyszerkutatás egyik fő új irányvonala a fehérjealapú gyógyszerek kifejlesztése és alkalmazása. Ezek közül a legfontosabbak a monoklonális antitestek (mAb), amelyek primer szerkezetének meghatározása tömegspektrometriás módszerekkel történik: meghatározható a fehérje teljes szekvenciája, azonosíthatók a PTM-ek, vizsgálhatók a fehérje készítmények tisztasága és stabilitása [9]. Az originális fehérjekészítmények megjelenése mellett egyre nagyobb figyelem irányul azok „generikumaira”, az ún. bioszimiláris készítmények fejlesztésére is. A molekulák nagy mérete és élő szervezetekben történő előállítása miatt a hasonlóság igazolására speciális analitikai technikák szükségesek [10]. Erre az egyik leggyakrabban használt módszer a megfelelő enzimátikus hasítást követő nagyfelbontású tandem tömegspektrometria.

## 2. Speciális elvárások a tömegspektrometriás technikákkal szemben: ESI, MALDI, DESI, orbitrap, „hibrid” készülékek, CID, ECD, ETD

A fehérjék vizsgálatára alkalmas módszerekkel szemben számos olyan elvárást támasztanak, amelyek speciális készülékeket igényelnek. A lehető legpontosabb szekvencia meghatározáshoz, a PTM-ek azonosításához, a homológok, szennyezősek jelenlétének igazolásához, ill. a mennyiségi jellemzéshez nagy felbontásra és nagy érzékeny-







ségre van szükség. Ezekben a vizsgálatokban leggyakrabban két ionizációs technikát, a MALDI-t és az ESI-t használják, ill. olyan speciális analizátorokat, amelyek nagy felbontásuk miatt alkalmasak akár egy aminosav eltérés meghatározására is (ez esetenként a molekulatömegek néhány tizednyi vagy akár századnyi különbségét jelenti). Az ionforrások többszázezer Da molekulatömegű, főként poláros vegyületek ionizálására alkalmasak, az analizátorok pedig az intakt fehérjék molekulatömegének meghatározása mellett szerkezeti információt is adnak a molekuláról.

A MALDI esetében a spektrumban a molekulaion protonált vagy alkáli addukt formájában, esetleg kettős töltésű ionként detektálható, de esetenként dimerek, trimerek is megjelennek (1. ábra). Mivel a módszer ún. lágyionizációs technika, ritkán következik be fragmentáció az ionforrásban, alapvetően a molekulaion meghatározására alkalmas technika. A MALDI ionizáció általában repülési idő (TOF) analizátorhoz kapcsolt, mely igen széles (elvben végtelenül nagy) molekulatömeg tartományban működik. A felbontás növelésére az analizátort gyakran ún. reflektoron módban használják: az első analizátort követően az ionokat iontükrök segítségével egy második analizátorba fókuszálják, mely lehetővé teszi a molekulaionok nagy felbontással való meghatározását. Az utóbbi években a MALDI-TOF módszert képalkotási

(„imaging”) technikaként is használják, segítségével akár egy teljes szerv molekuláris összetétele „pásztázható” ill. tandem tömegspektrometriás módszerekkel a vegyületek szerkezete is meghatározható. Legnagyobb hátránya, hogy nem kapcsolható on-line elválasztási módszerekkel, kisebb kimutatási határral rendelkezik, ill. mennyiségi meghatározásra csak korlátozottan alkalmas [11].

Elektroporlasztásos ionizáció során szintén kíméletes körülmények között állítják elő az ionokat, az ionforrásban sokszorosan töltött ionok keletkeznek protonált molekulaion, alkáli, ill. a vivő eluens összetételétől függő adduktok (pl. ammónia addukt) formájában (2. ábra). Ebben az eset-

ben bármilyen analizátor használható, mert annak tömegtartománya nem befolyásolja a meghatározható ionok molekulatömegét. Az ESI egyik speciális változata a DESI (deszorpció elektroporlasztásos ionizáció), ahol a töltött aeroszol cseppek a vizsgálandó felülettel ütköznek. A módszert, hasonlóan a MALDI „imaging”-hez, gyakran használják szövet metszetek „letapogató” vizsgálatára [11].

Az analizátorokkal szemben elvárás a nagy felbontás és a speciális tandem tömegspektrometriás mérési mód. Erre a célra leginkább a már említett TOF, valamint az orbitrap, Fourier transzformációs készülékek (FTMS), ill. a „hibrid” rendszerek alkalmasak. A „hibrid” készülékekben több különböző típusú analizátor található, Leggyakrabban a kvadrupól-repülési idő (QTOF), ill. a kvadrupól-ioncsapda (QTrap) rendszereket használják. A QTOF készülék – ionmobilitás cella közbeiktatásával – például különböző konformációs izomerek megkülönböztetésére is alkalmas, ezzel a technikával olyan IgG konformerek is elválaszthatók, amelyek csak diszulfidkötésekben különböznek egymástól [12].

Az orbitrap analizátor az egyik legújabb, nagy teljesítőképességű tömeg (m/z) analizátor. Elsősorban ioncsapda analizátorral kombinálva használják, nagy érzékenységű, rendkívül nagy felbontású és robusztus tandem tömegspektrometriás vizsgálatokhoz. Az orbitrap

segítségével lehetőség van például komplex mAb keverékek és kis tömegkülönbségű ionok elválasztására, valamint a különböző glikoformák szeparálásával a glikozilációs mintázat analizésére is [13].

Az aminosav szekvencia meghatározása ún. peptid térképek segítségével történik a molekula enzimatis hasítását követően vagy az intakt fehérje tömegspektrométerben történő fragmentálásával, tandem tömegspektrometriás mérésekkel.

A peptidok fargmentációja a peptidkötések mentén következik be, ezeket a folyamatokat először K. Biemann írta le, azóta is az általa kidolgozott nomenklaturát használják [14]. Az egyes peptidkötések hasadásakor peptidkötésenként hat jellemző fragmenstípus jöhet létre, melyeket a, b, c ill. x, y, z betűkkel jelölnek. Az a, b, c ionsorozat esetén a molekula hasadását követően a töltés az N-terminálison marad, míg az x, y, z sorozatok esetében a C-terminálison. A betűk után alsó indexben feltüntetett szám az adott fragmensben előforduló aminosavak számát adja meg (3. ábra) [15].

A szekvencia meghatározása tandem tömegspektromok (MS/MS) alapján történik. A leggyakrabban használt ún. ütközés aktivált fragmentáció (CAD, CID) mellett speciális módszereket is kifejlesztettek, mint pl. az elektron befogásos disszociáció (ECD) és az elektron transzfer disszociáció (ETD). MALDI-TOF rendszerekben a tandem tömegspektrometriás vizsgálat forráson belüli bomlással (*in source decay*, ISD) ill. a forrás után, időkapuval kiválasztott molekulaion fragmentációval (*post source decay*, PSD) is történhet [16-18].

A legelterjedtebb fragmentációs módszer a CID, amellyel kis és nagy energiájú ütköztetést is meg lehet valósítani. A spektrumokban főként b és y fragmens sorozatok észlelhetők. A fragmentáció mértékét és az észlelt termék ionok szerkezetét elsősorban a CID ütközési energia szabja meg. Kis energiájú CID esetén egy-egy funkciós csoport lehasadása történik, míg nagy energiájú fragmentá-

ciónál a nagy gyorsító feszültség hatására az ionok jelentős kinetikus (ütközési) energiával rendelkeznek, így a primer fragmentáció mellett speciális fragmentációs folyamatok („*charge remote fragmentation*”) is lejátszódhatnak például TOF/TOF tandem rendszerekben. Az ütközési energia megfelelő megválasztásával lehetőség van speciális fragmens ionok „előállítására”, amelyek alapján bizonyos molekulareszek azonosíthatók. Glikoproteinek esetében például a keletkező oligoszacharid egységek alapján kiválaszthatók a glikopeptid spektrumok (kromatográfiás csúcsok, LC-MS kapcsolás esetén), és így a glikopeptidok szekvenciája meghatározható [19].

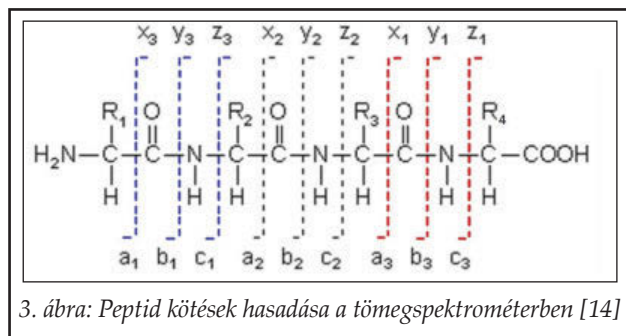
Az ECD módszert F.W. McLafferty és munkatársai fejlesztették ki az 1990-es évek végén. Lényege, hogy a többszörösen töltött biomolekulák alacsony energiájú elektronokat fognak be (<1eV) a tömegspektrométerben és gyök kationokká alakulnak, majd fragmentálódnak [15].

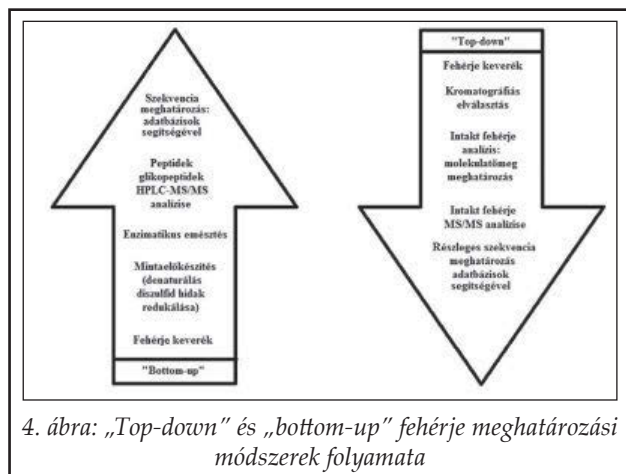
ETD technikát először D. Hunt és munkatársai mutatták be 2004-ben. A fragmentáció egy gyök anion elektronjának átadásával következik be, így lehetőség van a peptidok N-C $\alpha$  kötésének hasadására. A módszerrel az N-terminális c-, és C-terminális z-típusú fragmensei határozhatók meg, amelyek komplementerei a CID fragmentációval keletkező b és y fragmenseknek. Ilyen módon a különböző fragmentációs technikák egymást kiegészítő információkat szolgáltatnak. Az ETD módszer alkalmas a PTM-ek helyének meghatározására is, mert – a CID-val ellentétben – az olyan instabil módosítások, mint például az oligoszacharid egységek, nem hasadnak le a peptid fragmensekről, de a diszulfid kötések felhasadnak, amely többlet információt szolgáltat a fehérje primer szerkezetéről [15].

A legrészletesebb szerkezeti információ a CID és az ECD ill. ETD technikákkal kapott eredmények kombinálásával nyerhető. Ilyen módon az intakt proteinek N- és C-terminális szekvenciái is vizsgálhatók [20].

### 3. Fehérjék szerkezet meghatározása

A proteomikai vizsgálatok során általában kis mennyiségű, biológiai mátrixban lévő fehérjekeverékben kell meghatározni a fehérje szekvenciáját. A fehérje elsődleges szerkezetének meghatározásán kívül szükséges a PTM-ek ill. a homológ szerkezetek arányainak vizsgálata és a végső szerkezet kialakításában jelentős szerepet betöltő kötések (pl. diszulfid kötések) meghatározása is [21].





Egy fehérje szerkezetének jellemzésére négy módszert használnak: „bottom-up”, „middle-down”, „top-down” technikákat ill. a natív tömegspektrometriás módszert (4. ábra).

#### „Bottom-up” technika

A „bottom-up” technika a legszélesebb körben alkalmazott protein vizsgálati módszer. Az „alulról felfelé építkezés” során a fehérjét emésztőenzim segítségével peptidláncokra bontják, majd meghatározzák a peptidok molekulatömegét és szekvenciáját. Ezzel a módszerrel a fehérje primer szerkezete (aminosav sorrend) 100%-ban meghatározható, de lehetőség van a PTM-ek helyspecifikus azonosítására is. Leggyakrabban tripszines emésztést végeznek, amely a fehérjét „optimális” méretűre bontja (kb. 5-20 aminosav, 400-2000 m/z tömegtartományban) [22]. A tripszin a bázikus aminosavak – specifikusan a lizin és arginin – C-terminálisánál lévő peptidkötéseket hasítja el, a kialakult szabad C-terminálisok nitrogént tartalmazó oldalláncai protonálódnak az ionforrásban. A fehérjét teljes primer szerkezetének meghatározásához gyakran szükséges egyéb enzimekkel, pl. kimotripsinnel, Lys C-vel, Glu C-vel végzett proteolitikus bontás is a teljes aminosav sorrend meghatározásához [18, 23].

Az emésztéssel nyert peptidok szekvenciájának pontos meghatározása HPLC-MS/MS technikával történik peptidterképek segítségével: meghatározzák a fehérje fragmentumok (peptidek) pontos tömegét, megállapítják az ionok töltés számát, majd fragmentáltatják az egyszeres vagy többszörös töltésű molekulaionokat. A peptid szekvenciájának meghatározása a tandem tömegspektrumok alapján adatbázisok (pl. SwissProt, NCBI) segítségével történik. Az „in silico” tripszines hasításból szá-

mazó peptidek elméleti tandem tömegspektrumával való összehasonlítás után a számítógépes program statisztikai alapon választja ki a potenciális fehérjét. A tandem tömegspektrometriás módszerrel az N- és C-terminálisokon történt változások és a különböző módosítások, mint pl. a glikoziláció, foszforiláció is vizsgálhatók. Az eljárást a szekvencia meghatározáson kívül például terápiás fehérjek különböző gyártási tételeinek ill. bioszimiláris és referencia termék összehasonlítására is alkalmazzák [24, 25].

#### „Top-down” technika

A „top-down” technika („felülről lefelé” történő meghatározás) az intakt fehérjek szekvenciáját előzetes emésztés nélkül vizsgálja. A fehérje tömegspektrométerben izolált, sokszorososan töltött molekulaionját kisebb egységekre hasítják és a kapott fragmens ionok alapján azonosítják a peptideket, glikopeptideket. A mérésekhez nagyfelbontású analizátorok (TOF, FTMS, orbitrap) és speciális fragmentációs módszerek (ECD, ETD) szükségesek. A módszer előnye, hogy a kapott szerkezeti információ közvetlenül a kiválasztott molekulát jellemzi, az egész molekula (és nem csak egy része) vizsgálható, valamint a vizsgálathoz előzetes enzimes emésztés nem szükséges. Hátránya azonban, hogy a módszer érzékenysége más tömegspektrometriás technikákhoz képest kicsi, nagy méretű fehérjek esetén nem alkalmazható, az értékelés nehézkes és a megfelelő készülékek rendkívül drágák [18, 23].

#### „Middle-down” technika

A módszer („középről-lefelé” történő meghatározás) az előbbieken említett technikák „keveréke”, mert az intakt fehérjét csak részlegesen bontják emésztőenzimokkal a mérés előtt. Az eljárást általában akkor alkalmazzák, ha egy fehérjének csak egy bizonyos részletét vizsgálják [26].

#### Natív tömegspektrometriás módszer

Proteinek és protein-komplexek vizsgálatára alkalmas az ún. natív tömegspektrometriás módszer. A fehérjek előkészítése során olyan körülményeket alkalmaznak – például a biológiai közegnek megfelelő pH, denaturációt okozó szerves oldószerek mellőzése –, amely biztosítja, hogy a fehérje natív konformációja nem változik meg. Ilyen módon vizsgálható a minta szerkezeti heterogeni-

tása, ill. a fehérjék vagy fehérje komplexek hajtogatott konformációján túl ezek dinamikájáról és stabilitásáról is információ nyerhető.

#### 4. Kvantitatív fehérje tömegspektrometria

A fehérjék szerkezetének meghatározása mellett szükséges azok kvantitatív jellemzése is. A fehérjék mennyiségi vizsgálatára ún. „label-free”, (azaz stabil izotópjelzést nem igénylő) vagy „labeled”, vagyis stabil izotópjelzést alkalmazó tömegspektrometriás módszereket használnak.

##### *Izotópjelzés nélküli („label-free”) technika*

A proteomikában leggyakrabban az izotóp jelzés nélküli módszereket használják, mert gyors, viszonylag egyszerű, olcsó, és a legtöbb esetben a kitűzött célhoz elegendő pontosságot biztosít. A módszer lényege, hogy a fehérje enzimatis hasítását követően a peptid keveréket kromatográfiásan szétválasztják, majd ionkromatogramok alapján meghatározzák a peptidok relatív mennyiségét. Számítógépes program segítségével állapítják meg az összehasonlítandó mintákban a vizsgált fehérjék relatív arányát. A fehérjék kvantitatív meghatározására számos algoritmus létezik, mint pl. az LFQ, TOP3 [3]. A módszerrel rendkívül összetett (akár több ezer fehérjét tartalmazó) minta is vizsgálható, például egy betegségben szenvedő csoport szérumban található fehérjék mennyisége is meghatározható. A tömegspektrum minőségét számos tényező befolyásolhatja, ezért az eljárásnak feltétele, hogy a befolyásoló tényezők azonos mértékben hassanak a vizsgált és a standard molekulára [11, 15, 26].

##### *Izotópjelzéses („labeled”) technikák*

A technika a stabil izotópos jelölésen alapul. Az izotópos jelölés általában kémiai úton történik. A módszer lényege, hogy az összehasonlítandó mintákat különböző izotópokat tartalmazó reagenssel kezelik, majd a mintákat összekeverik. A jelölés sejt-, fehérje- vagy peptid szinten történhet. A jelölést követően a további mintaelőkészítést a „kevert” mintával végzik. A tömegspektrometriás mérés során a különböző izotópokkal jelölt peptidok relatív arányából határozzák meg a kvantitatív adatokat. Az izotópjelzéses technikák általában pontosabb mennyiségi meghatározást tesznek lehetővé, mint az izotópjelzést nem tartalmazók, hátrányuk azonban, hogy idő-, munka- és

költségigényes módszerek, ill. összességében kevesebb fehérje határozható meg, mint a „label free” módszerrel [11, 15, 26].

#### 5. Összefoglalás

A tömegspektrometria a fehérje analitika területén egyre szélesebb körben használt műszeres analitikai technika. Az orvostudományban és a biológiai kutatásokban történő alkalmazását a 20. század végén történt készülék és módszerfejlesztések tették lehetővé, amelyek segítségével a kis molekulák vizsgálata mellett a nagyobb molekulatömegű biomolekulák, így peptidok, fehérjék, glikoproteinek, oligonukleotidok pontos molekulatömegének és elsődleges szerkezetének meghatározása is lehetővé vált. Az új típusú készülékek, speciális tandem tömegspektrometriás módszerek fejlődése jelentős tömegfelbontás és érzékenység javulást eredményezett, amely a poszttranszlációs módosulások, főként a glikoformok szerkezetének és helyének egyre pontosabb meghatározását is eredményezték. A készülék fejlesztésekkel, a makromolekulák mintaelőkészítésére kidolgozott módszerek optimalizálásával, ill. új módszerek kidolgozásával a biológiai rendszerek heterogenitása, az izoformák analízise is lehetővé vált.

#### IRODALOM

1. Wasinger, V.C., Cordwell, S.J., Cerpa-Poljak, A., Yan, J.X., Gooley, A.A., Wilkins, M.R., Duncan, M.W., Harris, R., Williams, K.L., Humphery-Smith, I.: *Electrophoresis* 16, 1090-1094 (1995).
2. Wilkins, M.: *Electrophoresis* 7, 1077-1322 (1995).
3. Aebersold, R., Mann, M.: *Nature* 422, 198-207 (2003).
4. Scheele, G. A.: *The Journal of Biological Chemistry* 250, 5375-5385 (1975).
5. Klose, J.: *Humangenetik* 26, 231-243 (1975).
6. O'Farrell, P. H.: *The Journal of Biological Chemistry* 250, 4007-4021 (1975).
7. Bienvenut, W.V., Müller, M., Palagi, P.M., Gasteiger, E., Heller, M., Jung, E.: *Proteomics and Mass Spectrometry: Some aspects and recent developments*. In: Bienvenut, W.V. (ed): *Acceleration and Improvement of Protein Identification by Mass Spectrometry*. Springer, The Netherlands, 2005, pp. 225-281
8. Henzel, W.J., Stults, J.T., Watanabe, C.: *Journal of American Society for Mass Spectrometry* 14, 931-942 (2003).
9. Buzás, Zs.: *Magyar orvos* 1-2, 37-40 (2010).
10. Warren, J.B.: *British Journal of Clinical Pharmacology* 1, 7-14 (2013).
11. Trauger, S.A., Webb, W., Siuzdak, G.: *Spectroscopy* 16, 15-28 (2002).
12. Thompson, N.J., Rosati, S., Heck, A.J.R.: *Methods* 65, 11-17 (2014).
13. Hunt, D.F., Yates, J.R., Shabanowitz, J., Winston, S., Hauer, C.R.: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 83, 6233-6237 (1986).

14. Roepstorff, P., Fohlman, J.: *Biomed Mass Spectrom.* 11, 601 (1984).
15. Lin, D., Tabb, D.L., Yates, J.R.: *Biochimica et Biophysica Acta* 1646, 1-10 (2003).
16. Sandra, K., Vandenheede, I., Sandra, P.: *Journal of Chromatography A* 1335, 81-103 (2014).
17. Bogdanov, B., Smith, R.D.: *Mass Spectrometry Reviews* 24, 168-200 (2005).
18. Macht, M.: *Trends in Analytical Chemistry* 48, 62-71 (2013).
19. Mann, M., Hendrickson, R.C., Pandey, A.: *Annual Review of Biochemistry* 70, 437-473 (2001).
20. Han, X., Aslanian, A., Yates, J.R.: *Current Opinion in Chemical Biology* 12, 483-490 (2008).
21. Hevér, H., Ludányi, K., Drahos, L., Vékey, K.: *Magyar Kémiai Folyóirat* 119, 46-52 (2013).
22. Somogyi, Á.: Mass spectrometry instrumentation and techniques. In: Vékey, K., Telekes, A., Vértes, Á. (ed): *Medical Applications of Mass Spectrometry*. Elsevier, The Netherlands, 2002, pp. 93-137.
23. Breuker, K., Jin, M., Han, X., Jiang, H., McLafferty, F.W.: *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 19, 1045-1053 (2008).
24. Ph.Hg. VIII .- Ph.Eur.6.6-.1. 2.2.55. Peptidterkép-vizsgálat 01/2010:20256
25. Beck, A., Diemer, H., Ayoub, D., Debaene, F., Wagner-Rousset, E., Carapito, C., Van Dorsselaer, A., Sanglier-Cianférani, S.: *Trends in Analytical Chemistry* 48, 81-95 (2013).
26. Chen, C.H.: *Analytica Chimica Acta* 624,16-36 (2008).

Érkezett: 2016. május 22.

---

# Metformin hatóanyagú készítmények expediálása során végzett gyógyszerbiztonsági ellenőrzés vizsgálata Kérdőíves felmérés első eredményei

ARGAY MÁRTON, ZELKÓ ROMÁNA

Semmelweis Egyetem, Egyetemi Gyógyszertár Gyógyszerügyi Szervezési Intézet  
1092 Budapest, Hőgyes E. u. 7-9.

## Summary

**Argay, M., Zelkó, R.: Examination of drug safety control during the dispensing of medicines containing metformin. First results of a questionnaire survey**

The responsibility of pharmacists as medical experts is giving as broad information to their patients as possible to avoid the medication problem that is endangering both the patient and the efficacy of the drug-treatment. In most cases, the medication error could be avoided by proper attention and co-operation with the patients and their doctors. We need to determine those factors, which have to be eliminated to decrease the side-effects and interactions; consequently to improve the patients' adherence with the therapy. We carried out a survey in public pharmacies among patients with type II diabetes, who take oral antidiabetics containing metformin as an active agent. Our aim was to get such data from their answers, to identify the patient groups of high risk and reducing the risk of medication errors.

**Keywords:** drug safety, adherence, adverse drug reactions

## Összefoglalás

A gyógyszerészeknek mint egészségügyi szakembereknek a felelőssége, hogy minél átfogóbb tájékoztatást adjanak betegeiknek gyógyszereikről, elkerülve ezzel a beteget és a gyógyszeres kezelési eredményességét egyaránt veszélyeztető gyógyszerelési problémákat. Legtöbb esetben a gyógyszereléssel kapcsolatos problémák megelőzhetőek kellő odafigyeléssel, a beteggel és orvosával történő együttműködéssel. Tisztában kell lenni azokkal a tényezőkkel, amelyek kiküszöbölésével csökkenthetők a mellékhatások, az interakciók és javítható a betegek terápiás együttműködése.

Közfoglalmú gyógyszertárban végeztünk kérdőíves felmérés metformin hatóanyagú orális antidiabetikumot szedő 2-es típusú cukorbeteg körében. Célunk az volt, hogy betegeink válaszaiból olyan adatokat nyerjünk, amelyekből meghatározható a több odafigyelést igénylő betegek csoportja, csökkentve, illetve ezáltal kizárva, a gyógyszerelési problémák lehetőségét.

**Kulcsszavak:** gyógyszerbiztonság, adherencia, gyógyszer-mellékhatás

## Bevezetés

A gyógyszeres kezelés tekinthető a leggyakoribb beavatkozási formának az egészségügyben. Ennek során felléphetnek gyógyszerelési problémák, amelyek veszélyeztetik a betegbiztonságot, megnövelik a nem kívánt hatások előfordulását és a gyógyszerártalom lehetőségét is [1]. A gyógyszerészek kulcsszerepet játszanak a sokszor megelőzhető, és elkerülhető problémák csökkentésében, az egyértelmű, megfelelő tájékoztatással, szakmai munkával, a betegekkel és orvosokkal történő együttműködéssel [2]. Azon betegségeknel, melyek kialakulásában több tényező azonosítható, gyakran összetett gyógyszeres terápiával érhető el eredmény. A komplex terápiák gyakran magukban hordozzák és fokozzák a gyógyszerek nem kívánatos hatását, a több, egyidejűleg szedendő gyógyszer miatt. Ezekben az esetekben fokozottan

kell figyelni a gyógyszerek szervezetre és egymásra gyakorolt hatását, mellékhatását, a párhuzamos gyógyszerelést, és javítani kell a betegek megfelelő együttműködését, melynek hiányában nem érhető el a biztonságos és eredményes gyógyulást eredményező gyógyszeres terápia.

A kórházi felvételek 10-30%-ában valamilyen gyógyszerelési probléma figyelhető meg, ennek 17-76%-a megelőzhető lenne [3, 4]. Egy vizsgálatban a betegek kórházi felvételének 28%-a volt gyógyszereléssel kapcsolatos; 11,4% az együttműködés hiányából, 14,7% pedig mellékhatás miatt vált szükségessé [5]. Másik tanulmány adatai szerint a mellékhatás okozta felvétel a hospitalizáció 6%-át teszi ki, a mellékhatások 45,1%-a biztosan elkerülhető lenne, 31,4%-ban lenne lehetőség az elkerülésre, míg 18,6%-ban elkerülhetetlen a bekövetkezése [6]. A megelőzhető eseteknél a problémát a nem megfelelő felírás és monitorozás, valamint az adherencia hiánya okozta,

a nemszteroid gyulladáscsökkentők, trombocita aggregáció-gátlók, antiepileptikumok, vércukorszint csökkentők, vízajtók, inhalációs szteroidok, szívglikozidok és béta-blokkolók esetén [7].

A betegek nem megfelelő együttműködése, a nem megfelelő adherencia nem csupán a gyógyszer szedésének abbahagyását, hanem a nem megfelelő gyógyszerelést is magába foglalja, veszélyeztetve ezzel nemcsak a terápia eredményességét, hanem a saját egészségét is [8]. Egyre jobban előtérbe kerülő probléma, a nem megfelelő alkalmazás, illetve a legjelentősebb ok a mellékhatások kialakulása tekintetében is, melynek eredménye a számos esetben megelőzhető hospitalizáció [9]. Bizonyos betegcsoportokban (diabetes, hypertonia, hypercholesterinaemia) az adherencia javítása a beteg életminőségének javulásán kívül, jelentősen csökkenti az egészségügyi kiadásokat is [10]. Koronária megbetegedésben szenvedő betegek vizsgálata során 1015 beteg 8,2%-ánál nem volt megfelelő az adherencia és 14,4%-nál volt szív-érrendszeri történés. Az eredmények azt mutatták, hogy a non-adherens betegek 22,9%-ánál (83-ból 19 betegnél), míg az adherens betegek 13,7%-ánál (924-ből 127 betegnél) történt szív-érrendszeri esemény. A non-adherens betegéknél a szív-érrendszeri halálozás, az acut myocardialis infarctus, a stroke kialakulása kétszer magasabb volt [11]. Infarctusos betegek esetén a nem megfelelő adherencia a sztatin kezelésnél megnövelte a halálozás kockázatát [12].

Az adherenciát befolyásoló tényezők közül többet ki lehet emelni, így pl. a kor és az iskolai végzettség, melyek tekintetében az alacsony iskolai végzettséggel együtt jár a terápiával való rosszabb együttműködés is [13]. A nemek között is mutatkozik különbség; egy tanulmányban magasabb adherenciát találtak az alacsony iskolázottságú férfiak esetében, míg a nőknél ez fordítva volt [14].

A gyógyszerészi gondozási tevékenység, valamint a gyógyszer-expediálás során nyújtott részletes információ a szedett gyógyszerek megfelelő alkalmazásáról, hatásairól, mellékhatásairól, párhuzamos gyógyszerelés esetén az esetleges túladagolásról és más gyógyszerekkel való együttes kezelés esetén az interakcióról, és egyéb nem kívánatos gyógyszerhatásokról növelheti a betegek gyógyszeres kezelésének biztonságát. A megfelelő, érthető tájékoztatással csökkenthetőek lehetnek a gyógyszerelési problémák is [15]. Egy ausztrál tanulmány szerint (PROMISE III), a gyógyszerészi gondozás során végzett közbeavatkozással 39%-ban megelőzhető vagy kiváltható volt az orvosi vizit vagy a kórházi felvétel [1, 16].

## Vizsgálati rész

Kérdőíves felmérést végeztünk 2014. május és november között Borsod-Abaúj-Zemplén megyei közforgalmú gyógyszertárakban. A vizsgálatba bevont négy gyógyszertár mindegyike városi környezetben működik, közülük három egy 161.100 lakosú, egy pedig egy 10.000 lakosú településen van.

Az *Alapszintű gyógyszerészi gondozás* irányelvben foglalt alapelvekre támaszkodva készítettük el a kérdőívet. A vizsgálatra szánt kérdőív három részből épült fel. Az első rész a beteg adatait tartalmazta (nem, kor, végzettség). A második részben önbevallás alapján kérdeztünk rá a gyógyszereléssel kapcsolatos szokásaikra, észrevételeikre. A kérdések között a terápiával való együttműködés, az esetleges mellékhatások észlelése, gyógyszer helyettesítés is szerepelt. A kérdőív harmadik részében a betegek által jelzett eltérések okaira kérdeztünk, célunk az volt, hogy azonosítsuk azon tényezőket, melyek ismeretében javíthatók, kiküszöbölhetőek az esetleges gyógyszerelési problémák.

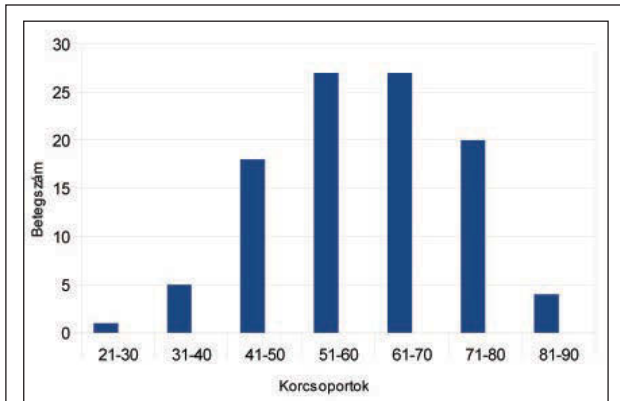
A kérdőív második és harmadik részében található kérdésekre adott válaszok szubjektívnek tekinthetők, mivel minden esetben a beteg személyes véleményét, észleléseit reprezentálja.

A részvétel önkéntes volt, a kérdőívet expediálás során a gyógyszertárban metformin hatóanyagú gyógyszert kiváltó betegekkel töltöttük ki. A kérdőív kitöltését minden esetben az expediáló gyógyszerész kezdeményezte, mivel az 1997. évi XLVII. törvény alapján neki van jogosultsága a gyógyszerelésbe is betekinteni. A vizsgálatban való részvétel feltétele a metformin hatóanyagú gyógyszer szedése volt.

A kérdőív kitöltése során vizsgáltuk a különböző korosztályú, nemű és iskolai végzettségű betegek beteg-együttműködéssel, mellékhatással, gyógyszerkiváltással és gyógyszer helyettesítéssel kapcsolatos válaszait. A kapott eredményeket Excel táblázatban rögzítettük, és leíró statisztikai értékelést, valamint a hipotézis vizsgálathoz  $\chi^2$ -próbát végeztünk.

## Eredmények

A vizsgálatban résztvevő betegek közül 102 töltött ki kérdőívet. Azok a betegek vettek részt a vizsgálatban, akik önkéntesen csatlakoztak; ezt az expediálást megelőzően kérdeztük meg. Akik ettől elzárkóztak, nem vettek részt a vizsgálatban és róluk adatot nem gyűjtöttük. A kérdőívet csak azok



1. ábra: A betegek korcsoportok szerinti megoszlása

töltötték ki, akik gyógyszerésznél váltottak ki gyógyszert, szakasszisztensek nem vettek részt a kitöltésben. Ezért a kitöltött kérdőívek száma nincs arányban az összes kiváltott metformin hatóanyagú gyógyszer számával.

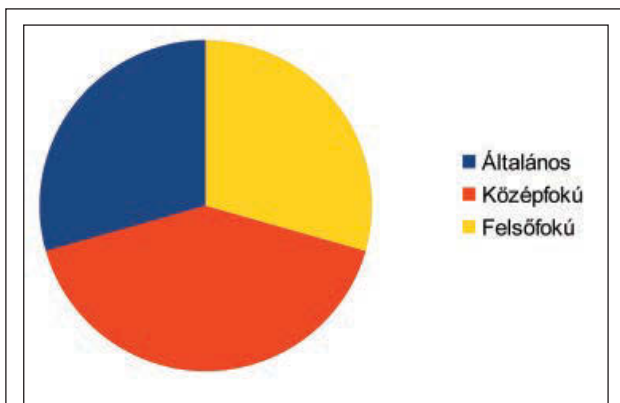
A felmérésben részt vevők között 60 nő és 42 férfi volt. A résztvevők kormegoszlását az 1. ábra mutatja, míg a betegek iskolai végzettségének képzettségi szint szerinti megoszlását a 2. ábra szemlélteti.

A vizsgálatban résztvevő betegek közül 30 általános, 42 középfokú és 30 felsőfokú végzettséggel rendelkezett.

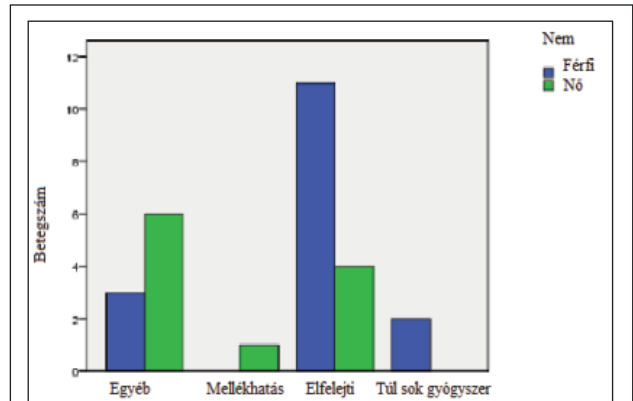
A férfi betegek átlagosan 7,7 éve, a nők átlagosan 8,2 éve szenvedtek cukorbetegségben.

A társbetegségek tekintetében jelentős eltérések voltak; a legjellemzőbb a hipertónia, dyslipidaemia, obesitas volt. Saját bevallásuk szerint a betegek 31,4%-ánál fordult elő, hogy nem szedik a gyógyszereiket megfelelően. A választ adó betegek 5,9%-a naponta, 4,9%-a hetente, míg 6,9%-a havonta, 13,7% ritkábban mint havonta tért el a megszabott gyógyszereléstől.

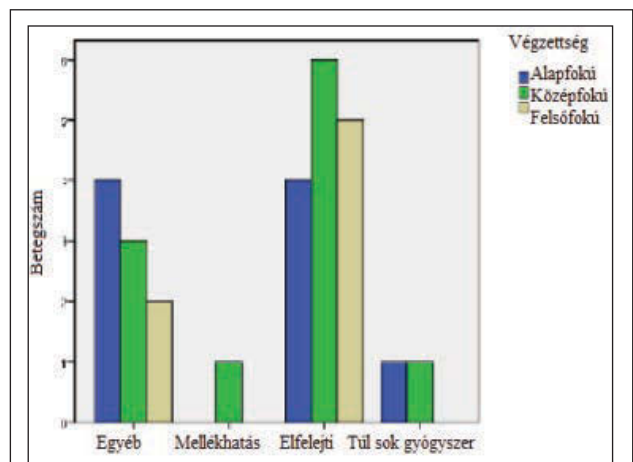
A betegek együttműködése, illetve a non-adherencia gyakorisága a nemek tekintetében



2. ábra: A betegek iskolai végzettségének megoszlása



3. ábra: Az adherenciát csökkentő tényezők nemek között



4. ábra: Az adherenciát csökkentő tényezők iskolai végzettség szerint

szignifikáns különbséget mutat ( $p=0,014$ ), a korcsoportok és a különböző iskolai végzettségű betegek között nem mutatkozott szignifikáns különbség ( $p=0,253$ ;  $p=0,598$ ).

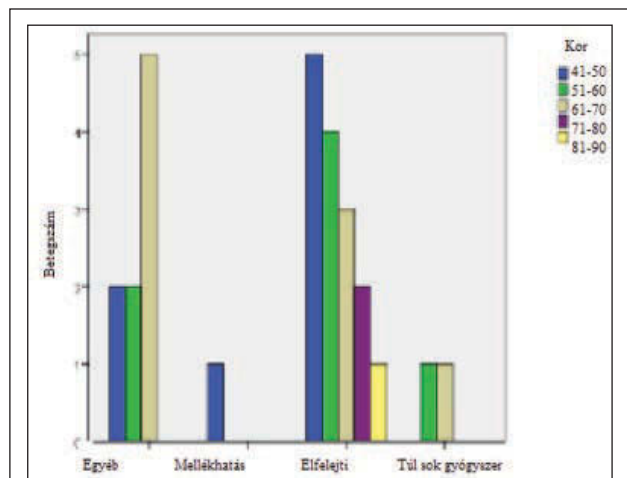
Az önbevallás alapján nem megfelelő együttműködéssel rendelkező betegek általuk megjelölt indokait a 3. ábra szemlélteti. Itt a szignifikancia a határon van ( $p=0,087$ ), a férfiak inkább elfelejtik a gyógyszerüket megfelelően szedni.

A korcsoportok és a különböző iskolai végzettségű betegek adherenciáját vizsgálva nem volt szignifikáns különbség (4. és 5 ábra).

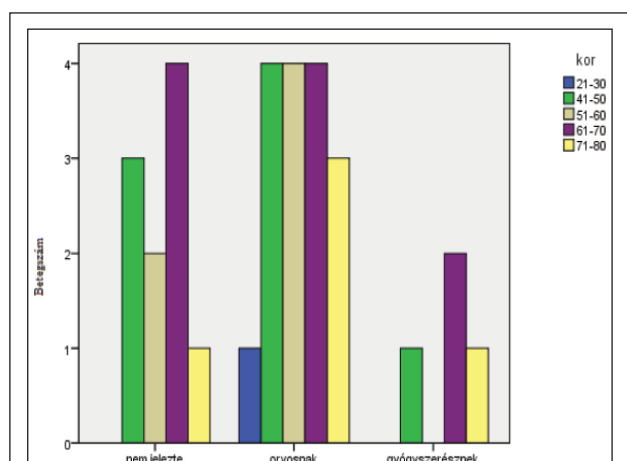
A nem együttműködő betegek összetételéből látszik, hogy a 60-70 év közötti, középfokú iskolai végzettségű férfi betegek a legkevésbé együttműködők. Azon betegek, akik feledékenységéből nem szedik megfelelően gyógyszereiket, többnyire a 40 év és 60 év között középfokú végzettséggel rendelkező férfi betegek voltak.

A mellékhatást jelentők összetételének vizsgálata során a nemek között szignifikáns különbséget találtunk ( $p=0,016$ ); több nő jelzett mellékhatást. A

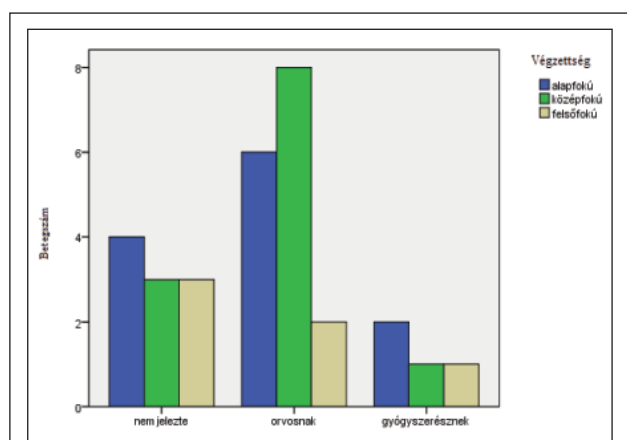




5. ábra: Az adherenciát csökkentő tényezők korcsoportok szerint



6. ábra: A mellékhatás korcsoportok szerinti jelentése



7. ábra: Mellékhatás-jelentés iskolai végzettség szerint

mellékhatást jelző nők 100%-a az orvosnak jelzett (a férfiak 60%-a nem jelezte a problémát), 20-20%-a az orvosnak és a gyógyszerésznek jelzett. Korcsoportok szerint, nem volt szignifikáns különbség, de az ábrából jól látható, hogy a 20-as korosz-

tály és az 50-es korosztály csak az orvosának jelentett mellékhatást (6. ábra).

Az iskolai végzettség és a mellékhatás észlelése között a következő összefüggéseket találtuk. Az alapfokú végzettségűek, akik mellékhatást észlelnek, kétharmad arányban jelentik azt. A jelentő betegek kétharmada orvosát, és csak egyharmada a gyógyszerészét tájékoztatja. A középfokú végzettségű, mellékhatást észlelők ugyancsak kétharmad arányban jelentik a mellékhatást, de ezek 90 százaléka orvosának jelzi. A felsőfokú végzettségűeknek csak az 50 százaléka jelzi a mellékhatást, közel fele részben az orvosnak, illetve a gyógyszerésznek (7. ábra).

A betegek közel felénél gyógyszer-helyettesítés történt. A gyógyszerek helyettesítése és az észlelt mellékhatás között nem találtunk szignifikáns eltérést.

## Következtetés

A gyógyszer expedálása során használt alapszintű gondozási irányelv minden gyógyszerész számára támogatást nyújt a betegek biztonságos ellátásához. Az emelt szintű gondozás során már egy szűkebb kör, egy sokszor magasabb kockázati tényezőkkel rendelkező betegcsoport gondozása történik a gyógyszertárban. A kérdőíves felmérésünkben célként tűztük ki, hogy az alapszintű gondozási irányelv alapján információt szerezzünk egy olyan betegcsoportról, mely csoport gyógyszerészeti gondozása az emelt szintű gyógyszerészeti gondozás keretein belül zajlik.

Eredményeik eltérnek a hasonló vizsgálatok eredményeiről beszámoló publikációkban találhatóktól.

Vizsgálatunkban olyan eredményeket találtunk, melyek segíthetik a metformin hatóanyagú gyógyszer expedáló gyógyszerész tevékenységét, a nem, a kor és az iskolai végzettség összesítése után kapott eredményekből könnyebben meghatározható azon betegek köre, akikre fokozott figyelemmel kell lenni az expedálás során, hogy az eredményes gyógyszeres terápia megvalósuljon. Az adherencia javítása érdekében bővebb tájékoztatásban kell részesíteni a 60-70 év közötti férfi betegeket, a terápiával való együttműködés fontosságáról.

A mellékhatás tekintetében alacsonyabb azon betegek száma, akik az észlelt problémájukat a gyógyszerészük felé jelzik. Több nőbeteg észlelt mellékhatást, de ők ezt az orvosuk felé jelezték. Vizsgálatunkban a gyógyszerek helyettesítéséből adódó problémát nem jelentettek a betegek.

Közleményünk következő részében vizsgálataink további eredményeiről számolunk be.

### IRODALOM

1. Pharmaceutical Care Policies and Practices for a Safer, More Responsible and Cost-effective Health System.2012. <https://www.edqm.eu/en/pharmaceutical-care-1517.html> (letöltve: 2014. 10. 29.)
2. <https://www.fip.org/files/fip/Patient%20Safety/PatientSafetyAdvidShah.pdf> (letöltve: 2014. 10. 29.)
3. Vlayen, A., Verelst, S., Bekkering, G.E., Schrooten, W., Hellings, J., Claes, N.: *J Eval Clin Pract.* 18(2), 485-97 (2012).
4. Hallas, J., Gram, L.F., Grodum, E., Damsbo, N., Brøsen, K., Haghfelt, T., Harvald, B., Beck-Nielsen, J., Worm, J., Jensen, K.B., Davidsen, O., Frandsen, N.E., Hagen, C., Andersen, M., Frølund, F., Kromann-Andersen, H., Schou, J.: *Br J Clin Pharmacol.* 33(1), 61-8 (1992).
5. Col, N., Fanale, J.E., Kronholm, P.: *Arch Intern Med.* 150(4), 841-5 (1990).
6. Franceschi, M., Scarcelli, C., Niro, V., Seripa, D., Paziienza, A.M., Pepe, G., Colusso, A.M., Pacilli, L., Pilotto, A.: *Drug Saf.* 31(6), 545-56 (2008).
7. Howard, R.L., Avery, A.J., Howard, P.D., Partridge, M.: *Qual Saf Health Care* 12(4), 280-5 (2003).
8. Mannesse, C.K., Derkx, F.H., de Ridder, M.A., Man in 't Veld A.J., van der Cammen, T.J.: *Br Med J* 315, 1057-1058 (1997).
9. Roughead, E.E., Gilbert, A.L., Primrose, J.G., Sansom, L.N.: *Med J* 168(8), 405-8 (1998).
10. Sokol, M.C., McGuigan, K.A., Verbrugge, R.R., Epstein, R.S.: *Med Care* 43, 521-530 (2005).
11. Gehi, A.K., Ali, S. Na, B., Whooley, M.A.: *Arch Intern Med.* 167(16), 1798-803 (2007).
12. Rasmussen, J.N., Chong, A., Alter, D.A.: *JAMA.* 297(2), 177-86 (2007).
13. Cho, S.J., Kim, J.: Factors associated with nonadherence to antihypertensive medication. *Nurs Health Sci.* 2014. doi: 10.1111/nhs.12145
14. Braverman, J., Dedier, J.: *Ethn Dis.* 19(4), 396-400 (2009).
15. Stafford, A.C., Tenni, P.C., Peterson, G.M., Jackson, S.L., Hejlesen, A., Villesen, C., Rasmussen, M.: *Pharm World Sci.* 31(2), 216-23 (2009).
16. Peterson, G.M., Tenni, P.C., Jackson, S.L. et al.: Documenting clinical interventions in community pharmacy: PROMISE III. *Pharmacy Guild of Australia* 2010.

Érkezett: 2015. március 25.



