

A kolloidkémia jelenkori alkalmazásai között kiemelt szerepet kapnak a korszerű gyógyszerhordozó rendszerek. Ez köszönhető mind a változatos megoldások lehetőségének, mind annak, hogy egészségünk valamennyiünk számára fontos. Az új hatóanyagok keresése, azonosítása, szintézise mellett az ismert gyógyszermolekulák hatásosabb formában való alkalmazása is nagymértékű javulást eredményezhet a terápiában. A hatóanyagok már eddig is változatos gyógyszerformákban jelentek meg (tabletta, injekció, kenőcs, kapszula stb.) a felhasználás helyéhez, módjához alkalmazkodva. A korszerű, kolloidális gyógyszerhordozónak további speciális feladatokat kell ellátnia. Ezek közül a legfontosabb a szabályozott, vagy programozott hatóanyag-leadás, valamint az irányított hatóanyagtranszport. Ennek megvalósulása ugyanis lehetővé teszi, hogy kisebb mennyiségű gyógyszerrel, ritkább adagolással, vagy rövidebb idejű kezeléssel érjük el ugyanazt a terápiás hatást, így kímélve a szervezetet és jelentősen mérsékelve a mellékhatásokat.

Az ELTE Természettudományi Karán a Kémiai Intézetben folynak gyógyszertranszportra alkalmas nanorészecskékkel kapcsolatos kutatások. Az *Európai Lépéssel a Tudásért*, ELTE című pályázatunk során beszerzett FEI Quanta 3D pásztázó elektronmikroszkóp lehetőségei (ezekről a *Fizikai Szemle* 2011. októberi számában már beszámoltunk) nagymértékben segítik az ilyen irányú munkánkat. Az alábbiakban a gyógyszertranszport céljáról, módszereiről, a felhasználható részecskék előállításáról és a vizsgálati eljárásokról adunk rövid áttekintést.

A gyógyszerhordozó részecskék jellemzése

A kolloidális gyógyszerhordozók szerves vagy szervetlen anyagból felépülő, 10 nm és 100 μm közötti méretű, jellemzően a nm-es mérettartományba eső részecskék, amelyek alkalmasak arra, hogy gyógyszermolekulákat fogadjanak magukba. Kis méretüknek köszönhetően megváltoztatják az aktív anyag eloszlását a szervezetben, növelik a koncentrációt a célszervben, így fokozva a hatékonyságot és csökkentve a toxicitást. Képesek a nem vízoldható hatóanyagokat megfelelő diszpergált formában tartani, ezáltal növelni a biohasznosulást. Ezen funkciók ellátása szempontjából meghatározó fontosságú a gyógyszerhordozó típusa, felépítése, szerkezete és különösképpen a mérete.

A kolloidális gyógyszerhordozók két fő csoportba sorolhatók. A polimer gyógyszerhordozók közé tartoznak a polimer mikro- és nanorészecskéken kívül a mikrogelek, dendrimerek (elágazó szerkezetű, gömbszerű polimer molekulák) és a polimer-hatóanyag konjugátumok is. A másik nagy csoportba azok a gyógyszerhordozók tartoznak, amelyek kisebb egységek, molekulák spontán asszociációja útján keletkeznek, és többnyire rendelkeznek egy hatóanyag-szállításra alkalmas üreggel. Erre utal az elnevezésükben a „szoma” utótag. A liposzómák lipid molekulákból álló asszociátumok, míg a blokk-kopolimerekből poliszómák, kicsiny kolloid részecskékből pedig kolloszómák képződnek. Ezek mérete a néhány 10 nm-től a több 100 μm -ig terjedő tartományban előre tervezhető a felépítő egységek megválasztásával. Ismerünk ezen kívül szervetlen anya-

gokból, például szilikából, fémoxidokból előállított nanorészecskéket is, amelyek a gyógyszerhordozó feladat mellett különösen jól használhatóak lehetnek a diagnosztikában kontrasztanyagként, valamint egyéb orvosi segédanyagként. A nemesfém, illetve félvezető nanorészecskék speciális optikai tulajdonságuk miatt jutnak kiemelt szerephez.

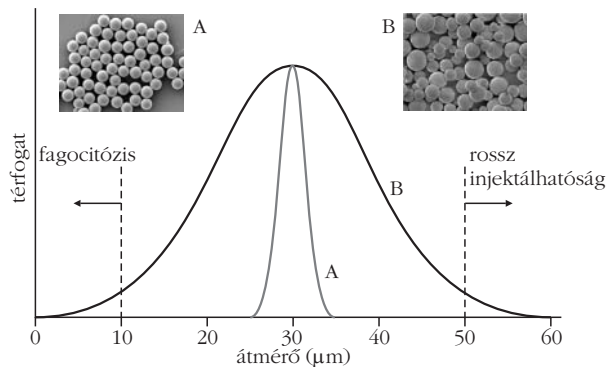
Az utóbbi évtizedekben gyorsan növekszik azon tudományos közlemények mennyisége, amelyekben ezen gyógyszerhordozók fejlesztéséről számolnak be. Néhány, elsősorban ráterápiában használt liposzómás készítmény már az orvosi gyakorlatba is bekerült, és több más rendszer a klinikai vizsgálatok különböző lépcsőjére jutott el. Egy tavalyi összefoglaló tanulmány szerint a nanoméretű részecskék forradalmasították a gyógyszertranszportot, mivel lehetővé tették, hogy segítségükkel a hatóanyag a célszervhez jusson el az egészséges szövetek terhelése nélkül [1]. Ehhez kémiai, fizikai, biokémiai módszerekkel azt kell megoldani, hogy a nanorészecskét ellássuk az irányító molekulákkal, vagyis funkcionálizáljuk, célba juttassuk, és eközben vizuálisan kövessük.

A polimer alapú nanorészecskékben rejlt lehetőségeket intenzíven kutatják az utóbbi években [2]. Az alapanyagok közül a poliészter típusú politejsav (PLA) és poliglükolsav (PGA), valamint kopolimerjeik (PLGA) azért állnak az érdeklődés középpontjában, mert kiváló a biokompatibilitásuk, valamint biológiailag lebonthatóak, és bomlástermékeik nem toxikusak. Ezek az előnyös tulajdonságok már néhány évtizede ismertek. Több orvosi területen már korábban alkalmaztak ilyen anyagból készült eszközöket, például a sebészetben a felszívódó sebvarró cernát. Az utóbbi évek felismerése az, hogy a biokompatibilis poliészterek ideális alapanyagok a változatos kolloidális gyógyszerhordozóknak, mikrogömböcskék, mikrokapszulák, nanorészecskék, pelyhek, implantátumok, filmek állíthatók elő ezekből a gyógyszerészeti és élelmiszeripari feladatokra engedélyezett anyagokból.

A PLA és PLGA részecskék azon előnyös tulajdonsága, hogy biológiailag lebonthatók, nem csupán azal jár, hogy a gyógyszerhordozó feladata teljesítése után szinte nyomtalanul eltűnik a szervezetből, hanem lehetővé teszi a szabályozott vagy programozott hatóanyag-felszabadulás megvalósítását. A polimer alapanyag szerkezeti, fizikai jellemzői ismeretében pontosan megtervezhető, hogy a szervezetben milyen ütemben degradálódjon, és így a hatóanyag felszabadulását és a szervezetben való eloszlását pontosan szabályozni lehet a megkívánt néhány napos vagy hónapos időtartamban.

Előállítás és méret

A PLA és PLGA gyógyszerhordozó részecskéket számos módszerrel lehet előállítani. Ezek közül azok a célravezetőbbek, amelyekben nem a polimerizációs folyamatot kell úgy vezetni, hogy azonos méretű kolloid részecskéket eredményezzen, hanem a kész poli-

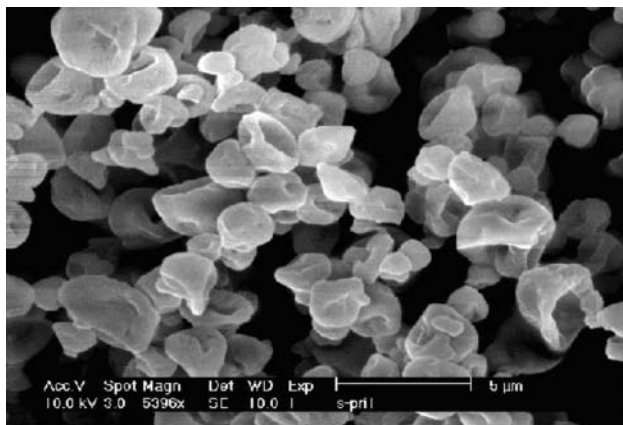


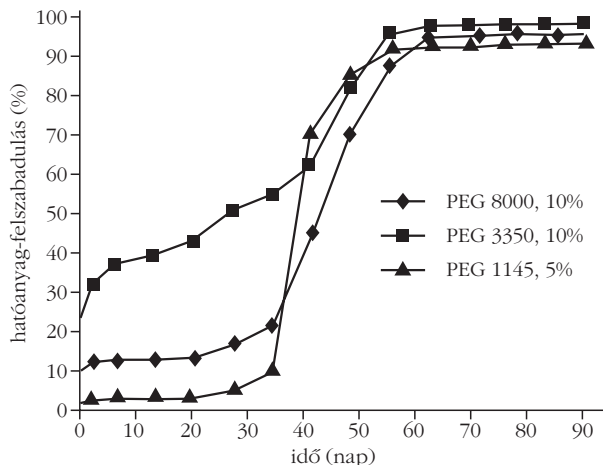
1. ábra. Gyógyszerhordozó mikrorészecskék méreteloszlása, [5] nyomán.

mer oldatából indulnak ki. Ezekhez a felhasználásokhoz a részecskéknek nemcsak biológiailag lebomlnak és biokompatibilisnak kell lennie, hanem pontosan szabályozott méretűnek és méreteloszlásúnak is. A méret nagyon fontos abból a szempontból is, hogy a szervezetben milyen lesz az eloszlása és mennyi ideig tud a vérkeringésben maradni. A méret természetesen a hatóanyag-felszabadulást is szabályozza. A következőkben néhány példát mutatunk be annak illusztrálására, mennyire fontos a gyógyszerhordozó mérete az egyes alkalmazásokban. Mikroméretű hatóanyag-hordozó részecskéket már régebben állítanak elő. A nanoméretű gyógyszerhordozók előállítása, amihez a meglévő módszerek fejlesztése, módosítása volt szükséges, viszonylag új terület. Ezekről elsősorban a célzott hatóanyagtranszport megoldása esetében várnak sokat.

A méretnek, a felületi tulajdonságok mellett igen fontos szerepe van abban, hogy a szervezetben hova fognak kerülni és hol fognak felhalmozódni a nanorészecskék. Bizonyos méretűek a májban, vagy a csontvelőben található meg nagy mennyiségben a szervezetbe való bejuttatás után. A 300 nm-nél nagyobb méretű részecskék a lépben gyűlnek fel. A 100 nm-nél kisebb részecskéknek van esélyük, hogy átjuthatnak a vér-agy gáton, és így lehetővé teszik bizonyos idegrendszerei betegségek lokális gyógyítását [3, 4]. A célzottan a tüdőbe juttatott gyógyszerhordozó részecskék optimális mérettartománya a mikrométeres.

2. ábra. Pászttázó elektronmikroszkópos felvétel a PLGA lemezkékről, amelyek 5% PEG-et tartalmaznak, [6] nyomán.





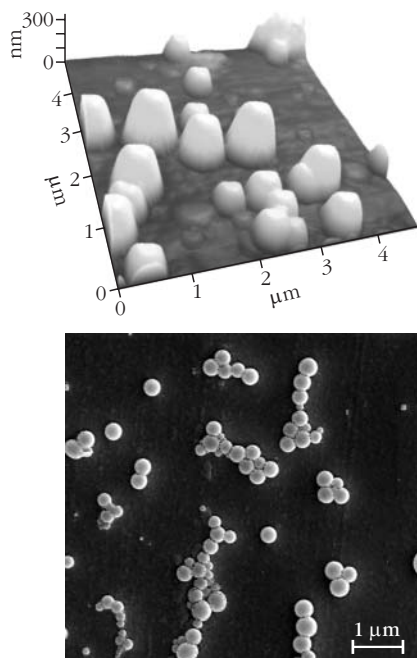
3. ábra. A hatóanyag-fel szabadulás mértéke kis PLGA lemezekből, amelyek összetételét különböző típusú polietilén-glikollal (PEG) módosították, [6] nyomán.

A 10–100 μm tartományba eső mikrogömböcskéket általában emulziós/oldószer elpárologtatásos eljárással állítják elő. Az 1. ábra arra hívja fel a figyelmet, hogy a részecskék szűk méreteloszlása két szempontból is kedvező.

A kívántnál kisebb méretű részecskék az élő szervezet természetes védekező mechanizmusa során a fagocitózis következtében gyorsan kiürülhetnek a szervezetből. Az ideálisnál nagyobb méretű részecskék pedig már nem alkalmasak az injekcióban való bejuttatásra. Az elektronmikroszkópos felvételeken jól látszik a részecskék közel azonos mérete (A rendszer), illetve a kisebb-nagyobb részecskék együttes jelenléte (B rendszer).

Wang és munkatársai 1 μm körüli átmérőjű, korong alakú részecskék (2. ábra) előállításáról számol-

4. ábra. PLGA nanorészecskék atomerő-mikroszkópos (felül) és pásztázó elektron mikroszkópos (alul) képe [8].

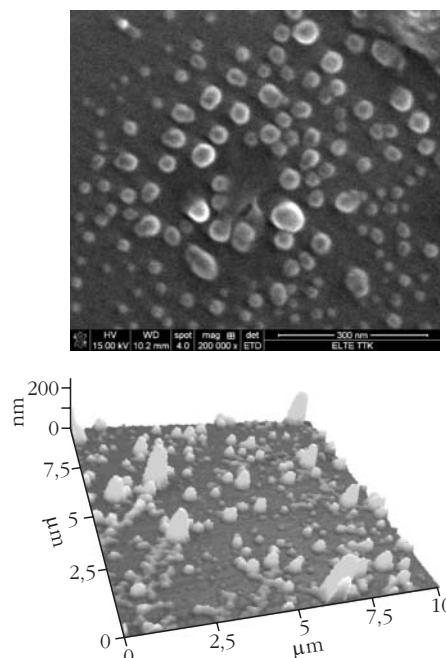


tak be [6]. Ehhez a PLGA polimert egy másik, szintén biokompatibilis polimerrel (PEG) kombinálták. A részecske-összetétel változtatásával különböző mértékű, időben elnyújtott hatóanyag-fel szabadulást értek el (3. ábra). A polimer részecskébe zárt hatóanyag ebben a vizsgálatban a rák sugárkezelése során használt, bomlékony gyógyszer. Arról számoltak be, hogy a hordozó alkalmazásával csökkenthető volt a bevitt mennyiség ugyanakkora terápiás hatás mellett.

A számos eljárás között, amelyekkel polimer nanorészecskéket lehet előállítani, a nanoprecipitáció egyszerű, gyors és gazdaságos technika. Fessinek és munkatársainak sikerült először hatóanyagot kapszulázni ezekbe a részecskébe [7]. A nanoprecipitációhoz vízzel elegyedő oldószerben kell feloldani a polimert, majd ezt az oldatot keverés közben vízhez adni, ami a polimer kicsapószere. Miután a szerves oldószert elpárologtatjuk, a polimer részecskék vizes diszperzióját nyerjük. A részecskék gömb alakúak, szűk méreteloszlást mutatnak, átmérőjük nanométeres mérettartományba (100–300 nm) esik. A kis méretet és a jó kitermelést az oldószer polaritásának növelésével és a polimer-koncentráció csökkentésével lehet elérni. Könnyen, gyorsan, egy lépésben kivitelezhető módszer.

A központi idegrendszert érintő betegségek lokális kezelése nehézségbe ütközik. A vér-agy gát elhatárolja a központi idegrendszert a szervezet többi részétől, és védi az agyat az idegen, toxikus anyagoktól. Ez a gát azt is megnehezíti, hogy a központi idegrendszer kóros elváltozásainak gyógyszerei eljussanak a megfelelő helyre. Az eddigi vizsgálatok szerint csak a 100 nm-nél kisebb méretű részecskék esetében van esély arra, hogy segítségükkel a hatóanyagok elérjék az

5. ábra. Nanoprecipitációval előállított, 100 nm-nél kisebb, fluoreszcens jelzőanyagot tartalmazó PLGA nanorészecskék elektronmikroszkópos (felül) és atomerő-mikroszkópos (alul) képe [4].



agyat. A nanoprecipitáció körülményeinek módosításával, adalékanyagok alkalmazásával sikerült körülbelül 50 nm átmérőjűre csökkenteni az előállított PLGA nanorészecskék átlagméretét. A vér-agy gáton való átjutás tanulmányozásához a részecskék fluoreszcens jelzőanyagot tartalmazó változatát kell elkészíteni. A fluoreszcein nátriumsót tartalmazó PLGA részecskék-ről készült felvételek láthatóak az 5. ábrán.

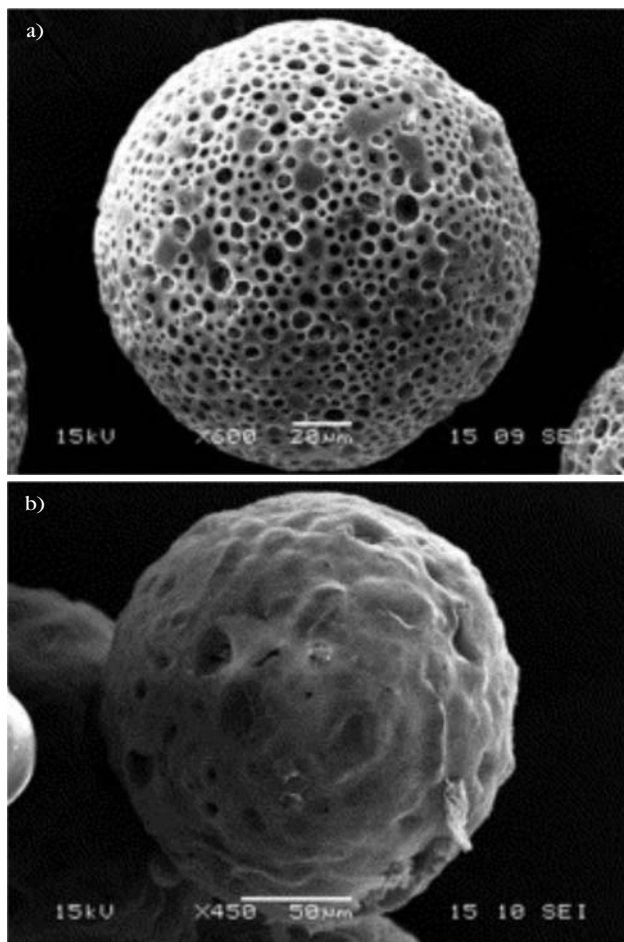
A hatóanyag bevitele és felszabadulása

A kolloidális gyógyszerhordozó részecskébe a hatóanyagot az előállítás során kell bejuttatni. A formulázás sikerességét leggyakrabban két paraméter segítségével értékelik. Az egyik a hordozó rendszer hatóanyag-tartalma, amely néhány százaléktól akár 50%-ig is változhat. A másik szintén fontos érték a kapcsulási hatékonyság, ami azt fejezi ki, hogy az eljárás során a felhasznált hatóanyag hányad részét sikerült a hordozóba bevinni, míg a maradék, ami nem épül be, a veszteség. Mindkét gyógyszerészeti paraméter növelésére törekszünk. Mivel a méretnek meghatározó szerepe van a hatóanyag szállításában, eloszlásában és a hasznosulásban, lényeges kérdés az, hogy a hatóanyag-bevitel nem módosítja-e a kedvezőnek ítélt méretet, illetve méreteloszlást egy adott hordozó rendszer esetében. Szisztematikus vizsgálatokat kell végezni, hogy megtaláljuk az optimális formulázási módszert, amelynek eredményeképpen a hatóanyagot is be tudtuk juttatni a nanorészecskébe, és a méret is a kívánt tartományban marad [9]. Gyakran tapasztalható olyan méreteloszlás-változás, ami a részecskék összetapadására, aggregációra utal. Gondot kell tehát fordítani annak vizsgálatára is, hogy a hatóanyag jelenléte hogyan befolyásolja a nanorészecskék kolloidstabilitását. Ezek a folyamatok szabályozhatóak olyan kísérleti paraméterekkel, mint az oldószer minősége, a pH, a szerves és vizes fázis aránya az előállítás során, különböző adalékanyagok alkalmazása.

A polimer gyógyszerhordozó részecskék lehetnek pórusosak is. Ekkor a hatóanyag felszabadulásához a hordozó felületi degradációja mellett a diffúzió, kioldódás, és a hordozó tömbfázisbeli degradációja is hozzájárul. Amennyiben elnyújtott hatóanyag-felszabadulásra van szükség, ezek a folyamatok inkább a mikrométeres hordozó részecskék esetében használhatók ki.

Felületmódosítás

A tárgyalt gyógyszerhordozók alapvetően kolloid-rendszerek, így központi kérdés a stabilitásuk, amely meghatározza, hogy az ilyen típusú hatóanyag-formulák ki tudják-e fejteni a kívánt hatást. Meg kell akadályozni, hogy a gondosan beállított méretű részecskék aggregálódjanak és ezáltal megváltozzon a transzport-tulajdonságuk, ami megghiúsítaná a célba jutást. A



6. ábra. Különböző módszerekkel előállított PLGA mikrorészecskék pásztázó elektronmikroszkópos képe, [10] nyomán.

felületmódosítás egyik szerepe éppen a sztérikus stabilizálás, aminek eléréshez a részecskék felületén polimer molekulák adszorpciója az egyik lehetséges megoldás. Tekintetbe kell venni azt is, hogy egy ilyen módosítással beavatkozunk a biológiai rendszerben való viselkedésébe is. Megfigyelték, hogy a sztérikusan stabilizált részecskék csökkent fehérjeadszorpciót mutatnak, kevésbé halmozódnak a májban, és hosszabb ideig tartózkodnak a véráramban. A polietilén glikollal végzett felületmódosítás esetében sikerült kombinálni két feladatot: a stabilizálást és a biokompatibilitás növelését.

A polietilén glikol (PEG) biológiai rendszerekkel való összeférhetősége miatt a gyógyszer- és élelmiszeriparban is széles körben alkalmazott segédanyag. A molekula régóta ismert arról a tulajdonságáról is, hogy hatóanyag-molekulákhoz kapcsolva előnyösen befolyásolja azok szerkezetbeli eloszlását, útját, felszívódási sebességét. Ez részben azzal függ össze, hogy a szerkezet természetes védekező mechanizmusát mintegy kijátszva, álcázza az adott vegyületet. Ezt a természetet, amely a molekula hidrofíl és nemionos jellegéből következik, előszeretettel és eredményesen használják ki a kolloidális gyógyszerhordozók esetében is [11]. Ilyen PEG molekulákból álló bevonat a gyógyszerhordozó felületén hozzájárul az adott rend-

szer biokompatibilitásának javításához, így mód van arra, hogy megvalósuljon például a tervezett, hosszú idejű hatóanyag-leadás.

A célba juttatás szintén a részecske felületén végrehajtott kémiai, biológiai módosítás, amelynek során specifikus felismerő molekulákat rögzítenek a felszínre, amelyek segítik a részecske felhalmozódását a kíván szervben, vagy sejtek környezetében.

Mindebből kitűnik, hogy a gyógyszerhordozó nanorészecskék igen komplex rendszert alkotnak, aminek egy még összetettebb rendszer, az élő szervezet körülményei között kell teljesítenie. Azokban a példákban, amiket röviden említettünk, ennek főleg egy jellemzőjét, a méretet igyekeztünk megragadni, ami nyilván egyszerűsítés, bár jelenlegi tudásunk szerint a méret és méreteloszlás sok szempontból meghatározó paraméter.

Köszönetnyilvánítás

Az általunk előállított polimer gyógyszerhordozók méretének és méreteloszlásának meghatározása az ELTE TTK Quanta 3D pásztázó elektronmikroszkópjával történt. Köszönjük a minták előkészítéséhez nyújtott segítséget, valamint a mérések szakszerű elvégzését.

A tanulmány az Európai Unió támogatásával és az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával készült, a támogatási szerződés száma TÁMOP 4.2.1/B-09/1/KMR-2010-0003.

Irodalom

1. Bhaskar, S., Tian, F., Stoeger, T., Kreyling, W., de la Fuente, J. M., Grazú, V., Borm, P., Estrada, G., Ntziachristos, V., Razansky, D.: Multifunctional Nanocarriers for diagnostics, drug delivery and targeted treatment across blood-brain barrier: perspectives on tracking and neuroimaging. *Particle and Fibre Toxicology* 7/3 (2010) 1–25.
2. Legrand, P., Lesieur, S., Bochot, A., Gref, R., Raatjes, W., Barratt, G., Vauthier, C.: Influence of polymer behaviour in organic solution on the production of polylactide nanoparticles by nanoprecipitation. *Int. J. Pharmaceutics* 344 (2007) 33–43.
3. Huszti Zs., Kálmán M.: *Glia*. Akadémiai Kiadó, Budapest, 2008.
4. Faragó Eszter: *A vér-agy gát szelektivitásának molekuláris szerkezeti alapjai és nanotechnológiai hasznosításuk a permeabilitás elősegítésére*. Diplomadolgozat, ELTE Kémiai Intézet 2011.
5. www.nanomi.com Nanomi B.V. Zutphenstraat 51 7575 EJ Oldenzaal The Netherlands
6. Wang, F. J., Lee, T. K. Y., Wang, C. H.: Controlled Release Devices for Chemotherapy and Radiotherapy Applications. *Biomaterials*, 23 (2002) 3555–3566.
7. Fessi, H., Puisieux, F., Devissaguet, J.-P., Ammoury, N., Benita, S.: Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. *Int. J. Pharmaceutics* 55 (1989) R1–R4.
8. Pribransky Kinga: *Kolloidális gyógyszerhordozó előállítása nanoprecipitációval*. TDK dolgozat, ELTE Kémiai Intézet, 2010.
9. Kiss É. D. Schnöller D., Pribranská K., Hill K., Pénczes Cs. B., Horváti K., Bősze Sz.: Nanoencapsulation of antitubercular drug isoniazid and its lipopeptide conjugate. *J. Dispers. Sci.* 2011.
10. Wang, J., Chua, K. M., Wang, C. H.: Stabilization and encapsulation of human immunoglobulin G into biodegradable microspheres. *J. Colloid Interfacial Sci.* 271 (2004) 92–101.
11. Csemesz F., Puskás I.: Controlling the Physical Stability of Liposomal Colloids. In *Colloid Stability and Application in Pharmacy*. (Ed: Th. F. Tadros) Wiley-VCH, 2007. Colloids and Interfaces Science Series, vol 3.