ACTA PHARMACEUTICA HUNGARICA

4.
2016

APHGAO 86, (043) 129–160. (2016)

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság tudományos folyóirata

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság Értesítője címmel megindította Lipták Pál 1925-ben

LXXXVI. évfolyam **129–160. oldal** **ISSN 001-6659**

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, Hõgyes Endre u. 9.

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

TARTALOM

Székely-Szentmiklósi Blanka, Orgován Gábor, Kelemen Hajnal: Az ezetimib gyógyszerészi kémiai jellemzése 133

Virág Dávid, Dalmadiné Kiss Borbála, Vékey Károly, Drahos László Antal István, Klebovich Imre, Ludányi Krisztina: Biológiai gyógyszerek analitikai vonatkozásai és tömegspektrometriás vizsgálata . . . 141

Csorba Veronika, Fekete Áron, Szabó Péter: Az OTC státuszból eredő gyógyszerbiztonsági kockázatok és kezelésük 151

CONTENTS

Székely-Szentmiklósi, B., Orgován, G., Kelemen, H.: Pharmaceutical chemical characterization of ezetimibe 133

Virág, D., Dalmadi-Kiss, B., Vékey, K., Drahos, L., Antal, I., Klebovich, I., Ludányi, K.: Analytical Aspects of Biopharmaceuticals and their Study by Mass Spectrometry. 141

Csorba V., Fekete Á., Szabó P.: Safety risks of over-the-counter (OTC) drugs and their management 151

Acta Pharmaceutica Hungarica: www.mgyt.hu

„Acta Pharmaceutica Hungarica" a Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság tudományos folyóirata
Kiadja a Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság, 1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16. Telefon: 235-09-99; E-mail: szerkesztoseg@mgyt.hu
Felelős kiadó: Prof. Dr. Szökő 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
Nyomdai munkák: Colortoys Bt. – Győr
Tördelőszerkesztő: *Oláh Csaba*

A MAGYAR GYÓGYSZERÉSZTUDOMÁNYI TÁRSASÁG
ELNÖKSÉGE,
A TÁRSASÁG TITKÁRSÁGA
ÉS AZ ACTA PHARMACEUTICA HUNGARICA SZERKESZTŐI
KÖSZÖNTIK KEDVES OLVASÓINKAT.

BOLDOG ÚJ ESZTENDŐT,
VALAMINT SZAKMAI TÖREKVÉSEIK
MEGVALÓSÍTÁSÁHOZ SOK SIKERT KÍVÁNUNK!

Acta Pharmaceutica Hungarica 86. 133-140 2016.

Az ezetimib gyógyszerészi kémiai jellemzése

SZÉKELY-SZENTMIKLÓSI BLANKA[1], ORGOVÁN GÁBOR[2], KELEMEN HAJNAL[1]

[1]*Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem, Gh. Marinescu u. 38, Marosvásárhely, 540139, Romania*
[2]*Semmelweis Egyetem Gyógyszerészi Kémiai Intézet, Budapest, Hőgyes E. u. 9 - 1092*
Levelezési cím: hajnal.kelemen@umftgm.ro

Summary

Székely-Szentmiklósi, B., Orgován, G., Kelemen, H.: ***Pharmaceutical chemical characterization of ezetimibe***

Ezetimibe belongs to a new class of lipid-lowering agents that selectively inhibit the intestinal absorption of cholesterol and related plant sterols. The molecular target of ezetimibe is the sterol transporter, Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1), which is responsible for the intestinal uptake of cholesterol and phytosterols. Its action is localized at the brush border of the small intestine where it inhibits the absorption of cholesterol, leading to a decrease in the delivery of intestinal cholesterol to the liver. Ezetimibe and statins, which are the most important part of the antihyperlipidemic therapy, have complementary mechanisms of action.

It have been recently demonstrated that administration of ezetimibe with a statin not only lowers LDL cholesterol level, but is also effective in reducing the risk of heart attack and stroke.

Összefoglalás

Az ezetimib a lipidcsökkentő gyógyszerek egy új osztályához, a koleszterin és a rokon növényi szterinek bélből való felszívódását szelektíven gátló vegyületekhez tartozik. Célmolekulája a *Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) szterintranszporter, ami a koleszterin és a fitoszterol* bélcsatornából történő felvételéért felelős. Az *ezetimib a vékonybél kefeszegélyébe jutva gátolja a koleszterin felszívódását, ami a májba jutó koleszterin mennyiségének csökkenéséhez vezet. Az ezetimib és az antihiperlipidémiás terápia legfontosabb részét képező sztatinok hatásmechanizmusa egymást kiegészíti. A legújabb kutatások szerint az ezetimib sztatinnal* társítva *nemcsak az LDL-koleszterin szintjét, hanem a szívinfarktus vagy a stroke kockázatát is csökkenti.*

Bevezetés

A koleszterin nélkülözhetetlen az emberi szervezet működéséhez, ugyanakkor a koleszterin szint kóros növekedése (hiperkoleszterinémia) a szívérrendszeri betegségek kialakulásának jelentős kockázati tényezője. A kardiovaszkuláris megbetegedések, a hipertónia, az arterioszklerózis a XXI. század civilizációs betegségei, melyek kezelésére alkalmazott antihiperlipidémiás terápiában a koleszterinszintet csökkentő hatóanyagok kiemelkedő jelentőségűek. Ide sorolhatók a triglicerid és koleszterin plazma-szintet csökkentő fibrátok, a 3-hidroxi-3-metilglutaril-koenzim-A (HMG-CoA) reduktáz enzimet gátló sztatinok, az epesavkötő gyanták, a nikotinsav és származékai [1-3].

Az ezetimib (EZE) a lipidcsökkentő gyógyszerek egy új osztályához, a koleszterin és a rokon növényi szterinek (szterolok) bélből való felszívódását szelektíven gátló vegyületekhez tartozik. Az ezetimib per os alkalmazva hatékony, a koleszterin-csökkentő vegyületek más típusaitól eltérő hatásmechanizmussal hat, a vékonybélben csökkenti a koleszterin felszívódását, célmolekulája a Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) szterintranszporter, ami a koleszterin és a fitoszterinek bélből való felvételéért felelős [4-6]. Az ezetimib a táplálékból és az epeutakból felszívódó koleszterinre egyaránt hat, új hatásmechanizmusa mellett számos előnyös tulajdonsággal rendelkezik, hosszú hatástartammal, alacsony szisztémás expozícióval és kiváló biztonságossági profillal [7, 8]. Mivel hatásmechanizmusuk kiegészíti egymást, gyakran sztatinokkal társítva alkalmazzák [9].

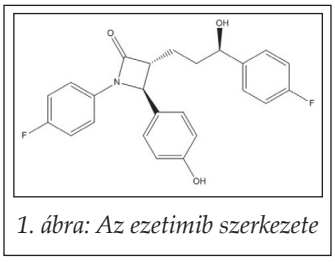
1. Története

A Schering-Plough kutatói 1994-ben írták le a monociklikus ß-laktám származékok egy egészen új hatásterületét, a koleszterin abszorpciójának gátlását. Figyelmük a koleszterin aciltranszferáz (ACAT) gátlókra irányult, de már a felfedezési program korai fázisában nyilvánvalóvá vált, hogy míg egyes analógok (SCH-48461) szerény *in vitro* ACAT gátló aktivitást mutatnak, *in vivo* nagymértékben csökkentették a koleszterin felszívódását. Az SCH-48461 tíz lehetséges metabolitjának vizsgálatával jutottak el végül az ezetimib szerkezetéhez, mely, mint kiderült, sikerét a vizsgált vegyületcsoporttól eltérő hatásmechanizmusának köszönheti.

Az ezetimibet, mint új gyógyszermolekulát 2002-ben vezették be a terápiába (Ezetrol, MSD), megjelenésével megnyitotta a koleszterinszint-csökkentő vegyületek egy új osztályát, a koleszterin felszívódás gátlókét, amelyek a szabad koleszterin-felvétel közvetlen gátlása révén csökkentik a plazma LDL-C szintet [10].

Mivel általában sztatinokkal együtt alkalmazzák, nemsokára megjelentek a társított, fix-dózisú kombinációs készítmények. Magyarországon 2006-ban engedélyezték az ezetimib/szimvasztatin (Inegy, MSD), 2014-ben az ezetimib/atorvasztatin (Liptruzet, MSD) és az ezetimib/rozuvasztatin (Viazet, Egis) társított készítményeket, amelyek 10 mg ezetimibet tartalmaznak különböző sztatin dózisok mellett: szimvasztatin, atorvasztatin 10-, 20-, 40-, 80 mg, roszuvasztatin 10- , 20- és 40 mg [11].

2. Kémiai szerkezet



1. ábra: Az ezetimib szerkezete

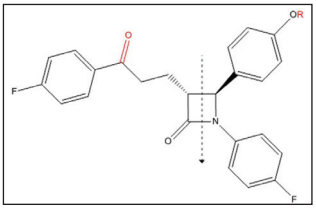
Az ezetimib β-laktám szerkezetű vegyület, kémiai megnevezése 1-(4-fluor-fenil)-3(R)-[3-(4-fluor-fenil)-3(S)-hidroxi-propil]-4(S)-(4-hidroxi-fenil)-2-azetidinon, összegképlete $C_{24}H_{21}F_2NO_3$, molekulatömege 409,4 és szerkezeti képlete az ***1. ábrá***n látható.

Az ezetimib molekula három para-szubsztituált fenil gyűrűt tartalmaz, optikai aktivitását a merev 2-azetidinon vázon található királis 3-(4-fluorfenil)-3-hidroxipropil csoport valamint egy másik sztereogén központ határozza meg. Ezáltal nyolc optikai izomérrel rendelkezik, melyeknek koleszterin felszívódást gátló hatása nagymértékben eltér egymástól. Az azetidinon gyűrűn található két aszimmetriacentrum 3R és 4S valamint a hidroxipropil csoport 3' S konfigurációja bizonyult a leghatékonyabbnak.

Fajlagos optikai forgatóképessége metanolban = 33,9º [5].

3. Előállítás

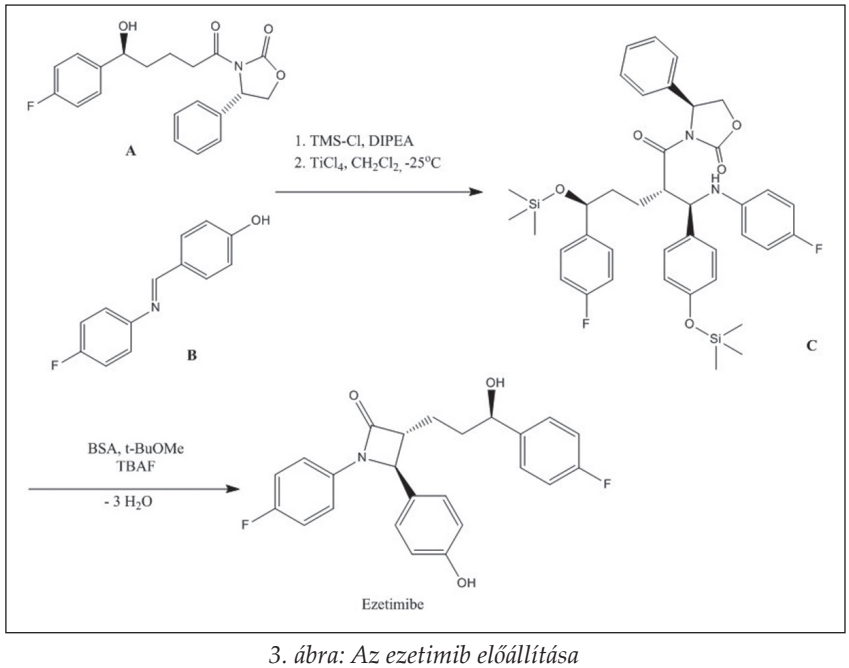
A szakirodalomban számos alternatív szintézisút fellelhető, az originális gyógyszer kutatói közleményükben három féle előállítási folyamatot írnak le, melyek mindegyike a ***2. ábrán*** bemutatott kulcsfontosságú köztitermék képződésével és ennek végtermékké történő hidrogenolízisével zárul. Ezen eljárások az aril-keton fragmens oldalláncának szerkezetében, annak hosszában és funkciós csoportjaiban térnek el egymástól.



2. ábra: Az ezetimib szintézis köztiterméke

A ***3. ábra*** egy ipari előállításra is alkalmas optimalizált eljárás legfontosabb lépéseit szemlélteti. Az **A**-val jelzett királis alkoholt a megfelelő keton katalitikus redukciójával nyerik, majd a hidroxil csoportot trimetil-szilil-klorid (TMS-Cl) hozzáadásával védik, amelyet a titán-enolát képződése követ, majd a fenolos imin (*3. ábra*/ **B**) hozzáadása. A feleslegben levő TMS-Cl reakcióba lép a fenolos hidroxilcsoporttal és kristályos **C** termék keletkezik. Látható, hogy a trimetil-szilil védő csoport körültekintő megválasztása lehetővé teszi mind a fenol, mind a benzil hidroxil védelmét. Számos kísérlet után derítettek fényt arra, hogy N,O-bisztrimetil-acetamid (BSA) majd katalitikus mennyiségű tetrabutilammónium-fluorid (TBAF) hozzáadása 2-azetidinon gyűrűzáródást eredményez [10].

A szintézis különböző módozatai szemléltetik az N-aril 2-azetidinonok stabilitását, ellenálló-képességét és számos ezetimib analóg előállítását teszik lehetővé [10, 12].



3. ábra: Az ezetimib előállítása

4. Fizikai-kémiai tulajdonságok

Az ezetimib fehér, kristályos anyag, melynek legfontosabb fizikai – kémiai paramétereit az alábbiakban foglaljuk össze.

Kristályforma és polimorfizmus

Irodalmi források két polimorf módosulatot említenek, amelyek röntgendiffrakciós és IR spektroszkópiai vizsgálatokkal megkülönböztethetők. A polimorf módosulatok előfordulhatnak vízmentes, monohidrát és amorf formában. Különféle előállítási módok különböző polimorf formákhoz vezethetnek. A különböző kristályformák egymásba átalakulhatnak. A vízmentes ezetimib higroszkópos, megköti a levegő nedvességtartalmát, ezáltal monohidráttá alakul [13, 14].

Olvadáspont

Az ezetimib szobahőmérsékleten stabil, a monohidrát 25–70°C-on veszíti el kristályvizét, az olvadás 163°C-on kezdődik, olvadáspontja 163°C - 166°C [4, 13].

Oldékonyság, sav-bázis tulajdonságok, lipofilitás

Az ezetimib vízben gyakorlatilag oldhatatlan, etanolban, metanolban, acetonban bőségesen oldódik. A vízmentes ezetimib és a monohidrát oldékonyságát az ***I. táblázat*** szemlélteti.

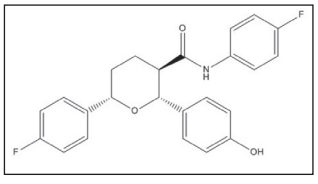
Az ezetimib savi disszociációs állandója elméleti számítással 9.66 a fenolos hidroxilcsoportnak köszönhetően, ez megközelíti a potenciometriás titrálással mért 9.75 pK_a értéket. A szervezet pH-ján tehát a vegyület túlnyomórészt semleges formában van jelen.

A molekula meglehetősen lipofil, az oktanol/0.1N HCl valamint az oktanol/pH=7 puffer megoszlási hányados értéke (logP) 4,5 körüli [4, 13].

Stabilitás, szennyeződések

Stabilitási vizsgálatok során enyhe oldószerk, alacsony páratartalom, és hő nem vezettek a hatóanyag bomlásához, fény vagy ultraibolya sugárzás (254 nm) hatására kismértékű bomlás következett be [15, 16].

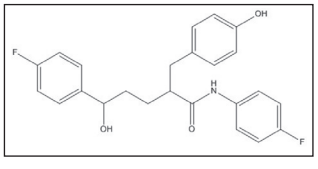
Kimutatták, hogy savas közegben a vegyület stabil, lúgos közegben azonban bomlást szenved. A bomlástermék térszerkezetének felderítése során fény derült arra, hogy az ezetimib lúgos hidrolízise az azetidinon gyűrű felnyílásával jár [15-19].



4. ábra: Az ezetimib bomlástermékének szerkezete [20]

A bomlástermék szerkezete vitatott, MS és NMR spektroszkópiai adatok alapján az alábbi szerkezetet írták le ***(4. ábra***): (2R,3R,6S)-N,6-bis(4-fluorfenil)-2-(4-hidroxifenil)-3,4,5,6-tetrahidro-2H-pirán-3-karboxamid [20].

Analitikai vizsgálatok két szennyeződés meglétét mutatták ki, amelyek az I. és II. szennyeződés elnevezést kapták. Ezen szennyeződések az előállítás során keletkeznek, amikor a benzil-ezetimib debenzilációja történik ezetimibbé. Ezt a lépést a β-laktám gyűrű felnyílása kísérheti, ami az I. típusú szennyeződés megjelenéséhez vezet. Ennek szerkezetét NMR és IR spektroszkópiás vizsgálatokkal igazolták, és kimutatták, hogy ez a 2-(4-hidroxi-benzil)-N-5-bis-(4-fluorfenil)-5-hidroxi-pentánamid (***5. ábra***). A II. szennyeződés szerkezete nem tisztázott.



5. ábra: Az I. szennyeződés kémiai szerkezete [21]

Ezt követően még számos közlemény jelent meg, mely a különböző előállítási fo-

I. táblázat

Az ezetimib oldékonysága

Oldószer	Az ezetimib oldékonysága(mg/ml)	
	Ezetimib vízmentes	Ezetimib monohidrát
Víz	0,012	0,008
0,1N HCl	0,011	0,024
n-hexán	<0,001	<0,001
Acetonitril	68,6	77,8
Etanol	168	169
Metanol	>200	-
Aceton	>200	-
DMSO	>200	-

lyamatokból származó szennyeződések vizsgálatával foglalkozik, ide tartoznak a sztereoizomerek, és a szintézis során keletkező bomlás- és köztitermékek [22-27].

6. Analitikája

6.1. Spektroszkópiai jellemzők

IR spektroszkópia

Az ezetimib és bomlástermékeinek FTIR spektrumára számos közleményben találhatunk utalást [25-29]. Amint az 5. fejezetben említettük, ez a módszer alkalmas a polimorf módosulatok megkülönböztetésére, mivel az I. forma nagy intenzitású jelet ad 3270 cm^{-1}-en, míg a II-es forma emellett a 3438 cm^{-1} értéken is [22].

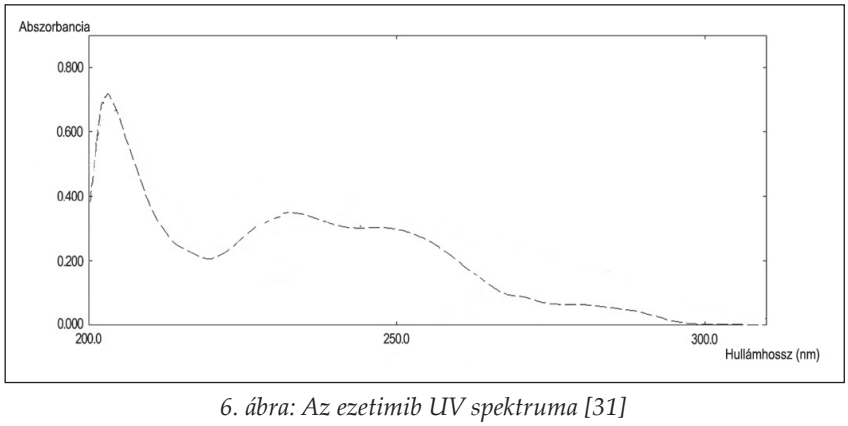
Egy másik, az ezetimib szintéziséről beszámoló tanulmányban végtermékre a következő hullámszámokon mértek jellegzetes abszorpciós sávokat: 3270, 2918, 1862, 1718 és 1510 cm^{-1} [30].

Ez a módszer alkalmas a bomlástermékek szerkezetének felderítésére, valamint ezek, mint szennyeződések, jelenlétének vizsgálatára. A lúgos hidrolízis során keletkező, fentebb említett I. típusú szennyeződés IR spektruma nem rendelkezik az azetidinon gyűrűre jellemző C=O abszorpciós sávval 1728 cm^{-1}-en, viszont megjelenik a primer aminra jellemző sáv 3462 cm^{-1}-en és egy erős C=O vegyértékrezgésből származó sáv 1650 cm^{-1}-en [21].

UV spektroszkópia

7 μg/ml koncentrációjú metanolos oldat UV spektrumát az alábbi ábra mutatja be (***6. ábra***).

A fenol csoport átalakításával kolorimetriás meghatározás is végezhető, így például a Folin-Ciocalteu reakció kék színű terméket eredményez, amely 760 nm hullámhosszon vizsgálható [32]. Hasonló elven történik egy másik kolorimetriás módszer, melynek során a fenol csoportot vas(III)-kloriddal oxidációnak vetik alá, majd rózsaszín komplexet képeznek fenantrolinnal, és ezt 510 nm-en mérik. Ez utóbbi módszernek egy másik változata, hogy fölös mennyiségű vas (III) kloridot alkalmaznak, mely az ezetimibet oxidálja és a keletkezett vas (II) ionokat hexacianoferrát(III)-mal határozzák 740 nm-en [33]. Minden esetben szükséges a reakciókörülmények, így a koncentráció, várakozási idő és pH megfelelő beállítása [34].



6. ábra: Az ezetimib UV spektruma [31]

6.2. Egyéb vizsgálati módszerek

Termoanalitikai módszerek (TGA, DTA és DSC) is alkalmazhatók a kristályos ezetimib vizsgálatára, így nyomon követhető az ezetimib monohidrát kristályvizének elvesztése, amely Brüning mérései szerint 38 és 80 ^{0}C-on következett be [28, 35].

A vékonyréteg kromatográfia (TLC) és nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC) az ezetimib önálló és összetett készítményekből történő meghatározására egyaránt alkalmasak. Egy másik korszerű vizsgálati módszer a kapilláris elektroforézis egyik válfaja, a micelláris elektrokinetikus kromatográfia (MEKC), amely szintén alkalmazható az ezetimib és sztatinok egyidejű meghatározására kombinációs készítményekből [13, 36, 37].

Királis szennyeződésként nagyon kis mennyiségben előfordulhat egy diasztereomer, a (3R,4S)-1-(4-fluor-fenil)-3-[(**3R**)-3-(4-fluor-fenil)-3-hidroxipropil]-4-(4-hidroxi-fenil)-2-azetidinon, az ún. (R)-enantiomer vagy (3R,4S,**3'R**) enantiomer. Szuperkritikus folyadékkromatográfiás (SFC) eljárással az adott diasztereomer elválasztható, és számos vizsgálati módszerrel jellemezhető (UV, FT-IR, HPLC, NMR) [38].

Más szerzők szerint bizonyos előállítási folyamatok révén keletkező szennyeződés a (**3S**,4S,3'S) izomér, ennek kvantitatív meghatározására fejlesztettek ki fordított fázisú HPLC módszert [23].

7. Hatásmechanizmus

Az ezetimib *per os* alkalmazva aktív, a koleszterin-csökkentő vegyületek más típusaitól (pl.

sztatinok, epesavkötő gyanták, fibrinsav származékok és növényi szterolok) eltérő hatásmechanizmussal rendelkező vegyület, mely az "Egyéb koleszterin- és triglicerid-csökkentő szerek" farmakoterápiás csoportba tartozik, ATC kódja C10AX09. Az ezetimib célmolekulája a Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) szterin-transzporter, ami a koleszterin és a fitoszterinek bélcsatornából történő felvételéért felelős. Az ezetimib a vékonybél kefeszegélyébe jutva gátolja a koleszterin felszívódását, ezáltal csökkenti a bélből a májba jutó koleszterin mennyiségét [4, 5]. Gyakran társítják sztatinokkal. A sztatinok a májban folyó koleszterinszintézist csökkentik, és e két eltérő mechanizmus együttesen fokozott koleszterincsökkenést eredményez [9, 39-41].

8. Farmakokinetikai tulajdonságok

1.1. Felszívódás

Szájon át történő adagolás után az ezetimib gyorsan felszívódik és jelentős mértékben farmakológiailag aktív fenolos glükuroniddá (ezetimib-glükuronid) konjugálódik. Az átlagos maximális plazmakoncentráció (C_{max}) ezetimib-glükuronid esetén 1-2, ezetimib esetén 4-12 óra alatt alakul ki. Az ezetimib abszolút biohasznosulását nem lehet meghatározni, mivel a vegyület gyakorlatilag oldhatatlan bármely injektálható vizes közegben.

1.2. Eloszlás

Az ezetimib 99,7%-ban, az ezetimib-glükuronid 88-92%-ban kötődik a humán plazmafehérjékhez.

1.3. Biotranszformáció

Az ezetimib elsősorban a vékonybélben és a májban, glükuronid-konjugációval (Fázis II. reakció) metabolizálódik, melyet epével történő kiválasztás követ. A plazmában kimutatható az ezetimib és az ezetimibglükuronid, melyek az alkalmazott gyógyszerből származó összes vegyület 10-20, illetve 80-90%-át teszik ki.

1.4. Elimináció

Mind az ezetimib, mind az ezetimibglükuronid lassú plazmaeliminációt és jelentős enterohepatikus cirkulációt mutatnak. Az ezetimib és ezetimib-glükuronid felezési ideje körülbelül 22 óra [4, 5].

8. Farmakodinámiás hatások

Számos vizsgálat igazolta, hogy az ezetimib szelektíven gátolja a koleszterin felszívódását, de nem befolyásolja a trigliceridek, zsírsavak, epesavak, progeszteron, etinil-ösztradiol, vagy a zsíroldékony A- és D-vitamin felszívódását [4, 5].

Klinikai vizsgálatokban az önmagában, vagy valamely sztatinnal együtt adott ezetimib szignifikáns mértékben csökkentette az összkoleszterin- (össz-C), az LDL-koleszterin- (LDL-C), az apolipoprotein B- (Apo B), és a triglicerid- (TG) szinteket, és növelte a HDL-koleszterin- (HDL-C) szintet a hiperkoleszterinémiában szenvedő betegekben [39].

Epidemiológiai vizsgálatok igazolták, hogy a kardiovaszkuláris morbiditás és mortalitás egyenesen arányos az össz-C és az LDL-C szinttel, és fordítottan arányos a HDL-C szinttel. A legújabb vizsgálati eredmények szerint az ezetimib társítása sztatinnal hatékonyan csökkenti a kardiovaszkuláris események kockázatát szívkoszorúér-betegségben szenvedő és akut koronária szindróma kórtörténettel rendelkező betegeknél is (IMPROVE IT klinikai vizsgálat, 2015) [40].

A koszorúér plakk regresszióra irányuló, intravaszkuláris ultrahanggal végzett vizsgálatok azt mutatták, hogy a nagyobb mértékű LDL-C csökkentés kedvezőbb a plakk progressziójának csökkenése szempontjából. Sőt, arra is felhívták a figyelmet, hogy a 2 mmol/l-nél alacsonyabb LDL-C értéknél már plakk-regresszió is megfigyelhető (PRECISE IVUS klinikai vizsgálat, 2015) [41, 42].

9. Összefoglalás

Az ezetimib a koleszterinszint-csökkentő vegyületek egy új osztályába, a koleszterin felszívódás gátlókéba tartozik, amelyek a koleszterinfelvétel *közvetlen gátlása révén csökkentik a plazma LDL-C szintet. További* kutatások folynak *új* ezetimib-analógok kifejlesztésére, a koleszterinfelvétel *gátlók osztályának bővítésére* [13, 43], valamint a molekula oldékonyságának és ezáltal biohasznosulásának *növelésére, különböző hordozó-rendszerek kifejlesztésével.* Ilyen rendszerek például ciklodextrin-zárványkomplexek [44-46], de megoldást jelenthet a nagy vízoldékonyságú kopolimerek alkalmazása [47], valamint a nanokristály-képzés [48-50].

A közeljövőben a hiperlipidémia elleni gyógyszerek egy teljesen új osztálya, a PCSK9 gátlók (evolokumab, alirokumab) alapjaiban megváltoztathatják a jelenleg elfogadott terápiát. Ezek a monoklonális antitestek injekciós készítmények

formájában kerülnek alkalmazásra [51, 52]. Amíg ez a kezelés széles körű felhasználást nyer, az ezetimib/sztatin kombináció marad a jelenleg széles körben elérhető leghatékonyabb terápia.

Jelen tanulmány az Erdélyi Múzeum-Egyesület Orvos- és Gyógyszerésztudományi Szakosztálya és a Semmelweis Egyetem Gyógyszerésztudományi Kara által biztosított támogatás keretén belül készült (3/2015/P.2/EMEOGYSZ).

IRODALOM

1. *Fülöp F., Noszál B., Szász Gy, Takácsné Novák K.*: Gyógyszerészi kémia. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2010, 385-396. old.
2. Martindale: The Complete Drug Reference, 35 ed., The Pharmaceutical Press, London, 2007.
3. *O'Neil M.J.*: The Merck Index, 13th ed., Merck & Co, Inc., New Jersey, 2001.
4. Merck Canada Inc., Product Monograph Ezetrol http://www.merck.ca/assets/en/pdf/products/EZETROL-PM_E.pdf, 2012.
5. Summary of product Characteristics Ezetrol, 2016 http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/12091
6. *Xie, P., Jia, L., Ma, Y., Ou, J., Miao, H., Wang, N., Guo, F., Yazdanyar, A., Jiang, X.C., Yu L.:* Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology *33*, 920-925 (*2013*).
7. *Katsiki, N., Theocharidou, E., Karagiannis, A., Athyros, V. G., Mikhailidis, D.P.*: Current Pharmaceutical Design *19*, 3107-3114 (*2013*).
8. *Savarese, G., Ferrari, G.M., Rosano, G.M.C., Perrone-Filardi, P.:* International Journal of Cardiology *201*, 247–252 (*2015*).
9. *Fazio, S.*: Atherosclerosis Supplements 17 C, 23–26 (*2015*).
10. *Stuart B. Roseblum*: Cholesterol Absorption Inhibitors: Ezetimibe (Zetia). In: Johnson, D.S., Li, J.J.: The Art Of Drug Synthesis. John Wiley and Sons, New Jersey, 2007. pp. 183-196.
11. Országos Gyógyszerészeti és Élelmezés-egészségügyi Intézet, Budapest: http://www.ogyei.gov.hu/gyogyszeradatbazis/index.php?action=show_details&item=24272 és 99879, 96303.
12. *Venkanna, G., Madhusudhan, G., Mukkanti, K., Kumar, Y.S.:* J. Chem. Pharm. Res. *7*,2127-2136 (*2015*).
13. *Lestari, M. L.A.D., Ardiana, F., Indrayanto, G.*: Ezetimibe In: Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology, Elsevier Inc, 2011, pp. 103-149.
14. *Farias, M.A.S., Soares, F.L.F., Carneiro, R.L.*: Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis *121*, 209–214 (*2016*).
15. *Sistla,R., Tata, V.S., Kashyap, Y.V., Chandrasekar, D., Diwan P.V.:* J. Pharm. Biomed.Anal. *39*, 517–522 (*2005*).
16. *Pandey, S. , Rathanand, M.* : Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. *1*, 53–57 (*2010*).
17. *Singh, S., Singh, Bahuguna, B. R., Wadhwa, L., Saxena, R.*: J. Pharm. Biomed. Anal. *41*,1037–1040 (*2006*).
18. *Dixit, R.P. , Barhate, C.R., Nagarsenker, M.S.*: Chromatographia *67*, 101–107 (*2008*).
19. *Oliveira, P.R., Junior, L.B., Fronza, M., Bernardi, L.S., Masiero, S.M.K., Dalmora, S.L.*: Chromatographia *63*, 315–320 (*2006*).
20. *Sánta, Zs.,Kóti, J., Szőke,K., Vukics, K., Szántay, Cs.Jr.* : J. Pharm. Biomed. Anal. *58*, 125–129 (*2012*).
21. *Raman, B., Sharma, B.A., Butala, R., Ghugare, P.D. , Kumar, A.*: J. Pharm. Biomed. Anal. *52*, 73–78 (*2010*).
22. *Sundaram, V., Rajan, S.T., Ramayya, V.P. ,Vardhan, S.V., Subrahmanyam, B., Sasikala, C.V.*: US Patent No. US 2005/0171080 A1, 2005.
23. *Luo, Z., Deng, Z., Liu, Y., Wang, G., Yang, W., Hou, C., Tang, M., Yang, R., Zhou, H.*: Talanta*139*, 67–74 (*2015*).
24. *Atici, E.B., Karlığa, B.*: Journal of Pharmaceutical Analysis *5*, 356–370 (*2015*).
25. *Zhang, D., Su, J.*: Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis *107*, 355–363 (*2015*).
26. *Guntupalli, S., Raya,U.K., Murali, N., Badrinadh Gupta, P., Kumara, V.J., Satheesha, D., Islama*: Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis *88*, 385–390 (*2014*).
27. *Filip, K., Bankowski, K., Sidoryk, K., Zagrodzka, J.*, Łaszcz, *M., Trzcinska, K., Szyprowska, A., Cmoch, P., Maruszak, V.*: Journal of Molecular Structure *991*, 162–170 (*2011*).
28. *Kane, R.N., Kuchekar, B.S., Naik, S.R., Bumrela, S.B.*: Int. J. Chem. Anal. Sci. *1*, 22–27 (*2010*).
29. *El-Moghazy, S.M. , Mohamed, M.A.E.A. , Mohamed, M.F., Youssef, N.F*: .J. Chin. Chem.Soc. *56*, 360–367 (*2009*).
30. *Sasikala, C. H. V. A., Padi, P. R., Sunkara, V., Ramayya, P., Dubey, P. K., Uppala V. B. R., Praveen, Ch.*: Org. Process Res. Dev *13*, 907–910 (*2009*).
31. *Abdelwahab, N. S., El-Zeiny, B.A.,.Tohamy, S.*: Journal of Pharmaceutical Analysis 2(4), 279–284 (*2012*).
32. *Mishra, P., Gupta, A., Shah, K.*: J. Indian Chem. Soc. *84*, 945–947 (*2007*).
33. *Lakshmi, P.B.S., Ramchandran, D., Rambabu, C.:* E-J. Chem. *7*, 101–104 (*2010*).
34. *Prajapati, P., Pandey, J., Shimpi, M.R., Srivastava, P.T., Velaga, S.P., Sinha, K.*: Journal of Molecular Structure *1125*, 193-203 (*2016*).
35. *Brüning, J., Alig, E., Schmidt, M.U.*: Acta Crystallogr. C *66*, 341–344 (*2010*).
36. *Yardımcı, C., Özaltin, N.:* Journal of Chromatographic Science *48*, 95-99 (*2010*).
37. *Dalmora, S.L., Oliveira, P.R., Barth, T., Todeschini, V.:* Anal. Sci. *24*, 499–503 *(2008).*
38. *Chimalakonda, K., Kamani, V., Gutta, M., Polisetty, S., Koduri S.V. S.*: American Journal of Analytical Chemistry *4*,488-495 (*2013*).
39. *Kastelein, J.J.P. for ENHANCE Investigators*: N Engl J Med *358*, 1431-1443 (*2008*).
40. *Cannon, C.P. for IMPROVE–IT Investigators*: N Engl J Med *372*, 2387-2397 (*2015*).
41. *Tsujita, K. forPRECISE–IVUS Investigators*: Journal of the American College of Cardiology *66*, 495-507 (*2015*).
42. *Wang, X., Zhao, X., Li, L., Yao, H., Jiang, Y., Zhang, J.*: Heart, Lung and Circulation *25*, 459–465 (*2016*).
43. *Drazic, T., Molcanov, S., Sachdev, V., Malnar, M., Hecimovic, S., Patankar, J.V., Obrowsky, S., Levak-Frank, S., Habu, I., Kratky, D.*: European Journal of Medicinal Chemistry *87*, 722-*734* (*2014*).
44. *Kelemen, H., Csillag, A., Orgován, G.*: Orvostudományi Értesítő *89*/2, 27 (*2016*).
45. *Brewster, M.E., Thorsteinn, L.:* Advanced drug delivery reviews *59*, 645-666 (*2007*).
46. *Pessine, F.B., Calderini, A., Alexandrino,* G.L. INTECH Open Access Publisher. 2012.
47. *Taupitz, T., Dressman, J.B., Klein S.*: European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics *84*, 208–218 (*2013*).
48. *Srivalli, K.M.R, Mishra, B.: Colloids and Surfaces B:*Biointerfaces *135*, 756–764 (*2015*).

49. *Lüdeker, D., Brunklaus, G.*: Solid State Nuclear Magnetic Resonance *65*, 29–40 (*2015*).
50. *Mulye, S.P., Jamadar, S.A., Karekar, P. S., Pore Y. V., Dhawale, S.C.*: Powder Technology, *222*, 131–138 (*2012*).
51. *Roth E.M., Taskinen, M.R., Ginsberg, H.N., Kastelein, J.J.P., Colhoun, H.M., Robinson, J.G., Merlet, L., Pordy, R., Baccara-Dinet, M.T.*: International Journal of Cardiology *176*, 55–61 (*2014*).
52. *Robinson, J.G., MD, Nedergaard, B.S., Rogers, W. J., Fialkow, J., Neutel, J.M., Ramstad, D., Somaratne, R., Jason, C., Nelson, P., Scott, R., Wasserman, S.M., Weiss, R., for the LAPLACE-2 Investigators*: JAMA. *311*, 1870-1882 (*2014*).

Érkezett: 2016. december 8.

Acta Pharmaceutica Hungarica 86. 141-150 2016.

Biológiai gyógyszerek analitikai vonatkozásai és tömegspektrometriás vizsgálata

VIRÁG DÁVID[1], DALMADINÉ KISS BORBÁLA[1], VÉKEY KÁROLY[2, 3], DRAHOS LÁSZLÓ[2]
ANTAL ISTVÁN[1], KLEBOVICH IMRE[1], LUDÁNYI KRISZTINA[1*]

[1]*Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészeti Intézet, 1092 Budapest, Hőgyes Endre u. 7.*
[2]*MTA Természettudományi Kutatóközpont, Szerves Kémia Intézet, MS Proteomika Kutatócsoport, 1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2.*
[3]*Szent István Egyetem, Ybl Miklós Építéstudományi kar, 1146 Budapest, Thököly út 74.*
**Levelezési cím: ludanyi.krisztina@pharma.semmelweis-univ.hu*

Summary

Virág, D., Dalmadi-Kiss, B., Vékey, K., Drahos, L., Antal, I., Klebovich, I., Ludányi, K.: ***Analytical Aspects of Biopharmaceuticals and their Study by Mass Spectrometry***

The use of biopharmaceuticals has increased significantly over the past two decades. Many original biological drugs were registered, that are mainly protein-based pruducts, produced by a biotechological method. Since biologics are heterogeneous mixtures of complex macromolecules, their characterization is an extremely complicated task. Their analysis is done by an array of chromatographic, electrophoretic and spectroscopic techniques. These methods are suitable for the study of the primary and higher order structure, stability, interactions and multimerization of proteins. Due to its sensitivity, selectivity and high throughput, mass spectrometry coupled to separation techniques is a widely used technique for the study of biological drugs to determine the molecular mass and amino acid sequence of the protein, the heterogeneity of the sample and its post-translational modifications. Additionally, mass spectrometry allows qualitative analysis of these products as well. In the present article, we review biological drugs, biosimilars and their methods for their analysis, with particular emphasis on the application of mass spectrometry.

Keywords: *biopharmaceuticals, mass spectrometry, coupled techniques*

Összefoglalás

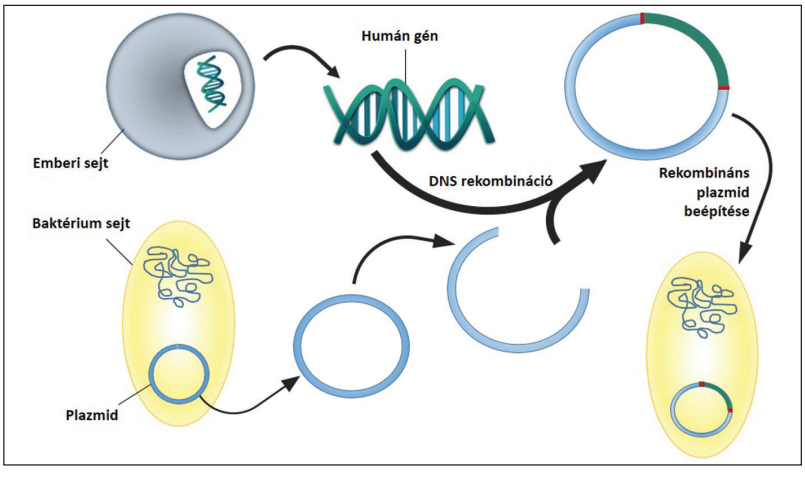
A biológiai gyógyszerek alkalmazása jelentősen megnőtt az elmúlt két évtizedben. Számos originális, valamint biohasonló készítmény került törzskönyvezésre, melyek főként biotechnológiai úton előállított, fehérje eredetű készítmények. Mivel a biologikumok komplex szerkezetű makromolekulák heterogén elegyei, így jellemzésük rendkívül komplikált feladat. Analitikai vizsgálatukban számos kromatográfiás, elektroforetikus, spektroszkópiai módszert, illetve ezek kombinációját alkalmazzák. Ezek a műszeres analitikai technikák alkalmasak a primer és a magasabb szintű (másodlagos, harmadlagos) fehérjeszerkezet, stabilitás, interakciók, valamint multimerizációs folyamatok vizsgálatára. Nagy érzékenységének, szelektivitásának és áteresztőképességének köszönhetően, az elválasztástechnikai módszerekkel kapcsolt tömegspektrometria a biológiai gyógyszerek széles körben elterjedt analitikai módszere. Segítségével meghatározható a terápiás fehérjék molekulatömege, aminosav szekvenciája, a minta heterogenitása, továbbá poszttranszlációs módosulatai. Ezen felül a tömegspektrometria lehetőséget teremt a készítmények kvantitatív vizsgálataira is. Jelen összefoglaló célja, hogy röviden ismeretesse a biológiai és biohasonló gyógyszerkészítményeket, analitikai vizsgálatuk lehetőségeit, különös tekintettel a tömegspektrometria alkalmazására.

Kulcsszavak: *biológiai gyógyszerek, tömegspektrometria, kapcsolt technikák*

Bevezetés

Biológiai gyógyszernek nevezünk minden olyan gyógyszerkészítményt, amelynek hatóanyaga biológiai anyag. Biológiai anyag az az anyag, amely biológiai forrásból készült vagy abból vonták ki, és minőségének meghatározásához fizikai-kémiai és biológiai módszerek kombinációjára van szükség csakúgy, mint a gyártásához és a gyártás ellenőrzéséhez [1].

A biológiai gyógyszerek (másnéven biologikumok) hatóanyagai nagyobb molekulatömegűek és összetettebbek, mint a nem biológiai gyógyszereké. Ilyen fokú komplexitás reprodukálására csak élő szervezetek képesek [2]. A gyógyszerek összetettsége és előállítási módja bizonyos fokú változékonyságot eredményezhet ugyanazon hatóanyag molekuláiban, különösképpen a gyógyszer különböző gyártási tételeinél. A biologikumok származhatnak mikroorganizmusokból, növényi és állati eredetű szövetekből, valamint állati eredetű vagy humán testnedvekből (beleértve a vért és a vérplazmát) [1]. Napjainkban ezeket a komplex szerkezetű makromolekulákat – amelyek általában polipeptidek, fehérjék vagy glikoproteinek – főként rekombináns DNS technológiával állítják elő. Az eljárást – amely lehetővé teszi emberi gének kifejezését különböző sejttenyészetek által – *Stanley N. Cohen* és *Herbert W. Boyer* alapozta meg 1973-ban [3]. A kívánt hatóanyag előállításához szükség



1. ábra: A rekombináns DNS technológia elvi sémája

van a megfelelő gazdasejtre és az úgynevezett vektorra, mely közvetíti a célfehérjét kódoló gént a sejtbe. A legtöbb esetben ezt a funkciót a plazmidok látják el, amelyek különböző baktériumsejtekre jellemző extrakromoszomális, kétszálú, gyűrűbe záródó (cirkuláris) DNS-molekulák. A továbbiakban ez a genetikailag módosított sejt termeli a fehérjét (***1. ábra***) [4]. Az előállítani kívánt makromolekula tulajdonságaitól függ a gazdasejttípus kiválasztása. Egyszerűbb molekulák esetén alkalmazhatók baktériumsejtek, bizonyos fehérjéknek azonban poszttranszlációs módosulásokon (PTM) kell átesniük (pl. glikoziláció, foszforiláció) annak érdekében, hogy elláthassák funkciójukat az emberi szervezetben. Az ilyen makromolekulák termelésére emlőssejteket alkalmaznak, ugyanis ezek rendelkeznek a poszttranszlációs módosításokhoz szükséges enzimkészlettel [5].

Az első, gyógyászati célra szánt rekombináns fehérjét, a humán inzulint, 1982-ben a Genentech gyógyszergyár hozta forgalomba Humulin márkanév alatt. Az elmúlt évtizedekben a terápiás fehérjék száma és forgalma dinamikus növekedést mutatott. Míg 2011-ben biológiai gyógyszerekkel mintegy 157 milliárd USD forgalmat produkáltak világszerte [6], egyes becslések szerint ez az összeg 2016-ban várhatóan meghaladja a 200 milliárd USD-t, és elérheti a teljes gyógyszerforgalom 17%-át [6, 7]. A forgalomban lévő számos biologikum között mára megtalálhatók monoklonális antitestek („Mab"-ok), citokinek (interferonok, interleukinok, TNF-alfa gátlók), hormonok, erythropoetinek (EPO/ESA), kolóniastimuláló faktorok, terápiás célú enzimek, valamint a plazminogén-aktivátorok (TPA).

A biologikumok és a kismolekulás gyógyszerek különbségei

A fehérje alapú gyógyszerek számos tekintetben különböznek a hagyományos, kismolekulás készítményektől (***I. táblázat***) [8]. Ezeket az eltéréseket az EMA (European Medicines Agency) és az FDA (Food and Drug Administration) három fő csoportba sorolja: a biológiai gyógyszerek (1) élő forrásból származnak, (2) a készítmények előállítása bonyolultabb folyamat, és (3) maga a végtermék is összetettebb [9].

1. A biológiai gyógyszerek előállítása élő szervezetek segítségével történik. Ennek megfelelően a termeléshez szükséges anyagokat és a gyártási paramétereket úgy választják meg, hogy ideálisak legyenek a specifikus sejtek vagy mikroorganizmusok épsége, növekedése, és a megfelelő hozam biztosítása szempontjából.

I. táblázat

Kismolekulás gyógyszerek és biologikumok legfontosabb különbségei

Tulajdonság	Kémiai gyógyszerek	Biológiai gyógyszerek
Méret, molekulatömeg	kis (néhány száz Da)	makromolekula (6000-150.000 Da)
Szerkezet	pontos kémiai szerkezet, független a gyártási eljárástól	komplex, heterogén (egyedi), "az eljárás maga a gyógyszer"
Gyártás	kémiai szintézissel, kiszámítható kémiai folyamat	élő szervezet, biotechnológiai eljárás
"Másolhatóság"	generikum: megegyező másolat	bioszimiláris: 100%-os szekvencia azonosság, PTM-ek nagyfokú egyezése
Jellemezhetőség	teljes mértékben jellemezhető	a molekuláris összetétel és heterogenitás nem jellemezhető teljesen
Stabilitás	stabil	instabil, környezeti hatásokra érzékeny
Immunogenitás	többnyire nem immunogén	immunogén

Azonban ezek a körülmények a nem kívánatos mikrobiológiai ágensek fejlődésének is kedveznek. Mivel a fehérjék hőérzékenységükből adódóan nem sterilizálhatók, így gyártásuk a kezdeti lépésektől aszeptikus körülmények között történik [9].

2. A terápiás fehérjék gyártása összetett folyamat, amelynek minden egyes lépését szigorúan ellenőrzött körülmények között hajtják végre. A gyártási paraméterek legapróbb módosításával is nagymértékű szerkezeti változás érhető el a termékben. Ennek oka, hogy a fehérjemolekula feltekeredése során kialakuló háromdimenziós struktúra rendkívül érzékeny a környezet változásaira: a hőmérséklet ingadozása, nyíróerők fellépése (például az oldat erőteljes kevertetése esetén), és a fehérje oldatát érő fényhatás egyaránt módosíthatja a molekula konformációját [9].
3. Míg a kémiai szintézis útján előállított gyógyszerek jól definiált szerkezettel rendelkeznek, és kémiailag tisztának tekinthetők, addig a biologikumok gyártása élő szervezetek segítségével történik, és az így kialakuló termék a hatóanyag és további számos melléktermék molekuláris elegye. A kismolekulás gyógyszerek tömege jellemzően néhány száz Da, ezzel szemben a makromolekulák lényegesen nagyobbak, és molekulatömegük szélesebb tartományt ölel fel. Az inzulin molekulatömege mintegy 6000 Da, a legnagyobb biológiai gyógyszerek, a monoklonális antitestek tömege viszont meghaladja a 150 000 Da-t is. A biologikumot termelő sejtben a fehérjeszintézis közben lezajló kotranszlációs (CTM) és ezután történő poszttranszlációs módosítások (továbbiakban PTM) nagymértékben növelik a kialakult fehérjék heterogenitását. A biologikumok PTM-jei közül kiemelt jelentőséggel bírnak a glikozilációs folyamatok, amely során különböző monoszacharid egységek kapcsolódnak az aminosav oldalláncokhoz kovalens kötéssel. Az egyes cukorláncok a fehérjemolekula különböző pontjaira épülhetnek be eltérő számban és összetételben, amely nagy számú variánst eredményezhet [9].

A biológai gyógyszerekről általánosságban elmondható, hogy nagy méretük, szerkezeti sokszínűségük és oldataik heterogenitása miatt azonosításuk és karakterizálásuk rendkívül nehéz és összetett feladat, vizsgálataik bonyolult és költséges analitikai technikák kivitelezését, illetve azok kombinációját igénylik.

Bioszimiláris gyógyszerek

Az originális (kismolekulás, biológiai gyógyszer) és generikus készítmények mellett a biohasonló gyógyszerek képezik az elérhető gyógyszerkincs harmadik, növekvő jelentőségű csoportját.

Mivel az első biológiai gyógyszereket az 1980-as években szabadalmaztatták, ezek szabadalmi oltalma lejárt, ezenkívül további számos készítmény szabadalma megszűnik az elkövetkezendő néhány évben (***II. táblázat***) [10]. Így lehetőség nyílik más gyártók számára, hogy az originátor készítményének mintájára kidolgozzák saját terméküket, az úgynevezett biohasonló, másnéven bioszimiláris gyógyszerkészítményt. Következésképp a biohasonló készítmények a generikumokhoz hasonlíta-

II. táblázat

A 12 legnagyobb forgalmú biológiai gyógyszer szabadalmának lejárati éve

	Készítmény	Szabadalom lejárati éve	
		EU	USA
Humanizált antitestek	Avastin (bevacizumab)	2022	2019
	Herceptin (trastuzumab)	2014	2019
	Synagis (palivizumab)	2015	2015
Nem humanizált antitestek	Erbitux (cetuximab)	2014	2016
	Enbrel (etanercept)	2015	2012
	Humira (adalimumab)	2018	2016
	Remicade (infliximab)	2014	2018
	Rituxan/MabThera (rituximab)	2013	2016
Nem antitestek	Aranesp (darbepoetin alfa)	2016	2024
	Epogen/Eprex (epoetin alfa)	2013	2013
	Neulasta (pegfilgrastim)	2017	2015
	Neupogen (filgrastim)	2006	2013

nak annyiban, hogy egy, már piacon lévő originális gyógyszerkészítmény – egy biotechnológiai eredetű fehérjemolekula – reprodukciói. A biotechnológiai eredetből és a nagy molekulaméretből adódóan azonban tulajdonságaik sok tekintetben az originális gyógyszerekéhez hasonlítanak: magasak a fejlesztési költségek, az engedélyeztetéshez klinikai vizsgálatok szükségesek, bonyolult a gyártástechnológia, nehezen valósítható meg a tömegtermelés, továbbá egy biologikum és a hozzá tartozó bioszimiláris készítmény nem helyettesíthető egymással. Mivel a biohasonló termék előállítása gyakran már fejlettebb technológia felhasználásával készül, illetve egy teljes fejlesztési program eredményének tekinthető [11], gyakran klinikai tulajdonságaiban felülmúlja az originális molekulát (például hatásserősség, immunogenitás módosulása). Ezeket a készítményeket hozzáadott értékű vagy „*biobetter*" készítményeknek nevezik [12].

A European Medicines Agency definíciója alapján a hasonló biológiai gyógyszer olyan biológiai gyógyszer, amelyet úgy fejlesztettek ki, hogy hasonló legyen egy már meglévő biológiai gyógyszerhez, az úgynevezett referencia-gyógyszerhez [2]. A hasonló biológiai gyógyszer és referenciagyógyszerének hatóanyaga lényegében ugyanaz a biológiai anyag, bár összetett jellegük és a gyártási módszerük miatt lehetnek köztük kisebb különbségek [13] [2]. Csakúgy, mint a referencia-gyógyszer, a hasonló biológiai gyógyszer is természetes változékonyságot mutathat. Az engedélyezett hasonló biológiai gyógyszer változékonysága, illetve a hasonló biológiai gyógyszer és a referenciagyógyszer közötti eltérések a vizsgálatok szerint nem befolyásolják a biztonságosságot vagy a hatékonyságot [2]. Számos esetben végső cél a "terápiás egyenértékűség" biztosítása. A bioszimiláris gyógyszerek nem minden esetben egyeznek meg

III. táblázat

A biológiai gyógyszerek analitikai vizsgáló módszerei

Technika	Információ	Előny
Cirkuláris dikroizmus spektroszkópia (CD)	másodlagos/harmadlagos szerkezet	kvantitatív, alfa-hélixre érzékeny
Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia (FT-IR)	másodlagos szerkezet	kvantitatív, béta-redőre érzékeny
UV-spektrofotometria	lokális harmadlagos szerkezet	információt nyújt a szennyezettségről
Differenciális pásztázó kalorimetria (DSC)	hőstabilitás	nagy áteresztőképesség
Kétdimenziós NMR spektroszkópia (2D-NMR)	háromdimenziós szerkezeti információ	nagyobb felbontóképesség, mint az egydimenziós technika esetén
Poliakrilamid gélelektroforézis (PAGE)	aggregátumok	költséghatékony
„Field-flow" frakcionálás (FFF)	méreteloszlás	nagy felbontás
Analitikai ultracentrifugálás (AUC)	oligomerek, aggregátumok	mátrix-független, kvantitatív, nagy felbontás
Kapilláris zónaelektroforézis (CZE)	glikozilált izoformák	nagy felbontás
Intrinsic fluoreszcencia	lokális tercier struktúra	érzékeny
Extrinsic fluoreszcencia	felületi hidrofobicitás	érzékeny
Dinamikus fényszórás mérés (DLS)	nagy molekulatömegű aggregátumok	érzékeny
Méretkizárásos kromatográfia (SEC)	oligomerek, aggregátumok	gyors, direkt molekulatömeg meghatározás
Tömegspektrometria (MS)	szekvencia, PTM, molekulatömeg, szennyeződések	érzékeny, nagy felbontás
Röntgen krisztallográfia	harmadlagos szerkezet	méretkorlát nélküli alkalmazhatóság
Kationcserélő folyadékkromatográfia (CE-HPLC)	glikozilált izoformák	nagy molekulák vizsgálata
Fordított fázisú folyadékkromatográfia (RP-HPLC)	különbözően feltekeredett izoformák	gyors, nagy felbontás

a generikumokkal, amelyek kémiai szerkezete egyszerűbb, és amelyek a referencia-gyógyszereikkel azonosnak tekinthetők.

A biológiai gyógyszerek analitikai vizsgálata

A makromolekuláris hatóanyagot tartalmazó minták fizikai-kémiai jellemzőinek, valamint szerkezetének vizsgálatára spektroszkópiás, elektroforetikus és kromatográfiás módszerek állnak rendelkezésre, melyeket a ***III. táblázat*** összesít. Széles körben használt technika fehérjék elválasztására a poliakrilamid gélelektroforézis (PAGE), amelynek előnye, hogy a mintaanyag molekulatömege egyszerűen megbecsülhető az ismert tömegű molekulamarkerek segítségével. Az eljárást gyakran kombinálják Western blot technikával a proteolitikus vagy multimerizációs folyamatok nyomon követésére, és a fehérjék fizikai eltávolítása után a tömegspektrometriás szekvenciaanalízis is kivitelezhető. Hasonló célból és ugyancsak blot technikákkal kombinálva alkalmazzák az izoelektromos fókuszálást (IEF). Töltéssel rendelkező izoformák elválasztására jól alkalmazható a kapilláris zónaelektroforézis (CZE), amely segítségével a különböző mértékben glikozilált izoformák jellemezhetők [14].

A fehérjék analízisében nélkülözhetetlen technika a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC). A fordított fázisú RP-HPLC lehetővé teszi a fehérjék elválasztását a felszíni amiosavak polaritásviszonyai alapján, lehetővé téve a molekulák eltérően feltekeredett izoformáinak elválasztását. A módszer alkalmas továbbá a termék tisztaságának illetve heterogenitásának jellemzésére. A kationcserélő CEX-HPLC a molekulák töltés szerinti elválasztásán alapul, képes elkülöníteni a különböző mértékben glikozilált formákat, és azonosítani bizonyos kémiai módosításokat, mint dezamináció és egyéb hasadási rekaciók. Előnyeiből adódóan ez a technika alkalmazható a kifejezetten komplex, nagy molekulájú monoklonális antitestek vizsgálataira is. A méretkizárásos kromatográfia (SEC) főképp a terápiás fehérjék aggregátumainak kimutatására alkalmas, viszont ennek a technikának a hátránya, hogy az aggregátumok a mérés kivitelezése folyamán tönkremehetnek, csökkenhet mennyiségük, illetve adszorbeálódhatnak az oszloptöltethez. A HPLC technikák egymással illetve más analitikai módszerekkel kombinálva információt nyújtanak a rekombináns fehérje tisztaságáról és heterogenitásáról. Az egyes kromatográfiás csúcsokhoz tartozó izoformák és/vagy szennyezések összegyűjthetők további vizsgálatok céljából. Az „asymmetrical flow field-flow" frakcionálás (AF4) és az analitikai ultracentrifugálás (AUC) a méretkizárásos kromatográfia módszer alternatívái, de nagy munkaigényük és magas áruk miatt jelenleg nem tartoznak a rutin technikák közé [14].

A spektroszkópiai eljárások közül az ultraibolya (UV) spektroszkópia segítségével képet nyerhetnek a minta szennyezettségéről. A másodlagos szerkezetről ad információt az UV fluoreszcencia spektroszkópia, mellyel a fehérjék szerkezeti változásai – mint a megváltozott harmadlagos szerkezet és aggregáció – válnak követhetővé. Ugyancsak a fehérjék térszerkezetének vizsgálatára alkalmazzák a cirkuláris dikroizmus spektroszkópiát (CD), illetve Fourier-transzformációs infravörös (FTIR) vagy Raman spektroszkópiát. A különböző hullámhossz tartományban felvett CD spektrumokból olyan információk nyerhetők, amelyekből egyaránt következtetni lehet a fehérje másodlagos és harmadlagos szerkezetére [14]. Az NMR spektroszkópia oldott állapotú fehérjék szerkezetének meghatározására alkalmas módszer. Mivel a fehérjék természetes közegükben, az élő szervezetben is oldott formában vannak jelen, az eljárás lehetővé teszi a fiziológiás körülmények modellezését. A módszerrel részletes információ nyerhető a natív molekulák harmadlagos szerkezetéről, a fehérjék dinamikájáról és kölcsönhatásaikról [15]. Az NMR spektroszkópia hiányossága, hogy csak korlátozott molekulaméret tartományban alkalmazható (10-40 kDa) és hosszabb peptidek esetén izotópjelzést kell alkalmazni, mely jelentősen növeli a költségeket. A röntgen krisztallográfia hatékony módja a fehérjék és egyéb biomolekulák szerkezet felderítésének. Előnye, hogy rendkívül megbízható, szinte felső méretkorlát nélkül alkalmazható, továbbá kis mennyiségű minta is elegendő. Az eljárás alkalmazásának határt szab, hogy a fehérjéből egykristályt kell készíteni. Ez időigényes feladat és nem mindig sikeres, ha a fehérje túl kisméretű, nem alakul ki elegendő kölcsönhatás a molekulán belül [15]. További problémát jelent, ha a kristályos fehérje szerkezete nem felel meg a natív konformációnak.

A megfelelő háromdimenziós szerkezet ismerete nélkülözhetetlen a terápiás fehérje receptorához való kötődésének meghatározása szempontjából, ugyanis a kötőhelyhez való illeszkedés mértéke arányos a biológiai hatékonysággal. A hatékonyságot az összehasonlító vizsgálatokban *in vitro* és/vagy *in vivo* vizsgálatokkal kell igazolni. Gyakran

használt az enzim-kapcsolt immunoszorbens (ELISA) vizsgálat a kötődési reakciók elemzésére. Ugyanakkor jól alkalmazható a felületi plazmon rezonancia (SPR) és izotermális titráló kalorimetria (ITC) is erre a célra. Az antitest kötőhely azonosítása epitóp térképezéssel lehetséges, amely a kötőhely szerkezetéről informál [14].

További analitikai technika a differenciális pásztázó kalorimetria (DSC), amely segítségével meghatározható a fehérjék hőstabilitása. Az entalpia változása pontosan mérhető és ezért a DSC különösen alkalmas a bioszimiláris és referencia termék fehérjéinek összehasonlítására [14].

A biológiai gyógyszerek vizsgálata tömegspektrometriás módszerekkel

A fehérje alapú biológiai gyógyszerek fejlesztési fázisaiban, valamint az originális és a bioszimiláris készítmény összehasonlító vizsgálataiban egyaránt kiemelt szerep jut a tömegspektrometriának (MS), illetve különböző kapcsolt technikáinak. A tömegspektrometria nagy érzékenységű, szelektivitású és áteresztőképességű analitikai technika, mely alkalmas több száz kDa molekulatömegű, poláros makromolekulák jellemzésére, akár attomolnyi, femtomolnyi mennyiségben is. A készülékek széles tömegtartományban működtethetők, valamint a kapott eredmények specifikusak és reprodukálhatók. Számos előnyének köszönhetően a folyadékkromatográfiával kapcsolt tömegspektrometriás módszereket (LC-MS) a biologikumok, illetve bioszimiláris gyógyszerek fejlesztésének számos pontján alkalmazzák, például molekulatömeg meghatározás, kvantitatív vizsgálatok, szekvenciaanalízis, poszttranszlációs módosulások meghatározása, valamint komplex keverékek identifikálása.

A terápiás fehérjék szerkezetvizsgálata tömegspektrometriával

A fehérjeszekvenálás során a fehérjéket alkotó aminosavak kapcsolódási sorrendjét határozzák meg. Hosszú ideig a peptidszekvencia meghatározás fő módszerének az ún. Edman szekvenálást tekintették, az elmúlt másfél évtizedben azonban a tömegspektrometria fokozatosan átvette a helyét. Ennek oka elsősorban a mérési eljárás gyorsasága, automatizálhatósága, illetve segítségével kémiailag módosított proteinek is vizsgálhatók [16].

Tömegspektrometriás szekvenciaanalízis a biológiai gyógyszerek esetében ún. „top down" és „bottom up" technikával történik [15]. Biologikumoknál többnyire az utóbbit alkalmazzák, amelyhez speciális, nagyfelbontású készülékek szükségesek [17]. A makromolekulák vizsgálatára mátrixszal segített lézer deszorpció (MALDI) ill. az electrospray ionizációt (ESI) és nagyfelbontású, általában ún. hibrid készülékeket használnak (QTOF, Orbitrap, FT-MS) a (gliko)peptidek/fehérjék elsődleges szerkezetének meghatározására [18, 19].

A fehérje típusú biológiai gyógyszerek primer szerkezetének meghatározása a komplex fehérjeminta proteolitikus hasítása során képződő peptidek szekvenciájának meghatározásán alapul. A fehérjék bontása enzimatikus emésztéssel történik, leggyakrabban tripszin segítségével [20]. A tripszin a bázikus arginin és lizin aminosavak C-terminálisainál hasítja a fehérjéket (kivéve, ha azokat prolin aminosav követi a szekvenciában). Az így keletkező peptidek – az arginin és lizin természetes előfordulásából adódóan – tömegspektrometriás vizsgálat szempontjából ideális méretűek (5-20 aminosav), továbbá a bázikus aminosavak jó protonálódási képességet biztosítanak az egyes fragmensek számára. A minta tisztítására folyadékkromatográfiás és elektroforetikus módszerek állnak rendelkezésre. Erre sor kerülhet a minta emésztése előtt és után is, utóbbi esetben lehetőség van on-line kapcsolásra az ESI ionforrást tartalmazó tömegspektrométerrel. A peptidek, glikopeptidek szekvencia meghatározása tandem tömegspektrometriás (MS/MS) módszerekkel történik, a mért pontos peptidtömegek alapján számítógépes program és adatbázisok segítségével. Míg egy tipikus proteomikai kísérletben a fehérjeszekvencia egy (kis) részének meghatározása elegendő a fehérje azonosítására, terápiás fehérjék esetén szükséges az aminosav szekvencia 100 %-os meghatározása [21, 22].

A fehérje bioszintézise közben vagy után, a molekulához általában enzimatikus úton kovalens kötéssel kötődő csoportok poszttranszlációs módosulásokat idéznek elő. A PTM-ek különböző stabilitással kapcsolódnak a fehérjét felépítő aminosavak oldalláncaihoz, illetve a molekula N- és C-terminális végéhez, és jelentősen meghatározzák a fehérje aktivitását, lokalizációját és interakcióit más fehérjékkel. Mára számos PTM-et azonosítottak, amelyek változatos funkciót töltenek be a fehérjék működésében (***IV. táblázat***) [20]. A poszttranszlációs módosulások feltérképezése az MS alapú proteomika térnyerésével vált lehetővé. A leggyakoribb PTM a glikoziláció és a fosz-

foriláció, amelyek meghatározása - hasonlóan az aminosav szekvencia meghatározáshoz - enzimatikus bontással történik. Az így keletkezett peptidek, glikopeptidek kvalitatív jellemzése MALDI vagy HPLC/ESI-MS technikával történik. Leggyakrabban tripszines emésztést végeznek, de bizonyos esetekben más specificitású enzimmel (is) kezelik a mintákat (kimotripszin, Glu-C). Ezután a kísérletesen mért peptidtömegeket „párosítják" a fehérjeszekvenciából prediktált értékekkel, és a tömegkülönbségekből következtetnek a PTM-ek meglétére. Tandem tömegspektrometriás mérések segítségével meghatározható a PTM típusa és lokalizációja. A mérés során a (gliko/foszfo)peptidek fragmentációja collision-induced dissociation (CID), electron capture dissociation (ECD) vagy electron transfer dissociation (ETD) technikákkal történik [23]. CID esetén, a vizsgálni kívánt iont inert gázmolekulákkal (pl. nitrogén, argon) ütköztetik, ECD módszer során az ionforrásból származó többszörösen töltött ionok alacsony energiájú elektronokat fognak be, az így keletkező redukált gyökkationok gyors fragmentációt szenvednek [24]. A töredékek kialakulhatnak úgy is, hogy a többszörösen töltött fehérjeionok egy gyökaniontól veszik fel a szükséges elektront (ETD) [23]. Míg a CID a poszttranszlációs módosulásokat is leszakítja a molekuláról, addig az ECD és az ETD ezeket jellemzően meghagyja, így az egyes módosult aminosavak érintetlenek maradnak a mérés alatt [25, 26]. Ebben az esetben a glikopeptidek fragmentációs mintázata hasonló a módosítatlan peptidekéhez, azzal a különbséggel, hogy a tömegnövekedésből következtetni lehet a módosult aminosav helyzetére. Abban az esetben, ha a PTM labilis, már a peptidfragmentáció előtt leszakadhat a molekuláról, amely nehezíti lokalizációjának meghatározását.

A glikoziláció meghatározásának másik lehetséges módja az N- vagy O- kapcsolt oligoszacharid lánc enzimatikus lehasítása a fehérjéről (pl. PNGase F enzimmel). A módszer előnye, hogy egyszerűbb, kisebb molekulatömegű glikán egységek keletkeznek, amelyek szerkezete specifikusan meghatározható. Azonban a helyspecifikus glikoziláció meghatározására nem alkalmas.

A tömegspektrometria szerepe a fehérjék metabolizmus vizsgálatában

A biológiai gyógyszer hatásosságának és biztonságosságának meghatározásához nélkülözhetetlen metabolikus és farmakokinetikai tulajdonságainak ismerete. Általánosságban elmondható, hogy a fehérje alapú készítmények alacsony orális biohasznosulással jellemezhetők (kevesebb mint 2%), továbbá rövid biológiai felezési idővel ($t_{\beta 1/2}$) rendelkeznek a gyors renális clearence miatt. Ennek kiküszöbölésére a biologikumokat parenterális úton juttatják a szervezetbe, esetleg speciális formulálási technikákat, vagy a hatóanyag kémiai módosítását alkalmazzák, hogy megnöveljék a hatóanyag stabilitását és biohasznosulását (F). Míg a kismolekulás gyógyszerek lebontását döntően a máj végzi, a fehérjék és peptidek anyagcseréjének központi szerve a vese, melynek metabolikus akti-

IV. táblázat

A terápiás fehérjék gyakori poszttranszlációs módosulásai és a módosulások jellemzői

PTM típusa	Jellemző tömeg (Da)	Stabilitás	Funkció
Foszforiláció	+80 +80	+++	enzimek aktiválása/inaktiválása
Acetiláció	+42	+++	fehérje stabilitás
Metiláció	+14	+++	génexpresszó szabályzás
Palmitinsav módosulás	+238	+/++	celluláris lokalizáció
Glikoziláció	203, > 800	+/++	sejtszignál
Glikozil-foszfatidil-inozitol módosulás	> 1000	++	enzimek és receptorok membránkötődése
Hidroxiprolin módosulás	+16	+++	fehérje stabilitás
Szulfatáció	+80	+	fehérje-fehérje interakciók
Diszulfid híd	-2	++	intra- és intermolekuláris kötés
Piroglutamát módosulás	-17	+++	fehérje stabilitás
Ubiquitináció	> 1000	+/++	lebontandó fehérjék megjelölése

vitása meghatározza a biologikum eloszlását, inaktivációját illetve a vizelettel történő kiürülését [27].

Farmakokinetikai és metabolizmus vizsgálat céljából napjainkban MALDI, illetve a folyadékkromatográfiával kapcsolt ESI ionizációs technikákat alkalmaznak. A kvalitatív analitikai vizsgálatok mellett a MALDI tömegspektrometria az immunoassay vizsgálatok referencia módszereként is értékes szolgálatot nyújt. Köszönhetően a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia felbontóképességének, valamint a tömegspektrométer specificitásának és érzékenységének, mára az LC-MS és LC-MS/MS alapú technikák a farmakokinetikai és metabolit vizsgálatok legfontosabb eszközévé váltak, a bioassay és immonoassay vizsgálatok mellett. Ezek a mérési módszerek lehetővé teszik nagyszámú komponens egyidejű meghatározását komplex biológiai mátrixból. Bár elméletileg a mintaelőkészítés szükségességét is képes csökkenteni, a metabolitok kivonása különböző biológiai közegekből továbbra is kritikus lépése az LC-MS módszerfejlesztésnek, a mátrix komponenseinek zavaró hatása miatt (kémiai jel/zaj viszony). A készülékben ugyanis felléphet az ún. ionszupresszó jelensége, mely során a mátrix komponensei csökkentik a vizsgálni kívánt molekulák ionizációját, ezért azok azonosítása és kvantitatív meghatározása elégtelenné válhat [27].

A biologikumok kvantitatív tömegspektrometriás vizsgálatának lehetőségei

A terápiás fehérjék tömegspektrometria alapú kvantitatív meghatározása két megközelítéssel lehetséges. Amennyiben a minta stabil izotópjelölést tartalmaz, úgy izotópjelöléses („labelled") módszerről, ha viszont nem tartalmaz izotópjelölést, akkor jelölésmentes („label-free") módszerről beszélünk [28].

Jelölésmentes (label-free) kvantitatív vizsgálat során a fehérje enzimatikus hasítását követően kromatográfiásan szétválasztják, majd ionkromatogramok alapján meghatározzák a peptidek relatív mennyiségét. Az egyes minták fehérjetartalmának számítása több megközelítés szerint történhet. A Protein Abundance Index (PAI) azon az elgondoláson alapul, hogy a vizsgált fehérjéből származó peptidek mennyisége arányos a mérés során detektált peptidek számával. Itt fontos megjegyezni, hogy a fehérjék emésztéséből származó peptidmennyiség mindig eltér a tömegspektrometriásan detektálható mennyiségtől, ugyanis a peptidfragmensek egy része nem megfelelő hosszúságú, illetve olyan aminosavakból áll, amelyek nem képesek ionizálódni. A módszer továbbfejlesztett változatának tekinthető az ún. emPAI (exponentially modified PAI). A módszer egy exponenciális függvény alkalmazásával tesz kísérletet a PAI érték nagyfokú variabilitásának kiküszöbölésére, mely a minták koncentrációs viszonyaiból adódik. Bizonyos aspektusból az Absolute Protein Expression (APEX) megközelítés is a PAI továbbfejlesztett változatának tekinthető, mely szintén a detektált ionok és az adott fehérjére jellemző peptidek arányát használja azzal a különbséggel, hogy a redundáns fehérjéket is felhasználja a számításhoz, míg a PAI érték csak az egyedi molekulákat alkalmazza. A Spectral Counting megközelítés arra a feltételezésre épül, hogy egy speciális mérési mód, az ún. adatfüggő tandem tömegspektrometriás mérés során a készülék több alkalommal választja ki a gyakrabban előforduló peptidhez tartozó m/z értéket. A technika azonban nem veszi figyelembe az ionszupresszó jelenségét, illetve az egyes peptidek eltérő ionizációs hajlamát. Amint nevéből is következik, a Peptide Ion Intensity módszer szerint az egyes peptidekhez tartozó csúcsintenzitás korrelál a megfelelő koncentrációval. Ismert tény, hogy a minta komplexitása befolyásolja a csúcsintenzitásokat, ezért a stratégia csak abban az esetben alkalmazható kvantitatív vizsgálatokra, ha azonos komplexitás jellemzi az összehasonlítandó mintákat. Szintén a csúcsintenzitásokra támaszkodó, újabb technika az Intensity Based Absolute Quantification (iBAQ) [28]. Ebben az esetben a fehérjéből származó összes peptid csúcsintenzitását kell osztani az elméletileg várható peptidek számával. Ezen kívül léteznek még más megközelítések pl. az ún. Top3 technika, amely azon a megfigyelésen alapul, hogy egy fehérje enzimatikus emésztéséből származó 3 legintenzívebb peptid összintenzitása – jó közelítéssel – egyenesen arányos a koncentrációjával [29]. *Jürgen Cox* és munkatársai dolgozták ki az ún. LFQ technikát, amely képes kiküszöbölni a tömegspektrométer változó érzékenységéből adódó különbségeket [30]. A jelölésmentes technikák nagy előnyének tekinthető költséghatékonyságuk, illetve hogy lehetőséget biztosítanak rendkívül összetett minták (akár több ezer fehérje) mennyiségi analízisére [31, 32].

A jelöléses (labelled) techinka azon alapul, hogy a fehérjét alkotó aminosavakba stabil O, N, H, C izotópot építenek. Az izotópjelölést tartalmazó, ún. „mass-tagged" peptidvariánsok kialakítására több módszer áll rendelkezésre. Kémiai módosítás

esetén az izotópjelzést kémiai reagensekkel végzik, pl. jódacetamiddal, amely a fehérjét alkotó cisztein aminosavak szulfhidril csoportjával reagál, vagy N-hidroxiszukcinimiddel, amely a molekula N-terminális amincsoportjához kötődik. Az izotópjelölés kialakítható in-vivo körülmények között is, a fehérjeexpresszió folyamata során oly módon, hogy a fehérjét expresszáló mikroorganizmus tápoldatában feldúsítják a megfelelő izotópot (pl. ^{15}N). További lehetőség a jelölés kialakítására, hogy a fehérjét ^{18}O izotópot tartalmazó víz jelenlétében enzimatikus hidrolízisnek vetik alá, mely során a peptid C-terminális karboxil-csoportjába épül az izotóp. A fehérjék mennyiségi meghatározásához a mintákat különböző izotópjelzésekkel látják el, majd összekeverik. A továbbiakban a mintaelőkészítés egyes lépéseit, valamint az MS mérést ezen a kevert mintán hajtják végre. A mérés kiértékelése során a különböző izotópokkal jelölt peptidek relatív arányából meghatározhatók a mennyiségi adatok. Általánosságban elmondható, hogy a labelled technikák pontosabb mennyiségi analízist biztosítanak, mint az izotópjelzést nem tartalmazó módszerek, viszont kevesebb fehérje meghatározására alkalmas, továbbá nagyon költséges és kivitelezése időigényes [31, 32].

Összefoglalás

A biológiai gyógyszerek számos tulajdonságukban eltérnek a hagyományos, kismolekulás gyógyszerektől, többek között molekulatömegükben, szerkezetük komplexitásában és heterogenitásában. Ezen tulajdonságok komoly kihívást jelentenek az analitikusok számára. A hagyományos módszerek mellett (Edman degradálás, gélelektroforézis) az utóbbi évtizedekben a nagy áteresztőképességű és érzékenységű, szelektív műszeres analitikai technikák terjedtek el egyre szélesebb körben. Ezek a technikák a biomolekulák szerkezetének különböző szintű jellemzésére alkalmasak, és a biológiai készítmények gyártása során információt adnak többek között a tisztaságról, stabilitásról, heterogenitásról. Mind az originális biológiai gyógyszerek, mind a biohasonló készítmények fejlesztésében fontos szerepe van az elválasztástechnikai módszerkkel kapcsolt (tandem) tömegspektrometriának. A módszer lehetővé teszi pontos molekulatömeg meghatározást, a biologikumok jellemzésében kritikus fontosságú szekvencia analízist, a poszttranszlációs módosulások precíz leírását, továbbá a fehérje alapú készítmények kvantitatív vizsgálatait.

IRODALOM

1. http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-1/dir_2001_83_consol_2012/dir_2001_83_cons_2012_en.pdf. [2016. 10. 10.] Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use.
2. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Medicine_QA/2009/12/WC500020062.pdf. [2016. 11. 15] Questions and answers on biosimilar medicines (similar biological medicinal products).
3. *Cohen, S.N., Chang, A.C., Boyer, H.W., Helling, R.B.:* Proc. Natl. Acad. Sci. USA *70*, 3240-3244 (*1973*).
4. *Stryjewska, A., Kiepura, K., Librowski, T., Lochyński, S.:* Pharmacol. Rep. *65*, 1075-1085 (*2013*).
5. *Jenkins, N., Murphy, L., Tyther, R.:* Mol. Biotechnol. *39*, 113-118 (*2008*).
6. *Blackstone, E.A., Joseph, P.F.:* Am. Health Drug Benefits *6*, 469-478 (*2013*).
7. http://www.imshealth.com/en/about-us/news/ims-study-forecasts-rebound-in-global-spending-on-medicines,-reaching-nearly-$1.2-trillion-by-2016. [2016. 10. 30.] IMS Study Forecasts Rebound in Global Spending on Medicines, Reaching Nearly $1.2 Trillion By 2016.
8. http://www.gabionline.net/Biosimilars/Research/Small-molecule-versus-biological-drugs. [2016. 10. 30] Small molecule versus biological drugs.
9. http://www.springer.com/cda/content/document/cda_downloaddocument/9781461469155-c1.pdf?SGWID=0-0-45-1445722-p174960874. [2016. 11. 20.] Biologics are not Chemical Drugs.
10. http://gabionline.net/Biosimilars/Research/US-54-billion-worth-of-biosimilar-patents-expiring-before-2020. [2016. 10. 24] US$54 billion worth of biosimilar patents expiring before 2020.
11. *Buzás, Zs.:* A biológiai gyógyszerek besorolása és hatósági értékelésének kérdései. In: *Laszlovszky, I., Pálfiné Goots, H. (ed):* Gyógyszer engedélyez(tet)és napjainkban, Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság. Budapest, 2015. 185-205. old.
12. http://gabi-journal.net/biosimilars-versus-biobetters-a-regulators-perspective.html [2016. 11. 05] Biosimilars versus 'biobetters'—a regulator's perspective.
13. *Crommelin, D.J., Shah, V.P., Klebovich, I., McNeil, S.E., Weinstein, V.,Beat Flühmann, B., Mühlebach, S., de Vlieger, J.S.B.:* Eur. J. Pharm. Sci. *76*, 10-17 (*2015*).
14. *Falconer, R.J., Jackson-Matthews, D., Mahler, S.M.:* J. Chem. Tech. & Biotech. *86*, 915-922 (*2011*).
15. *Berkowitz, S.A., Engen, J.R., Mazzeo, J.R., Jones, G.B.:* Nat. Rev. Drug. Discov. *11*, 527-40 (*2012*).
16. *Ekman, R., Silberring, J., Westmam-Brinkmalm, A., Kraj, A.:* Mass Spectrometry - Instrumentation, Interpretation and Application. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, 2009. 190-192. old.
17. *Chen, G., Warrack, M.B., Goodenough, A., Tymiak, A.A.:* Drug Discovery Today *16*, 58-64 (*2011*).
18. *Michalski, A., Damoc, E., Hauschild, J.P., Lange, O., Wieghaus, A., Makarov, A., Nagaraj, N., Cox, J., Mann, M., Horning, S.:* Mol. Cel. Proteomics 10 (*2011*).
19. *McAlister, G.C., Phanstiel, D., Wenger, C.D., Violet Lee, M., Coon, J.J.:* Anal. Chem. *82*, 316-322 (*2010*).
20. *Mann, M., Jensen, O.N.:* Nat. Biotech. *21*, 255-261 (*2003*).
21. *Meyer, B., Papasotiriou D.G., Karas, M.:* Amino Acids *41*, 291-310 (*2011*).
22. *Reichert, J.M., Beck, A., Iyer, H.:* UK. MAbs *1*, 394-416 (*2009*).

23. *Mechref, Y.:* Curr. Protoc. Protein Sci. 12 (*2012*).
24. *Zubarev, R.A.:* Curr. Opin. Biotechnol. *15*, 12-16 (*2014*).
25. *Bogdanov, B., Smith, R.D.:* Mass Spectrom. Rev. *24*, 168-200 (*2005*).
26. *Sandra, K., Vandenheede, I., Sandra P.:* J. Chromatogr. A. *1335*, 81-103 (*2014*).
27. *Katsila, T., Siskos A.P., Tamvakopoulos, C.:* Mass. Spectrom. Rev. *31*, 110-33 (*2012*).
28. *DeSouza, L.V., Siu, K.W.M.:* Clin. Biochem. *46*, 421-431 (*2013*).
29. *Krey, J.F., Wilmarth, P.A., Shin, J.B., Klimek, J., Sherman, N.E., Jeffery, E.D., Choi, D., David, L.L., Barr-Gillespie, P.G.*: J. Proteome. Res. *13*, 1034-1044 (*2014*).
30. *Aebersold, R., Mann, M.:* Nature *422*, 198-207 (*2003*).
31. *Lin, D., Tabb, D.L., Yates Iii J.R.:* Proteins and Proteomics *1646*, 1-10 (*2003*).
32. *Chen, C.H.:* Anal. Chim. Acta *624*, 16-36 (*2008*).

Érkezett: 2016. december 5.

Acta Pharmaceutica Hungarica 86. 151-160 2016.

AZ OTC STÁTUSZBÓL EREDŐ GYÓGYSZERBIZTONSÁGI KOCKÁZATOK ÉS KEZELÉSÜK

CSORBA VERONIKA, FEKETE ÁRON, SZABÓ PÉTER*

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

Summary

CSORBA V., FEKETE Á., SZABÓ P.: ***Safety risks of over-the-counter (OTC) drugs and their management***

The vast majority of Hungarian patients have self-diagnosed and treated themselves with over the counter medications (OTC) without any medical supervision. Patients typically consider these medications safe and easily accessible without any major potential of adverse reactions. Although, pharmaceuticals must fulfil strict criteria to gain OTC status, they still carry potential risks and safety concerns, such as misuse, abuse or interaction with other drugs or food. In the course of proper handling of these safety concerns, the role of the pharmacist, and the establishment of an adequate informing and monitoring system must be emphasized. The aim of this review is to provide a comprehensive overview about the safety concerns related to OTC medicines, with regard to their management possibilities.

Keywords: *over the counter drugs, pharmacovgiliance, risk minimalisation, safety concern, over the counter authorisation*

Összefoglalás

A magyar betegek túlnyomó többsége állított már fel öndiagnózist és kezelte önmagát valamilyen vény nélkül kapható (over the counter; OTC) készítménnyel. A betegek általános vélekedése szerint ezek a készítmények könnyen hozzáférhetőek, biztonságosak és nem járnak kiemelkedő egészségügyi kockázattal. Annak ellenére, hogy a gyógyszerek OTC besorolására csak szigorú kritériumok teljesülése esetén van lehetőség, ezen termékek továbbra is rendelkezhetnek gyógyszerbiztonsági kockázatokkal, melyek közül a legfontosabbak a gyógyszervisszaélés és gyógyszerabúzus, vagy a más gyógyszerekkel és élelmiszerekkel történő kölcsönhatás. Az OTC státuszú gyógyszerek gyógyszerbiztonsági kockázatainak kezelésében kiemelt szerep jut a gyógyszerésznek, valamint nagy hangsúlyt kell fektetni a megfelelő tájékoztatási és monitorozási rendszer kiépítésére. Jelen közlemény célja az OTC készítmények alkalmazásához társuló gyógyszerbiztonsági kockázatok, és azok megfelelő kezelési lehetőségeinek áttekintése.

Kulcsszavak: *vény nélkül kapható készítmények, farmakovigilancia, kockázatcsökkentés, gyógyszerbiztonsági kockázat, OTC besorolás*

1. Bevezetés

Vény nélkül kiadható készítményeknek, az angol nomenklatúra alapján *OTC (over the counter)* készítményeknek nevezzük azokat a gyógyszereket, melyek orvosi vény nélkül, a beteg által szabadon megvásárolhatóak gyógyszertárakban vagy arra kijelölt drogériákban és benzinkutakon. A laikus közönség az OTC készítményeket biztonságos, szabadon alkalmazható készítményeknek tartja, melyekhez az orvos felkeresése nélkül is hozzájuthatnak [1]. A Nielsen globális információs és piackutató vállalat információja alapján, Magyarországon, 2014 első felében 7%-kal nőtt az OTC szerek forgalma a 2013-as adatokhoz képest. A legnagyobb forgalmú termékcsoportok közé a probiotikumok, a láz- és fájdalomcsillapítók, a megfázás kezelésére szolgáló készítmények, a puffadás elleni szerek, valamint a nyugtató és altató termékek tartoznak [2].

2. Az OTC besorolás feltételei

Ahhoz, hogy egy készítmény vény nélküli kiadhatósági státuszba kerüljön számos, jól meghatározott követelménynek kell megfelelnie. Gyógyszerek OTC átsorolása csak elegendő klinikai és forgalomba hozatalt követő tapasztalat ismeretében vetődhet fel. Akár tíz év is eltelhet, mire elegendő gyógyszerbiztonsági ismeret gyűlik össze a készítmény alkalmazásához kapcsolódóan, beleértve olyan betegcsoportokat is, akiket a klinikai vizsgálatokból kizártak (idősek, gyerekek, terhes nők). Alapelvnek tekintjük, hogy parenterális készítmény nem lehet nem vényköteles besorolású az alkalmazás módjának komplexitása és az abból következő speciális rizikófaktorok miatt.

A készítmények besorolása az Európai Unióban (EU) a nemzeti hatóságok jogkörébe tartozik és ez által országonként eltérések mutatkozhatnak. Léteznek azonban az EU és az Európai

Gazdasági Térségen belül egységesítési törekvések. Ezek alapja, hogy adott hatóanyag a felhasználás helyétől függetlenül feltételezhetően ugyan azokkal a kockázatokkal rendelkezik. Az adott országok engedélyezési gyakorlatát meghatározó legfőbb tényezők a helyi egészségpolitika, a vény nélküli készítmények támogatáspolitikája, illetve a gyógyszerészek szakmai elismertsége. A fejlettebb gyógyszerészi gondozási és tájékoztatási rendszerrel, valamint gyakorlattal rendelkező nyugat-európai országokban szélesebb az OTC szerek kínálata. Más országokban az orvosok tradicionális, központi szerepe a gyógyításban megingathatatlan, a betegek az orvos által, vényre felírt készítményekhez ragaszkodnak.

2.1. A gyógyszerhasználatból adódó közvetlen és közvetett veszély vizsgálata

Közvetlen veszélynek nevezzük, ha nagy az esélye toxicitás, interakciók vagy mellékhatások kialakulásának a betegtájékoztatónak és előírásoknak megfelelő gyógyszerhasználat mellett. Általánosságban nézve ahhoz, hogy egy készítmény vény nélkül kiadható legyen, alacsony toxicitás kell, hogy jellemezze. Ennek megfelelően nem lehet reproduktív toxicitása, nem lehet genotoxikus vagy karcinogén hatású. Mindemellett fontos, hogy a hatóanyag farmakológiai tulajdonságaival összefüggő mellékhatások, az úgynevezett 'A' típusú mellékhatások kialakulásának valószínűsége alacsony legyen. Ugyancsak fontos, hogy az úgynevezett 'B' típusú mellékhatások megjelenésének rizikója is a lehető legkisebb legyen. Ezek azok a reakciók, amik „kiszámíthatatlanok", a hatóanyag hatásmechanizmusából nem következnek egyértelműen (pl. allergia). Vizsgálják továbbá, hogy az adott hatóanyag milyen mértékben mutat kölcsönhatást gyakran alkalmazott készítményekkel, élelmiszerekkel. OTC készítmény a széles körben használt készítményekkel együtt szedve ne okozzon súlyos mellékhatást.

A készítmény előírásoknak megfelelő használata mellett is előfordulhat, hogy a terápia elfed olyan egészségügyi állapotot, amely orvosi beavatkozást igényelne; késlelteti a helyes diagnózis felállítását. Az ilyen közvetett veszély a szakszerű ellátás késői megkezdése mellett a terápia eredményességét is befolyásolhatja. Ez utóbbi rizikó minimalizálása megtörténhet a betegtájékoztatóban elhelyezett figyelmeztetésekkel.

2.2. Az öndiagnózis felállításnak lehetősége

Fontos, hogy OTC készítmény csak olyan betegség, vagy tünetek esetén alkalmazható, amelynek pontos megállapítását és felmérését a beteg saját maga el tudja végezni. Ez azt jelenti, hogy a betegnek képesnek kell lennie arra, hogy kizárja a szóban forgó terápiával nem kezelhető, de hasonló vagy azonos tünetekkel járó, illetve az orvosi beavatkozást igényelő állapotokat. A betegnek tisztában kell lennie a kezelés kockázataival és figyelembe kell vennie az ellenjavallatokat. Az ehhez szükséges információkat (a betegség tüneteiről, lefolyásáról stb.) elérhetővé kell tenni számára. Egyértelműen azonosítható állapot például a fogfájás, ennek a tüneti kezelésére a vény nélkül kapható fájdalomcsillapító és gyulladáscsökkentő készítmények alkalmasak.

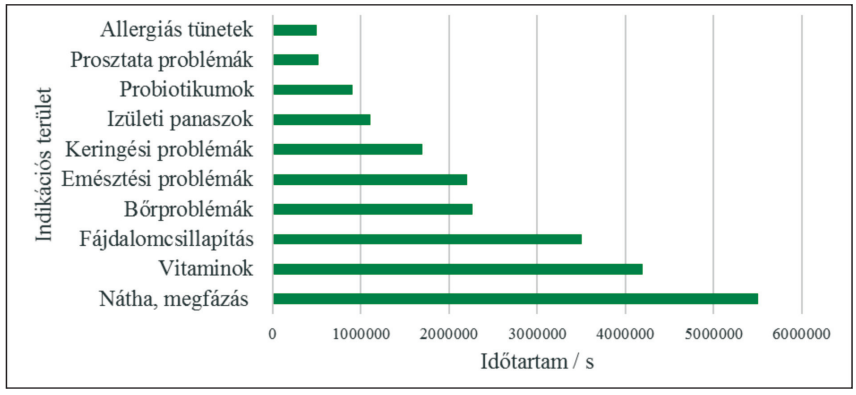
2.3. A helytelen gyógyszerhasználatból adódó veszélyek és ezek következményei

A vény nélkül kiadható készítményeknél mindig fennáll annak a veszélye, hogy a beteg az előírásokat be nem tartva, nem megfelelő dózisban, indikációban vagy a javaslatnál hosszabb ideig alkalmazza az adott készítményt, esetleg figyelmen kívül hagyja a kontraindikációkra vonatkozó utasításokat. OTC készítmény ilyen esetekben sem jelenthet túlzott veszélyt a beteg egészségére nézve. A helytelen használatból eredő következményekre a betegtájékoztatóban fel kell hívni a figyelmet. Vény nélküli státusz kiadásakor mérlegelni kell azt is, hogy mennyire elterjedt az adott hatóanyag indikáción túli használata. Amennyiben készítménnyel kapcsolatos visszaéléseket tapasztalnak, például hangulat- vagy tudatmódosító céllal, a gyógyszer nem kaphat OTC státuszt még akkor sem, ha a többi kritériumnak megfelelne.

2.4. Új hatáserősség, dózis, alkalmazási mód, betegcsoport, indikáció esetén előírt kiegészítő vizsgálatok

Új hatáserősség, új alkalmazási mód, új betegcsoportot érintő, illetve új indikáció esetén kiegészítő vizsgálatok elvégzése válhat szükségessé, így az OTC státusz kiadása is további vizsgálatokat igényelhet. Ez különösen igaz olyan indikációkban, amelyekre korábban nem volt vény nélküli készítmény engedélyezve. Alacsonyabb dóziserősség esetén kiegészítő vizsgálat nem mindig szükséges, de az alacsonyabb dózisú készítmény hatékonysá-

gát bizonyítani kell. Ilyen esetben mindig mérlegelni kell, hogy a dóziscsökkentésből eredő kisebb mellékhatás rizikó nem jár-e együtt a hatás csökkenésével, azaz az előny-kockázat hányados kedvezőtlen változásával. Az ilyen típusú OTC átsorolásoknál az előny-kockázat hányadost újra kell vizsgálni, de erre gyakran lehetőség van a meglévő, korábban vényköteles készítmény gyógyszerbiztonsági adatai alapján [3, 4].



1. ábra: Gyógyszerreklámok időtartama indikációs terület szerinti megoszlása

3. Az OTC készítmények előnyei

Az öngyógyszerelés (*self medication)* jelentősége fokozatosan növekszik a fejlett társadalmakban. A betegek egyre nagyobb mértékben, növekvő függetlenséggel választanak vény nélküli készítményeket saját egészségügyi gondjaik kezelésre, annak az általános hozzáállásnak megfelelően, hogy ezek a készítmények biztonságosak és nincsenek súlyos mellékhatásaik. Ez a magatartás az egészségügyi szereplőket különböző mértékben befolyásolja.

3.1. A gyógyszeripar

A gyógyszergyártók és -forgalmazók számára az OTC készítmények széleskörű használata fokozódó versenyt jelent. Magyarországon a nem vényköteles készítmények esetén gyógyszerpromóció végezhető (televíziós reklámok formájában, betegeknek szóló egészségügyi kiadványokban, webes felületeken). A betegekért folytatott „harcot" mi sem jellemzi jobban, mint hogy 2015-ben a gyógyszerreklámra költött összeg több mint 30%-kal volt magasabb, mint 2014-ben. A Nielsen globális információs és piackutató vállalat 2015-ös adatai alapján a tévében legtöbbet reklámozott gyógyszertípusokat, másodpercben, az ***1. ábra*** mutatja. Egy gyógyszert OTC státuszba való átkerülése védhet a generikus versenytől is [5-7].

3.2. Az egészségügyi személyzet

A kezelőorvosokat a betegekkel való közvetlen gyógyító kapcsolaton túl egyre több adminisztrációs feladat terheli a kórházakban és rendelőintézetekben. Az OTC termékek széleskörű, szabályos használata az egészségügyi ellátórendszerben kevesebb betegmegjelenést eredményezhet, ami csökkentheti az orvosok leterheltségét. Ezzel párhuzamosan a gyógyszerészek szerepe felerősödik: fontos egyfajta klinikai szemlélet elsajátítása, továbbá a gyógyszerészi gondozás keretein belül a betegek döntésének segítése abban, hogy problémáikat megfelelő komolysággal kezeljék, az arra megfelelő készítménnyel [5].

3.3. A beteg

A betegek körében a vény nélküli készítmények alkalmazása folyamatosan növekszik. Az ipari szereplők különböző médián keresztüli promóciós tevékenysége egyre nagyobb önbizalmat ad a betegeknek ahhoz, hogy a saját egészségükért felelősséget vállaljanak. Ilyen formában az orvos és a gyógyszerész egyre inkább partnerré válik a gyógyításban, nem egy feljebb álló személy, akire a beteg a gyógyszer forrásaként tekint [8]. Egy Nagy-Britanniában készült felmérés igazolta, hogy a betegek kényelmesebbnek, hatékonyabbnak és gazdaságosabbnak találják az OTC készítmények használatát a vényköteles készítményekkel szemben. Több mint 2000 beteget vontak be a vizsgálatba: 80%-uk gondolta fontosnak, hogy elérhetőek legyenek OTC készítmények kisebb egészségügyi problémákra. A megkérdezettek 67%-a úgy gondolta, hogy az OTC készítmények ugyanolyan hatásosak mint azok, amelyeket orvos ír fel számukra. Továbbá a válaszadók 86%-a újra megvásárolná a már kipróbált OTC készítményt [9]. Az adatok azt mutatják, hogy a betegek kézenfekvő, hatékony terápiás megoldásnak tartják a nem vényköteles készítményeket. Ezt támasztja alá az a tény, hogy az Amerikai Egyesült Államokban a gombaellenes, vaginális candidiasisban használt készítmények eladási adatai gyorsan emelkedtek, miután a készítmények OTC besorolást kaptak [10].

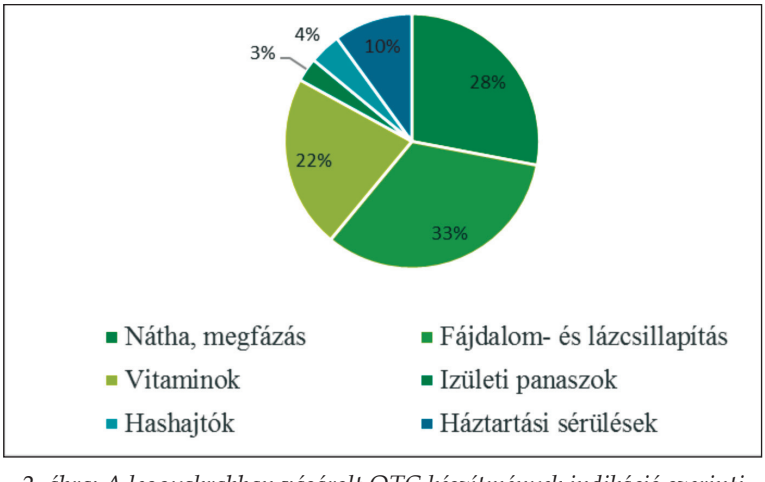
4. Az OTC készítmények hátrányai

4.1. Visszaélés és abúzus

Az OTC készítményeknél felmerülő biztonsági aggályok egy része a helytelen használatból adódik. *Visszaélésnek (misuse)* nevezzük azt, amikor egy készítményt orvosi céllal használnak, de nem megfelelő módon. Ilyen például az időn túli alkalmazás vagy a nem megfelelő dózisban történő alkalmazás.

Az *abúzus (abuse)* a visszaélés egyik fajtája, mely során nem orvosi célú gyógyszerfelhasználás zajlik, ebben az esetben a készítmény más tulajdonságát, például valamilyen élvezeti értékét vagy testsúlycsökkentő hatását használja ki a fogyasztó. Minden készítménynél előfordulhat visszaélés, de az abúzus csak bizonyos gyógyszercsoportokra jellemző (opioidok, analgetikumok, hashajtók). A két fogalom nehezen választható el egymástól: visszaélésre használt készítmény egy bizonyos dózis fölött okozhat olyan tüneteket, ami mellett a fogyasztása már abúzusnak minősül [11].

Egy Magyarországon végzett tanulmány szerint a betegek 75%-a végez öndiagnózist és öngyógyszerelést, és a válaszok alapján 30% követett már el gyógyszer abúzust a saját bevallása szerint. A nők és férfiak válaszai között eltérés mutatkozott, a nők jobban tisztában voltak a visszaéléses esetekkel (hashajtók használata testsúlycsökkentési céllal), míg a férfiak elsősorban az alkohollal együtt fogyasztást hozták fel példának. A válaszadók 81,7%-a tisztában volt azzal, hogy az OTC készítményekkel is történhet visszaélés és abúzus. Több mint 1000 válaszadó legalább egy gyógyszert, vagy gyógyszerkategóriát meg is tudott nevezni. A betegek a fájdalomcsillapítókat, altatószereket és köhögés elleni készítményeket jelölték meg elsődlegesen. Ehhez viszonyítva a Magyarországon leggyakrabban vásárolt OTC készítményeket a ***2. ábra*** mutatja [12].



2. ábra: A leggyakrabban vásárolt OTC készítmények indikáció szerinti megoszlása Magyarországon

A nem-szteroid gyulladáscsökkentőt hosszútávon szedő betegek 30%-ánál kialakul valamilyen gasztrointesztinális panasz, gyomorfekély kialakulása a betegek több mint 10%-ánál előfordulhat. Magyarországon évente kb. 700 beteg szenved el fatális kimenetelű gasztrointesztinális mellékhatást NSAID alkalmazás következtében. A paracetamol hatékonyan csillapítja a lázat és a fájdalmat, gyomornyálkahártya károsító hatása kis dózisban nincsen (2 g/nap alatt). Azonban súlyos, gyakran fatális májkárosodás alakulhat ki a toxikus dózis (12 g/nap, májkárosodottaknál 4-6 g/nap) bevétele esetén [13]. A májkárosodás kivédhető vagy minimalizálható 16 órán belül adott antidótummal, de a túladagolás első jelei gyakran csak 24 óra múlva észrevehetőek, a májkárosodás pedig jellemzően 48 óra múlva jelentkezik [14].

4.2. Nem megfelelő terápia alkalmazása

Előfordulhat, hogy a betegek a meglévő tüneteiket nem megfelelő komolysággal kezelik, nem megfelelően értékelik azt, hogy szükség van-e orvosi konzultációra a problémáik megoldásához. OTC készítményekhez fordulnak, amelyek napok alatt sem szüntetik meg a problémát, esetleg másik vényköteles készítményt is kipróbálnak. A beteg csak napokkal, akár hetekkel később kerül orvoshoz, kockáztatva ezzel akár komolyabb problémák kialakulását, illetve késlelteti a megfelelő, hatásos terápia időbeli megkezdését.

Daron G. Ferris és mtsai tanulmányukban az antifungális készítmények megugrott eladásának hátterét vizsgálták. Jelentős forgalombeli emelkedés volt tapasztalható a készítmények OTC státuszba sorolását követően, ami alapján felmerült, hogy a nők nem megfelelően használták a készítményeket. A 16 évnél idősebb nők kismedencei gyulladással, bakteriális vaginózissal, akut cisztitisszel, vaginális trichomoniázissal és vulvovaginális candidiázissal kapcsolatos egészségügyi ismereteit kérdőívekkel mérték fel, miután esettörténeteket olvashattak. A megkérdezett 601 nő válaszai alapján csak ke-

veseknek sikerült a helyes diagnózis felállítása, korábbi saját tapasztalat kis mértékben befolyásolta a helyes öndiagnózist a későbbiekben. Azt a következtetést vonták le a szerzők, hogy sokan olyan tünetek kezelésére használták a vizsgált készítményeket, amelyek hasonlítanak a vaginális candidiázisra, azonban potenciálisan sokkal komolyabb kórképek annál [15].

4.3. Kölcsönhatás együtt szedett gyógyszerekkel

Gyógyszerkölcsönhatásnak nevezzük azt a jelenséget, mikor egy gyógyszer terápiás vagy toxikus hatását egy másik együtt vagy korábban szedett gyógyszer vagy étel befolyásolja [16]. A gyógyszerkölcsönhatások valószínűsége nő az együtt szedett készítmények számával. Az idősebb korosztályra jellemző, hogy a megváltozott metabolikus folyamatok és társbetegségek miatt potenciálisan ki vannak téve a gyógyszerkölcsönhatásoknak. Csökken a vesefunkció és a vesén keresztüli gyógyszerkiválasztás mértéke, csökkennek a máj metabolikus folyamatai, változik a szervezet víz és zsírtartalma, valamint az idősebbek körében a kialakult betegségek következtében nagyobb az együtt szedett készítmények száma [17]. Ennek következtében a 65 év feletti betegeknél sokkal nagyobb a gyógyszerkölcsönhatás kialakulásának lehetősége, 10 vagy több együtt szedett készítmény eseten a valószínűség gyakorlatilag 100% [18-20].

Egy, a 65 év feletti nők körében végzett, floridai felmérés eredményei alapján 143 nőbetegből 58 számolt be arról, hogy szed legalább egy növényi készítményt és további egy vényköteles vagy OTC gyógyszert. A betegek átlagosan 8,7 különböző gyógyszert szedtek egyszerre, 2,8 vényköteleset, 3,7 OTC készítményt és 2,2 növényi alapú szert. A betegek 74%-ánál találtak legalább egy potenciálisan közepes, vagy nagy kockázatú gyógyszerkölcsönhatást. Ezek 52%-ban OTC készítménnyel, azon belül pedig legnagyobb számban, 63%-ban, nem-szteroid gyulladáscsökkentőkkel voltak kapcsolatosak [21].

Batty és mtsai felméréséből kiderül, hogy a 65 évnél idősebb populáció tagjai visszatartják az OTC készítmények használatával kapcsolatos információkat a kezelőorvosok elől, mert azokat jelentéktelennek gondolják. Tovább használják azokat akár kórházi körülmények között is, ugyanis nincsenek tisztában az esetlegesen bekövetkező súlyos mellékhatásokkal [22]. Gyakran szedett nem vényköteles készítmények potenciális gyógyszerkölcsönhatásait foglalja össze az ***I. táblázat*** [5].

4.4. Speciális betegcsoportok kezelése OTC készítménnyel

Mivel a vény nélkül megvásárolható készítmények mindenki számára elérhetőek, meggondolatlanságból előfordulhat, hogy kisebb gyerekek vagy csecsemők kezelésére is használják őket. Külön kockázatot jelent, ha a nem megfelelő dózisban vagy ellenjavallat esetén is alkalmazzák. Egy az Egyesült Államokban végzett felmérés eredményeiből kiderül, hogy a 3 évnél fiatalabb gyerekek több mint 50%-a kapott valamilyen OTC készítményt a vizsgálatot megelőző egy hónap során. Ezek a készítmények elsősorban láz- és fájdalomcsillapók (főként paracetamol) valamint köhögés és megfázás kezelésére szolgáló készítmények voltak [23].

Egy felmérés szerint 2004-2005-ben 7091 sürgősségi betegfelvétel történt az Egyesült Államokban 12 évnél fiatalabb gyerekek körében megfázás és köhögés kezelésére szolgáló OTC készítményekkel összefüggésben *(a továbbiakban CCM az angol cold and cough medication elnevezés rövidítéséből)*. A vizsgált esetek leggyakrabban a 2 és 5 év közötti korosztályt érintették, de súlyos mellékhatások leggyakrabban a 2 évnél fiatalabb gyerekeknél jelentkeztek [24].

I. táblázat

Néhány gyakrabban szedett hatóanyag jellemző gyógyszerkölcsönhatásai

OTC hatóanyag	Kölcsönhatásba lépő hatóanyag	Lehetséges kimenetel
Acetilszalicilsav	Warfarin	Vérzés valószínűségének fokozódása
	Metotrexát	Metotrexát toxicitásának fokozódása
Cimetidin	Warfarin	Vérzés valószínűségének fokozódása
	Karbamazepin	Toxicitás
Flukonazol	Szulfonilurea	Hipoglikémia
	Szimvasztatin	Miopátia
Ibuprofén	Warfarin	Vérzés valószínűségének fokozódása

II. táblázat

Néhány vény nélkül kapható gyógyszer magzatra gyakorolt hatása

Hatóanyag	Magzatra kifejtett hatás
Efedrin	Tachycardia
Kodein	Megvonási szindróma
Vas-szulfát	Veleszületett rendellenességek, emésztőrendszeri zavar
Indometacin	Veseelégtelenség, nekrotizáló enterokolitisz, szűkült ductus arteriosus
Magnézium-szilikát	Vesekárosodás
Paracetamol	Vesekárosodás, veseelégtelenség, veleszületett szürkehályog
Pszeudoefedrin	Alkalózis
Retinol (A-vitamin)	Spontán vetélés, vízfejűség, szívfejlődési rendellenesség
K-vitamin	Sárgaság, vérképzőszervi rendellenességek
D-vitamin	Szellemi fejlődési rendellenességek

Egy 2009-ben Arizonában publikált összefoglalóban toxikológusok és gyermekgyógyászok 12 évnél fiatalabb betegek körében bekövetkezett haláleseteket értékeltek, ahol elsődleges halálokként megfázás és köhögés kezelésére szolgáló nem vényköteles készítmények voltak feltüntetve. A szakirodalom, az Amerikai Gyógyszerügynökség és a forgalmazók adatai alapján azt találták, hogy 189 esetből 118-nál egyértelmű, valószínű vagy lehetséges volt az összefüggés a fent említett készítményekkel. Ebből a 118 esetből 103-nál egyéb vényköteles készítményt is szedett a beteg, 88 esetnél túladagolást állapítottak meg. A szakértők szerint a halálozást kiváltó tényezők az alábbiak voltak: 2 évnél fiatalabb életkor, készítmények alkalmazása szedálás céljából, 2 vagy több, azonos hatóanyagú készítmény együttes alkalmazása, felnőttek számára javallott készítmények alkalmazása. Összességében 6 esetben szedációt, 3-nál abúzust, 10-nél pedig emberölési kísérlet gyanítottak halálokként [25].

Kiemelt betegcsoportnak tekintendők a várandós nők. Általánosan elfogadott az az irányelv, hogy terhesség alatt a gyógyszerfelhasználást kerülni, illetve minimalizálni kell. A terhesség alatti gyógyszer expozíció ugyanis rendkívül veszélyes lehet: a placentán átjutva felhalmozódhat a magzatban a hatóanyag. Mivel a vesék és metabolikus utak még nem teljesen kifejlettek, a magzat nem tudja lebontani a gyógyszereket, melyek így káros hatással lehetnek a fejlődésére. Mivel az *in utero* expozíció következményei ismertek, a vényköteles készítmények alkalmazása terhesség alatt nagymértékben visszaszorul. Ez nem mondható el azonban az OTC készítményekről, melyek alkalmazása folyamatosan növekszik a nagymértékű gyógyszerpromóció, illetve azon általános elgondolás okán, hogy ezek a készítmények biztonságosan alkalmazhatóak. Vény nélkül kapható készítmények potenciális kockázatát a ***II. táblázat*** foglalja össze [26].

5. OTC készítmények kockázatainak kezelési lehetőségei

5.1. A gyógyszerész szerepének növelése

A magyarországi gyakorlatban a gyógyszerészek egészségügyi szerepe nem elég erős. A betegek hajlamosak bolti eladóként kezelni a patikai gyógyszerészeket, holott ők az egyetlen szakemberek, akikkel a betegek OTC készítmény vásárlása során kapcsolatba kerülhetnek. A betegek legtöbbször a saját tapasztalataikra és ismereteikre támaszkodnak a nem vényköteles készítmények vásárlásakor. Ha mégis tájékoztatásra van szükségük, gyakori, hogy háziorvosuktól, ritkábban a gyógyszerésztől, vagy akár családtagtól, jó ismerőstől szereznek információt.

Különböző egészségügyi dolgozók eltérő információval szolgálhatnak adott készítményről, ami a terápia idő előtti befejezéséhez, túladagoláshoz, interakciók megjelenéséhez vezethet [12, 27, 28]. A gyógyszerészi gondozás célja az lenne, hogy a gyógyszerész át tudjon adni információkat és meg tudjon oldani gyógyszereléssel kapcsolatos problémákat a páciens kiszolgálása során.

A megfelelő kommunikáció létrejöttével kapcsolatban problémaként azonosították, hogy a betegek nincsenek tisztában a gyógyszerész szerepkörével és azzal, hogy ők képesek segíteni a felmerülő problémák megoldásában. A gyógyszerészek nehezebbnek találták a beszélgetés kezdeményezését azokkal a betegekkel, akik csak a szokásos vényköteles gyógyszereik kiváltása miatt mentek be a gyógyszertárba [29]. *Hibbert és mtsai* azzal érvelnek, hogy a betegeket nem érdekli a gyógyszerészi tanácsadás, mert irrelevánsnak

találják azt [30]. Az OTC készítmények esetében a kommunikáció létrejötte könnyebb lehet, gyakran a beteg maga kezdeményezi a beszélgetést. Ilyenkor a gyógyszerész segítheti az öndiagnózis felállítását, elmondhatja a helytelen használatból eredő következményeket és felhívhatja a beteg figyelmét arra, hogy milyen tünetek változatlan fennállása esetén forduljon orvoshoz.

5.2. A betegek tájékoztatása

Ahhoz, hogy a betegek fel tudják mérni állapotuk súlyosságát és a megfelelő készítményt válasszák, egy bizonyos fokú tudás elengedhetetlen [5]. A legtöbb esetben a tudás hiányából fakad a gyógyszervisszaélés is. Egy, az Egyesült Államokban végzett tanulmány szerint a válaszadók harmada (N = 1202) a javasolt dózisnál nagyobb adagban szedte a készítményeket, mert úgy gondolták, hogy akkor eredményesebben kezelhetik a tüneteiket. A válaszadók 12%-a nyilatkozta azt, hogy sosem, vagy csak nagyon ritkán olvassák el a betegtájékoztatót [31]. Egy észak-írországi tanulmány kimutatta, hogy a visszaéléses esetek nagy részében a betegek nem voltak tisztában a terápia ajánlott hosszával [32].

A betegek tájékozottságának növelésére több lehetőség képzelhető el:

- Közvetlen szóbeli tájékoztatás egészségügyi személyzet, de elsősorban a gyógyszerész, kezelőorvos vagy háziorvos részéről. Ekkor a betegnek lehetősége van aktívan kérdezni és a tudásában lévő hiányosságokat pótolni.
- Írásbeli tájékoztatás formájában lehetőség van a kórképek és betegségek körüljárására. Ennek helyszíne lehet a laikus média, újságok, egészségügyi témájú webes felületek, gyógyszertári magazinok stb. Konkrét készítmény, vagy hatóanyag csoportról szóló írásbeli tájékoztatás eszköze lehet a gyógyszertárban vagy orvosi rendelőben elhelyezett plakát, szórólap, illetve az elsődlegesen egészségügyi témájú webes felületen vagy magazinban megjelenő tájékoztató cikk. Mindazonáltal egy, az Egyesült Államokban végzett tanulmány kimutatta, hogy a betegek közel felének problémája van az egészségügyi témájú szövegek értelmezésével: nem tudtak értelmezni egy, vagy több utasítást a csomagoláson [33].
- A gyógyszer megfelelő csomagolása és a csomagolásban elhelyezett betegtájékoztató minden esetben tartalmazza a gyógyszer szedésével kapcsolatos kulcsfontosságú információkat: az indikációt; tudnivalókat a gyógyszer szedéséről, az ajánlott dózist – ha szükséges életkorra vagy testsúlyra megadva –, a terápia ajánlott hosszát; a gyógyszer szedésével együtt járó kockázatokat, interakciókat; tárolásra vonatkozó információkat [34].

5.3. Monitorozási rendszer

Ma már az egész Európai Unió területén működik valamilyen formában farmakovigilancia rendszer, ami lehetőséget biztosít mind a betegeknek, mind az egészségügyi személyzetnek, hogy az általuk tapasztalt gyógyszermelléhatásokat bejelentsék. A betegekben tudatosítani kell, hogy ők is tehetnek a biztonságos gyógyszerhasználatért: figyeljék saját magukat, hogy történik-e bármilyen változás OTC készítmény szedése közben. Legyenek tisztában azzal, hogy mi a teendő egy esetleges mellékhatás megjelenése esetén: szükséges-e abbahagyni a terápiát, milyen időtartamon belül kell kezelőorvoshoz fordulni a tünetekkel. A gyógyszercsomagolásban található betegtájékoztató mindig felhívja a beteg figyelmét a mellékhatások bejelentésére és annak módjára [35].

5.4. OTC besorolású termék visszaállítása vénykötelessé

Mivel a forgalomba került gyógyszerek életciklusuk alatt folyamatos előny-kockázat arány értékelésen mennek keresztül, így előfordulhat, hogy régóta forgalomban lévő készítmények rendelhetőségi státusza megváltozik.

A gyógyszerbiztonsági bejelentések irányították a figyelmet a terfenadin és asztemizol antihisztamin szerekre. Az antihisztamin készítmények önálló nagy dózisú vagy kombinációs (eritromicin vagy ketokonazol) alkalmazásával összefüggésbe hozható halálos kimenetelű kamrai aritmiát jelentettek több esetben is. A két hatóanyagot tartalmazó készítményt visszaállították vényköteles státuszba, majd később ki is vonták őket a piacról [36].

A metamizol egy fájdalomcsillapító hatású vegyület, mely 1922-ben került forgalomba és sok európai, valamint latin-amerikai országban napjainkban is a legnépszerűbb fájdalomcsillapító készítménynek számít [37]. Ugyanakkor 2007-ben számos országban visszavonták a készítmény forgalombahozatali engedélyét (Egyesült Királyság, Franciaország) vagy vénykötelesre szigorították a kiadhatóságot, többek közt Magyarországon

vagy Németországban is. Ennek elsődleges oka az volt, hogy a metamizol szedésével összefüggésben potenciálisan életveszélyes vérképzőszervi rendellenességeket, többek között agranulocitózist figyeltek meg. Agranulocitózisnak nevezzük azt az állapotot, amikor a perifériás neutrofil granulociták száma 500/μl alatti. Ez az állapot gyakran együtt jár különböző fertőzésekkel is. Számos más gyógyszerhatóanyagról is ismert, hogy agranulocitózist okozhatnak, például bizonyos antikonvulzív, antipszichotikus, reuma ellenes szereknél vagy fájdalomcsillapítóknál figyeltek meg ilyen mellékhatást [38]. Egy német tanulmány vizsgálta az 1990-2012 között bejelentett metamizol indukálta agranulocitózis eseteket, összesen 161-et, amiből 38 halálos kimenetelű volt. Céljuk az volt, hogy a mintázatok meghatározásával kockázatcsökkentési lehetőségeket tárjanak fel. A tanulmányban az alábbi összefüggéseket találták:

- A vizsgált jelentésekben a betegek átlagéletkora 56,8 év volt, a legnagyobb bejelentési arány a 20-35 éves korosztálytól származott. A halálos kimenetelű esetek részletesebb vizsgálatával kiderült, hogy az életkor lehetséges kockázata a súlyos mellékhatásoknak és a végzetes kimenetelnek.
- A bejelentett esetek 2/3-a a női beteget érintett, de ezt korábbi tanulmányok nem támasztották alá.
- Az agranulocitózis megjelenése az első dózis bevételétől különböző időpontokban jelentkezett. A rövid időn belül kialakuló kórkép magyarázata a múltbéli szenzitizálódás, illetve a gyógyszer indukálta antitestek vagy citotoxikus T limfociták megléte lehet. Az időben később kialakuló agranulocitózist a hosszabb ideig tartó, intermittáló gyógyszerszedéssel hozták összefüggésbe. Németországban a készítmény nagy kiszerelésben elérhető, ami akár 3 hónapig tartó mindennapos kezelést, vagy ennél is hosszabb nem folyamatos gyógyszerszedést tehet lehetővé anélkül, hogy a beteg konzultálna a kezelőorvosával.
- A vizsgált esetek körülbelül felénél (n = 85) szedett a beteg valamilyen más, az agranulocitózis kialakulásának kockázatát magában hordozó készítményt
  - 50 különböző készítményt azonosítottak, köztük antibiotikumokat, immunszuppresszáns szereket, antidepresszívumokat, illetve protonpumpagátlókat;
  - a fentiek közül hat esetben volt szó olyan készítményről, melyek kockázata magas az agranulocytosis szempontjából (karbamizol, karbamazepin, trimetoprim/szulfamethoxazol, tiklopidin).
- Az esetek körülbelül 25%-ában off-label alkalmazás merült fel, mely általában véve gyakoribb volt az alapellátásban történő alkalmazás során

A szerzők úgy látták, hogy egyértelmű rizikófaktorok nem állapíthatóak meg a metamizol alkalmazása kapcsán. Javaslatot tettek a Németországban forgalomban lévő csomagolás nagyságának megváltoztatására, a készítmény felírásának és az off-label alkalmazásnak a visszaszorítására [38].

6. Következtetések

Az irodalom szerint a megbetegedések 70-90%-át a betegek valamilyen formában önállóan kezelik OTC készítményekkel és nem keresik fel vele a kezelőorvosukat. Ez mind a beteg, mind a gyógyszerész és az orvos számára kedvező lehet, bár komoly kockázatokat rejt, ha nem megfelelő az öndiagnózis vagy a gyógyszer alkalmazása. A helyes gyógyszeralkalmazást az orvosok és gyógyszerészek a proaktív betegkommunikációval, tanácsadással és a farmakovigilancia monitorozási rendszer fenntartásával segíthetik. A betegeknek meg kell fogadniuk a szakemberek tanácsát és az előírásoknak megfelelően alkalmazni a gyógyszereket. A cél közös: maximalizálni a kedvező hatást és minimalizálni a gyógyszerbiztonsági kockázatokat.

IRODALOM

1. http://www.fda.gov/drugs/developmentapprovalprocess/howdrugs-aredevelopedandapproved/approvalapplications/over-the-counterdrugs/default.htm#Guidances (letöltve: 2016. 06. 03.)
2. http://www.nielsen.com/hu/hu/press-room/2014/receptnelkuel-kaphato-szerekbl--otc-termekek---77-milliardfori.html (letöltve: 2016. 06. 03.)
3. *Berzsenyi, D., Pallós, J.*, Gyógyszerészet. 58 88-91 (2014).
4. http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-2/c/switchguide_160106_en.pdf (letöltve: 2016. 06. 03.)
5. *Hughes, C.M., et al.*, Drug. Saf. 24*(14)*, 1027-1037 (2001).
6. http://index.hu/kultur/media/2016/05/02/reklam_gyogyszer_teve_mennyi_fejfajas_natha_puffadas/ (letöltve: 2016. 06. 03.)
7. http://www.kantarmedia.com/hu/cikkek-es-tanulma-nyok/cikkek/ujra-felporgott-a-gyogyaszati-szektor (letöltve: 2016. 06. 03.)
8. *Bradley, C., Blenkinsopp, A.*, BMJ. 312*(7034)*, 835-837 (1996).
9. British Market Research Bureau: Everyday healthcare study of self-medication in Great Britain 5-6 (1997).

10. *Ferris, D.G, et al.*, *(42)*, 595-600 (1996).
11. *Hughes, G.F., et al.*, Pharm. World. Sci. 21*(6)*, 251-5 (1999).
12. *Major, C., Vincze, Z.*, Fam. Pract. 27*(3)*, 333-338 (2010).
13. *Fürst, Zs., Gyires, K.:* A farmakológia alapjai, Medicina Könyvkiadó, Budapest, 2011.
14. *Abbott, F.V., Fraser, M.I.*, J. Psychiatry. Neurosci. 23*(1)*, 13-34 (1998).
15. *Ferris, D.G., et al.*, J. Fam. Pract. 42*(6)*, 595-600 (1996).
16. *Secoli, S.R.* , Rev. Esc. Enf. USP. 35*(1)*, 28-35 (2001).
17. *Ruiz, M.E.*, Curr. Drug. Saf. 5*(4)*, 315-323 (2010).
18. *Turnheim, K.* , Drugs. Aging. 13*(5)*, 357-379 (1998).
19. *Colt, H.G., Shapiro, A.P.*, J. Am. Geriatr. Soc. 37*(4)*, 323-326 (1989).
20. *Nolan, L., O'Malley, K.* , J. Am. Geriatr. Soc. 36*(2)*, 142-149 (1988).
21. *Yoon, S.L.*, Geriatr. Nurs. 27*(2)*, 118-129 (2006).
22. *Batty, G.M., et al.*, Postgrad. Med. J. 73*(865)*, 720-722 (1997).
23. *Kogan, M.D., et al.*, JAMA. 272*(13)*, 1025-1030 (1994).
24. *Scefrin, A.E., Goldman, D.R.*, Can. Fam. Physician. 55*(11)*, 1081-1083 (2009).
25. *Dart, R.C., et al.*, Ann. Emerg. Med. 53*(4)*, 411-7 (2009).
26. *Kacew, S.*, Paediatr. Drugs. 1*(2)*, 75-80 (1999).
27. *Price, D., et al.*, Br. Med. J. 292*(6513)*, 99-100 (1986).
28. *Cochrane, R.A., et al.*, BMJ. 305*(6855)*, 694-696 (1992).
29. *Kae, S., et al.*, Res. Social. Adm. Pharm. 8*(3)*, 253-257 (2012).
30. *Hibbert, D., et al.*, Sociol. Health. Illn. 24*(1)*, 46-65 (2002).
31. Am. J. Health. Syst. Pharm. 54*(23)*, 2664-2666 (1997).
32. *Hughes, G.F.:* Drug abuse and misuse: a community pharmacy perspective (Thesis), The Queen's University of Belfast, 2000.
33. *Davis, T.C., et al.*, Ann. Intern. Med. 145*(12)*, 887-894 (2006).
34. *Shrank, W.H., Avorn, J.*, Health. Aff. (Millwood). 26*(3)*, 731-740 (2007).
35. http://www.fda.gov/Drugs/ResourcesForYou/Consumers/ucm143558.htm (letöltve: 2016. 06. 03.)
36. Current Problems (Committee on the Safety of Medicines). 35 1-2 (1992).
37. *Aronson, J.K.:* Meyler's Side Effects of Analgesics and Antiinflammatory Drugs, 1st ed., Elsevier Science, San Diego, 2009.
38. *Stammschulte, T., et al.*, Eur. J. Clin. Pharmacol. 71*(9)*, 1129-1138 (2015).

Érkezett: 2016. december 7.

Szerzői útmutató

Az Acta Pharmaceutica Hungarica a gyógyszerészeti tudományok területéről közöl eredeti, kísérletes kutatómunka eredményeit bemutató közleményeket, de fórumot biztosít összefoglaló és nem kísérletes (történeti, szervezési) tanulmányok, valamint Ph.D. és D.Sc. értekezések téziseinek közlésére is.

Hazai kutatóhelyek vagy olyan szerzői kollektívák magyar nyelvű kéziratait közöljük, ahol az első szerző magyar. Lehetőség van külföldi folyóiratban már megjelent, kiemelkedő jelentőségű közlemények magyar nyelvű változatának közlésére is, az első megjelenés időpontjától számított egy éven belül, az első közlés bibliográfiai adatainak megjelölésével.

Közlésre elfogadunk:

1. Összefoglaló közleményeket, legfeljebb 25 gépelt oldal terjedelemben. Ezek megírására általában a szerkesztőbizottság felkérésére kerülhet sor, illetve az erre irányuló szándékot célszerű előzetesen egyeztetni a szerkesztőbizottsággal.
2. Közleményeket, legfeljebb 12 gépelt oldal terjedelemben. Az ábrák és táblázatok együttes száma maximálisan 10 lehet.
3. Rövid közleményeket, legfeljebb 4 gépelt oldal terjedelemben (összesen legfeljebb 4 ábra és táblázat). A közlemények megjelenési sorrendjében a rövid közlemények előnyt élveznek.
4. Ph.D. értekezések összefoglaló közleményét, legfeljebb 25 oldal terjedelemben.

Feleslegesen nagy terjedelmű dolgozatok esetében a szerkesztőbizottság fenntartja magának a jogot arra, hogy a lektori javaslatok alapján a szerzőt felkérje dolgozatának rövid közleménnyé való átdolgozására.

A kézirat elkészítésének módja:

a) Általános szempontok

A kéziratot elektronikusan, csatolt file-ként kell a felelős szerkesztô e-mail címére elküldeni: zelko.romana@pharma.semmelweis-univ.hu

A táblázatokat külön fájlként, címmel és római sorszámmal ellátva készítsük.

Az ábrák és egyéb illusztrációk olyan színvonalon készüljenek, hogy azok nyomdai szerkesztésre alkalmasak legyenek. Az ábrákat külön file-ként kell csatolni, az elnevezésben az ábraszámokat fel kell tüntetni. Javasolt formátum: jpg, tiff.

Az irodalmi hivatkozásokat külön, a hivatkozások sorrendjében közöljük. A hivatkozási számot a szövegben tegyük szögletes zárójelbe.

A hivatkozások módja:

Folyóiratcikk:

1. Revelle, L. K., Musser, S. M., Rowe, B. J., Feldmann, I. C.: J. Pharm. Sci. 86, 631-634 (1997)

Szakkönyv:

2. Gyarmati L., Rácz I., Plachy J., Csontos A.: A gyógyszer-technológia és biofarmácia kémiai ellenőrző módszerei. Medicina, Budapest, 1982. 147-152. old.

Könyvfejezet:

3. Ariens, E. J.: Racemates – an impediment in the use of drugs and agrochemicals. In: Krstulovic, A.M. (ed): Chiral Separations by HPLC. Ellis Horwood, Chichester, 1989. pp. 31–68.

Szabadalom:

4. U.S. Pat. 3 425 422 (1984)

Konferencia-előadás:

5. Duncan, R.: Polymer therapeutics: Targeting drugs and genes to tumours. 6th European Congress of Pharmaceutical Sciences. Eur. J. Pharm. Sci. 11, (2000) S1-S2.

Internetes hivatkozás: teljes URL-cím a keresôablakból kimásolva és az elérés dátuma az alábbiak szerint:

6. http://www.eum.hu/main.php?folderID=3746&object ID=6000268 [2008. 08. 05.] Az Egészségügyi Minisztérium szakmai protokollja - Gyógyszeres fájdalomcsillapítás és gyulladásgátlás a reumatológiai betegségekben.

Az idegen orvosi kifejezések helyesírásában Fábián P. és Magasi P.: Orvosi helyesírási szótár. Akadémiai Kiadó, 1992. legyen az irányadó, a kémiai kifejezések nevezéktanára és helyesírására vonatkozóan pedig Erdey-Grúz T. és Csányi P.: A kémiai elnevezés és helyesírás szabályai. Akadémiai Kiadó, 1972.; F. Csányi P., Fábián P. és Hőnyi E.: Kémiai helyesírási szótár. Műszaki Kiadó, 1982.; valamint F. Csányi P. és Simándi L.: Szervetlen kémiai nevezéktan. Magyar Kémikusok Egyesülete, 1995.

A mértékegységek megjelölésében az SI-mértékrendszer szabályai az irányadóak.

b) A kézirat felépítése

A kézirat szerkesztéséhez a következő beosztást kérjük:

A dolgozat címe (esetleg alcíme). A szerző(k) teljes neve (tudományos fokozatok nélkül), a szerkesztőséggel kapcsolatot tartó szerző neve csillaggal megjelölve. A szerző(k) munkahelye teljes postai címekkel, valamint a levelező szerző e-mail címe. A dolgozat magyar nyelvű összefoglalása.

A magyar nyelvű összefoglalás terjedelme a dolgozat hosszától függően 10-20 sor legyen és az általános megfogalmazások kerülésével tartalmazza a dolgozat legfontosabb, konkrét megállapításait.

Kulcsszavak: A dolgozat tartalmára utaló, maximum 5 kulcsszó megadása.

A dolgozat címe angol nyelven, a szerző(k) neve (keresztnevek rövidítve).

Angol nyelvű összefoglalás: Bevezetés, amely tartalmazza a munka célkitűzéseit, valamint a vizsgálatok előzményeiből és irodalmi hátteréből annyit, amennyi a dolgozat megértéséhez és értékeléséhez szükséges.

Keywords: Ez az Angol nyelvű összefoglaló után következhetne

Kísérleti rész, amely tartalmazza a felhasznált eszközök és anyagok, valamint a kidolgozott módszerek pontos leírását.

Eredmények. A dolgozatok csak a leírt módszerek teljesítőképességét megfelelően dokumentáló adatokkal fogadhatók el. Ezek megadásánál használjuk a matematikai statisztika korszerű módszereit.

Az eredmények értékelése.

Ábracímek. Következtetések. Az utóbbi két fejezet összevonható az Eredmények c. fejezettel.

Az esetleges köszönetnyilvánítások.

Irodalomjegyzék.