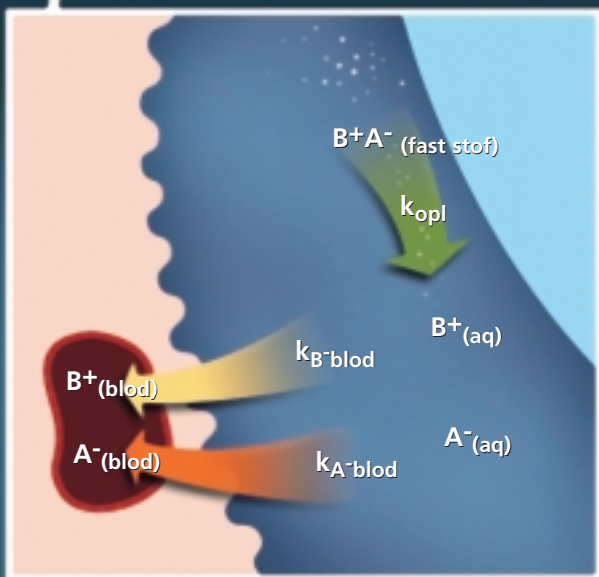
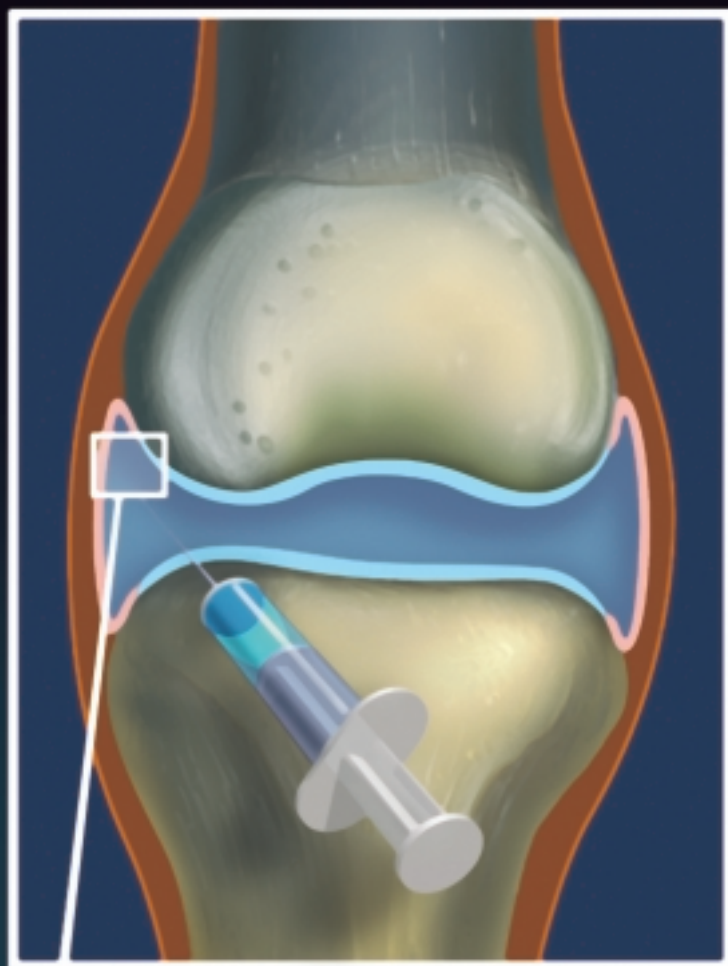


LÆGEMIDDELFORSKNING

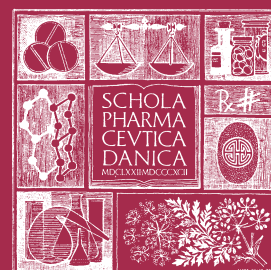
2002

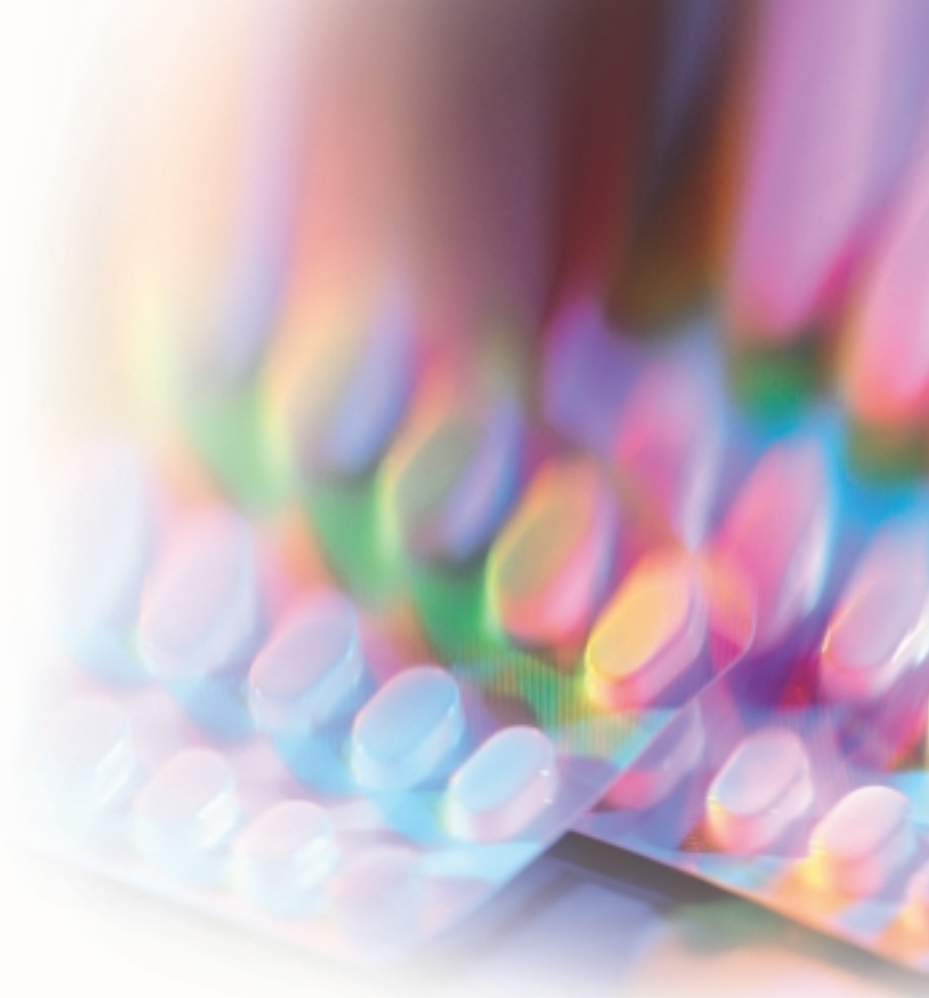


DANMARKS

FARMACEUTISKE

HØJSKOLE





Vi skifter navn:

Fra Danmarks Farmaceutiske Højskole til Danmarks Farmaceutiske Universitet

Det bliver sidste gang, at navnet "Danmarks Farmaceutiske Højskole" kommer til at optræde i Lægemiddelforsknings spalter. Der bliver efter 61 år sagt farvel til betegnelsen "Højskole" og goddag til afløseren "Universitet".

I 1942 - i forbindelse med at de nuværende bygninger på Nørre Fælled i København blev taget i brug - skiftede Den Farmaceutiske Lærestanstalt navn til Danmarks Farmaceutiske Højskole. Og dengang som nu skal navneskiftet ses i lyset af ønsket om et mere præcist og tidssvarende navn, som klart og entydigt markerer, hvad der gemmer sig bag murene. I stedet for at understrege det fuldgældige medlemskab af gruppen af danske universiteter, skaber betegnelsen "Højskole" imidlertid i dag elementer af uklarhed omkring begreberne.

Status som universitetsinstitution er således ikke ny for DFH. Men et navneskifte har været vigtigt i bestræbelserne på at profilere DFH som en sådan.

Povl Krogsgaard-Larsen, rektor

På www.dfh.dk optræder - i forbindelse med DFH's fem institutter - en gennemgang af Højskolens forskningsområder.

På www.dfh.dk/aktivitet findes oplysninger om mulighederne for at besøge DFH med kemi- og biologiklasser.

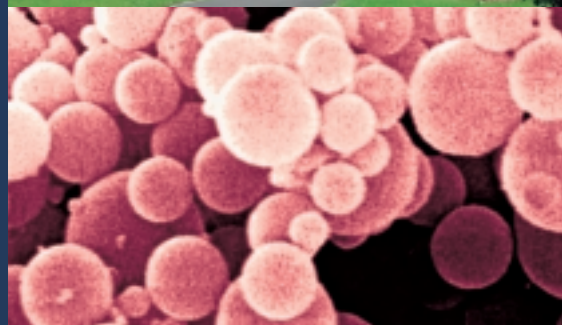
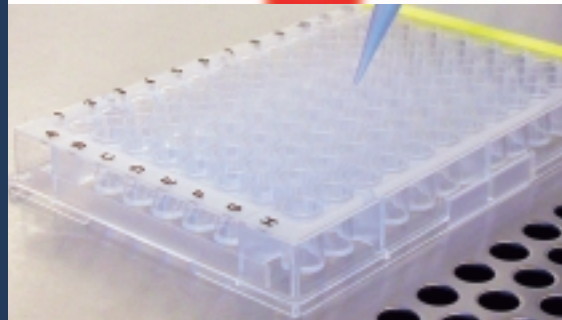
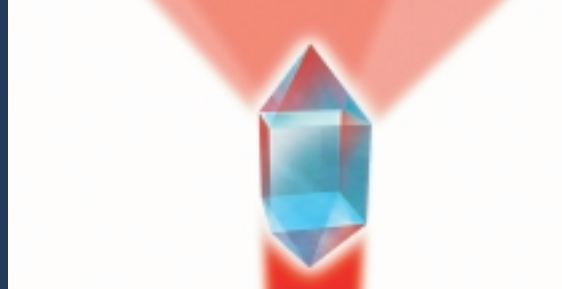
På www.dfh.dk/farmaceut er der information om farmaceutuddannelsen og dens mange erhvervs muligheder.

På www.dfh.dk/publikationer kan man hente inspiration i de tidligere årgange af Lægemiddelforskning.

Ønskes yderligere trykte eksemplarer af Lægemiddelforskning? Kontakt Anne Sørensen på ans@dfh.dk - eller ring på 35 30 63 13.

Indhold

- 1. Drug Research Academy**
– en ny erhvervsrettet forskerskole ved DFH **4-5**
Af Povl Krogsgaard-Larsen og Sven Frøkjær
- 2. Højteknologisk analyse af alle de små molekyler** **6-7**
Af Jerzy W. Jaroszewski, Harald S. Hansen, Steen Honoré Hansen og Arne Schousboe
- 3. Kortlægning af årsager til hjerneødem ved leversvigt** **8-9**
Af Marianne Hald Larsen, Fin Stolze Larsen og Helmer Ring-Larsen
- 4. Hvordan kan kroppen gøre lægemidler giftige?** **10-11**
Af Ulrik Sidenius, Christian Skonberg, Jørgen Olsen og Steen Honoré Hansen
- 5. Ny viden om selens omdannelse i kroppen** **12-13**
Af Bente Gammelgaard, Lars Bendahl, Ole Jøns, Kim Grimstrup Madsen og Jesper Bjerrum
- 6. Fra medicinmænd til vestlig medicin** **14-15**
Af Anna K. Jäger, Anne Adersen og Ulla Wagner Smitt
- 7. Lægemiddel mod prostatakræft** **16-17**
Af Søren Brøgger Christensen, Carsten Milter Jakobsen, John T. Isaacs og Samuel R. Denmeade
- 8. Peptider smugler lægemidler gennem tarmvæggen** **18-19**
Af Anne Engelbrecht Thomsen, Carsten Uhd Nielsen, Birger Brodin, Mikael Begtrup, Sven Frøkjær og Bente Steffansen
- 9. Forbedret terapi ved ændring af lægemiddelstoffets form** **20-21**
Af Helle Brøndsted, Susan Weng Larsen, Henrik Parshad, Anders Bach Nielsen og Claus Selch Larsen
- 10. Nye lægemiddelstoffer skræddersys til at passe ind i receptorproteiner** **22-23**
Af Tommy N. Johansen, Jette S. Kastrup og Jeremy R. Greenwood
- 11. Krystallografi i farmaceutisk tjeneste** **24-25**
Af Karla Frydenvang
- 12. Virusproteiner kan målrette lægemidler** **26-27**
Af Klaus Bahl Andersen, Anne Zedeler, Jes Hunsballe og Rasmus Kriegel
- 13. Inhalation af antibiotika hos patienter i respirator** **28-29**
Af Kenneth Manby Pedersen, Lars Heslet, Vagn Neerup Handlos og Henning G. Kristensen
- 14. Fremstilling af inhalationspulver ved spraytørring** **30-31**
Af Kristina Ståhl, Kjell Bäckström, Kyrre Thalberg, Torben Schæfer, Anders Axelsson og Henning G. Kristensen
- 15. Lægemidler mod kronisk smerte** **32-33**
Af Helle K. Erichsen, Frederik Rode, Bjarne Fjalland og Ole J. Bjerrum
- 16. Medicinbrug og social position i den danske befolkning** **34-35**
Af Merete W. Nielsen, Ebba Holme Hansen og Niels Kristian Rasmussen
- 17. Lille spejl på væggen der** **36-37**
Af Kristin Eskildsen og Ebba Holme Hansen
- 18. Hormoner fra mennesket forstyrrer reproduktionen hos fisk** **38-39**
Af Henrik Andersen, Anne Marie Jakobsen, Kristine Andersen Krogh, Flemming Ingerslev og Bent Halling-Sørensen



Drug Research Academy

– en ny erhvervsrettet forskerskole ved DFH

Drug Research Academy er en ny type erhvervsrettet forskerskole, som allerede nu har vakt betydelig international opmærksomhed som et stortilet akademisk/industrielt samarbejdsprojekt.

Af Povl Krogsgaard-Larsen og Sven Frøkjær

Med et samlet budget på omtrent 71 mill. kroner har den nye forskerskole *Drug Research Academy* ved Danmarks Farmaceutiske Højskole fået grønt lys for at uddanne 36 farmaceutiske ph.d.'ere over seks år.

Modellen til forskerskolen blev over en periode på mere end et år udarbejdet i samarbejde mellem den forskningspolitiske styregruppe i Lægemedelindustriforeningen (Lif) og ledelsen på DFH. Skolen startede 1. juli 2002, og dermed er en ny spændende og perspektivrig epoke for forskeruddannelsen ved DFH begyndt. Den nye forskerskole har allerede vakt betydelig international opmærksomhed som et stortilet akademisk/industrielt samarbejdsprojekt på forskeruddannelsesområdet.

Forskerkolens drift er baseret på samfinansiering mellem syv medlemmer af Lægemedelindustriforeningen, to bioteknologiske virksomheder, Ministeriet for Videnskab, Teknologi og Udvikling samt DFH. De bidragydende virksomheder fra medicinindustrien er Novo Nordisk A/S, Leo Pharma A/S, H. Lundbeck A/S, Nycomed Danmark A/S, Ferring Lægemedler A/S, ALK-Abelló A/S og A/S Gea, og de bioteknologiske virksomheder er NeuroSearch A/S og Zealand Pharma A/S.

Efterspurgte unge forskere

Den farmaceutiske sektor har gennem de senere år oplevet en næsten eksplosiv udvikling, og det gælder både den etablerede farmaceutiske industri og de nye biotekvirksomheder, som sigter mod lægemiddelsektoren. Den globale konkurrence på det farmaceutiske område er intens, og kun medicinfirmaer med stærke og innovative forskningsprogrammer kan være med i førerfeltet.

Lægemedelindustrien har en stor samfundsøkonomisk betydning, og forudsætningen for, at der kan ske en fortsat vækst i sektoren i Danmark er en markant oprustning af forskeruddannelsen.

Med den nuværende kapacitet for uddannelse af juniorforskere har forskningsfeltet inden for det kemiske/bioteknologiske/farmaceutiske område karakter af et afgrænset rum. Den stærkt efterspurgte – men begrænsede – gruppe af unge forskere bevæger sig mellem den etablerede medicinindustri, de nye biotekvirksomheder og universiteterne, og det har skabt en lønspiral, hvor universiteterne langt fra kan følge med. Inden for flere fokusområder på universiteterne opleves et dræn af juniormedarbejdere, som efterhånden trækker forskeruddannelsen ind i en negativ skrue. Denne udvikling, som måske allerede er ved at bremse en



spændende og fremtidsorienteret udvikling på det farmaceutiske og bioteknologiske område, er meget følelig bl.a. på DFH. Det er årsagen til, at vi har ønsket at imødekomme behovet for en erhvervsrettet forskerskole, som skal afløse og videreudvikle den nuværende forskerskole på DFH, Graduate School of Drug Research. De stipendier, vi havde herfra, bliver færdiggjort under Drug Research Academy. Graduate School of Drug Research har siden 1998 været finansieret af Forskerakademiet og har dannet basis for det nye forskerskoleinitiativ. Med denne erfaring som grundlag vil der blive taget nye initiativer til uddannelse af højt kvalificerede farmaceutiske ph.d.'ere inden for specialiserede felter, men på bredt fagligt fundament.

Forskerkolen skal vokse

Drug Research Academy bliver ikke nogen lukket struktur. Der vil blive åbnet op for samarbejde både nationalt og internationalt, og Drug Research Academy vil blive koblet til det nyetablerede Marie Curie Training Site ved DFH. Den nye forskerskole alene dækker dog langt fra det voksende behov for integreret forskeruddannelse med sigte mod innovativ industriel lægemiddelforskning. Bestyrelsens



Dr. pharm. Povl Krosgaard-Larsen er professor ved Institut for Medicinalkemi og rektor ved DFH indtil 31. 12. 2002.



Ph.d. Sven Frøkjær er professor ved Institut for Farmaci. Rektor ved DFH fra 1. 1. 2003.

opgave bliver derfor at få Drug Research Academy til at vokse fagligt.

Forhåbentlig vil forskerskolen danne model for tilsvarende initiativer, så Danmark for alvor kan blive foregangsland med hensyn til integreret forskeruddannelse.

DFH får endvidere styrket sine muligheder for at udbygge sin position som et fyrtårn for kompetencer og uddannelse i såvel Medicin Valley som i hele det skandinaviske og baltiske område.

Forskeruddannelsen ved Drug Research Academy vil blive gennemført i tæt samarbejde med medicinindustrien både på projekt- og vejlederniveau. Et af forskerskolens nye initiativer bliver ansættelsen af et antal postdocs som medvejledere for de ph.d.-studerende og som internationale juniorforskere under videreuddannelse inden for basal lægemiddelforskning, primært til stillinger i industrielle forskningslaboratorier. Det skal være med til at støtte forskeruddannelsesmiljøet på DFH.

Et væsentligt aspekt af det nye initiativ er, at det ikke alene er farmaceutiske kandidater vi søger til forskerskolen. Der søges også kandidater med andre uddannelser som f.eks. cand.scient. og cand.polyt.

FORSKERSKOLENS LEDELSE OG BESTYRELSE

Den daglige leder af forskerskolen er ph.d. Jette Byberg Buur, som sammen med Marianne Jørgensen og Anne Nordly varetager uddannelsens mangfoldige administrative opgaver.

Forskerskolens bestyrelse har følgende sammensætning:

- Professor Sven Frøkjær (leder af forskerskolen)
- Professor Povl Krosgaard-Larsen (formand)
- Professor Ole J. Bjerrum (næstformand)
- Professor Steen Honoré Hansen
- Lektor Erik Wind Hansen
- Forskningsdirektør Poul Rasmussen, Leo Pharma AIS
- Fagdirektør Klaus Bøgesø, H. Lundbeck AIS
- Direktør Peter Kurtzhals, Novo Nordisk AIS
- Udviklingsdirektør Aase Helles, Nycomed Danmark AIS
- Økonomichef Villy Dahl Jensen (observatør)

Højteknologisk analyse af alle de små molekyler

Mange sygdomme skyldes fejl i stofskiftet, og de fleste lægemidler efterligner cellernes stofskifteprodukter. At kortlægge alle spillerne – det humane metabonom – bliver en gigantisk udfordring for den internationale forskning.

*Af Jerzy W. Jaroszewski, Harald S. Hansen,
Steen Honoré Hansen og Arne Schousboe*

Kortlægningen af det humane genom var et syvmileskridt for videnskaben. Men kun en begyndelse. For at forstå den menneskelige organisme må vi kortlægge alle de proteiner, som generne danner, og få styr på de myriader af små organiske molekyler, som indgår i cellernes stofskifte og driver livsværket.

Generne rummer opskriften på en levende organisme, og de sikrer livets kontinuerlige eksistens og nedarvning af egenskaber gennem generationerne. Generne består af DNA, og tilsammen udgør de et genom. Kendskabet til det humane genom og til genomer fra dyr, planter og mikroorganismer bliver springbrættet til en ny bioteknologisk revolution. Gener koder for proteiner, og proteinerne er cellernes arbejdsheste og vigtigste byggematerialer. Både gener og proteiner er kæmpestore molekyler. Generne er opbygget af fire byggesten, nukleotiderne, mens proteinerne dannes af 20 forskellige aminosyrer.

Hæren af metabolitter

Organismens giganter er dog ikke ene om at drive livets maskineri. En levende organismes funktion og beståen opretholdes især af et utal af små organiske molekyler.

Nogle af stofferne indgår i syntesen af de store biomolekyler. Andre skaffer cellen den nødvendige energi eller sender signaler mellem gener og proteiner og påvirker deres funktion. Atter andre små molekyler regulerer de biokemiske processer i kroppen, både i og mellem cellerne.

De små organiske molekyler er stofskifteprodukter – metabolitter – og tilsammen udgør de det humane metabonom, som nu for alvor får international opmærksomhed.

Hver eneste organisme og hver eneste celletype har sit eget metabonom: Metabolitterne omfatter benzinen i energistofskiftet, byggestenene til gener og proteiner, signalstoffer som hormoner og neurotransmittere, og byggeklosterne til fedtstofferne i cellemembranerne. Men også affaldsstoffer fra mange processer indgår i metabonomet.

Metabonom og medicin

Metabonomet er vigtigt i en farmaceutisk sammenhæng, fordi langt de fleste lægemiddelstoffer er små organiske molekyler, som ofte efterligner naturlige metabolitter for at udøve deres farmakologiske og terapeutiske funktion.

For eksempel påvirker det aktive stof i "lykkepiller" de processer, der reguleres af signalstoffet serotonin, som er en naturlig bestanddel af hjernecellernes metabonom. Når man tager medicin, indgår de aktive lægemidler og deres omdannelsesprodukter i personens eget metabonom.

Gennem analyse af metabonomer kan man opnå kendskab til de enkelte metabolitter og samspillet imellem dem - både under normale forhold og under sygdom. Dét har stor interesse for lægevidenskaben, fordi man får helt nye muligheder for at udvikle lægemidler, som kan rette op på et sygt stofskifte.

Sygdomstilstande afspejler sig i ændrede koncentrationer af forskellige metabolitter i vævene, og derfor er metabolitprofiler et nyt og vigtigt redskab til at diagnosticere sygdomme. Samtidig kan man følge op på medicinsk behandling, fordi både virkningen og eventuelle bivirkninger af et lægemiddel ændrer sammensætningen af metabolitter i cellerne. Hurtige og pålidelige metoder til analyse af metabonomer er en af forudsætningerne for fremtidig individuel terapi.

KOBLEDE ANALYSETEKNIKKER

Metabonomstudier kræver, at analyse og strukturoplæring i stigende grad smelter sammen i én arbejdsproces. Det er muligt ved at sammenkoble flere metoder:

- *Væskrokromatografi finder metabolitterne i en celle eller et væv.*
- *Massespektrometri identificerer metabolitterne ved at bestemme deres vægt og ladning.*
- *Kernemagnetisk resonans (NMR) opklarer metaboliternes tredimensionelle strukturer og bestemmer deres atomare byggesten.*



Billedet viser dele af det eksperimentelle udstyr til kombineret væskrokromatografi og massespektrometri.

Kombineret højtryksvæskrokromatografi og NMR-analyse har stor betydning ved undersøgelser af plantemetabonomer med henblik på at finde stoffer med interessante farmakologiske egenskaber. NMR-spektre af alle toppe i et kromatogram (tv.) optages løbende, hvorefter de ønskede stoffer (th.) kan isoleres og studeres nærmere.

Sidst, men ikke mindst, er metabolitter fra planter og mikroorganismer ofte værdifulde lægemidler. Et par eksempler er morfin og penicillin, som er bestanddele af henholdsvis valmueplantens og skimmelsvampens metabonom.

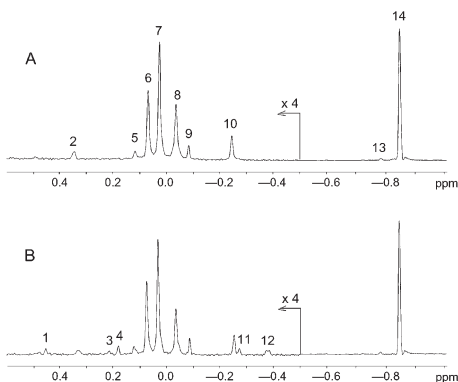
Den store udfordring

I modsætning til generne og proteinerne er den kemiske opbygning af metabolitterne uhyre varieret, og det samme gælder deres fysiske egenskaber. Derfor er en samlet analyse af metabonomer en kæmpe stor udfordring.

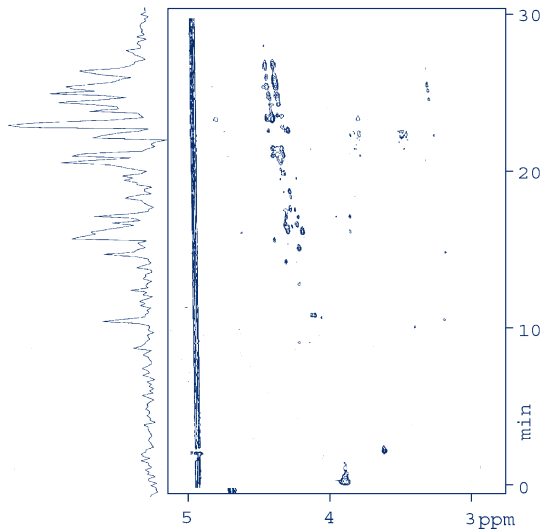
På grund af den ensartede opbygning af gener og proteiner kan man stort set bruge de samme teknikker til at analysere henholdsvis alt DNA og alle blandinger af proteiner. Det gælder for alle celler i alle organismer - fra virus til mennesket. Sådan forholder det sig ikke med metabolitterne. Studier af hele metabonomer og analyse af de enkelte komponenter kræver derfor nye, højteknologiske metoder. Samtidig må man integrere mange fagdiscipliner og holde styr på de enorme mængder af data, der frembringes af moderne analysemetoder.

Tidligere har man typisk isoleret et enkelt metabolit ad gangen for derefter at opklare dens kemiske og rumlige struktur. Dét slår ikke længere til. Analyse af metabonomer kræver udvikling af kombinerede metoder til separation og strukturoptagelse, så man både får adskilt metabolitterne fra hinanden og bestemt deres struktur i ét hug.

Koblede analysemetoder kan sammen med metabonomdatabaser udvikles til kraftfulde værktøjer, der vil ændre forskningsverdenen. De analytiske traditioner i forskning og uddannelse på Danmarks Farmaceutiske Højskole vil sammen



En NMR-analyse af fosforholdige fedtstoffer i hjernen kan afsløre sygdom i hjernen. A) viser en normal rottehjerne, B) viser en rottehjerne, som har været udsat for iskæmi som følge af iltmangel. Tallene markerer forskellige stoffer i rottehjernes metabonom.



med adgangen til "state-of-the-art"-apparaturløsninger og et stort internationalt netværk af samarbejdspartnere gøre os til en del af denne udvikling.

Hjernens metabonom

Hjernen består af et uhyre kompliceret netværk af forskellige typer celler, som kommunikerer med hinanden med et væld af signalstoffer. Deres dannelse, frigivelse og genoptagelse er kontrolleret i en fin balance, som er forudsætningen for en normal hjernefunktion.

Derfor er der stor interesse i at opklare de biosyntetiske processer, der er involveret i dannelsen af signalstofferne. Signalstofferne findes i meget små mængder, og deres dannelse og omsætning kan kortlægges ved at mærke dem.

En særlig del af hjernemetabonomet er fedtstofferne i hjernen, der fungerer som byggesten i cellemembranerne og som energilagere. Desuden spiller fedtstoffer også en vigtig rolle som signalstoffer både i og mellem cellerne.

Et eksempel er endocannabinoiderne, som kan aktivere nervecellernes cannabinoide receptorer, som også påvirkes ved rygning af hash. Disse bioaktive fedtstoffer har mange farmakologiske effekter: Induktion af søvn, stimulering af appetit, sænkning af kropstemperaturen, smertehæmning og nedsat mobilitet.

Stoffer fra planter

Naturstoffer, som er metabolitter fra planter og dyr, har traditionelt været den mest succesrige kilde til nye lægemiddeldelstoffer. Metabonomanalyser kan forbedre udnyttelsen af naturens store apotek. Men det kræver langt mere effektive kemiske og farmakologiske metoder til kortlægning af plante- og dyremetabonomer, end de teknikker vi hidtil har rådet over.

I fremtiden vil eksperimentelle metoder til koblet adskillelse og strukturoptagelse af metabolitter - i kombination med passende databaser - blive det primære værktøj i metabonomforskningen.

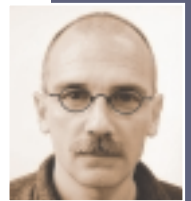
GENOM, PROTEOM OG METABONOM

Genomet, proteomet og metabonomet udgør tilsammen en levende organisme - f.eks. et menneske. Det humane genom er kortlagt, men kortlægningen af proteomet og metabonomet er først lige begyndt.

- Genomet er arveanlæggene og opskriften på en organisme.
- Proteomet er alle de proteiner, som generne danner i alle kroppens celler, på alle tidspunkter, livet igennem.
- Metabonomet er alle de små organiske molekyler, som dannes i cellerne, og som indgår i cellernes stofskifte.



Ph.d. Jerzy W. Jaroszewski er professor ved Institut for Medicinalkemi.



Dr.scient. Harald S. Hansen er docent ved Institut for Farmakologi.



Dr.pharm. Steen Honoré Hansen er professor ved Institut for Analytisk Kemi.



Dr.scient. Arne Schousboe er professor ved Institut for Farmakologi.

Kortlægning af årsager til hjerneødem ved leversvigt

Ved akut leversvigt ophobes vand i hjernen med stor risiko for, at patienten dør. Vi søger at identificere den faktor, der udløser væskeophobningen. Det kan åbne nye muligheder for udvikling af en medicinsk behandling, som kan forhindre hjerneødem.

Af Marianne Hald Larsen, Fin Stolze Larsen og Helmer Ring-Larsen

Fire ud af fem patienter med akut leversvigt dør. I de fleste tilfælde er dødsårsagen hjerneødem, som er en livstruende ophobning af væske i hjernen, der medfører øget intrakranielt tryk. Årsagen til væskeophobningen er en udvidelse af hjernens blodkar, som øger blodtilførslen til hjernen. Desværre findes der ikke en effektiv behandling. Derfor er det af afgørende betydning at klarlægge de mekanismer, der udløser udvidelsen af blodkarrene. Hvis det lykkes, er der håb om, at der kan udvikles en målrettet behandling af patienterne.

Vi arbejder med at identificere den udløsende faktor gennem dyreforsøg, hvor rotter benyttes som en model for akut leversvigt. Ved dyreforsøgene er det muligt at undersøge, hvordan farmakologisk blokering af specifikke enzym-systemer og receptorsystemer i hjernen påvirker udviklingen af hjerneødem.

Komplikationer ved leversvigt

Hos raske mennesker sørger leveren for, at kroppens stofs-kifte forbliver i ligevægt. Det sker ved syntese af livsvigtige stoffer, ved omdannelse af cirkulerende molekyler og ved at udskille giftige stoffer med galden.

Ved leversygdomme bliver stofs-kiftet bragt ud af balance, hvilket ofte resulterer i nedsat funktion af andre organer. For eksempel har blodet svært ved at størkne, og der udvikles lavt blodtryk, nyresvigt og svigtende åndedræt. Samtidig er patienter med akut leversvigt ofte plaget af livstruende infektioner. Imidlertid er bevidstløshed på grund

af hjerneødem den alvorligste komplikation, der kræver intensiv behandling, og er den hyppigste dødsårsag.

I Danmark behandles alle patienter med akut leversvigt på Rigshospitalets hepatologiske intensivklinik. I de senere år er behandlingen blevet forbedret med levertransplantation i de tilfælde, hvor det er

muligt at skaffe en donorlever til tiden, samt med nye metoder til at erstatte leveren i en kort periode. Behandlingen er dog endnu mangelfuld og forhindrer ikke ødemdannelse. En egentlig organerstatning som dialyse ved nyresvigt findes endnu ikke, fordi leverens funktioner er for mangfoldige og komplicerede.

For at gøre behandlingen mere effektiv og nedbringe dødeligheden, må vi kende de sygdomsprocesser, der fører til udvikling af hjerneødem. Årsagen til hjerneødemet er sandsynligvis en kritisk stigning i hjernens blodtilførsel. Men den karudvidende faktor kendes ikke.

I et samarbejde mellem Danmarks Farmaceutiske Højskole og Hepatologisk-laboratorium på Rigshospitalet, forsøger vi nu at identificere denne karudvidende faktor, der tilsyneladende ophobes i hjernen. Hvis det lykkes at finde årsagen til udvidelsen af blodkarrene, har man forudsætningen for en målrettet farmakologisk behandling og måske mulighed for at forebygge hjerneødem.

Ammonium og væskeophobning

Ammonium er et affaldsstof fra kroppens stofs-kifte, som normalt fjernes ved, at leveren omdanner ammonium til urin-stof, som udskilles med urinen.

Ved leversvigt ophobes ammonium i blodet, og affaldsstoffet trænger let gennem blod-hjernebarrieren. I hjernen er ammonium giftigt for nervecellerne. Derfor forsøger hjernens støtceller, astrocytterne, som omslutter hjernens små blodkar, at fjerne ammonium.

Fjernelsen sker primært ved, at signalstoffet glutaminsyre omdannes til glutamin ved hjælp af enzymet glutaminsyntetase. Den akutte akkumulering af glutamin i astrocytterne fører imidlertid til forhøjede intracellulære koncentrationer af osmotisk aktive stoffer, som suger vand ind i cellerne og får dem til at svulme op.

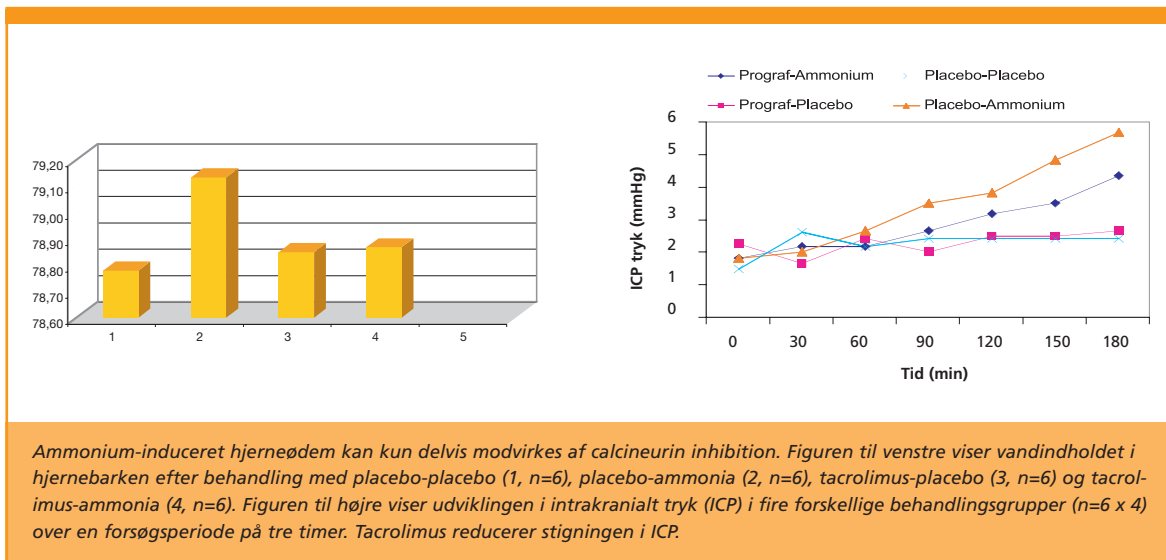
Blokering af enzymet glutaminsyntetase med stoffet methionin sulfoximin har i eksperimentelle studier forhindret udviklingen af hjerneødem. Men desværre har stoffet adskillige uheldige bivirkninger, som forhindrer, at det kan anvendes til behandling af mennesker.

Blodkarudvidelse i hjernen

Andre faktorer har imidlertid også betydning for udvikling af hjerneødem. For eksempel kan nedkøling af kropstemperaturen til 33°C forhindre udvikling af hjerneødem til trods for, at hjernens glutaminindhold forøges. Nedkølingen forhindrer, at blodtilførslen til hjernen stiger.

Dét understreger, at blodkarudvidelsen i hjernen er af direkte betydning for udvikling af hjerneødem. Antagelsen underbygges af, at methionin sulfoximin ikke kun forhindrer





Ammonium-induceret hjerneødem kan kun delvis modvirkes af calcineurin inhibition. Figuren til venstre viser vandindholdet i hjernebarken efter behandling med placebo-placebo (1, n=6), placebo-ammonia (2, n=6), tacrolimus-placebo (3, n=6) og tacrolimus-ammonia (4, n=6). Figuren til højre viser udviklingen i intrakranielt tryk (ICP) i fire forskellige behandlingsgrupper (n=6 x 4) over en forsøgsperiode på tre timer. Tacrolimus reducerer stigningen i ICP.

akkumuleringen af glutamin i astrocyterne, men først og fremmest modvirker karudvidelsen i hjernen. Altså er der to forhold, der har afgørende betydning for udvikling af hjerneødem, nemlig ændringer i hjernens glutaminsyre-glutamin-cyklus og udvidelse af hjernens blodkar.

Kvælstofilte frikendt

Dyreforsøg har vist, at hjernens ekstracellulære koncentration af glutaminsyre er forhøjet ved akut leversvigt på trods af det øgede forbrug af stoffet inde i astrocyterne. Vi har arbejdet med den hypotese, at ændringerne i hjernens koncentration af glutaminsyre indtræffer før stigningen i hjernens blodtilførsel.

Hos patienter med akut leversvigt har vi ved hjælp af avanceret teknik været i stand til foretage mikrodialyse af patienternes hjerne og bl.a. målt på glutaminsyre. Det viser sig faktisk, at karudvidelsen sker efter, at koncentrationen af glutaminsyre er steget, hvilket bekræfter resultaterne fra dyreforsøgene.

Årsagen til at koncentrationen af glutaminsyre stiger uden for cellerne er muligvis relateret til problemer med at transportere frigjort glutaminsyre ind i cellerne igen.

Den frie glutaminsyre antages at kunne aktivere receptorer på astrocyterne, hvilket fører til indstrømning af calcium i cellerne. Resultatet er en øget produktion af kvælstofilte (NO), som kunne være det signalstof, der foranlediger blodkarudvidelsen

Forsøg med lægemiddelstoffer, som blokerer dannelsen af kvælstofilte, har imidlertid vist, at dette ikke kan forhindre karudvidelsen i hjernen. Kvælstofilte er med andre ord ikke involveret i udvidelse af blodkarrene og hjerneødem ved akut leversvigt.

Vi har også undersøgt effekten af en gruppe lægemidler, der kaldes calcineurin-inhibitorer, og som normalt bruges for at undgå afstødning ved transplantationer. Man ved imidlertid også, at lægemidlet får blodkarrene i hjernen til at trække sig sammen ved at nedsætte produktionen af kvælstofilte. Stoffene var kun i ringe grad i stand til at forhindre udvikling af hjerneødem og forhøjet tryk i hjernen.

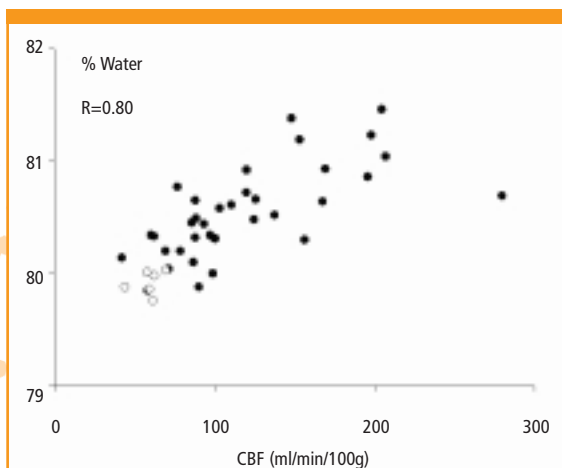
Prostaglandiner og karudvidelse

Vore forsøg har imidlertid vist, at gigtmidlet indometacin kan forhindre udvidelsen blodkarrene og kortvarigt nedsætte det intrakranielle tryk ved hjerneødem. Effekten af indometacin har hidtil været antaget at bero på en blokering af

de såkaldte COX-enzymen, der er ansvarlige for produktionen af prostaglandiner, som virker karudvidende.

Indometacin påvirker imidlertid også andre enzymer, som er involveret i den videre omsætning af prostaglandinerne i stofskiftet. Specielt astrocytternes cytokrom-P450-enzym-system synes at medvirke til den videre metabolisme af visse prostaglandiner, og nogle af stofskifteprodukterne har stærke karudvidende egenskaber. I øjeblikket undersøger vi effekten af indometacin og stoffet proadifen, som hæmmer aktiviteten af cytokrom-P450-enzymene. Endnu har vi dog ikke indsamlet konklusive data.

En kortlægning af årsagen til udvikling af hjerneødem vil åbne muligheder for farmakologisk at forhindre den livstruende komplikation. Selektiv blokering af enten glutaminsyre-receptorerne eller cytokrom-P450-enzymene i hjernen er nærliggende muligheder, der måske kan åbne vejen for en mere forbyggende og mindre intensiv krævende behandlingsstrategi ved akut leversvigt. Begge dele undersøges aktuelt.



Når leveren svigter, ophobes affaldsstoffet ammonium i blodet, hvilket får blodkarrene i hjernen til at udvide sig. Figuren viser sammenhængen mellem blodgennemstrømningen (CBF) og vandindholdet i hjernen hos rotter, der gives infusion af ammoniumklorid.



Stud.pharm.
Marianne Hald Larsen er skolarstipendiat ved Hepatologisk klinik A-2121 på Rigshospitalet.



Dr.med., ph.d.
Fin Stolze Larsen er afdelingslæge ved Hepatologisk klinik A-2121 på Rigshospitalet.



Dr.med. Helmer Ring Larsen er overlæge ved Hepatologisk klinik A-2121 på Rigshospitalet og professor ved Institut for Farmakologi, DFH.

CBF (ml/min/100g) 200

Hvordan kan kroppen gøre lægemidler giftige?

Almindelig medicin til behandling af smerter og gigt medfører i sjældne tilfælde voldsomme og uforudsigelige bivirkninger. Vi arbejder på at forstå de molekylære mekanismer, som fremkalder bivirkningerne.

Af Ulrik Sidenius, Christian Skonberg, Jørgen Olsen og Steen Honoré Hansen

En del lægemidler kan give alvorlige bivirkninger, som kun rammer ganske få personer ud af en meget stor gruppe brugere. I dag kan vi ikke forudsige, hvem der er i farezonen, og vi forstår ikke mekanismerne bag de uforudsigelige bivirkninger.

Et eksempel er gruppen af almindelige smertestillende lægemidlerstoffer som acetylsalicylsyre, ibuprofen, naproxen, som i meget sjældne tilfælde kan medføre voldsomme allergiske reaktioner eller leverskader.

Vi arbejder på at forstå de molekylære mekanismer, som formodes at fremkalde bivirkningerne. På den måde kan vi forhåbentlig blive i stand til at forklare bivirkningerne, og i fremtiden vil man måske kunne forudse nogle af de ellers uforklarlige bivirkninger allerede i udviklingsfasen af nye lægemidler.

Omdannelse i kroppen

Når man har indtaget et lægemiddel, optages stoffet i kroppens celler, hvorefter medicinen omdannes kemisk i cellens stofskifte. Generelt gør omdannelsen lægemiddelstoffet mindre giftigt og fremmer udskillelsen via urin eller afføring.

Men for nogle kemiske forbindelser kan omdannelsen i cel-

len faktisk gøre stoffet mere giftigt. Fænomenet er for eksempel kendt for alkohol, der bliver giftigt og medfører tømmermænd på grund af kroppens omdannelse af alkohol til affaldsstoffet acetaldehyd.

For lægemiddelstoffer, som indeholder karboxylsyrer, sker der ligeledes en omdannelse. Denne gruppe af lægemidler rummer bl.a. klassen NSAID, som omfatter mange almindelige smertestillende lægemidler.

Karboxylsyrer kan enten blive omdannet til glucuronsyreforbindelser eller til Coenzym A-forbindelser i kroppen. Begge typer forbindelser er væsentlig mere reaktive end det oprindelige lægemiddelstof og kan derfor reagere med store molekyler i cellen som proteiner og DNA.

Reaktionsprodukterne kan skabe alvorlige konsekvenser. F.eks. kan kroppens immunforsvar reagere over for et protein, som er gået i forbindelse med et lægemiddel og derved fremkalde en allergisk reaktion.

Coenzym A-forbindelser kan desuden indgå i cellens fedtstofskifte og ændre omdannelsen af fedtstoffer til energi eller blive indbygget i fedtmolekyler i cellens membran.

Fokus på mekanismen

Når man ønsker at undersøge, om Coenzym A-forbindelser er reaktive i kroppen, er det svært at bruge levende organismer, da den efterfølgende analyse bliver meget vanskelig og ofte slet ikke er mulig.

Derfor har vi udført forsøg i reagensglas med et lille modelprotein. Som model har vi benyttet glutathion, som er nært beslægtet med proteiner, men væsentlig lettere at arbejde med i laboratoriet.

For at kunne vurdere de omdannede lægemidlers reaktivitet

DE UFORUDSIGELIGE BIVIRKNINGER

NSAID står for Nonsteroidale Antiinflammatoriske Lægemidler. Det er en gruppe på ca. 25 forskellige lægemidler, som især benyttes til behandling af smerter og gigt. Nogle eksempler er acetylsalicylsyre (Aspirin®), ibuprofen (Iprex®), naproxen (Naprosyn®) og diclofenac (Voltaren®). De fleste af lægemidlerne består af karboxylsyrer og indeholder en aromatisk gruppe. Den hyppigste bivirkning er blødninger i mavesækken og tarmen, hvilket specielt rammer personer over 60 år. Det skønnes, at der i Danmark alene dør mere end 100 personer om året i NSAID behandling, som følge af blødninger i mavesækken og tarmen.

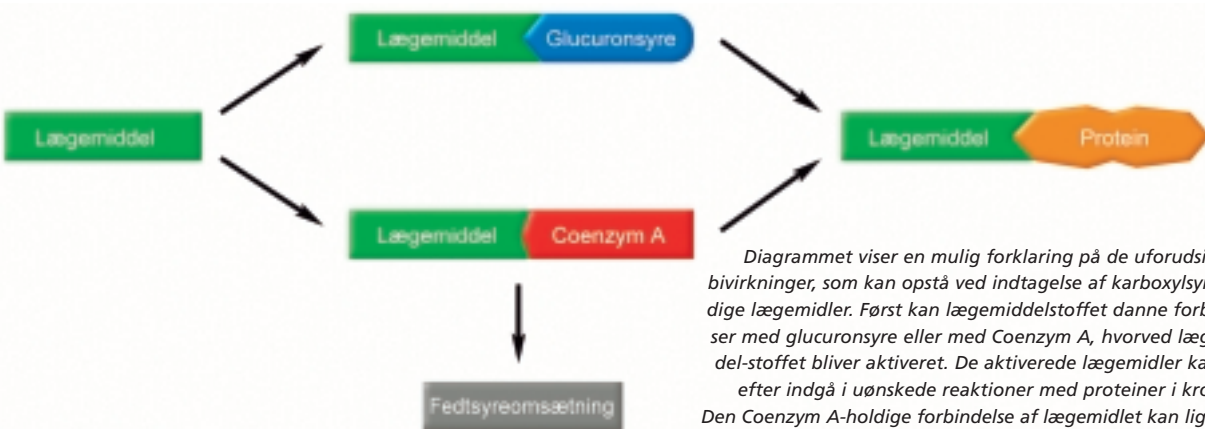
En meget alvorlig, men langt sjældnere bivirkning er allergiske reaktioner. Få personer udvikler af uforklarlige årsager allergi mod denne gruppe af lægemidler, og blandt dem optræder

der i få tilfælde anafylaktisk chock. Det er en meget alvorlig tilstand, der kræver hurtig behandling.

Nogle af lægemidlerne har desuden en giftig virkning på leveren. En del af de nyere NSAID-lægemidler er blevet trukket tilbage igen, fordi nogle få personer døde af leverskader. Årsagen til, at lægemidlerne kan forgifte leveren hos nogle personer, kendes ikke. En mulig forklaring kan være måden, hvorpå lægemidlerne omsættes i disse personer.

Generelt må det stadig anses for sikkert at indtage de hyppigst anvendte NSAID'er som ibuprofen, acetylsalicylsyre og naproxen, så længe dosis og forskrifter overholdes.

På www.lk-online.dk kan du læse mere om NSAID og andre lægemidler.



Diagrammet viser en mulig forklaring på de uforudsigelige bivirkninger, som kan opstå ved indtagelse af karboxylsyre-holdige lægemidler. Først kan lægemiddelstoffet danne forbindelser med glucuronsyre eller med Coenzym A, hvorved lægemiddelstoffet bliver aktiveret. De aktiverede lægemidler kan herefter indgå i uønskede reaktioner med proteiner i kroppen. Den Coenzym A-holdige forbindelse af lægemidlet kan ligeledes indgå i kroppens fedsyreomsætning. Disse uønskede reaktioner formodes at kunne give anledning til alvorlige bivirkninger.

har vi syntetisk fremstillet Coenzym A-forbindelser af en række lægemiddelstoffer. Forbindelserne blev så tilsat til et reagensglas med en opløsning af modelstoffet glutathion. Blandingen blev hele tiden holdt ved pH 7,4 og 37°C, så pH-værdien og temperaturen ligner kroppens.

Herefter er den tidsmæssige udvikling i koncentrationerne af lægemiddel-Coenzym A og lægemiddel-glutathion blevet fulgt. Eksperimenterne viser, at alle lægemiddel-Coenzym A-forbindelser reagerer med glutathion, men der er forskel på hastigheden af reaktionerne.

Der synes at være tre grupperinger: En hurtig, en moderat og en langsom. Ud fra lægemidlernes opbygning kan det konkluderes, at strukturen tæt på karboxylsyren sandsynligvis er af afgørende betydning for, hvor reaktiv lægemiddel-Coenzym A-forbindelsen er over for glutathion og dermed sandsynligvis også over for proteiner i kroppen.

Det næste trin var at undersøge, hvorvidt de reaktive forbindelser faktisk dannes i kroppen, og om de reagerer med kroppens proteiner.

Vi gav laboratorierotter et af de undersøgte lægemidler og analyserede bagefter urinen samt leveren. På den måde har vi identificeret en række omdannelsesprodukter af lægemidlet. Tilstedeværelsen af omdannelsesprodukterne viser, at lægemidlet har været omdannet til en Coenzym A-forbindelse, fordi det er kendt, at kroppen bliver nødt til at lave Coenzym A-forbindelser for at danne disse omdannelsesprodukter.

Det undersøgte lægemiddel bliver altså omdannet til en reaktiv forbindelse i dyr, og vores eksperimenter viser ligeledes, at

de reaktive omdannelsesprodukter af lægemidlet også reagerer med proteiner i rotten.

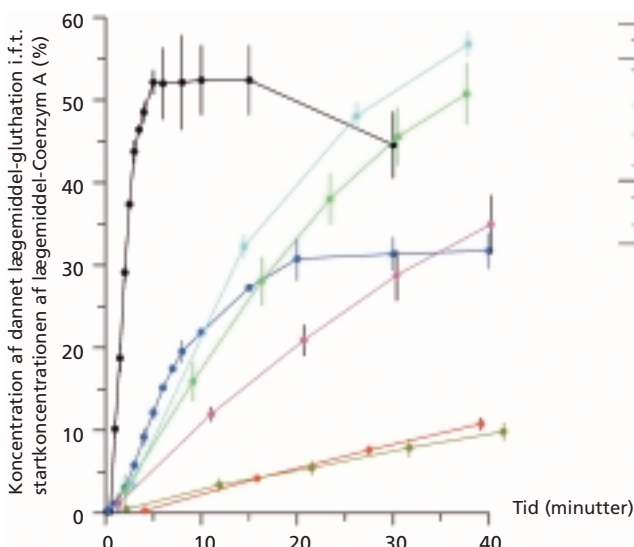
Bivirkninger på molekylært niveau

I reagensglasforsøg har vi også undersøgt, hvordan Coenzym A-forbindelsen af lægemidlet naproxen reagerer med et rigtigt protein: Albumin. Efter at reaktionen er stoppet, er albumins ordnede tredimensionale struktur blevet ødelagt kemisk, og proteinet er klippet i mindre stykker af enzymer.

Disse proteinstykker er herefter blevet adskilt ved kromatografi og detekteret ved hjælp af massespektrometri. Udfra massespektrene er det muligt at bestemme, om der er bundet lægemiddel til proteinet, og hvor på proteinet lægemidlet er bundet. Undersøgelserne viser, at naproxen-Coenzym A-forbindelsen blandes med albumin, og der er identificeret ni steder på albumin, hvor naproxen sidder bundet.

Arbejdets perspektiv

I øjeblikket er vi i gang med at undersøge betydningen af, at lægemiddel-Coenzym A-forbindelser kan indgå i fedsyrestofskiftet, ligesom vi vil undersøge om lægemidlerne også binder til albumin i forsøg med rotter. Resultaterne af disse undersøgelser vil forhåbentlig øge vores forståelse for de molekylære mekanismer som bevirker, at kroppens eget forsvar mod giftstoffer omdanner nogle lægemidler til giftige forbindelser.



- MCPA-SG **Hurtig**
- Salicyl-SG **Mellem**
- Tolmetin-SG
- Fenbufen-SG
- Indomethacin-SG
- Clofibryl-SG **Langsom**
- Ibuprofen-SG

Kurverne viser reaktiviteten af en række lægemiddel-Coenzym A-forbindelser overfor glutathion, der her fungerer som en model for kroppens proteiner. Reaktiviteten af de undersøgte forbindelser inddeler sig i tre grupper: En yderst reaktiv gruppe med MCPA, som er et ukrudtsmiddel, men nært beslægtet med lægemidler. En gruppe med medium reaktivitet, og endelig en meget langsomt reagerende gruppe.



Ph.d. Ulrik Sidenius er adjunkt ved Institut for Analytisk Kemi.



Cand.pharm. Christian Skonberg er ph.d.-studerende ved Institut for Analytisk Kemi.



Ph.d. Jørgen Olsen er amanuensis ved Institut for Analytisk Kemi.



Dr.pharm. Steen Honoré Hansen er professor ved Institut for Analytisk Kemi.

Ny viden om selens omdannelse i kroppen

Selen er et livsnødvendigt grundstof. Men vi ved ikke ret meget om, hvordan selen omdannes og udskilles fra kroppen. Det kan undersøges ved at påvise de selenforbindelser, der optræder i urin. Det er lykkedes os at identificere den mest fremtrædende selenforbindelse i human urin.

Af Bente Gammelgaard, Lars Bendahl, Ole Jøns, Kim Grimstrup Madsen og Jesper Bjerrum

Selen er et livsnødvendigt grundstof, som indbygget i proteiner fungerer som antioxidant i kroppen. Kliniske undersøgelser har desuden vist, at selen har en beskyttende virkning mod visse former for kræft. Det er kendt, hvordan selen indbygges i kroppens proteiner, men man ved ikke ret meget om, hvordan selen omdannes

og udskilles fra kroppen. Man har en formodning om, at den kræftforebyggende effekt ikke skyldes de selenholdige proteiner, men andre selenholdige forbindelser. Derfor er det vigtigt at forstå, hvilke forbindelser indtaget selen omdannes til i kroppen, således at eventuelle kræftforebyggende selenforbindelser kan identificeres. Derfor undersøger vi selens omdannelse og udskillelse ved at identificere de selenforbindelser, der optræder i urin. Det er lykkedes os at identificere den mest fremtrædende og hidtil ukendte selenforbindelse i human urin.

Koblede analyseteknikker

I den danske befolkning er koncentrationen af selen i urin i størrelsesordenen 30 nanogram pr. milliliter. Det er en forholdsvis lav koncentration sammenlignet med mange andre lande, hvilket skyldes, at dansk jord ikke er særlig selenholdig. Størstedelen af den selen, vi indtager, kommer nemlig fra planter, som optager selen fra jorden. Den totale selenmængde, der findes i urin, er fordelt mellem flere forskellige selenholdige forbindelser, hvilket kan observeres ved at analysere urinprøver ved kromatografi, som separerer de forskellige forbindelser. Da koncentrationen af de enkelte forbindelser er uhyre lav, er det nødvendigt med en meget følsom metode til at måle mængden af hver enkelt forbindelse. Her benytter vi ICP-massespektrometri.

DEN KEMISKE DETEKTIVS VÆRKTØJSKASSE

Spektrofotometri - UV-absorbans:

Mange stoffer absorberer lys. UV-absorbans er et mål for koncentrationen af de tilstedeværende stoffer, der absorberer ved den givne bølgelængde. Metoden er uspecifik, fordi mange stoffer absorberer ved samme bølgelængde, og der opnås ikke information om forbindelsens struktur. Nogle stoffer absorberer slet ikke.

Massespektrometri:

Stofferne i en prøve detekteres efter deres masse-ladningsforhold, hvilket giver oplysning om molekylets vægt. Prøven skal ioniseres for at nå ind i massespektrometret. Det kan gøres på forskellige måder:

ESI-MS:

ElectroSpray Ionization Mass Spectrometry: Prøven ioniseres ved atmosfærisk tryk ved at pumpe opløsningen gennem et stålør, som er pålagt højspænding. Herved opnås en fin spray af elektrisk ladede dråber. Ved efterfølgende opvarmning overføres ladningen til det enkelte molekyle. Molekylerne slås ikke i stykker og der kan således opnås information om molekylets masse. Teknikken er særlig velegnet til molekyler, som relativt nemt lader sig ionisere.

APCI-MS:

Atmospheric Pressure Chemical Ionization: Efter indføring og opvarmning af prøven ioniseres molekylerne ved at passere en elektrode, der udsender en elektrisk udladning. Metoden kan ionisere de fleste forbindelser, men der er dog en risiko for, at de oprindelige molekyler slås i stykker.

Tandem-MS:

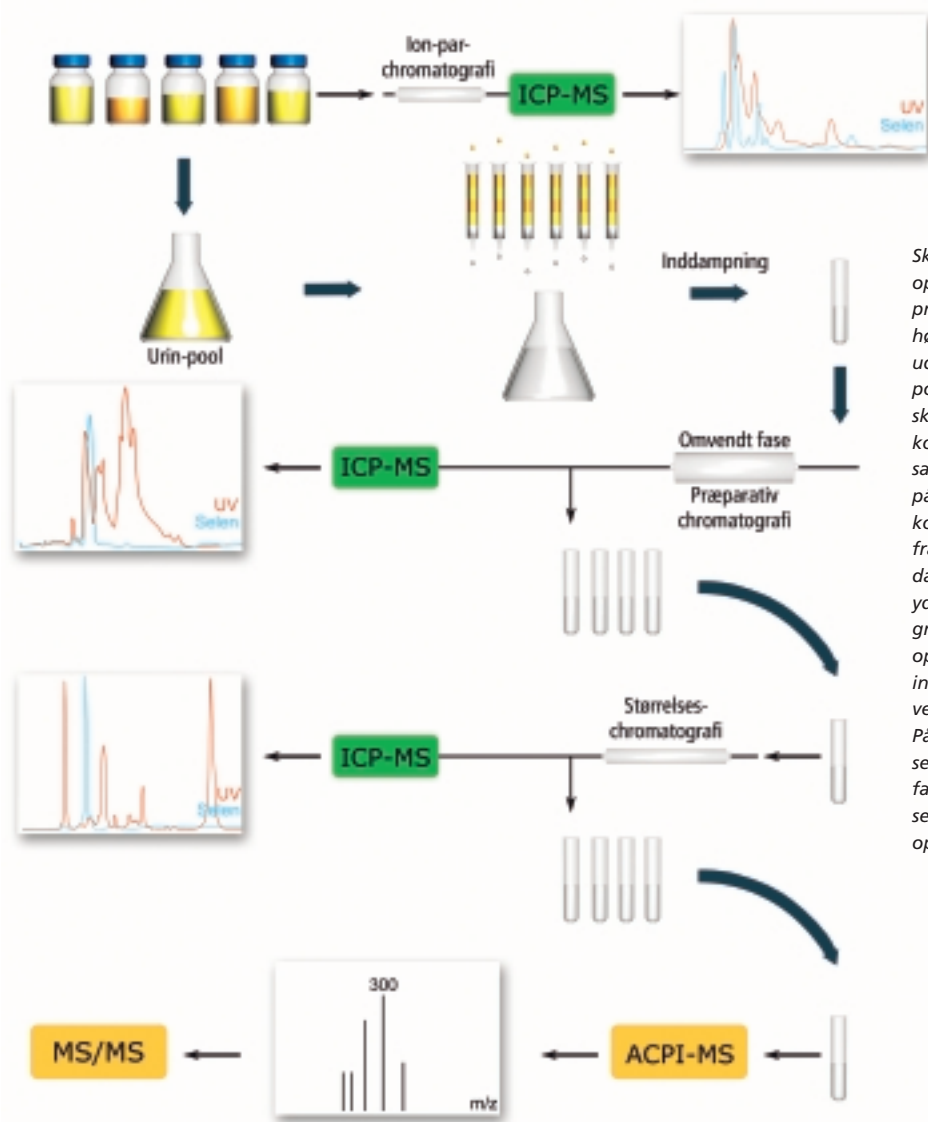
I denne teknik opsamles molekyler med det masse-ladningsforhold, man ønsker at analysere, d.v.s. den "ukendte" forbindelse. Herefter slås de enkelte molekyler i stykker ved at bombardere dem med en gas. Ved at studere, hvordan molekylet fragmenterer, kan man få oplysninger om, hvilke kemiske grupper molekylet indeholder.

ICP-MS:

Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Teknikken har en følsomhed, som for selen er 100-1000 gange større end de øvrige MS-teknikker.

Prøven forstøves ind i et ca. 8000°C varmt plasma af argon. Herved atomiseres og ioniseres prøven, hvorefter ioner af alle de tilstedeværende grundstoffer indføres i massespektrometret.

Denne teknik adskiller sig fra de øvrige MS-teknikker ved ikke at give oplysninger om strukturen af den oprindelige forbindelse. Ved kobling af ICP-MS til kromatografi detekteres kun de forbindelser, der indeholder det grundstof, man leder efter. Der er således ikke støj fra alle de andre tilstedeværende forbindelser.



Skematisk oversigt over oprensningen af urinprøver. Urinprøver med højt indhold af selen udvælges og samles i en pool. Første oprensning sker på en række små kolonner. Udtrækkene samles, inddampes og påsættes en præparativ kolonne. De selenholdige fraktioner opsamles, inddampes og påsættes yderligere en kromatografisk kolonne. De opsamlede fraktioner inddampes og analyseres ved massespektrometri. På kromatogrammerne ses det, at UV-signalet falder og adskilles fra selensignalet under oprensningen.



Ph.d. Bente Gammelgaard er lektor ved Institut for Analytisk Kemi.



Cand.scient Lars Bendahl er amanuensis ved Institut for Analytisk Kemi.



Lic.pharm. Ole Jøns er lektor ved Institut for Analytisk Kemi.



Stud.pharm. Kim Grimstrup Madsen er scholarstipendiat ved Institut for Analytisk Kemi.



Cand.pharm. Jesper Bjerrum har netop afsluttet sit speciale ved Institut for Analytisk Kemi

Samtidig findes der utallige andre stoffer i urin i koncentrationer, der kan være flere størrelsesordener højere. For selenforbindelserne kan identificeres ved massespektrometri, skal de således først adskilles fra alle de andre stoffer, der er tilstede i urin og samtidig opkoncentreres.

Det er en vanskelig opgave, fordi selenforbindelserne er små molekyler, som ligner de andre tilstedeværende stoffer kemisk. Opgaven kan kun løses ved at anvende en kombination af flere forskellige kromatografiske principper og koble separationsmetoderne til følsomme og selektive detektionsmetoder.

Kromatografi

Vi anvendte urin fra frivillige personer, der havde indtaget et gærpræparat, som er beriget med selen, og som sælges som kosttilskud på bl.a. apoteket. Efter indtagelse af præparatet i en uge leverede forsøgspersonerne urinprøver, som blev opsamlet over hele dagen.

Prøverne blev analyseret, og prøver med højt indhold af selen blev samlet i en urin-pool. Fra tidligere undersøgelser ved vi, at der dannes mest af én bestemt selenforbindelse ved indtagelse af selen, men forbindelsens kemiske sammensætning var ukendt.

Der blev anvendt tre forskellige kromatografiske principper til oprensningen, som blev fulgt ved at analysere prøven undervejs. Analyserne viste, at mængderne af alle andre stoffer falder under oprensningen, mens selensigna-

let til gengæld stiger. Selenforbindelsen i den oprensede prøve blev herefter identificeret ved massespektrometri.

Massespektrometri

Ved massespektrometri detekteres elektrisk ladede ioner efter deres masse-ladningsforhold. Den oprensede selenforbindelse var imidlertid vanskelig at ionisere, og derfor var det ikke muligt at bruge den mest anvendte teknik, ESI-massespektrometri. Heldigvis råder instituttet over flere massespektrometre med forskellige ioniseringsmetoder. Det lykkedes at ionisere prøven med APCI-massespektrometri.

Analysen viste fingeraftrykket af den ukendte selenforbindelse. Selen forekommer naturligt som seks forskellige isotoper i et bestemt masseforhold, hvor ^{80}Se udgør ca. halvdelen. Et massespektrum af en selenholdig forbindelse vil således altid vise det karakteristiske mønster, som er bestemt af forholdet mellem isotoperne.

Næste trin var tandem-massespektrometri, hvor molekylet slås i stykker. Analysen viser, hvilke kemiske grupper, der findes i det selenholdige molekyle. Den isolerede forbindelse består af en methyl-selen-gruppe på et sukkermolekyle. Vi er i øjeblikket i færd med at fastlægge identiteten af sukkerdelen.

Der er ikke tidligere påvist en sådan selenforbindelse i human urin, og den er meget forskellig fra de forbindelser, som man tidligere har foreslået kunne optræde i urin. Identifikationen af denne forbindelse kan således medføre, at man må revurdere hvorledes selen omsættes i kroppen.

Fra medicinmænd til vestlig medicin

I jagten på nye lægemiddelstoffer til behandling af psykiske sygdomme undersøger forskere fra Danmarks Farmaceutiske Højskole medicinplanter, som traditionelle healere i Afrika bruger mod mentale sygdomme. Planter har leveret mange psykoaktive stoffer.

Af Anna K. Jäger, Anne Adsersen og Ulla Wagner Smitt

Planter kan indeholde stoffer med stærke virkninger på hjernen og psyken. Tænk på opium fra valmuen, kokain fra coca-buske eller cannabinoler fra hashplanten. Ud over den euforiserende effekt bruges de aktive stoffer fra disse planter også til smertebehandling. Samtidig anvendes hash på forsøgsbasis flere steder i verden til at dulme kvalme hos kræftpatienter, der får kemoterapi.

Udviklingen af moderne psykofarmaka tog fart, efter at man havde set de psykiske bivirkninger af den indiske busk *Rauwolfia serpentina*, der blev anvendt i vesten fra 1950'erne mod for højt blodtryk.

Det blev på det tidspunkt klart, at man kunne påvirke psyken med kemiske stoffer. *Rauwolfia* indeholder alkaloidet reserpin, der fremkalder depression ved at påvirke niveauet af signalstoffer i hjernen. I Indien bruges *Rauwolfia* traditionelt til at behandle for højt blodtryk og psykiske sygdomme.

På Danmarks Farmaceutiske Højskole er der i flere år blevet arbejdet med at videreudvikle stoffer med hjerneaktivitet på basis af ibotensyre og muscimol, som er nogle af giftene i rød fluesvamp.

Omkring ti procent af befolkningen i den vestlige verden er i behandling for psykiske sygdomme, og det er sandsynligt, at andelen vil vokse fremover, fordi antallet af ældre i befolkningen stiger. Ældre mennesker rammes hyppigst af depressioner og demens. For flere af disse sygdomme er behandlingstilbuddene ikke optimale i dag.

Galantamin, et alkaloid fra en bulgarsk vintergæk, bruges i Danmark til behandling af Alzheimers sygdom. Måske er der flere planter, der indeholder hjerneaktive stoffer, som kunne anvendes medicinsk? Hvor skal vi lede efter disse planter?

Et godt bud er de planter, der bruges af medicinmænd i traditionelle kulturer forskellige steder i verden. I det sydlige Afrika, hvor sundhedssystemet er under stærkt pres fra AIDS-

epidemien, er der meget begrænsede ressourcer til behandling af psykiske sygdomme. Derfor er langt de fleste mennesker med ondt i sjælen henvist til at konsultere en traditionel healer, en medicinmand eller kvinde. Traditionelle healere benytter sig af en blanding af psykologi og medicinplanter og er generelt anerkendt for at opnå gode resultater.

Kultur og metoder

Det er nødvendigt at forstå den afrikanske kultur for at få indsigt i behandlingsmetoderne. Traditionelt er en person bare et lille led af en lang slægt, og forfædrenes ånder holder hele tiden øje med, hvad de nulevende foretager sig. De griber ind i begivenheder og gør for eksempler en person syg, hvis han eller hun overtræder sociale eller etiske normer. Derudover er det også muligt for onde hekseagtige personer (ithakathi) at kaste forbandelser på andre, gerne på bestilling og for en god betaling. Det er interessant, at ordet depression slet ikke findes på zulu. I stedet er der tale om en situation, hvor patienten ikke har æret sine forfædre nok, hvorfor de er blevet sure og straffer ham, eller også er patienten blevet udsat for en forbandelse.

Den traditionelle healer kommunikerer med ånderne - eller udnytter måske snarere sine trænedede evner til at opfatte små signaler fra patienten - og finder så ud af, hvad der er i vejen, og hvordan det skal behandles. Ofte inddrages patienten aktivt i behandlingen.

Patienten får også plantemedicin, og det er interessant fra en farmakologisk synsvinkel. Vi ved i dag meget lidt om, hvilke planter healerne benytter til behandling af psykiske sygdomme, og det er nødvendigt at opnå en sådan viden og få den dokumenteret.

Medicinplanter i Sydafrika

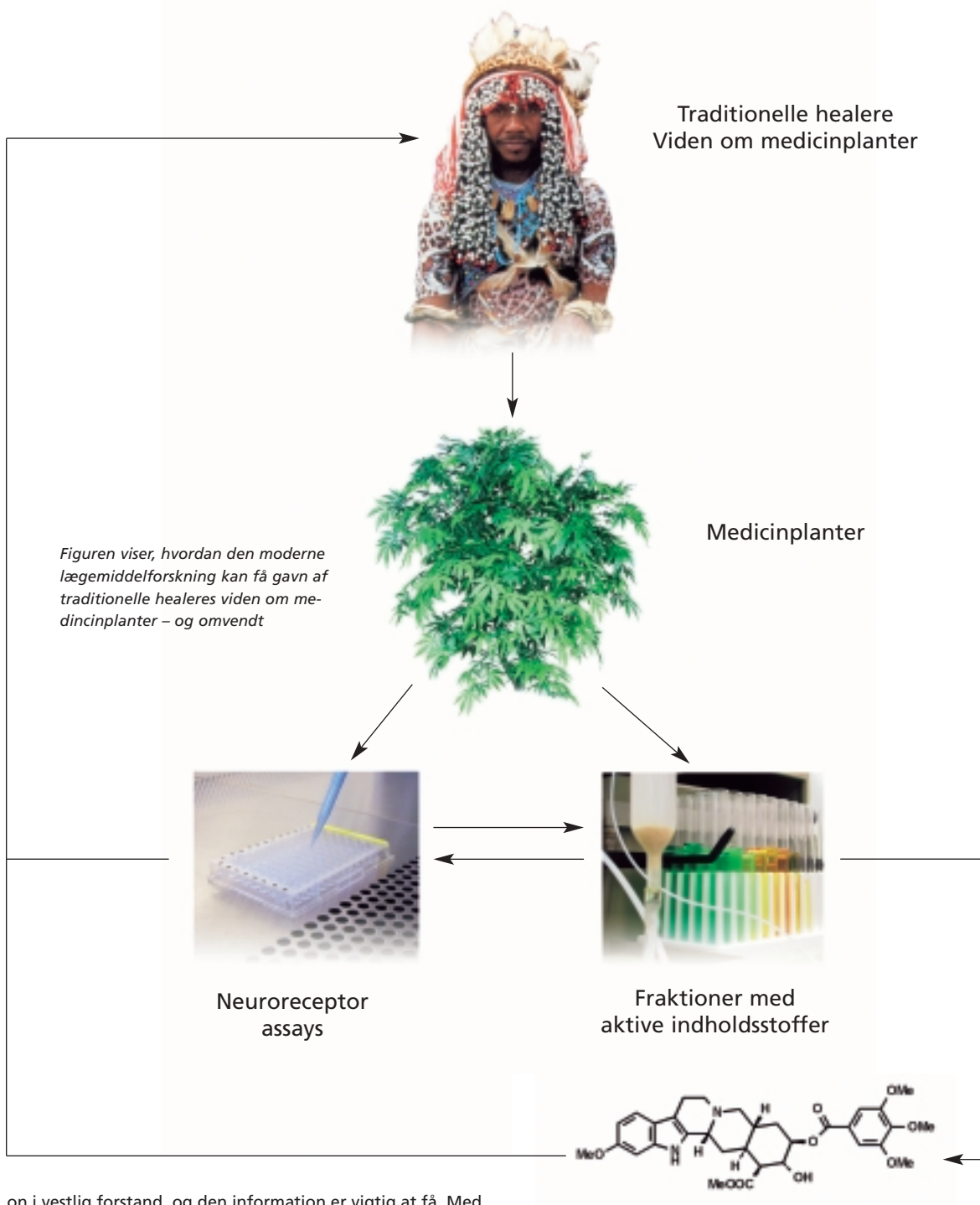
I et projekt samarbejder vi med University of Natal om at kortlægge de planter, der bruges mod mentale sygdomme i Sydafrika. I arbejdet med at indsamle information til databasen er det vigtigt at huske på den forskellige sygdomsopfattelse - det kan jo for eksempel ikke nytte noget at spørge en healer, hvad hun bruger til at behandle depression, for det er ikke en sygdom hun kender.

Men hun behandler tilstande, som falder ind under depressi-

NATURLIGE LYKKEPILLER

For nyligt blev anvendelsen af en lille sydafrikansk saftplante, *Sceletium tortuosum*, patenteret. Planten har været brugt i årtusinder af buskmænd af San-folket til at blive i bedre humør og til at dæmpe angst og stress.

Det blev fundet, at planten indeholder et alkaloid, som blokerer for optagelsen af signalstoffet serotonin i hjernen, hvilket er den samme virkningsmekanisme som i lykkepiller, der bruges mod depression.



Ph.d. Anna K. Jäger er lektor ved Institut for Medicinalkemi.



Cand.pharm. Anne Adersen er lektor ved Institut for Medicinalkemi.



Ph.d. Ulla Wagner Smitt er lektor ved Institut for Medicinalkemi.

on i vestlig forstand, og den information er vigtig at få. Med i databasen kommer også planter med "magiske" evner. En plante med en stærk psykoaktiv virkning vil sandsynligvis forekomme en traditionel befolkning at have magiske egenskaber.

På baggrund af de etnofarmakologiske data bliver planterne inddelt i grupper, som bruges til behandling af forskellige sygdomme, for derefter at blive undersøgt i laboratorieforsøg, hvor ekstrakter af planterne bliver testet for deres aktivitet på forskellige receptorer på nervecellerne i hjernen. Forsøgene udføres på homogeniserede rottehjerner fra aflivede dyr. På denne måde kan vi finde frem til de planter, der har den

bedste aktivitet, så man kan arbejde videre med netop disse planter. Ved at kombinere isoleringen og oprensningen af stoffer i planteekstrakterne med testning på hjernereceptorer kan man finde de aktive stoffer. Håbet er at finde nye stoffer, der kan bruges som ledestrukturer til at udvikle nye lægemidler.

VIDEN RETUR TIL HEALERE

Det er meget vigtigt, at den direkte information om virkningen af medicinplanterne kommer tilbage til brugerne, altså de traditionelle healere og deres patienter. Det er nødvendigt at vide både hvad der virker, og hvad der ikke virker, hvis traditionel medicin skal forbedres og effektiviseres.

Lægemediel mod prostatakræft

Med udgangspunkt i en gammel lægeplante samarbejder en gruppe ved Danmarks Farmaceutiske Højskole med Johns Hopkins Oncology Center om at udvikle et lægemiddel mod prostatakræft, der for tiden ikke kan helbredes, hvis kræften har bredt sig. I øjeblikket afprøves et meget lovende stof.

Af Søren Brøgger Christensen, Carsten Milter Jakobsen,
John T. Isaacs og Samuel R. Denmeade

Prostatakræft dræber hvert år et stort antal mænd i den vestlige verden. En typisk prostatakræftknode indeholder to celletyper. Den ene type kræftceller kan uskadeliggøres med medicin, men den anden celletype er ufølsom over for behandlingen. Disse celler vokser desuden meget langsomt, hvorfor det er svært at slå dem ihjel ved kemoterapi, idet konventionel kemoterapi udnytter, at de fleste kræftceller vokser meget hurtigt. Ny forskning på DFH og Johns Hopkins Oncology Center i USA giver imidlertid håb om, at det kan

blive muligt at uskadeliggøre de langsomt voksende kræftceller i prostatakræft.

Giftig gulerod

Det nye og lovende lægemiddel stammer fra skærmplanten *Thapsia garganica*, der vokser som ukrudt i mange middelhavslande. Planten har ikke noget dansk navn, men på arabisk kaldes den giftig gulerod. Plantens giftige egenskaber har været kendt i årtusinder. Alle-rede botanikens fader Theophrastos, som levede mellem 372 og 287 f.Kr., beskrev de hudirriterende egenskaber af plantens saft.

Til trods for den tusind-årige anvendelse af planten var det først midt i 1970'erne, at en gruppe ved Danmarks Farmaceutiske Højskole som de første isolerede de hudirriterende indholdsstoffer og opklarede deres struktur. Det dominerende stof blev kaldt thapsigargin.

Virkningsmekanismen

Biokemiske studier har vist, at thapsigargin's eneste effekt er, at det standser en pumpe, der regulerer koncentrationen af calciumioner inde i cellerne. Calciumioner har en meget vigtig funktion som regulator af en række funktioner, heriblandt udskillelse af signalstoffer.

Når thapsigargin slukker for pumpen, stiger koncentrationen af calciumioner i cellevæsken og udskillelsen af signalstoffet histamin øges, hvilket fremkalder blærer og irritation af huden. Det forklarer thapsigargin's og dermed plantens hudirriterende effekt.

På lidt længere sigt får den øgede calciumionkoncentration cellen til at begå selvmord. Alle celler er programmeret til at begå selvmord, hvis de modtager særlige signaler. Da udløsningen af selvmord er uafhængig af, hvor hurtigt cellen deler sig, er thapsigargin et stof, der kan dræbe alle celler, også de meget langsomt voksende prostatakræftceller.

Netop thapsigargin's brede virkning har indtil nu været stoffets begrænsning som lægemiddel, for hvordan kan man opnå, at thapsigargin kun slår prostatakræftceller ihjel uden at dræbe organismens øvrige celler?

En kugle med navn på

Nøglen til at målrette thapsigargin er et enzym (PSA), som prostataceller udskiller. Enzymet regulerer, hvor tykflydende sædvæsken er. Proteiner i blodet inaktiverer enzymet, så det kun er virksomt i umiddelbar nærhed af de celler, som udskiller det.

Enzymet regulerer sædvæskens egenskaber ved at spalte nogle proteiner. Disse proteiner har en meget særpræget opbygning, og kun nært beslægtede proteiner kan blive spaltet af enzymet.

Som nævnt virker thapsigargin ved at standse en pumpe, der findes inde i cellerne. Ved at knytte thapsigargin til et protein fremkommer der et stof, som er for stort til at trænge ind i en celle, og som derfor ikke har nogen effekt på raske celler. Men hvis thapsigargin bindes til et protein, der kun kan spaltes af PSA-enzymet, opnår man, at thapsigargin frigøres nær ved de celler, der udskiller PSA. Thapsigargin vil derfor udelukkende trænge ind i og fremkalde selvmord i de prostataceller, der frigør enzymet.

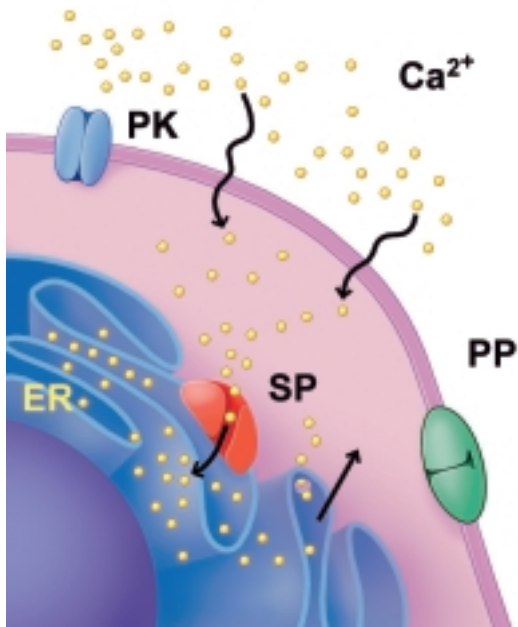
Thapsigargin's opbygning gør det imidlertid umuligt at binde et protein til molekylet. Udfordringen bestod derfor i at omdanne thapsigargin til en forbindelse, der ligesom thapsigargin kan trænge ind i cellen og fremkalde selvmord, men som også kan bindes til et ønsket protein. Det er nu lykkedes at udvikle en forbindelse med de ønskede egenskaber: Stoffet spaltes af PSA, og spaltningsproduktet trænger ind i cellerne, hvor det får cellen til at begå selvmord.

Stoffet er blevet afprøvet i dyreforsøg. Her fik nogle mus indpodet både prostatakræftceller og en anden type kræft-

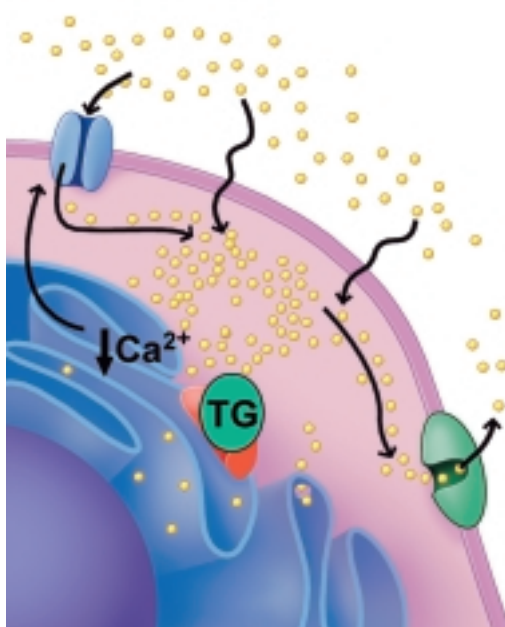
Fra plante til aktivt
indholdsstof.



A



B



A: Normalt holder SERCA-pumpen (SP) koncentrationen af calciumioner (gule prikker) lav i cellevæsken ved at pumpe ionerne ind i intracellulære calciumionlagre (ER). B: Hvis pumpen blokeres f.eks. med thapsigargin (TG), siver calciumionerne ud af lagrene. Samtidigt åbnes en kanal i cellemembranen (PK), og calciumioner strømmer ind fra væsken uden for cellen. Det medfører en usædvanligt høj koncentration i cellevæsken. En pumpe i cellemembranen (PP) forsøger at fjerne calcium-ionerne. Resultatet er en række ukontrollerede reaktioner i cellen; til sidst programmeret selvmord.

celler, der ikke frigør PSA. Derefter blev musene behandlet med den fremstillede forbindelse. Til vores store tilfredshed skete der en markant reduktion i prostatakraftkneiderne, hvorimod den anden kræftform uhæmmet voksede videre. De meget opmuntrende resultater giver god grund til at fortsætte projektet.

I skranken på apoteket?

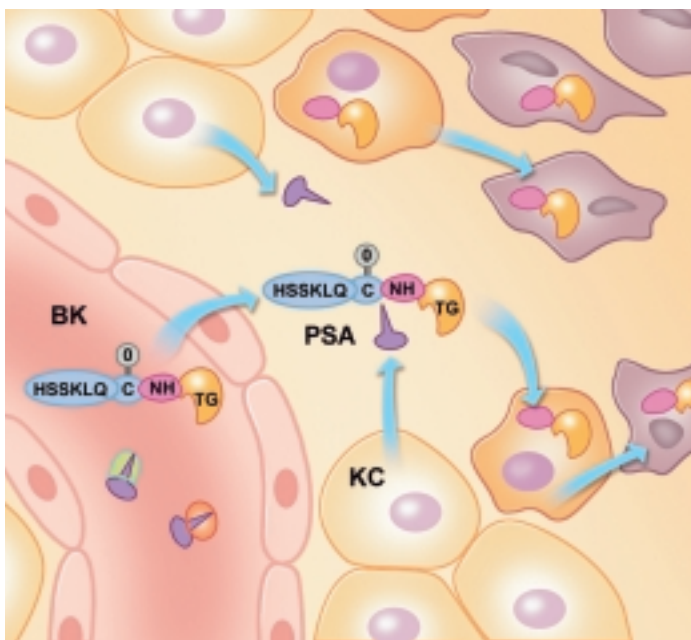
Til trods for at projektet har ført frem til meget lovende mulige lægemidler, bør det understreges, at der stadig er meget lang vej, før vi har et lægemiddel. Endnu er stoffet kun afprøvet i små mus. Selv om det også viser sig meget loven-

de i større dyr, vil den ultimative prøve være, om stoffet er virksomt i mennesker og ikke medfører alt for store bivirkninger.

Der kan være adskillige faldgruber, inden vi når så langt. Men når det er sagt, skal der ikke være tvivl om, at de meget lovende resultater i øjeblikket gør os meget optimistiske. Et meget spændende aspekt ved projektet er, at thapsigargin dræber alle celler, uanset hvor hurtigt de deler sig. Mange kræftformer har ligesom prostatakraft unikke egenskaber, der gør, at thapsigargin i princippet bør kunne målrettes mod en række forskellige kræftformer.

Prostatakraftceller udskiller PSA, andre kræftceller udskiller andre enzymer med andre egenskaber og endelig har nogle typer kræftceller særlige proteiner bundet til overfladen. Alle disse egenskaber giver spændende muligheder, som bør undersøges.

Moralen kan meget vel vise sig at være, at en tusindårig gammel viden om planter i kombination med moderne forskningsmetoder og ekspertise kan føre frem til nye lægemidler, der kan behandle sygdomme, som lægevidenskaben i dag er magtesløs overfor.



Det lovende middel mod prostatakraft er et protein, som er bundet til en variant af plantegiften thapsigargin (HSSKLQC=ONHTG). Forbindelsen spaltes af enzymet PSA i umiddelbar nærhed af de PSA-frigørende prostatakraftceller (KC), hvorefter thapsigargin (TG) trænger ind i cellerne og fremkalder selvmord. I blodbanen (BK), som ses til venstre, inaktiveres PSA. Derfor spaltes lægemiddelstoffet ikke, og thapsigargin frigives ikke i blodet.



Ph.d. Søren Brøgger Christensen er adjunkt ved Institut for Medicinalkemi.



Ph.d. Carsten Milter Jakobsen er adjunkt ved Institut for Medicinalkemi.



Ph.d. John T. Isaacs er professor ved Johns Hopkins Oncology Center, Baltimore, Maryland, USA.



Ph.d. Samuel R. Denmeade er adjunkt ved Johns Hopkins Oncology Center, Baltimore, Maryland, USA.

Peptider smugler lægemidler gennem tarmvæggen

Små proteinstumper, der ligner nedbrudt føde, kan fragte lægemiddelstoffer gennem tarmvæggen og ud i blodet. Forsøg med et antiviralt middel tegner lovende.

Af Anne Engelbrecht Thomsen, Carsten Uhd Nielsen, Birger Brodin, Mikael Begtrup, Sven Frøkjær og Bente Steffansen

Lægemedler kan indgives på mange måder; tabletter, stikpiller, cremer, injektionsvæsker og inhalationsspray. I praksis anvendes tabletter mest, og det er den form, de fleste patienter foretrækker.

Hvordan kommer det virksomme lægemiddelstof fra at ligge gemt i tabletten til at virke i kroppen? Når patienten sluger tabletten, føres den ned i maven og videre til tyndtarmen. Undervejs falder tabletten fra hinanden, og lægemiddelstoffet opløses i tarmvæsken. Fra tyndtarmen skal stoffet passere igennem tarmvæggen for nå ud i blodet, som fordeler lægemiddelstoffet videre rundt i kroppen, hvor det udøver sin virkning. Mange lægemiddelstoffer har imidlertid svært ved at trænge gennem tarmvæggen, og den dårlige passage svækker lægemidlets virkning. Et eksempel er Aciclovir, som bruges til behandling af bl.a. herpesvirus.

Når patienter indtager Aciclovir som tabletter, er det kun 15-20 procent af lægemiddelstoffet, der passerer tarmvæggen og når over i blodet. Den lille mængde lægemiddelstof, som bliver tilgængeligt i blodet, gør det svært at behandle særligt hårdføre virusstammer. Og hvis man prøver at løse problemet ved at give patienten flere tabletter, kan det ofte medføre uønskede bivirkninger.

Hvordan kan Aciclovirs passage igennem tarmvæggen for-

bedres? En mulighed er at forklæde lægemiddelstoffet som et næringsstof, et lille peptid, og udnytte kroppens naturlige optagelsesmekanisme. Cellerne i tyndtarmens væg indeholder nemlig transportører, som fragter næringsstoffer fra føden gennem tarmvæggen og ud i blodet, så kroppen kan udnytte næringen.

Transportør for peptider

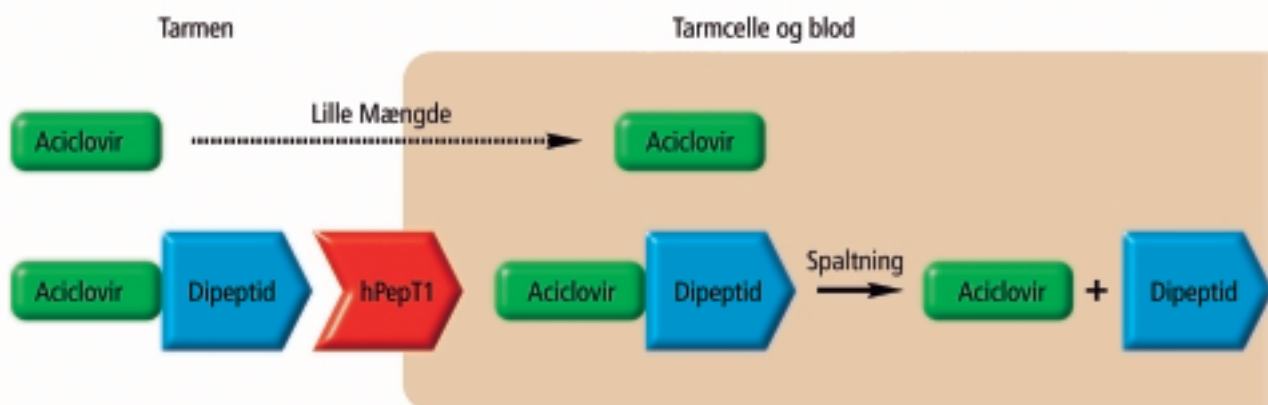
Oprindeligt mente man, at alt protein i føden først skulle nedbrydes til proteinernes byggesten, aminosyrer, for at blive transporteret gennem tarmvæggen.

Men nyere forskning har vist, at op mod halvdelen af fødens indhold af proteiner optages som kæder på to eller tre aminosyrers længde. Optagelsen sker ved hjælp af transportøren hPepT1, der sidder i tyndtarmscellernes membraner på den side af cellerne, som vender ud mod tarmen.

De små kæder kaldes for dipeptider og tripeptider. Da der fra naturens hånd findes 20 forskellige aminosyrer giver dette 400 mulige naturlige dipeptider og 8000 mulige tripeptider. Det store antal viser, at peptidtransportøren må være forholdsvis uspecifik, så den kan transportere stoffer med meget forskellige, men dog peptidlignende strukturer gennem tarmvæggen.

Det har da også vist sig, at en række lægemiddelstoffer genkendes af peptidtransportøren. Det drejer sig om forskellige former for antibiotika, visse antivirale og blodtrykssænkende midler samt kræftlægemidler, der alle genkendes og transporteres gennem tarmvæggen, fordi deres strukturer minder om små peptider.

Peptidtransportøren har således et stort potentiale for at



Kun små mængder Aciclovir passerer tarmvæggen, og derfor er det svært at bekæmpe hårdføre virus. Men når Aciclovir kobles sammen med et passende dipeptid, dannes et prodrug, som fragtes gennem tarmvæggen af peptidtransportøren hPepT1. Derpå fraspaltes Aciclovir i tarmcellen eller i blodet. På den måde øges mængden af Aciclovir i blodet.



Forsøg i laboratoriet: Celler fra cellelinien Caco-2 bruges som en model for de celler i tyndtarmen, som prodrugene skal sende lægemiddelstoffet igennem.

hjælpe lægemiddelstoffer til at passere fra tarmen og ind i tarmcellerne og videre ud i blodet. På den måde kan man øge den andel af lægemiddelstof, som når ud i blodet ved en given dosering. Opgaven for forskningen er derfor at forsøge at udnytte denne naturlige mekanisme.

Prodrugs af lægemidler

I gruppen arbejder vi med at koble lægemiddelstoffer til et dipeptid, som i forvejen genkendes og transporteres af hPepT1. Herved har man dannet et prodrug af lægemidlet. Hensigten er, at transportøren skal kunne acceptere prodrugene og hjælpe lægemiddelstoffer ind i cellen.

Vi har koblet Aciclovir til forskellige dipeptider, og to nye prodrugs er blevet undersøgt i cellekulturer.

Konceptet skal helst ikke kun virke med Aciclovir, men også med andre lægemiddelstoffer, hvis virkning er begrænset af en ringe evne til at trænge gennem tarmvæggen.

Frigivelse af lægemiddelstof

Når Aciclovir er koblet til et dipeptid, har lægemiddelstoffet ingen biologisk virkning, og derfor er det essentielt, at prodruget bliver spaltet efter optagelse i blodet, så Aciclovir bliver frigivet. Til gengæld må prodrugene ikke blive fraspaltet under opholdet i tarmen, da frit Aciclovir ikke bliver genkendt og transporteret af peptidtransportøren. Dette er lidt af en balancegang.

Vores metode går ud på at udnytte forskellen i pH mellem den øvre del af tyndtarmen og pH inde i tarmcellerne og i blodet. I den øvre del af tyndtarmen er pH svagt sur, mens den er mere neutral i tarmcellerne og blodet. Prodrugene er konstrueret således, at de er robuste og ikke frigiver Aciclovir i nævneværdig grad ved den svagt sure pH i tyndtarmen, mens de spaltes hurtigt ved den neutrale pH i tarmcellerne og i blodet.

Det vil sige, at prodrugene forbliver intakte, indtil de er hjulpet igennem tarmcellevæggen af transportøren, hvorefter Aciclovir bliver frigivet til at udøve en virkning i kroppen.

Genkendelse af transportøren

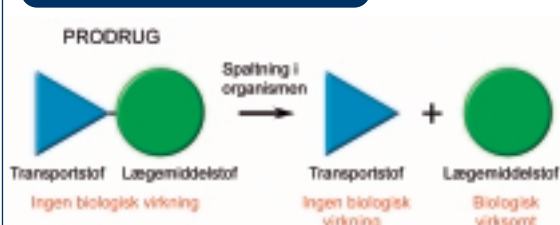
Frigivelse af Aciclovir på det rigtige sted er vigtig, men lige så væsentligt er det, at prodrugene genkendes og transporteres af transportøren.

Dette kan undersøges ved hjælp af en cellelinie (Caco-2), som oprindeligt stammer fra en patient med tyktarmskræft. Cellerne kan dyrkes i laboratoriet og har egenskaber, der minder om cellerne i tyndtarmen, og de indeholder også peptidtransportøren.

De foreløbige undersøgelser viser, at den ene af de to fremstillede prodrugs bliver genkendt af transportøren, mens den anden ikke bliver genkendt. Det prodrug, som genkendes, er baseret på et dipeptid med aminosyrerne L-glutaminsyre og sarcosin. De foreløbige resultater indikerer således, at dette prodrug vil kunne hjælpe Aciclovir igennem tarmvæggen.

Det er dog ikke tilstrækkeligt, at peptidtransportøren genkender prodrugene. Det skal også aktivt kunne transportere dem. Fremtidig forskning vil derfor være rettet mod at undersøge om transportøren rent faktisk kan transportere prodrugene gennem tarmcellerne og ud i blodet.

PRODRUG OG TRANSPORTSTOF



Prodrugs består af et lægemiddelstof, som er tilkøbt et midlertidigt transportstof. Prodrugs har ingen biologisk virkning. Prodrugs bringer lægemiddelstoffet hen til virkningsstedet i kroppen.

Her skal lægemiddelstoffet frigives, så det kan udøve sin biologiske virkning.

Transportstoffet har udspillet sin rolle. Stoffet er uskadeligt og nedbrydes i kroppen.



Cand.pharm. Anne Engelbrecht Thomsen er ph.d.-studerende ved Institut for Farmaci.



Ph.d. Carsten Uhd Nielsen er adjunkt ved Institut for Farmaci.



Ph.d. Birger Brodin er lektor ved Institut for Farmaci.



Ph.d. Mikael Begtrup er professor ved Institut for Medicinal kemi.



Ph.d. Sven Frøkjær er professor ved Institut for Farmaci.



Ph.d. Bente Steffansen er lektor ved Institut for Farmaci.

Forbedret terapi ved ændring af lægemiddelstoffets form

Medicinindustrien har et stort behov for at kunne at manipulere med lægemidlers opløselighed. I tabletter er opløseligheden ofte afgørende for lægemiddelstoffets evne til at komme ud i blodet, og i depotlægemidler bestemmer opløseligheden virkningens varighed. Rationelt design af lægemiddelstoffers opløselighed er vejen frem.

Af Helle Brøndsted, Susan Weng Larsen, Henrik Parshad, Anders Bach Nielsen og Claus Selch Larsen

Medicinindustrien fremstiller årligt et stort antal potentielle lægemiddelstoffer, som har stor effekt ved virkningsstedet. Desværre bliver mange af stofferne aldrig udviklet til lægemidler, fordi de ikke evner at nå frem til den del af kroppen, hvor de skal virke.

Problemet gælder ikke mindst for lægemiddelstoffer, som skal bruges i tabletter. Mange lovende kandidater må opgives, fordi de opløses for dårligt eller for langsomt i tarmvæsken. Det er nemlig en forudsætning for transporten fra mave-tarmkanalen over i blodbanen, at lægemiddelstoffet er opløst i tarmsaften.

Den ringe vandopløselighed skyldes ofte, at lægemiddelstofferne har en krystalstruktur, hvor molekylerne pakker sig meget tæt sammen. Derfor er tiltrækningskraften mellem molekylerne i krystallen så stor, at de kemiske bindinger mellem dem er vanskelige at bryde for vandet.

Øget vandopløselighed

Ved – på kontrolleret vis – at lave uorden i krystallen kan man opnå, at molekylerne ikke pakker så effektivt, og det fører ofte til en øget vandopløselighed. En sådan uorden i pakningsmønstret kan frembringes ved at sætte en kemisk gruppe på lægemiddelstoffet. Når vandmolekylerne er trængt ind i krystallen og har opløst lægemiddelstoffet, fraspaltes den påsatte gruppe. Mange lægemiddelstoffer indeholder en tertiær amin. Desværre er mange aminer så tungtopløselige i vand, at de ikke kan

komme ud i blodet i tilstrækkelig mængde efter indtagelse i en tablet. Anvendelsen af stofferne kompliceres yderligere af, at deres opløselighed varierer med tarmsaftens surhedsgrad, hvilket gør det svært at beregne en passende dosering. For at løse problemet har vi sat kemiske grupper på tertiære aminer, så de får en permanent ladning. På den måde har vi opnået, at lægemiddelstoffernes opløselighed er blevet mindre afhængig af surhedsgraden i tarmvæsken.

Vi undersøger nu, hvordan opløseligheden påvirkes af de påsatte grupper, samt hvor hurtigt de bliver fraspaltet i mave-tarmsaften ved hjælp af enzymer. Den tungtopløselige amin vil muligvis blive udfældet i tarmsaften som meget fine partikler, hvilket sikrer en hurtigere opløsningshastighed.

Depotlægemidler med forlænget effekt

Selv om tabletter eller kapsler er den mest bekvemme måde at indtage lægemidler på, er det i nogle sammenhænge nødvendigt at injicere lægemiddelstoffet. Dette gælder bl.a. for insulin, der anvendes til behandling af sukkersyge.

Hvis behandlingen strækker sig over en længere periode, er det ofte hensigtsmæssigt at anvende injektionspræparater med langtidsvirkning. Her indsprøjtes depotlægemidlet typisk i en muskel eller ind under huden, hvorfra det virksomme stof langsomt frigøres. Oliedepoter til injektion har været anvendt i mange år ved behandling af skizofreni og til indgift af steroidhormoner, hvor en enkelt injektion kan være virksom i op til en måned.

Hastigheden, hvormed lægemiddelstoffet frigøres fra olien, og dermed virkningens varighed hænger bl.a. sammen med stoffets opløselighed i olien. Jo mere olieopløseligt stoffet er, jo mindre villigt er det til at forlade olien, og jo længere tid går der, før depotet er tomt.

Her er det muligt at koble kemiske grupper med varierende grader af olieopløselighed til lægemiddelstoffet og på den måde styre afgiften af stoffet. Størstedelen af de klinisk anvendte oliedepoter til injektion er baseret på dette princip. I forbindelse med design af depotinjektioner af små peptid-lignende stoffer undersøger vi metoder til at øge opløseligheden af meget polære stoffer i injicerbare olier. Det sker gennem en kombination af to strategier. For det første kobles lægemiddelstoffet sammen med et fedtopløseligt stof, som medfører langsommere afgift fra olien. For det andet er

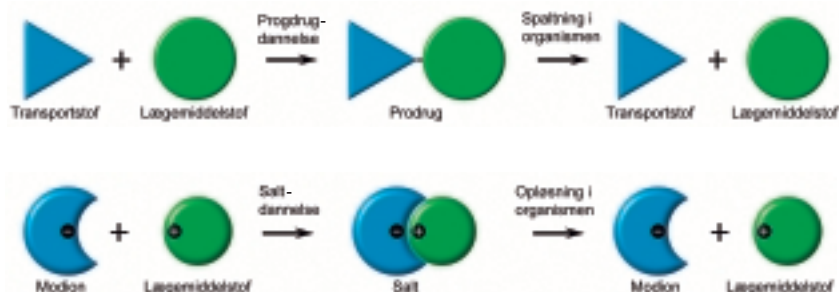
FRIGIVELSE FRA DEPOTPRÆPARATER



Vi bruger en roterende dialysecelle (billedet) til at undersøge, hvordan forskellige faktorer påvirker frigivelsen af lægemiddelstoffer fra depotpræparater.

Cellen er cylinderformet og opbygget af en dialysemembran. Depotpræparatet placeres i cellen, som derefter sænkes ned i en vandig væske og bringes i rotation. Efterhånden som lægemiddelstoffet opløses, vil det sive ud i væsken, hvori stoftilgangen måles som funktion af tiden, indtil der har indstillet sig en ligevægt.





Den øverste figur viser prodrug-princippet. En prodrug består af et lægemiddelstof og et transportstof, og det er inaktivt i sig selv. Efter indgift i organismen gendannes det virksomme lægemiddelstof ved fraspaltning af den påsatte kemiske gruppe. Den nederste figur viser princippet i saltdannelse. Her danner et positivt ladet lægemiddelstof et salt med en negativt ladet ion eller omvendt. Saltet opløses på virkningsstedet, hvorved lægemiddelstoffet frigives.



Ph.d. Helle Brøndsted er lektor ved Institut for Farmaci.



Cand.pharm. Susan Weng Larsen er ph.d.-studerende ved Institut for Farmaci.

det muligt at danne et salt mellem det modificerede lægemiddelstof, som er elektrisk ladet og et fedtopløseligt stof med modsat elektrisk ladning. Derved forventer vi, at olieopløseligheden øges yderligere.

Dét kan åbne muligheder for at anvende olie-depoter til injektion af peptider og peptidliggende stoffer. Peptider er mindre dele af proteiner, hvoraf mange har en farmakologisk virkning.

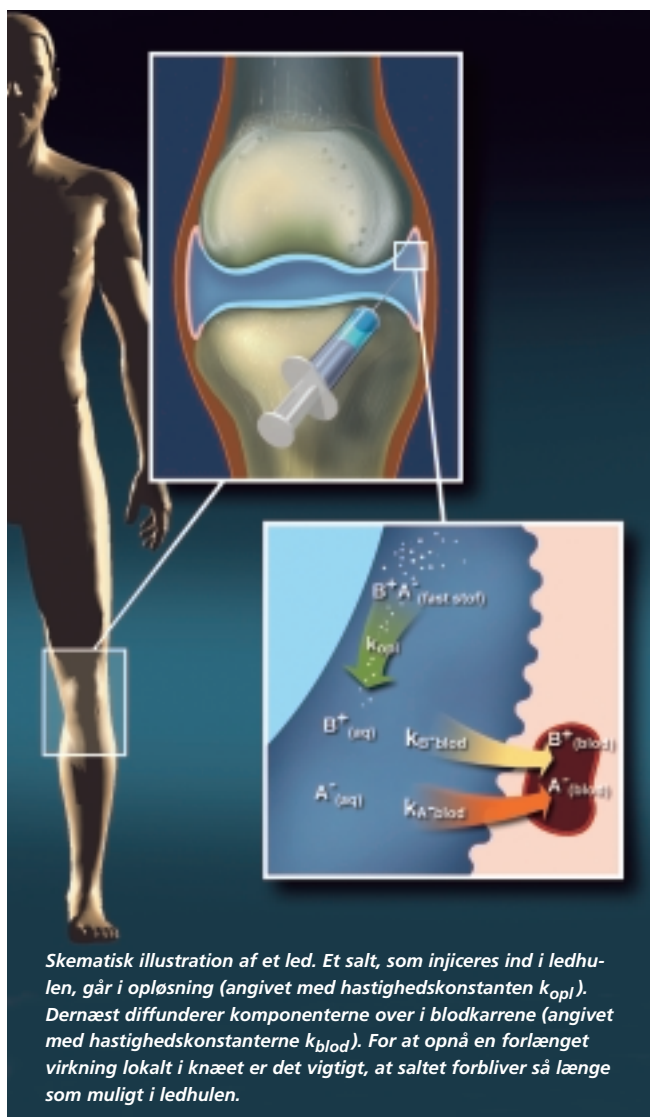
Medicin efter en ledoperation

Depoteffekt kan også opnås ved indsprøjtning af meget fine faste partikler af et lægemiddelstof opslemmet i en passende væske.

Den slags præparater omfatter bl.a. steroider, der indsprøjtes i knæled hos gigtplagede patienter for at mildne smerten ved sygdommen. Virkningens varighed er i grove træk proportional med den hastighed, hvormed steroidpartiklerne går i opløsning i ledvæsken. Som tommelfingerregel gælder, at jo tungere opløseligt et stof er, jo langsommere går det i opløsning, og jo længere virker depotlægemidlet.

Efter en ledoperation får patienten en smertebehandling, som normalt består af en indsprøjtning af et lokalbedøvelsesmiddel i ledvæsken lige efter operationen. Injektionen virker kun i 4-6 timer, og derfor skal patienten desuden i 2-3 dage tage tabletter, som indeholder store doser af et betændelseshæmmende og smertestillende lægemiddel af NSAID-typen. Store

doser er nødvendige, fordi kun en brøkdel af det indtagne stof når frem til det opererede led. Behandling med NSAID-stoffer er forbundet med bivirkninger, hvis frekvens stiger med stigende doser.



Skematisk illustration af et led. Et salt, som injiceres ind i ledhulen, går i opløsning (angivet med hastighedskonstanten k_{op}). Dernæst diffunderer komponenterne over i blodkarrene (angivet med hastighedskonstanterne k_{blod}). For at opnå en forlænget virkning lokalt i knæet er det vigtigt, at saltet forbliver så længe som muligt i ledhulen.

det fælder ud, hvorefter lægemiddelstoffet frigives på injektionsstedet. Varigheden af virkningen er primært bestemt af, hvor hurtigt saltet går i opløsning i og efterfølgende transporteres ud af ledvæsken.

Ved smertebehandling efter en ledoperation er der behov for præparater, som virker i mindst 24 timer, så patienten kan hjemsendes uden smerter - i modsætning til i dag, hvor han eller hun sendes hjem med et glas smertestillende tabletter. En yderligere fordel ved effektiv smertebehandling vil være, at patienten med det samme kan bevæge sig, hvilket fremskynder helbredelsen.

Vi har dannet salte mellem et lokalbedøvelsesmiddel og et NSAID-stof, og saltene er tungtopløselige i vand. Vi undersøger nu, om saltene kan danne grundlag for udvikling af depotlægemidler til injektion i knæledet. Hvis det lykkes, opnår man både en længerevarende virkning af lokalbedøvelsesmidlet, samt at NSAID-stoffet injiceres på virkningsstedet og derfor kun skal indgives i en relativ lille mængde.

Vi fokuserer på teknologier til frembringelse af præparater, hvor saltet er opløst i et væsvenligt organisk opløsningsmiddel. Efter injektionen bevirker kontakten med ledvæsken, at saltet



Cand.pharm. Henrik Parshad er ph.d.-studerende ved Institut for Farmaci.



Cand.pharm. Anders Bach Nielsen er ph.d.-studerende ved Institut for Farmaci.



Dr.pharm. Claus Selch Larsen er professor ved Institut for Farmaci.

Nye lægemiddelstoffer skræddersys til at passe ind i receptorproteiner

Mange lægemidler virker ved at binde sig til receptorer i kroppen, og lægemiddelstofferne skal passe ind i receptorerne som hånd i handske. Vi har bestemt flere strukturer af en af nervecellernes receptorer og på baggrund heraf syntetiseret nye potentielle lægemiddelstoffer.

Af Tommy N. Johansen, Jette S. Kastrup og Jeremy R. Greenwood

Udviklingen af et nyt lægemiddel til behandling af en given sygdom tager ofte sit udspring i kendskabet til en kemisk forbindelse, som har nogle ønskede farmakologiske egenskaber. En sådan ledestruktur er sjældent det perfekte lægemiddelstof, så medicinskemikere samarbejder normalt med farmakologer om at ændre den kemiske struktur for at fremstille beslægtede stoffer, som har en tilpas opløselighed, eller som er mere potente eller selektivt virkende.

Som inspiration i designfasen har medicinskemikerne tidligere især brugt deres erfaring, intuition og viden fra udvikling af beslægtede lægemidler.

Alligevel har det ofte været nødvendigt at syntetisere og karakterisere et stort antal stoffer for at opnå en tilstrækkelig for-

ståelse af sammenhængen mellem struktur og virkning. Denne indledende fase af udviklingsprocessen er dyr og tidskrævende. Derfor er det ønskeligt set fra lægemiddelindustriens synspunkt at gøre processen så kort som muligt, så det nye lægemiddel hurtigt kan komme på markedet.

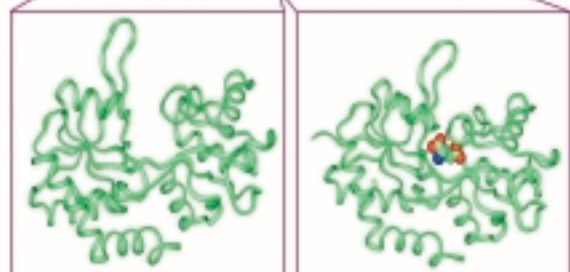
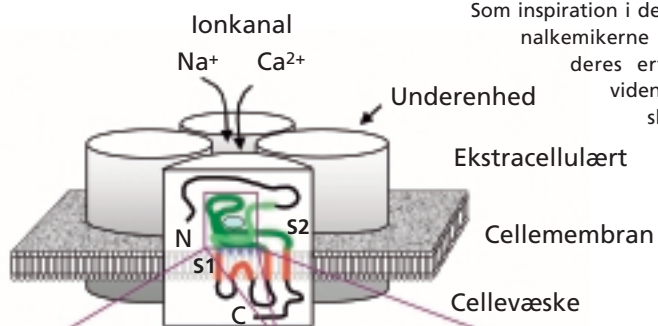
I et forsøg på at opnå et mere målrettet design af nye potentielle lægemiddelstoffer, inddrager medicinskemikerne nu i stigende grad viden om proteiners tredimensionelle strukturer. Proteiner er meget vigtige i lægemiddelsammenhæng, fordi langt de fleste lægemidler udøver deres farmakologiske effekt ved at påvirke forskellige proteiner i kroppen, såsom enzymer eller receptorer i cellemembraner. Proteiner er store molekyler og har ofte en meget kompliceret rumlig opbygning. Ved hjælp af røntgenkrystallografi kan proteinets atomare opbygning og dets tredimensionelle facon bestemmes. Metoden forudsætter, at man først danner en krystal, som består af milliarder af proteinmolekyler.

Krystallografi og computerkemi

Gennem de seneste år har den proteinkrystallografiske gruppe ved Institut for Medicinskemi opnået banebrydende resultater inden for strukturbestemmelse af nogle af de receptorer, som påvirkes af glutaminsyre; hjernens vigtigste stimulerende signalstof.

Receptorerne er proteiner, som er indbygget i nervecellernes cellemembraner, og på grund af forankringen er de meget vanskelige at krystallisere. Derfor har vi valgt kun at krystallisere den del af receptoren, der binder glutaminsyre. Det er lykkedes at bestemme flere røntgenstrukturer, hvor denne minireceptor enten er krystalliseret sammen med et stof, som stimulerer receptoren, eller med et stof, som blokerer den.

Ved hjælp af computere er det muligt for kemikere ved Institutet at placere forskellige lægemiddelstoffer i receptor-



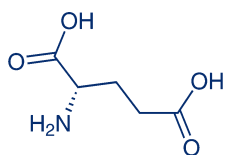
apo: ionkanal lukket

med Glu: ionkanal åben

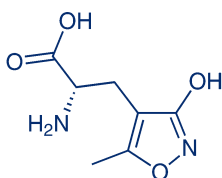
Tegningen viser en ionotrop glutaminsyre receptor, som består af fire nært beslægtede underenheder. I den forreste underenhed er proteinets formodede forankring i cellemembranen vist i rød farve. Den grønne del af receptoren forestiller den del af receptorproteinet, som binder signalstoffet glutaminsyre, og som det er lykkedes at krystallisere. Til venstre ses receptorstrukturen, når der ikke er bundet et stof til receptoren (apo), og ionkanalen derfor er lukket. Når et stimulerende stof som glutaminsyre (Glu) bindes til receptoren, sker der en konformationsændring af receptorstrukturen – proteinet sluttes tæt sammen omkring stoffet. Ændringen medfører åbning af den tilhørende ionkanal i cellemembranen, hvorved der sker en depolarisering af nervecellen. Binding af et blokerende stof til receptoren forhindrer proteinet i at ændre konformationen.

COMPUTERFORSØG REDUCERER MÆNGDEN AF MODELSTOFFER

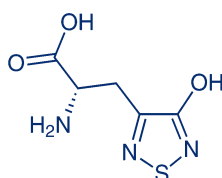
Computergrafik og computerberegninger ud fra strukturen af et receptorprotein er nyttige i forbindelse med udvælgelsen af de modelstoffer, der skal fremstilles for at opklare sammenhængen mellem struktur og virkning. Ved omhyggelig udvælgelse af relevante forbindelser reduceres det antal stoffer, der er behov for at syntetisere.



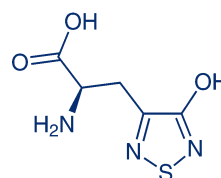
Glu



AMPA



(S)-TDPA



(R)-TDPA

Stoffer med stigende grad af selektivitet: Glutaminsyre stimulerer alle typer af glutaminsyre-receptorer. AMPA stimulerer selektivt den gruppe af glutaminsyre-receptorer, der kaldes AMPA-receptorer. (S)- og (R)-TDPA vil sandsynligvis kunne videreudvikles til stoffer, som selektivt stimulerer bestemte undertyper af AMPA-receptorer.

strukturen. Så justeres lægemiddelstoffets tredimensionelle facon og dets rumlige placering, indtil det nye stof passer bedst muligt ind i receptoren.

Derefter kan man identificere vekselvirkningerne mellem receptoren og lægemiddelstoffet. Et stort antal positive vekselvirkninger, som for eksempel brintbindinger og saltbroer, er nødvendige for en kraftig binding til receptoren, mens negative vekselvirkninger, som en for stor afstand mellem stoffet og receptoren, betyder, at forbindelsen kun forventes at binde svagt til receptoren.

Selektivitet på molekylært plan

Røntgenstrukturerne kombineres med computerkemiske studier, og det har på det seneste skabt en væsentligt bedre forståelse af den observerede farmakologiske aktivitet af nogle af de stoffer, der er syntetiseret ved Institut for Medicinalkemi.

Fleere sygdomme i hjernen vil muligvis kunne behandles med lægemiddelstoffer, som selektivt stimulerer eller blokerer bestemte undertyper af receptorer for glutaminsyre. På den baggrund har kemikere ved Instituttet taget udgangspunkt i strukturen af glutaminsyre og erstattet en syregruppe i den ene ende af molekylet med en særlig femledet ring.

Et resultat er forbindelsen TDPA, som findes i to spejlbilledformer, der kemisk set er ens, men rumligt set er forskellige på samme måde som højre og venstre hånd. Vi har fremstillet begge spejlbilledformer, som kaldes (S)- og (R)-TDPA, og fundet, at de begge stimulerer receptorer for glutaminsyre. Men i modsætning til glutaminsyre, der aktiverer alle typer af glutaminsyre-receptorer, stimulerer (S)- og (R)-TDPA udelukkende

den gruppe af receptorer, der kaldes AMPA-receptorer. Det er ikke svært at forestille sig, at (S)-TDPA og glutaminsyre besidder beslægtede farmakologiske aktiviteter, fordi begge forbindelser har den samme rumlige opbygning omkring aminosyre-redelen. Derimod var det ikke umiddelbart muligt at komme med en forklaring på, at (R)-TDPA, der har den modsatte rumlige orientering af aminosyre-redelen, besidder en lignende aktivitet. Tidligere studier har vist, at AMPA-receptorerne normalt ikke aktiveres af kemiske forbindelser, der har samme rumlige facon omkring aminosyre-redelen som (R)-TDPA, og det er ikke set før, at to spejlbilledformer er lige potente.

Her har computerkemiske beregninger vist, at (R)-TDPA på trods af sin opbygning med lethed kan antage en rumlig facon, der passer godt ind i receptorproteinet.

Mere selektive stoffer

En sammenligning af den forventede bindingsmåde for (R)- og (S)-TDPA har vist, at (R)-TDPA tilsyneladende har bedre mulighed for at indgå i tætte brintbindinger med receptorproteinet i et bestemt område af bindingslommen, som indeholder aminosyren tyrosin. Denne aminosyre er særlig interessant, fordi den kun findes i to ud af fire undertyper af AMPA-receptoren, hvorimod den i de resterende undertyper er erstattet med den beslægtede aminosyre phenylalanin, som ikke har de samme brintbindende egenskaber. Forskellen betyder, at (R)-TDPA må forventes at binde bedre til de to undertyper, der indeholder denne tyrosin, end til de to andre. Ved at designe forbindelser, der danner stærke brintbindinger til eksempelvis tyrosin, skulle det være muligt målrettet at udvikle endnu mere selektivt virkende lægemiddelstoffer.



Ph.d. Tommy Nørskov Johansen er lektor ved Institut for Medicinalkemi.



Ph.d. Jette Sandholm Kastrup er lektor ved Institut for Medicinalkemi.



Ph.d. Jeremy R. Greenwood er adjunkt ved Institut for Medicinalkemi.

RØNTGENKRISTALLOGRAFI VISER PROTEINERS STRUKTUR

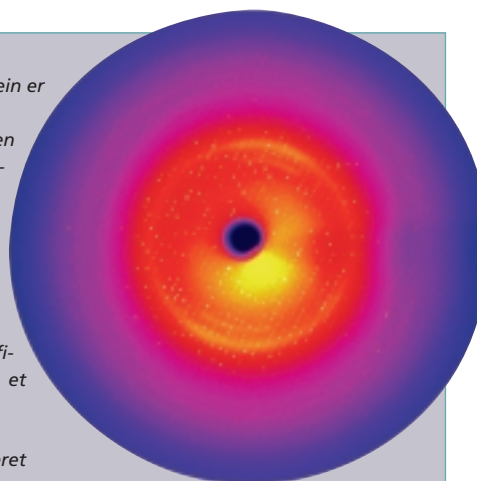
Røntgenkrystallografi er en meget vigtig metode til at opklare, hvordan et protein er opbygget atom for atom i tre dimensioner.

Inden eksperimentet skal der fremstilles krystaller af proteinet, hvilket ofte er en meget vanskelig opgave. Så sendes en kraftig røntgenstråle gennem proteinkrystallen. Strålen spredes nu af atomernes elektroner i krystallen og danner et spredningsmønster, der viser atomernes art og placering i proteinet.

Røntgenkrystallografien giver medicinalkemikeren yderst relevante informationer, men der er stadig tale om en model af den virkelige verden. I kroppen bevæger proteiner sig, når de vekselvirker med signalstoffer eller lægemidler, hvorimod røntgenkrystallografien giver statiske billeder.

Begrænsningerne kan være kritiske, men ved at kombinere røntgenkrystallografien med computerberegninger og andre teknikker er det muligt at danne sig et mere dynamisk billede af proteinet.

Til højre ses et spredningsmønster af minireceptoren for glutaminsyre krystalliseret sammen med et stimulerende stof. Ud fra spredningsmønstret er det lykkedes at beregne receptorens tredimensionelle struktur.



Krystallografi i farmaceutisk tjeneste

I jagten på nye og bedre lægemidler fremstilles et meget stort antal stoffer. Det vil være yderst værdifuldt at kunne forudsige stoffernes egenskaber - allerede mens de endnu er på tegnebrættet. For at det kan lykkes, er der behov for eksperimentelle data om lægemiddelstoffers og hjælpestoffers krystalstrukturer.

Af Karla Frydenvang

Mange lægemiddelstoffer og hjælpestoffer, som anvendes i medicinindustrien, er krystallinske. Krystaller er opbygget af milliarder af molekyler eller atomer, som har arrangeret sig i et systematisk mønster, der gentages i alle tre dimensioner i det "uendelige".

Netop krystallers regelmæssige opbygning gør det muligt at opklare et lægemiddelstofs tredimensionelle struktur ved hjælp af røntgenstråling. Når en intens røntgenstråle sendes gennem en krystal af stoffet, spredes strålen af atomernes elektronskyer og danner et spredningsmønster.

Spredningsmønsteret er ikke direkte forståeligt, men ved hjælp af beregninger kan mønsteret omdannes til et billede af elektrontætheden i krystallen, som igen kan omsættes til

entydige oplysninger om molekylets atomare opbygning, dets tredimensionelle facon, og hvordan molekylerne i krystallen er placeret i forhold til hinanden. Oplysningerne er vigtige for flere faser af lægemiddelforskningen.

Røntgenkrystallografiske undersøgelser kan skaffe viden om både små molekyler som lægemiddelstoffer og store molekyler, som de proteiner lægemiddelstofferne typisk påvirker i kroppen. Vi studerer små molekyler og gennem undersøgelserne opnås information, som giver øget forståelse af vekselvirkninger mellem små og store molekyler.

Spejlbilledformer

Mange biologisk aktive forbindelser er chirale. Det vil sige, at de er forskellige fra deres

spejlbillede. De to spejlbilledformer er kemisk ens, men rumligt forskellige som højre og venstre hånd.

I naturen findes oftest kun den ene spejlbilledform, f.eks. aminosyrer og dermed proteiner, mens kemisk syntese af nye aktive forbindelser kan give en blanding af de to former.

Ofte er det kun den ene af to spejlbilledformer, som udviser biologisk aktivitet. I andre tilfælde udøver den ene form lægemiddelstoffets virkning, mens den anden form medfører bivirkninger. Ved design af nye mulige lægemiddelstoffer er det derfor vigtigt, at man kender den præcise rumlige opbygning af den spejlbilledform, som har den ønskede virkning.

Røntgenkrystallografiske metoder spiller en central rolle ved fastlæggelse af spejlbilledformernes tredimensionelle strukturer (stereokemi).

Faste stoffer

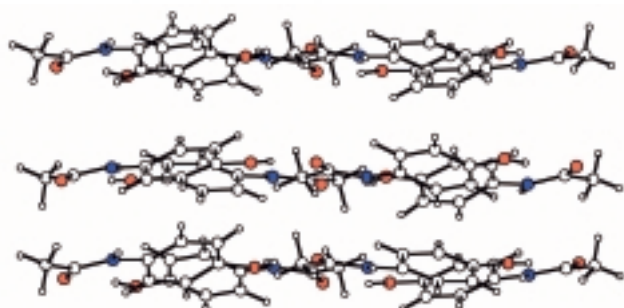
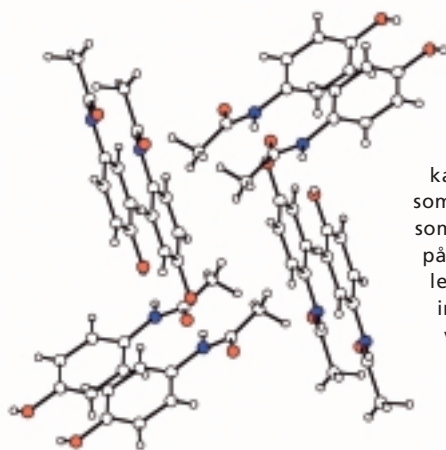
Mens metoder til fastlæggelse af molekylers tredimensionelle struktur, og herunder bestemmelse af spejlbilledformers stereokemi, er veletablerede, er der endnu ingen sikre veje til forståelse af faste stoffers mange andre egenskaber. Der er et stort behov for at forstå og ultimativt forudsige faste stoffers egenskaber, da denne viden vil have meget stor praktisk værdi i lægemiddelproduktionen.

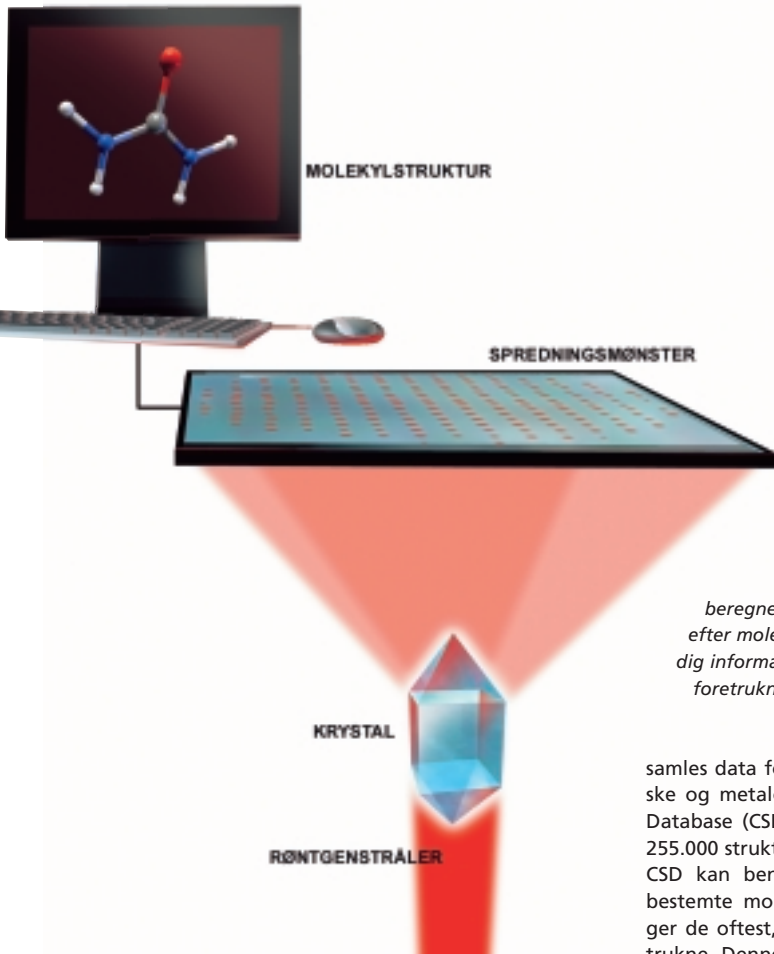
Mange af de hjælpestoffer og lægemiddelstoffer, som anvendes i den farmaceutiske industri, er faste krystallinske stoffer. Krystallernes egenskaber, størrelse og form er vigtige faktorer i en lang række processer ved fremstilling af lægemidler såsom filtrering, granulering og komprimering.

Krystalpakningen er et kompromis mellem mange faktorer, f.eks. molekylernes elektronfordeling, deres konformation og fleksibilitet og deres vekselvirkninger med nabomolekylerne. Molekylerne i krystallen antager ikke nødvendigvis den energimæssigt mest favorable konformation, men det er den konformation, som under de givne betingelser resulterer i den mest favorable krystalpakning.

Når man ændrer krystallisationsbetingelserne f.eks. ved anvendelse af nye opløsningsmidler, ændret temperatur eller tryk, kan det undertiden bevirke, at der dannes en krystal med et nyt tredimensionelt mønster. Også urenheder kan påvirke krystallisationen og resultere i ændret krystallisation, og dette udnyttes undertiden.

Molekyler af det smertestillende lægemiddelstof paracetamol findes i mindst to forskellige krystalformer. Den øverste form er elastisk. Der er ikke nogle oplagte planer i krystallen, hvor molekylerne kan forskydes i forhold til hinanden. Resultatet er, at krystallen opfører sig som en fjeder. De elastiske egenskaber giver problemer ved komprimering af tabletter, og derfor må man benytte hjælpestoffer for at stabilisere tabletterne. Nederst ses en anden mere plastisk og mindre stabil krystalform af paracetamol, hvor molekylerne findes i lag. Under komprimering vil der kunne ske forskydninger mellem lagene i krystalpakningen, og denne krystalform kan komprimeres direkte.





Når en krystal bestråles med røntgenstråler, opstår et spredningsmønster, som opsamles af en detektor. Baseret på spredningsmønstret kan man beregne et billede af elektrontætheden i krystallen, hvorefter molekylets atomer kan placeres. Resultatet giver entydig information om molekylets opbygning, dets facon og om foretrukne kontakter til nabomolekyler i krystalpakningen.

Krystalpakning

Som et eksempel kan det nævnes, at det meget anvendte smertestillende lægemiddelstof paracetamol findes i mindst to krystalformer. Den mest stabile form af paracetamol har elastiske egenskaber, som giver problemer ved komprimering af tabletter. Ved fremstillingen må der derfor anvendes hjælpestoffer for at stabilisere tabletten. De elastiske egenskaber hænger sammen med molekylernes indbyrdes kontakter i krystallen. Paracetamol findes også som en mindre stabil form. Her er krystalpakningen mere lagdelt, og det giver mere plastiske egenskaber, hvorved paracetamol kan komprimeres direkte uden brug af hjælpestoffer. Men desværre er det vanskeligt at opnå denne form ved udkrystallisation fra en opløsning, da den er mindre stabil. Af den grund er den elastiske form af paracetamol blevet anvendt i tabletter.

Forskellige krystalpakninger af et stof medfører altså forskellige egenskaber. Det gælder også for opløseligheden, som er vigtig for biotilgængeligheden af et lægemiddelstof. Denne problemstilling er meget vigtig i farmaceutisk sammenhæng, fordi lægemiddelstoffer skal opløses, f.eks. i mave-tarmsaften, for at komme ud i blodet.

Øget forståelse af et stofs opløselighed kan man opnå ved at se på vekselvirkninger mellem krystallens overflade og det anvendte opløsningsmiddel. Et eksempel er vekselvirkningen mellem vand og overfladen på en krystal af urinstof. Her konkurrerer vandmolekylerne mod kontakterne mellem urinstofmolekyler i krystalpakningen. Kontakterne i pakningen skal brydes, og nye kontakter til vandet skal etableres for at opnå, at urinstoffet går i opløsning.

Simuleringer benyttes oftest til at illustrere forskelle i vekselvirkninger på krystaloverfladerne på forskellige krystalformer af samme stof. Metoderne er endnu under udvikling, og der arbejdes ihærdigt på en bedre håndtering af de intermolekylære vekselvirkninger, som observeres i krystaller.

Databaser

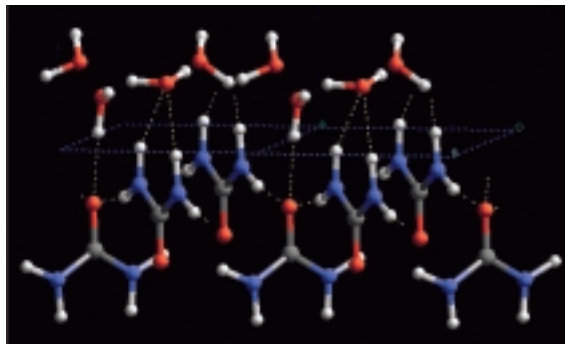
Den store mængde af kendte strukturer er et vigtigt arbejdsredskab for øget forståelse af faste stoffers egenskaber. I dag

samles data for alle publicerede krystalstrukturer af organiske og metalorganiske forbindelser i Cambridge Structural Database (CSD). Databasen indeholdt i april 2002 omkring 255.000 strukturer - et tal der årligt vokser med ca. 20.000. CSD kan benyttes som kilde for systematiske studier af bestemte molekylfragmenter; hvilke konformationer antager de oftest, og hvilke kontakter til omgivelserne er foretrukne. Denne type af oplysninger har stor betydning både ved undersøgelser af materialeegenskaber og ved design af nye forbindelser, når man f.eks. kender det sted på receptoren, som lægemiddelstoffet skal vekselvirke med.

Forudsigelser

Som led i lægemiddelforskning fremstilles et meget stort antal forbindelser. Det ville være yderst værdifuldt, såfremt man var i stand til at forudsige disse forbindelsers egenskaber allerede mens de var på tegnebrættet. Men man kan endnu ikke forudsige krystalstrukturer. Fremtrædende forskere sagde for ti år siden: "Det er umuligt". Nogle siger nu: "Det bliver måske muligt".

Mangfoldigheden af kendte strukturer har imidlertid gjort det åbenlyst, at der er visse hovedregler, som molekylene følger, selv om de ofte gør noget andet.



Vekselvirkningen mellem vand og overfladen af et krystallinsk lægemiddelstof er afgørende for, om stoffet kan blive opløst i vandige medier. Figuren viser vekselvirkningen mellem vand og overfladen af krystallinsk urinstof. Baseret på røntgenstrukturen af urinstof simuleres vekselvirkningen mellem vand og urinstof. Resultatet er et mål for den energi, som er nødvendig for, at krystallen kan opløses i vandet. Jo højere energi, jo lavere forventes opløseligheden at være.



Ph.d. Karla Frydenvang er lektor ved Institut for Medicinalkemi.

Billedet viser fusion af museceller, som er forårsaget af en muteret retrovirus. Cellerne vokser i et jævnt lag og deres kerner er farvet blå. Fusionen ses umiddelbart til venstre. Her er kernerne samlet tæt på hinanden i det sammensmeltede område.

Virusproteiner kan målrette lægemidler

Proteiner fra overfladen af virus kan sørge for, at lægemidler kun indføres i de ønskede celler. Samtidig kan overfladeproteiner fra virus målrette genterapi, så de nye gener kun indsættes i bestemte organer i kroppen.

Af Klaus Bahl Andersen, Anne Zedeler, Jes Hunsballe og Rasmus Kriegel

Virus er mestre i at inficere celler og er årsag til mange sygdomme, som det er uhyre svært at helbrede – et eksempel er AIDS. Men virus unikke evner kan også udnyttes til at målrette lægemidler, så de kun kommer ind i de celler, hvor lægemidlet skal virke. Samtidig bruges virus i genterapi til at indføre gener i kroppen.

I alle tilfælde er det vigtigt at opklare, hvordan virus inficerer celler, og her spiller proteiner på overfladen af viruspartiklerne en central rolle. Proteinerne sørger nemlig for, at virus kommer ind i cellerne.

Vi udfører forsøg med en virus, der fremkalder leukæmi hos mus. Målet er at aflure, hvordan overfladeproteinerne arbejder i retrovirus. Det er en vigtig gruppe virus, som bl.a. omfatter HIV.

Musevirusen trænger ind i celler ved hjælp af ét enkelt overfladeprotein. Proteinet går tværs gennem virusmembranen; det har en ydre del, som stikker ud fra viruspartiklen, en del, som sidder inde i membranen, og en del, som går ind i viruspartiklens indre. Proteinet kløves under dannelsen af viruspartiklen.

Infektion af celler

Når en ny celle inficeres, binder en del af proteinet viruspartiklen til cellemembranen, mens en anden del sørger for, at viruspartiklens membran smelter sammen med cellemembranen, så virus kommer ind i cellen.

Inde i cellen anbringer retrovirus sine gener i cellens egne arveanlæg. Så sørger cellen for, at nye viruspartikler masseproduceres. Musevirusen indeholder generne (i form af RNA), to overfladeproteiner, fire indre proteiner, et par enzymer og en membran. De enkelte byggeklodser produceres hver for sig, snittes til og samles til sidst til nye viruspartikler. Overfladeproteinet fremstilles i cellens indre membraner. Herefter transporteres proteinet til celleoverfladen, men undervejs kløves proteinet i to dele: Bindingsdelen og fusionsdelen. De to dele holdes dog stadig sammen af kemiske bindinger.

Overfladeproteinet går gennem cellemembranen, så størstedelen stikker ud, mens en mindre del stadig rækker ind i cellen. Derpå samles nyslåede kopier af virus arveanlæg plus de øvrige virusproteiner på indersiden af membranen. Cellemembranen danner så en beholder omkring virus, og til sidst afsnøres beholderen – en ny viruspartikel er dannet.

I den færdige viruspartikel tjener bindingsdelen af overfladeproteinet til at koble sig på en ny værtscelle, og fusionsdelen får virusmembranen og cellemembranen til at smelte sammen, så viruspartiklen kan trænge ind i værtscellen.

Lille stump med stor effekt

Fusionsdelen af overfladeproteinet har en "fjedermekanisme", som bringer virusmembranen og cellemembran så tæt på hinanden, at de smelter sammen.

Mekanismen kan først udløses, når viruspartiklen er færdigdannet. Hvis det skete tidligere, ville fusionsdelen få værtscellen til at smelte sammen med nabocellen allerede ved proteinets ankomst til celleoverfladen.

I den musevirus vi arbejder med, er fusionsdelen af overfladeproteinet beskyttet, indtil den nye viruspartikel er fiks og færdig og forlader cellen. Det er den stump af proteinets fusionsdel, der stikker ind i cellen, som beskytter mod for tidlig membransammensmeltning. Stumpen, der kløves af i de afsluttende faser af virusmodningen, kaldes for R-peptidet.

I mutanter, hvor kløvningen ikke sker, kan viruspartiklerne ikke inficere nye celler, mens mutanter, der helt mangler stumpen, får mange celler til at smelte sammen. Faktisk er der andre virus, som spreder sig på den måde; det gælder bl.a. nogle HIV-stammer og RS-virus, som inficerer luftvejene hos børn.

LÆGEMIDLER I LIPOSOMER

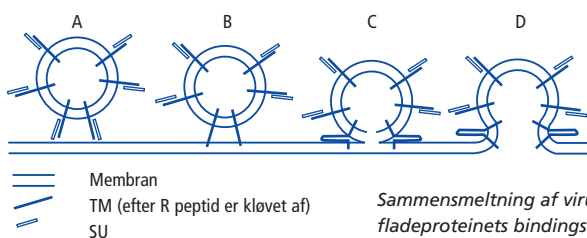
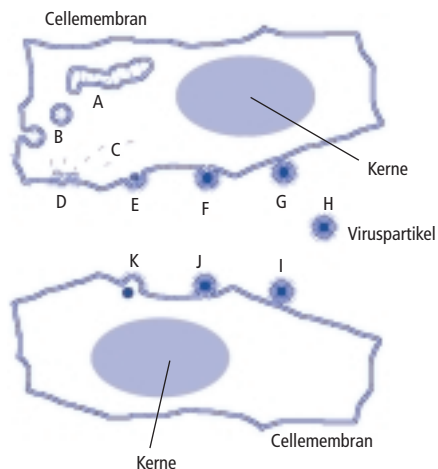
Lægemidler, som er indesluttet i liposomer, anvendes i flere former for eksperimentel kræftbehandling. Nogle få lægemidler er markedsført, bl.a. medicin til behandling af kræft hos AIDS-patienter samt til behandling af kræft i æggestokkene hos kvinder.

R-peptidet er opbygget af 14-21 aminosyrer, og vi arbejder med at undersøge, hvilken rolle typen og rækkefølgen af peptidets aminosyrer spiller i museleukæmivirussen (MoMLV). Sammenligninger med andre retrovirus, som inficerer mus, har vist, at de ti aminosyrer, der er nærmest membranen, ikke varierer meget, og det tyder på, at de er vigtige for funktionen. Derimod varierer de yderste aminosyrer meget, og det antyder, at deres funktion er mindre væsentlig.

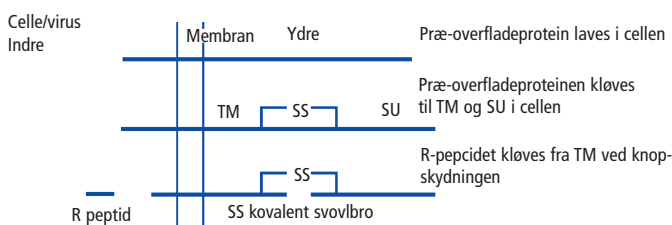
Hvordan virker stumpen?

Hvordan kan frakløvning af proteinstumpen kontrollere aktiviteten af fusionsdelen af proteinet? Vi har tidligere fundet, at en fedtsyre, som er bundet til R-peptidet, muligvis kan fastlåse fusionsdelen i membranen, så fjedermekanismen

Membranomspundne virus trænger ind i celler ved hjælp af proteiner på overfladen. Øverst ses en inficeret celle. Byggestenene til nye viruspartikler dannes i cellen og forenes ved cellens membran (A-D). Derpå omsluttes de af cellemembranen og bliver afsnøret som færdige viruspartikler (E-H). Nederst inficerer virus en ny celle. Her får overfladeproteiner virusmembranen og cellemembranen til at smelte sammen. På den måde kommer virus ind i cellen (I-K).



Sammensmeltning af virusmembranen og cellemembranen: Først binder overfladeproteinets bindingsdel (SU) sig til en receptor på overfladen af cellemembranen (A). Så går fusionsdelen (TM) ind i membranen på værtscellen (B) og trækker virusmembranen og cellemembranen sammen (C). Derpå smelter de to membraner sammen (D).



På vejen ud af cellen kløves overfladeproteinet: Først fremstilles et forstadium af overfladeproteinet, som går gennem cellemembranen. Derefter kløves præproteinet i bindingsdelen (SU) og fusionsdelen (TM). Når den nye viruspartikel er færdig, fraspaltes en stump af proteinet, R-peptidet, inden afsnøringen. Først da kan fusionsdelen i det færdige protein aktiveres.

ikke aktiveres. For at undersøge denne mekanisme konstruerer vi mutanter af virus med ændringer i de ti vigtige aminosyrer.

Vi har bl.a. sat fokus på mutationer, hvor dele af R-peptidet mangler. Vi har fjernet 2-3 aminosyrer på forskellige steder, og det hæmmer infektionen. Når man fjerner 7 aminosyrer – fra nr. 3 til 10 – giver mutanterne cellesammensmeltning, og de virusinficerede celler går til grunde. Forsøget viser, at området er kritisk for viruspartiklen.

I samarbejde med Århus Universitet arbejder vi med et system, der automatisk udvælger de mutationer, der er infektiøse. På den måde kan vi finde ud af, hvilke variationer i de ti aminosyrer virus kan leve med.

Systemet benytter sig af såkaldte minivirus. Minivirus er skabt i laboratoriet, og indeholder kun det gen, der koder for overfladeproteinet, samt et gen så inficerede celler kan modstå et giftstof. De er ikke i sig selv infektiøse, men kan reproducere sig i celler, som har fået overført de øvrige virusgener. I genet, der koder for overfladeproteinet, indfører vi mutationer i den del, som koder for R-peptidet. Når minivirus dernæst reproducerer sig i nærvær af giften, er det kun de mutationer, der kan inficere celler, som giver cellerne mulighed for at overleve. Mutanternes biologiske egenskaber kan derefter undersøges.

Medicinsk anvendelse

Forskningen kan bane vejen for at udnytte overfladeproteiner fra virus til målretning af lægemidler. Man kan f.eks. fylde en lille, blære af fedtstoffer – et liposom – med et lægemiddel, som skal ind i bestemte celler. Liposomet forsynes med proteiner, der virker som virusoverfladeproteiner. Et protein, som svarer til bindingsdelen binder til netop de celler, hvor lægemidlet skal virke, og et protein, der virker som fusionsdelen, giver membransammensmeltning, så liposomets indhold leveres ind i cellen.

En anden anvendelse er i genterapi, hvor man ofte benytter retrovirus som genfærger. Genfærgerne fremstilles typisk ved at erstatte gener i retrovirus med de ønskede gener. Hvis genterapien skal målrettes til et bestemt væv, kan bindingsdelen af overfladeproteinet ændres, så det netop binder her.

VIRUS OG GENTERAPI

Virus er den mest anvendte genfærge i forsøg med genterapi på mennesker. Eksperimenterne omfatter bl.a. behandling af mange kræftformer, AIDS, SCID (boblebørn), cystisk fibrose og blødersygdomme.



Ph.d. Klaus Bahl Andersen er lektor ved Institut for Farmakologi.



Cand.scient Anne Zedeler er ph.d.-studerende ved Institut for Farmakologi.



Cand.pharm. Jes Hunsballe har netop afsluttet sit speciale ved Institut for Farmakologi.



Cand.pharm. Rasmus Kriegel har netop afsluttet sit speciale ved Institut for Farmakologi.

Inhalation af antibiotika hos patienter i respirator

Infektioner i luftvejene er hyppige hos patienter i respirator – et eksempel er lungebetændelse. Alvorlige infektioner behandles med en kombination af injektioner og indånding af antibiotika via respiratoren. Inhalation reducerer bivirkningerne.

Af Kenneth Manby Pedersen, Lars Heslet, Vagn Neerup Handlos og Henning G. Kristensen

Mellem 20 og 40 procent af alle patienter, der er tilsluttet respirator, får lungebetændelse. Langt de fleste af infektionerne kan behandles med en injektion af et antibiotikum, men hos patienter med lungebetændelse forårsaget af bakterier som *Pseudomonas aeruginosa* er man nødt til at bruge to angrebepunkter i behandlingen.

Udover indsprøjtningen inhalerer patienten et andet antibiotikum, f.eks. tobramycin. De inficerende bakterier findes i slimen i lungerne, og ved injektion alene er det nødvendigt med en høj dosis for at sikre en tilstrækkelig koncentration af lægemiddelstof i lungerne, fordi aminoglykosider som tobramycin trænger dårligt igennem til lungevævet. De høje koncentrationer af tobramycin i blodet er forbundet med alvorlige bivirkninger, specielt i form af nedsat nyrefunktion.

De høje koncentrationer af tobramycin i blodet er forbundet med alvorlige bivirkninger, specielt i form af nedsat nyrefunktion.

Ved inhalation undgås de giftvirkninger i kroppen, som ville opstå, hvis stoffet blev injiceret. Fordelen ved

den direkte vej til lungerne er, at man opnår meget høje koncentrationer af antibiotika i lungerne og dermed høj antibakteriel effekt - uden bivirkninger i resten af kroppen.

Ind via respiratoren

Det er baggrunden for et forskningsprojekt, der udføres i et samarbejde med Abdominalcentrets Intensiv Terapiklinik og HS Apoteket, begge ved Rigshospitalet, og Institut for Farmaci ved Danmarks Farmaceutiske Højskole. Projektet omhandler formulering af antibiotika til inhalation via en respirator.

En respirator virker ved at presse luft ned i patientens lunger via et rør, og respiratoren styrer patientens indånding og udånding gennem periodiske ændringer af luftstrømmen. I respiratoren er der indbygget et aggregat, som forstøver den vandige lægemiddelopløsning ud i det rørsystem, der fører indåndingsluften frem til patientens luftveje.

For at opnå den optimale effekt skal det forstøvede lægemiddel nå ud i de fineste forgreninger i lungerne sammen med indåndingsluften. Dette kræver, at dråbestørrelsen er mellem 1 og 5 mikrometer og gerne mindre end 3 mikrometer. Større dråber vil blive opfanget i respiratorens slangesystem, og mindre dråber vil blive ført ud igen med udåndingsluften.

Forstøvning af lægemidler

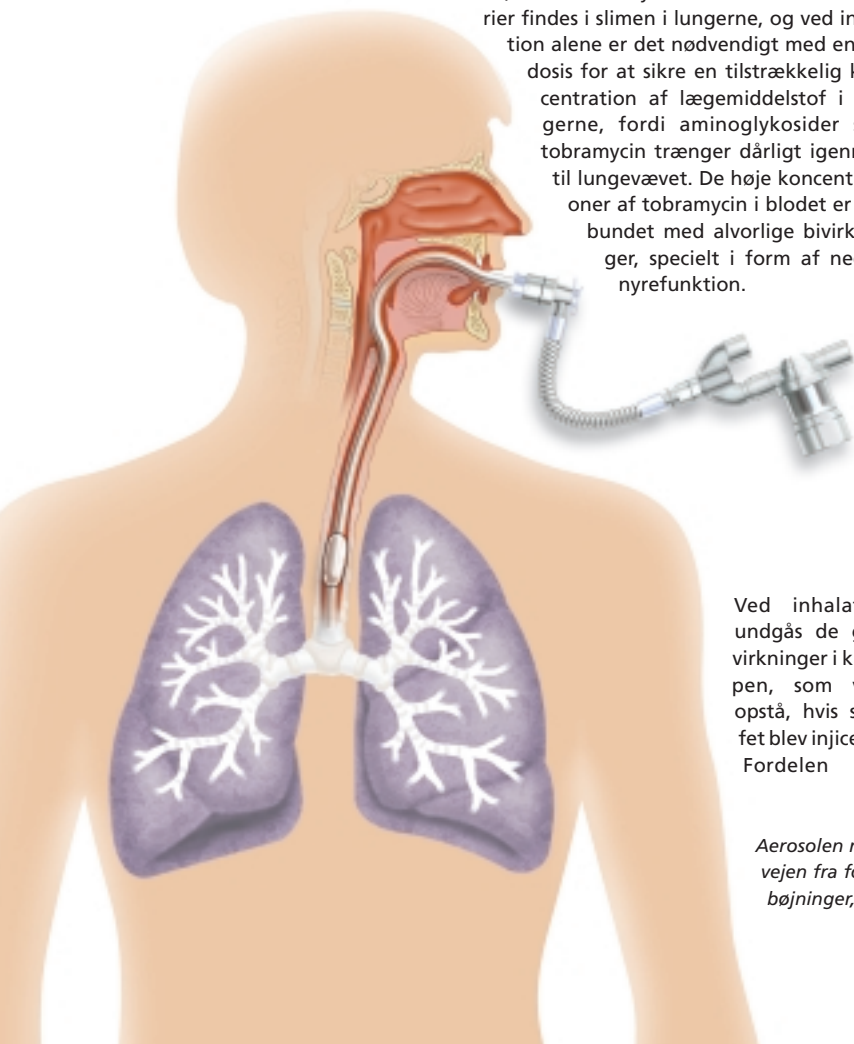
Der findes forskellige typer af forstøvere, som er i stand til at danne aerosoler med den ønskede dråbestørrelse, forudsat opløsningen med lægemiddelstoffet ikke er væsentligt mere tyktflydende end rent vand.

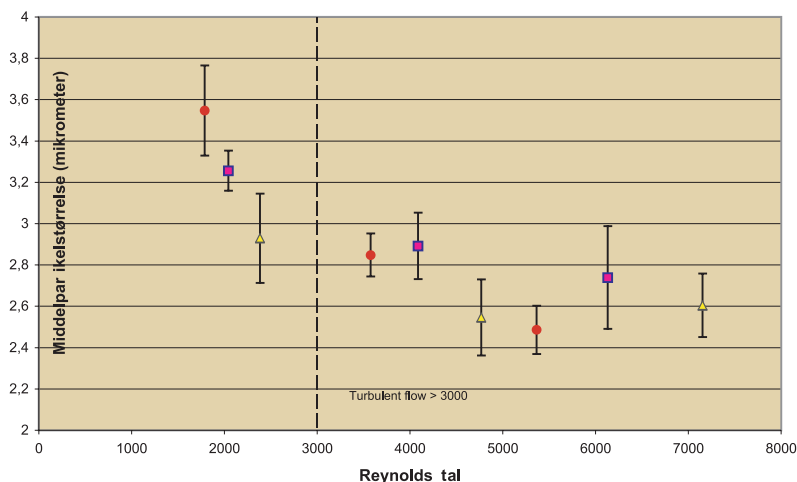
I projektet har vi arbejdet med en ultralydsforstøver. Princippet er, at lydbølgerne forstøver vandige opløsninger til en aerosol med en dråbestørrelse, som især afhænger af ultralydens intensitet.

I vore undersøgelser måles aerosolens dråbestørrelse ved enden af det rør, der fører luften fra respiratoren ned i patientens lunger. Målingerne udføres med laserlys, som sendes gennem aerosolen. Dråberne spreder laserstrålen, og spredningsmønstret afhænger af dråbernes størrelse. Forsøgene viste, at dråbestørrelsen ikke alene bestemmes af den forstøvning, som ultralydsforstøveren yder, men i høj grad også af luftstrømningen i respiratoren.

Luftstrømmen kan karakteriseres Reynolds tal, som er en størrelse, der beregnes ud fra luftstrømmens hastighed, luftens densitet og viskositet. Hvis Reynolds tal er mindre end ca. 3000, strømmer luften jævnt og uden kaotiske hvirvler,

Aerosolen med lægemiddelstoffet møder mange forhindringer på vejen fra forstøveren til lungen. Rørsystemet har flere 90 graders bøjninger, der fanger større partikler fra luftstrømmen.





Sammenhængen mellem aerosolens middeldråbestørrelse og Reynolds tal, der beskriver luftens strømning i rørsystemet. Her ses resultaterne af forsøg med ultralydforstøver og intubationsrør med forskellig diameter (▲: 6 mm, ■: 7 mm, ●: 8 mm.).

mens luftstrømmen er turbulent ved større Reynolds tal. Vore undersøgelser viser, at aerosolens dråbestørrelse aftager med stigende lufthastighed. Effekten kan forklares ved, at større dråber opfanges i rørsystemet ved høje lufthastigheder, hvorved middeldråbestørrelsen aftager. Forsøget illustrerer, at aerosolens dråbestørrelse og dermed muligheden for deponering af lægemidlet i de nedre luftveje er væsentligt påvirket af respiratorens funktion og variationer i luftstrømmen.

Overraskende resultater

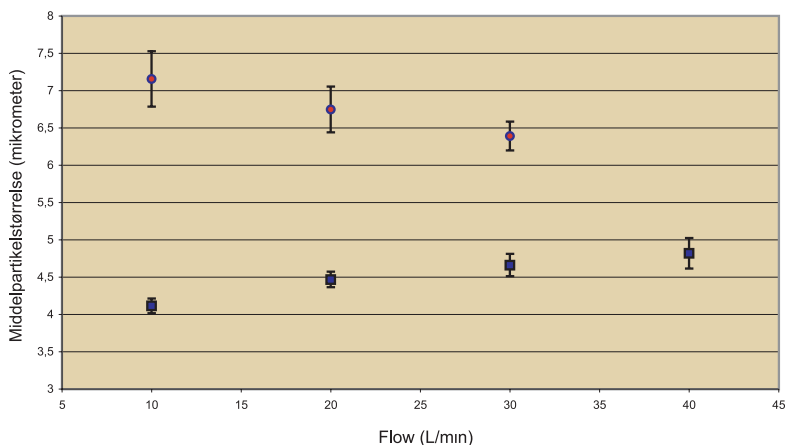
Vand og vandige opløsninger kan også forstøves i en anden type forstøver, som fungerer ved, at væsken ved vibrering presses gennem meget fine kanaler. Dråbestørrelsen ved enden af det rør, hvor patienten indånder luften, er her omkring 6-7 mikrometer, og størrelsen aftager svagt med stigende lufthastighed. Dråbestørrelsen, der opnås ved forstøvning af 0,9 procent saltopløsning, er noget mindre, og i modsætning til vand stiger dråbestørrelsen svagt med stigende lufthastighed i røret. Resultaterne var uventede og bevirkede en række supplerende undersøgelser, der førte frem til den konklusion, at forskellen mellem forstøvning af vand og forstøvning af en vandig saltopløsning sandsynligvis skyldes, at vanddråberne oplades af statisk elektricitet under forstøvningen. Når rent vand presses ud gennem snævre dyser, oplades vandmolekylerne ved gnidning. Hvis opløsningen indeholder en elektrolyt som salt, sker der ikke nogen opladning af dråberne.

Kliniske forsøg

Den variationen i dråbestørrelse, som er vist i de to eksempler, må forventes at influere væsentligt på den mængde lægemiddelstof, der kan føres frem til lungernes fineste forgreninger og deponeres. Derfor undersøger vi nu sammenhængen mellem aerosolens dråbestørrelse, respiratorens funktion og deponeringen i luftvejene på et antal patienter. Målene er at belyse formuleringens betydning for effekten af inhaleret antibiotika, samt at finde frem til den nødvendige dosis til bekæmpelse af resistent lungebetændelse hos patienter i respirator.

INHALATION, INJEKTION OG TABLETTER

Når et lægemiddel skal virke lokalt i luftvejene, har man tre muligheder: Tabletter, injektion og inhalation. Ved indtagelse af tabletter skal det virksomme lægemiddelstof kunne trænge gennem tarmvæggen og komme ud i blodet. Imidlertid har mange lægemiddelstoffer svært ved at passere tarmvæggen, hvilket reducerer den virksomme dosis. Ved injektion kommer stoffet direkte ud i blodet, men desværre har nogle stoffer svært ved trænge ind i lungevævet, hvilket også formindsker den virksomme dosis. Denne begrænsning gælder også for lægemiddelstoffer i tabletter. Ved inhalation undgås spild i kroppen, fordi lægemiddelstoffet transporteres direkte hen til virkningsstedet i lungerne. Derfor kan man nøjes med en mindre dosis og minimere bivirkningerne.



Middeldråbestørrelse som funktion af lufthastighed ved forstøvning med Aeronéb Pro. ●: destilleret vand, ■: isotonisk saltvand.



Cand.pharm. Kenneth Manby Pedersen er ph.d.-studerende ved Institut for Farmaci.



Dr.med. Lars Heslet er professor og overlæge på Rigshospitalets Abdominalcenters - intensiv terapiklinik.



Dr.pharm. Vagn Neerup Handlos er sygehusapoteker ved HS Apoteket og adjungeret professor ved Institut for Farmaci.



Dr.pharm. et hc Henning Gjelstrup Kristensen er professor ved Institut for Farmaci.

Fremstilling af inhalationspulver ved spraytørring

Inhalationspulvere er i dag de mest anvendte inhalationslægemidler i Danmark, og fremover kan de mange sammenhænge blive et alternativ til injektion. Vi har ved spraytørring fremstillet små krystallinske partikler, som kan komme ud i lungernes yderste forgreninger.

Af Kristina Ståhl, Kjell Bäckström, Kyrre Thalberg, Torben Schæfer, Anders Axelsson og Henning G. Kristensen

Man har i mange år foretaget lokalbehandling i luftvejene, især af astma, ved inhalation af aerosoler, der dannes ved forstøvning af en væske i en overtrykspakning. Som drivgas brugte man tidligere CFC, som er velegnet til formålet, men i dag er gasserne forbudte, fordi de nedbryder ozonlaget i atmosfæren.

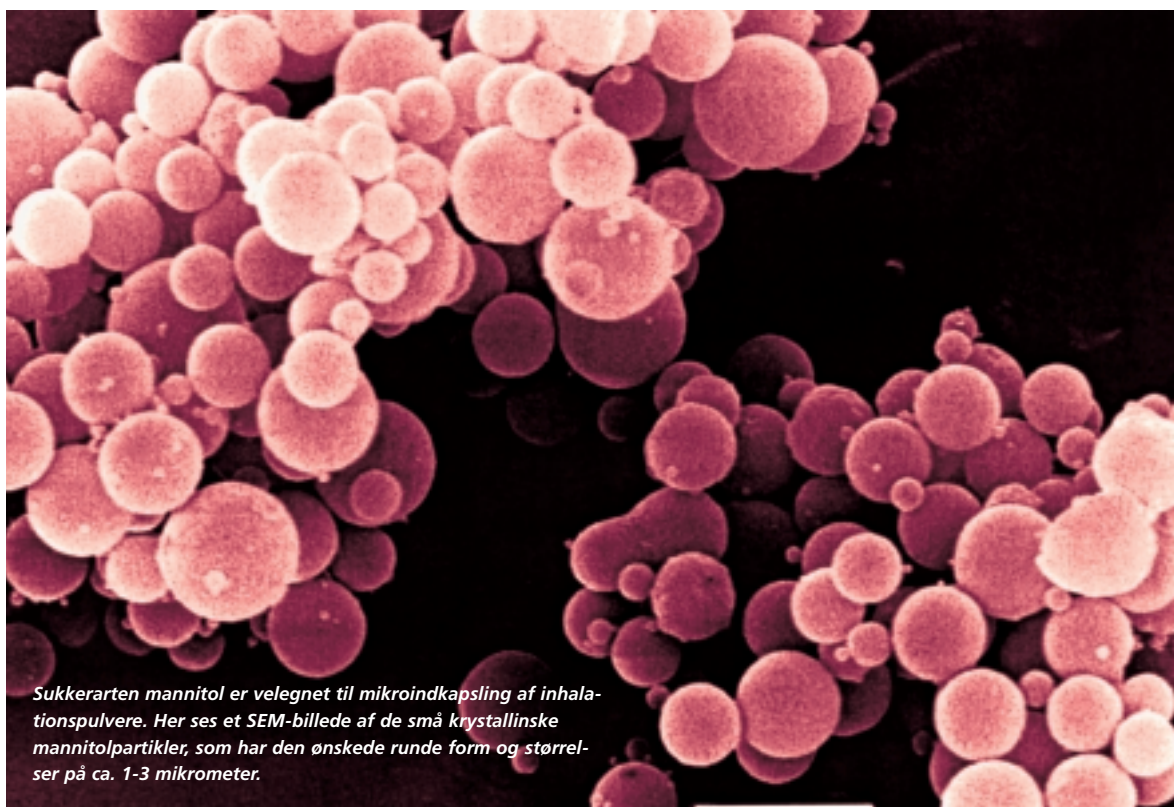
Selv om der findes alternative, men teknisk set mindre egnede drivgasser, satte diskussionen om CFC-gasserne for ti år siden gang i udviklingen af inhalationspulvere, som bringes ned i lungerne ved hjælp af indåndingsluften. I dag er sådanne pulvere de mest anvendte inhalationsmidler i Danmark.

I de senere år er interessen for inhalationspulvere blevet skærpet, fordi luftvejene er velegnede til indgivelse af lægemidler, der indeholder peptider og proteiner, som skal virke efter optagelse i blodkredsløbet. Efter inhalation optages lægemidlet i blodet fra lungerne.

Peptider og proteiner som f.eks. insulin nedbrydes i mave-tarmkanalen, når lægemidlerne indtages som tableter, og derfor er de traditionelt blevet injiceret. Inhalation er et attraktivt alternativ til injektion, fordi brugeren selv kan administrere sin medicin, og fordi man slipper for det ubehag, som mange føler ved en indsprøjtning.

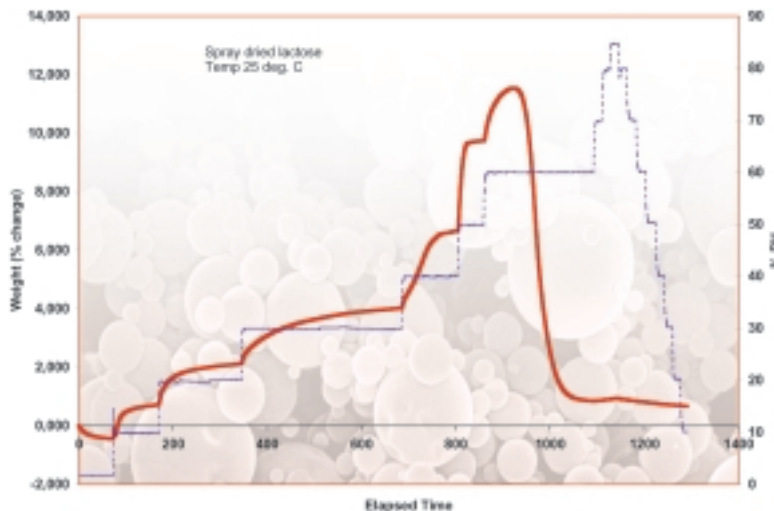
Udvikling af inhalationspulvere er uhyre kompliceret og stiller store tekniske krav til såvel lægemidlet, der skal forstøves, som til forstøvningsaggregatet, der er indbygget i pakningen. Ved forstøvningen skal der dannes en aerosol af fine partikler, som fordeles i indåndingsluften. Luften bærer partiklerne ned gennem luftvejene, hvor de enten deponeres eller udåndes igen, hvis de er mindre end 1 mikrometer.

For at kunne nå de fineste forgreninger i lungerne skal partiklerne have en størrelse på 1-3 mikrometer. I praksis er det



Sukkerarten mannitol er velegnet til mikroindkapsling af inhalationspulvere. Her ses et SEM-billede af de små krystallinske mannitolpartikler, som har den ønskede runde form og størrelser på ca. 1-3 mikrometer.

Mælkesukker, laktose, kan også danne små partikler, men partiklerne er amorf og har derfor tendens til at suge vand og klumpe sig sammen. Når optaget af fugt når en vis grænse, som afhænger af temperaturen, dannes der krystallinske partikler samtidig med, at fugtindholdet reduceres. Figuren viser fugtoptaget (rød kurve) i spraytørrer laktose som funktion af stigende relativ fugtighed (blå, stiplede kurve).



svært at fremstille pulvere med så små partikler, fordi partiklerne har en tendens til at klumpe sig sammen, når man indånder dem.

Hvis pulveret også er vandsugende, er forstøvningen, der i inhalationsaggregatet sker ved hjælp af indåndingsluften, stort set umulig. Det ideelle inhalationspulver består af afrundede krystallinske partikler, fordi det modsatte – amorf partikler med en ustruktureret opbygning – er stærkt vandsugende.

For at lette inddelingen i doser i inhalatoren og aerosoldannelsen ved forstøvningen er det almindeligt at blande de fine lægemiddelstofpartikler med større partikler af mælkesukker, som de små partikler af lægemiddelstof klæber til. Under forstøvningen løsrives de fine partikler, så de kan komme helt ned i lungerne, mens de større bæreparkler bliver opfanget i munden og de øvre luftveje.

Partikler af lægemiddelstof

Det er svært at fremstille inhalerbare partikler. Den mest anvendte metode består i formaling af krystallinske lægemiddelstoffer. Formaling til den ønskede partikelstørrelse kræver en meget kraftig mekanisk bearbejdning.

Desværre er det de færreste peptider og proteiner, der tåler formalingen uden at blive nedbrudt. Derfor har man i de senere år arbejdet intenst med udvikling af alternative metoder til fremstilling af inhalerbare partikler. Her er spraytørring en god teknik, som både er egnet til industriel produktion og til mikroindkapsling af lægemiddelstoffet i et bæremateriale, f.eks. sukker eller en polymer.

Ved spraytørringen forstøves en opløsning til dråber i varm tørrluft, hvorved opløsningsmidlet fordamper og efterlader det faste stof i form af partikler. Vi udvikler metoden i et samarbejde mellem Afdelingen for Kemisk Apparatteknik ved Lunds Universitet, Institut for Farmaci ved Danmarks Farmaceutiske Højskole og AstraZeneca R&D i Lund. Projektets formål er at studere partikeldannelsen under spraytørring og at vurdere mulighederne for at fremstille krystallinske partikler ved processtyring og ved anvendelse af hjælpestoffer, der kan fremme krystaldannelsen.

Mikroindpakning

Vore forsøg viser, at spraytørring af sukkerarten mannitol kan føre til krystallinske partikler i den ønskede form og størrelse. Andre sukkerarter som f.eks. mælkesukker kan også spraytørres til den ønskede partikelstørrelse, men partiklerne er amorf. Her er der total uorden blandt molekylerne i partiklen, mens krystallinske partikler har en regelmæssig, ordnet gitterstruktur.

Når en amorf partikel udsættes for fugt og varme, kan den dog godt krystallisere. Vi har analyseret en prøve af

spraytørrer mælkesukker ved hjælp af et apparat, der gør det muligt at bestemme prøvens vægtforøgelse under en kontrolleret øgning af luftens fugtighed.

Det amorf mælkesukker optager fugt i takt med at den relative luftfugtighed øges i trin på 10 procent. Ved 50 procent relativ fugtighed øges fugtoptaget voldsomt, og der dannes krystaller af mælkesukkeret samtidig med, at prøven afgiver stort set al fugt. Eksemplet illustrerer, at en mere eller mindre amorf partikel er vandsugende og tilbøjelig til at krystallisere. Men problemet er, at partikelstørrelsen vokser og dermed kommer ud af kontrol.

Spraytørring er som nævnt forbundet med en meget hurtig tørring af de forstøvede væskedråber. Partikeldannelsen sker i løbet af millisekunder, mens den efterfølgende borttørring af restfugtigheden varer nogle få sekunder. Dannelsen af de krystallinske partikler skal derfor kunne forløbe meget hurtigt.

Undersøgelser af en serie af sukkerarter har vist, at mulighederne for at opnå krystallinske partikler har sammenhæng med den amorf tilstands glasovergangstemperatur, d.v.s. den temperatur, hvor den glasagtige tilstand ved temperaturstigning ændres til en mere plastisk tilstand. Ændringen er forbundet med en udvidelse af stoffets volumen og dermed en øget mobilitet af de enkelte molekyler.

Vi har fundet, at sukkerarter med overgangstemperaturer under stuetemperatur danner krystaller, mens sukkerarter med overgangstemperaturer på omkring 100°C danner amorf partikler.

Fra amorf til krystal

Da glasovergangstemperaturen mindskes med stigende fugtighed i stoffet, er det vores hypotese, at det ved en passende kombination af produkttemperatur og fugtighed samt procesid skulle være muligt at opnå krystallinske partikler af stoffer, som ellers danner amorf partikler.

De hidtidige studier har vist, at det normalt ikke kan lade sig gøre alene ved justering af processen at opnå betingelser, som matcher de undersøgte sukkerarters krav. Der må tilsættes hjælpestoffer, som enten forsinker tørringsprocessen eller påvirker overgangstemperaturen. På den måde er det muligt at fremstille inhalerbare partikler i det ønskede størrelsesområde ved hjælp af spraytørring.

I projektet har vi anvendt flere kommercielle spraytørringsapparater. Et generelt problem, som skal løses før processen kan udnyttes industrielt, er udviklingen af en forbedret teknik til separation af de spraytørrede partikler fra tørrluften. Vi har fundet, at de cykloner, der er indbygget i apparaterne, ikke er tilstrækkeligt effektive til at opfange de meget fine partikler.



Cand.pharm. Kristina Ståhl er ph.d.-studerende ved Institut for Farmaci.



Ph.d. Kjell Bäckström er ansat ved Product Development, AstraZeneca R&D Lund.



Ph.d. Kyrre Thalberg er ansat ved Product Development, AstraZeneca R&D Lund.



Dr.pharm. Torben Schæfer er lektor ved Institut for Farmaci.



Dr.techn. Anders Axelson er professor ved Afd. for Kemisk Apparatteknik Lunds Tekniske Højskole.



Dr.pharm. Henning Gjelstrup Kristensen er professor ved Institut for Farmaci.

Lægemedler mod kronisk smerte

Mange ønsker at slippe for kroniske smerter uden at risikere afhængighed af morfin. Derfor er der brug for dyreforsøg i undersøgelser af nye smertestillende midler, som ikke er vanedannende. I dag kan forsøgene udføres uden at udsætte dyrene for stærke smerter.

Af Helle K. Erichsen, Frederik Rode, Bjarne Fjalland og Ole J. Bjerrum

Hvorfor forske i smerte? Det er der mange årsager til. Først og fremmest er der mange smertevoldende tilstande hos patienter, der trods en rivende udvikling inden for smertestillende medicin ikke kan behandles effektivt nok. Desuden vil det være et stort fremskridt, hvis kraftige kroniske smerter en dag kan behandles med andet end morfinpræparater, idet patienter ønsker smertefrihed uden samtidig at blive morfinister!

Hvorfor bruge dyr til forskningen? Den akademiske frihed tillader videnskabsmanden selv at vælge emnet for sin forskning inden for det fag, han eller hun arbejder med. Men med mindre man er sadist, hvorfor så vælge forskning på dyr, der med sikkerhed påfører dyrene smerte? Sådant har det måske været engang, men moderne dyreforsøg inden for smertebehandling gør den slags forestillinger til skamme og giver videnskabsmanden ro i sindet, når det er smertemekanismer og deres behandling, der optager vedkommende.

Dyreforsøg uden lidelser

I dag er det muligt at nedbringe dyrenes smertepåvirkning til et niveau af ubehag, snarere end skarp smerte. Metoden bygges på nogle simple principper:

- Dyrene skal kunne bevæge sig frit i buret og til enhver tid kunne flytte sig fra den påførte påvirkning.
- Styrken af påvirkningen skal gå gradvist fra umærkelig op til det niveau, hvor dyret reagerer. Det kan man konstatere ved, at dyret undgår påvirkningen. Effekten af et smertestillende lægemiddel måles som flytning af denne observerbare tærskel opad.

- Hvis dyrene må underkastes operationer, udføres indgrebene i fuld bedøvelse, og efterfølgende målinger sker først, når dyrene igen trives. Hvis dyrenes førlighed nedsættes, kompenserer man for dette, f.eks. ved at lade dyrene gå på et superblødt underlag, så de kan bevæge sig uden smerter i poterne.

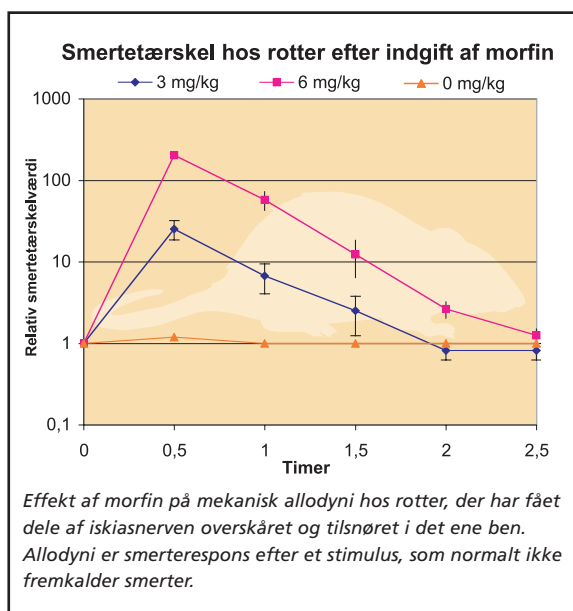
Smertens fysiologi

Smerteopfattelse er meget kompleks og varierer fra person til person, fordi der også er en psykologisk faktor involveret. Kronisk smerte kan defineres som enhver smerte, der varer længere end 12 uger, men også som smerte, der fortsætter ud over den tid, hvor smerten normalt skulle ophøre.

Smertebanerne består af tre nerver på række, der leder smerten fra det smertefremkaldende område til hjernen. Hvis man f.eks. slår en fod, mærkes smerten fra nerveenderne i foden.

Den genererede smerteimpuls fra receptorerne i nervespidserne løber op gennem den primære nerve til rygmarven, hvorfra nerve nummer to leder impulsen videre til thalamus, som er hjernens omstillingsbord. Herfra sendes påvirkningen videre til hjernebarken via en tredje nerve.

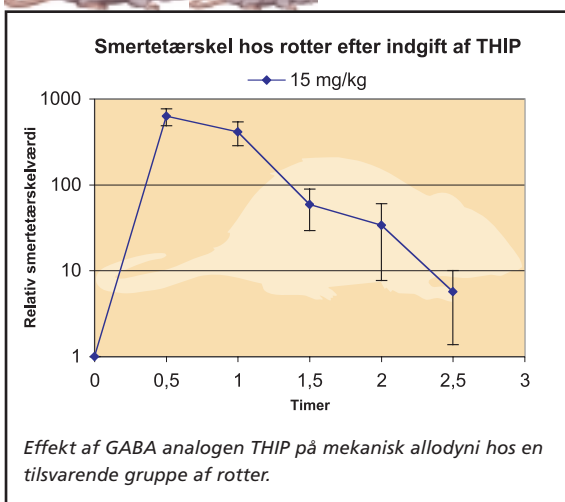
Hvis nerveenderne stimuleres gennem længere tid, kan det ændre smerteoplevelsen. Langvarig smerte kan medføre sekundær inflammation med større smertefølsomhed. Kroniske smerter opstår i meget tæt samspil med inflammatoriske tilstande som vævsbeskadigelse og betændelse. Gennem en meget raffineret og kompleks vekselvirkning mellem nerverne og det omgivende væv øges følsomheden over for smerter stærkt



i disse tilfælde. Her spiller stoffer, som fremkalder inflammation, sammen med nerveenderne. Stofferne produceres fra nerveenderne, som yderligere er udstyret med receptorer for stofferne.

Da smerteopfattelsen afhænger af impulsoverførsler mellem flere nerver, er der mulighed for regulering med lægemiddelstoffer på flere niveauer. Angrebepunktet for smertebehandling har da også været farmakologisk påvirkning af de signalstoffer og receptorer i nervesystemet, som formidler overførslen af smerteimpulsen.

Det er kendt, at almindeligt brugte svage smertestillede mid-



ler, som f.eks. aspirin, lindrer smerter ved at hæmme aktiviteten af bestemte enzymer, hvilket nedsætter koncentrationen af en gruppe af smertesensibiliserende stoffer. Lokalbedøvelse virker ved at blokere impulstrafikken i nervecellerne i området for injektionen.

I rygmarven og hjernen er der også mulighed for specifik påvirkning af receptorer for de signalstoffer, som indgår i smerteoverførslen. Signalstofferne overfører smerteimpulsen mellem to nerveceller og ved synapsen. F.eks. giver blokering af impulstrafikken i de synapser, der benytter glutaminsyre som signalstof en nedsat smerteoplevelse. Visse stærke smertestillende midler som morfinpræparatet ketogan påvirker ikke blot nervecellernes receptorer for opioider, men har også en blokerende virkning på receptorerne for glutaminsyre. Glutaminsyre virker stimulerende på nerveceller og ved at blokere receptorerne dæmpes nervecellernes aktivitet.

Angstdæmpende stoffer, der påvirker centralnervesystemet, har også en smertestillende effekt, specielt når de anvendes sammen med smertestillende medicin. Effekten opstår formentlig ved at dæmpe aktiviteten i visse nerveceller, der løber fra hjernen til kroppen.

Dyremodeller for kronisk smerter

Der findes en række dyremodeller, som antages at afspejle den type kroniske smerter, der opstår efter nervebeskadigelse, de såkaldte neuropatiske smerter. Fælles for modellerne er, at der påføres en ensidig operativ skade på iskiasnerven, som løber fra den nedre del af rygmarven ned gennem benene og ud i poterne.

Læsionerne resulterer i, at rotterne bliver hyperfølsomme

under den pote, som den beskadigede nerve leder impulsen fra. I studier af neuropatiske smerter beskæftiger både NeuroSearch og Institut for Farmakologi på DFH sig med en model, hvor det operative indgreb indebærer tilsnøring og overskæring af to ud af de tre forgreninger af iskiasnerven. Efter indgrebet udvikler dyrene et smerterespons ved stimuli, der normalt ikke medfører smerter, og et forøget smerterespons efter en normalt smertefremkaldende stimulering under bagpoten.

Overfølsomheden opstår få dage efter nervebeskadigelsen og har indtil videre holdt sig i op til 15 måneder. Tilstanden generer dog ikke dyrene, da der ikke observeres spontane smerter eller hvilesmerter. Som en vigtig observation trives dyrene normalt. Selve testen foregår på et hævet trådnet, hvor der er tilgang til undersiden af poten, samtidig med at dyrene har fri bevægelighed. Ved test for smerterespons af påvirkninger, som normalt ikke fremkalder smerte, anvendes von Frey-hår, som er små stive børster af forskellig tykkelse, der påfører poten en mekanisk påvirkning på et kendt antal gram, inden håret bøjer. I testsituationen anvendes stigende tykkelser af von Frey-hår, indtil dyret løfter poten som tegn på, at smertetærsklen er nået.

Til test for følsomhed over for påvirkninger, der normalt fremkalder smerte, anvendes en sikkerhedsnål som rotten prikkes med under poten. Ved positiv respons vil dyret holde poten løftet i et måleligt tidsinterval.

Tilstedeværelsen af overfølsomhed blandt de opererede dyr er normalt let konstaterbar, da der er en tydelig forskel på testværdierne i forhold til ikke-opererede rotter.

Virkning af lægemiddelstoffer

Kendte smertestillende stoffer som morfin er afprøvet i modellen for at vurdere, om de hæmmer rotternes overfølsomhed overfor smerter. Og det gør de. Dette er vigtigt, hvis dyremodellen skal kunne forudsige, om nye stoffer har smertestillende effekt hos patienter.

I dag anvendes morfin til behandling af neuropatiske smerter hos nogle patientgrupper. Ofte virker morfinen, men der er stor risiko for at patienten bliver afhængig.

Der er imidlertid mange typer lægemiddelstoffer, som kan tænkes at virke mod neuropatiske smerter uden at skabe afhængighed, og det medfører et stort behov for at teste stofferne alene eller i kombination i dyremodeller. En analog af signalstoffet GABA, som hæmmer nervecellernes aktivitet, er blevet testet. Dette stof, THIP, har vist god effekt i dyremodellen. Det er interessant, fordi THIP ikke er fysisk vanedannende som morfin.

Karakterisering af smertelindrende stoffers virkningsmekanisme på individuelle receptortyper kan på længere sigt give store fremskridt i behandlingen af smerte. Her kan smerteforskningen med dyremodellen med fordel kombineres med eksperimenter på isolerede celler eller udskåret nervevæv fra dyr.



Cand.pharm. Helle Kirstein Erichsen er ph.d.-studerende ved Graduate School of Drug Research, Institut for Farmakologi og Neurosearch AIS.



Cand.pharm. Frederik Rode er ph.d.-studerende ved Institut for Farmakologi.



Lic.pharm. Bjarne Fjalland er lektor ved Institut for Farmakologi.



Dr. med. Ole J. Bjerrum er professor ved Institut for Farmakologi.

Medicinforbrug og social position i den danske befolkning

Erhverv, uddannelse og indkomst hænger sammen med vores forbrug af lægemidler. En analyse af danskernes medicinforbrug giver helt ny viden.

Af Merete W. Nielsen, Ebba Holme Hansen og Niels Kristian Rasmussen

Sundhed og sygelighed er skævt fordelt i samfundet, og de lavere sociale klasser har oftest flere sundhedsproblemer end den mere velstillede del af befolkningen. Der er sociale forskelle gennem hele livsforløbet – lige fra fødselsvægt til dødelighed. Tendensen er klar: Personer fra de laveste sociale grupper har det dårligste helbred.

Når vi bliver syge, tager de fleste af os medicin. Men man ved kun lidt om sociale forskelle i anvendelsen af lægemidler. Dette gælder både i Danmark og internationalt.

Vi har undersøgt, om der er sociale forskelle i brugen af lægemidler i Danmark ved at studere sammenhængen mellem tre typer af medicinforbrug og tre forskellige mål for social position.

Danskernes brug af lægemidler er målt på: Regelmæssig brug, brug af receptmedicin inden for 14 dage, og brug af håndkøbsmedicin inden for 14 dage. Den sociale position er målt på: Erhverv, uddannelse og indkomst.

Der er store forskelle mellem grupper i erhverv og grupper udenfor arbejdsmarkedet. Folk med de mindste indkomster og de laveste uddannelser anvender hyppigst medicin regelmæssigt og bruger oftest receptmedicin. Anvendelsen af håndkøbsmedicin viser ikke noget tydeligt mønster.

Undersøgelsen bygger på data fra Sundheds- & sygelighedsun-

dersøgelsen, som Statens Institut for Folkesundhed gennemførte i 2000. 16.690 danske statsborgere på 16 år og der-over blev interviewet i deres hjem af trænedede interviewere. Stikprøven er repræsentativ for befolkningen.

Køn, alder og sygelighed

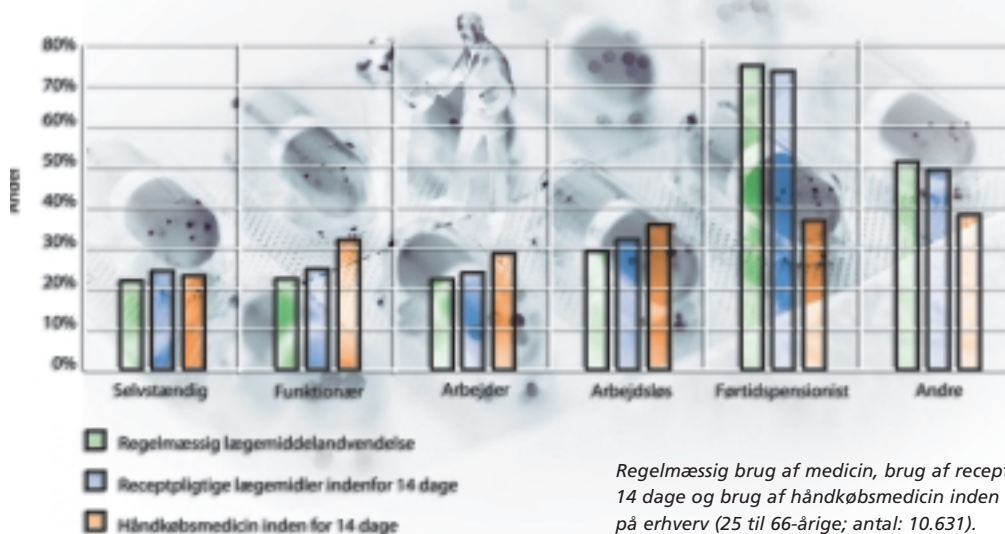
Når man analyserer medicinforbrugets fordeling på sociale grupper, er det vigtigt at vide, at mange andre faktorer har indflydelse på brug af medicin. Det gælder især køn, alder og sygelighed.

For alle tre typer af medicinforbrug gælder det, at kvinder oftere anvender medicin end mænd. Samtidig stiger hyppigheden af regelmæssigt medicinforbrug og brug af receptmedicin med stigende alder. Dette er ikke tilfældet for brug af håndkøbsmedicin.

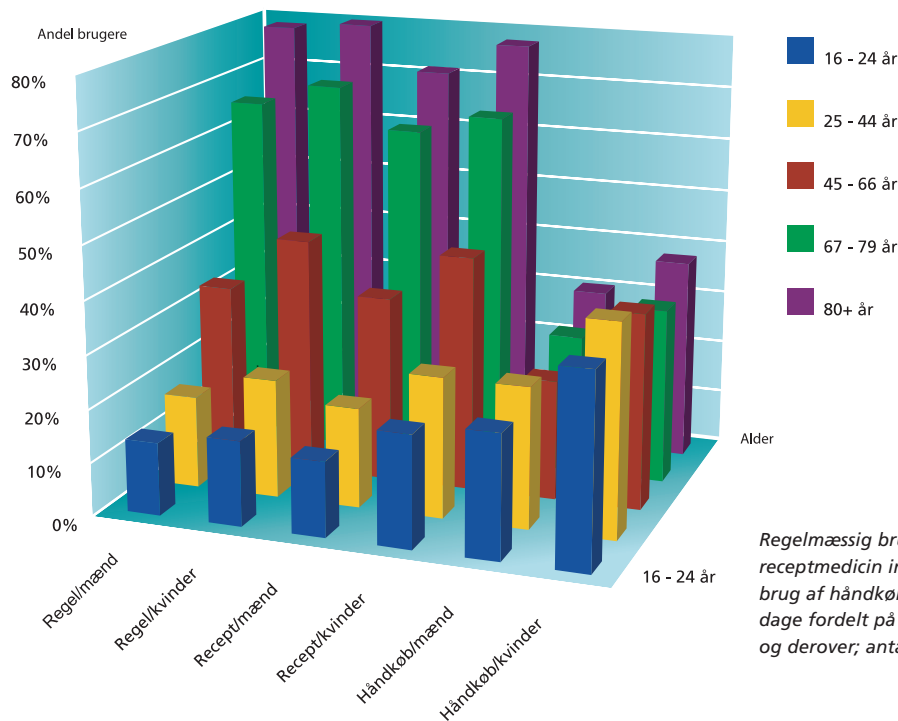
Helbredet har naturligvis stor betydning for anvendelsen af lægemidler. Gruppen med en eller flere langvarige sygdomme har en langt højere andel af medicinforbrugere end gruppen af raske mennesker uden langvarige sygdomme. Dette gælder for alle typer af medicinforbrug.

Køn, alder og sygelighed er ikke lige fordelt mellem de forskellige erhvervs-, uddannelses- og indkomstgrupper. Når man skal undersøge sociale forskelle i lægemiddel- forbrug er det derfor vigtigt at inddrage køn, alder og sygelighed. Vi bruger to forskellige mål for sygelighed: Selvvurderet helbred og langvarig sygdom.

Resultaterne viser, at der er sociale forskelle i medicin- anvendelsen, også selvom man tager højde for betydningen af køn, alder og sygelighed.



Regelmæssig brug af medicin, brug af receptmedicin inden for 14 dage og brug af håndkøbsmedicin inden for 14 dage fordelt på erhverv (25 til 66-årige; antal: 10.631).



Regelmæssig brug af medicin, brug af receptmedicin inden for 14 dage og brug af håndkøbsmedicin inden for 14 dage fordelt på køn og alder (16 år og derover; antal: 16.690).

Tabellen viser sammenhængen mellem tre typer medicinforbrug og tre mål for social position. Der er taget højde for betydningen af alder, køn og sygelighed. Når uddannelse er anvendt som mål for social position, er resultaterne opgivet for begge køn, fordi der er kønsforskelle.

	Medicin	Regelmæssig brug	Receptmedicin, 14 dage	Håndkøbsmedicin, 14 dage
Social position				
Erhverv (25-66 år)		Sammenhæng	Sammenhæng	Sammenhæng
Indkomst (25-66 år)		Sammenhæng	Sammenhæng	Ingen sammenhæng
Uddannelse (25+ år)		Mænd: Sammenhæng Kvinder: Ingen sammenhæng	Mænd: Sammenhæng Kvinder: Ingen sammenhæng	Begge køn: Ingen sammenhæng

Sociale forskelle

Regelmæssig anvendelse af lægemidler og brug af receptmedicin inden for 14 dage er koblet til sociale forhold. Når man anvender indkomst og erhverv som mål for social position, ses en signifikant sammenhæng med de to typer af medicinforbrug. Folk med de laveste indkomster og grupper uden for arbejdsmarkedet bruger oftere medicin end andre grupper i samfundet.

Længden af vores uddannelse har betydning blandt mænd, men ikke blandt kvinder. Mænd med 13-14 års uddannelse bruger sjældnere medicin end andre uddannelsesgrupper.

Forbruget af håndkøbsmedicin er meget anderledes. Her spiller erhvervet ind. Sammenhængen er ikke ret stærk, men undersøgelsen viser, at selvstændige anvender håndkøbsmedicin mindst hyppigt. Uddannelse og indkomst har ikke betydning for brugen af håndkøbsmedicin.

Resultaterne viser altså, at der er sociale forskelle i regelmæssig anvendelse af medicin og brug af receptmedicin inden for 14 dage, mens forskellene i anvendelsen af håndkøbsmedicin må betragtes som ubetydelige.

Lægemidler, der bruges regelmæssigt, er især receptpligtige lægemidler, og det kan forklare, hvorfor der er overensstemmelse mellem regelmæssig brug af medicin og brug af receptmedicin inden for 14 dage.

Anvendelse af receptpligtige lægemidler er baseret på en lægelig beslutning. Derimod er brug af håndkøbsmedicin oftest selvmedicinering uden involvering af lægen.

Sygdom håndteres forskelligt

Analyserne viser vigtigheden af at skelne mellem forskellige typer af medicinforbrug. Man må formode, at begrundelser og handlemønstre for medicinanvendelse varierer mellem forskellige medicintyper i forskellige dele af samfundet.

Mennesker reagerer forskelligt på symptomer på sygdom ud fra deres opfattelser af sundhed og sygdom. Analyserne tyder på, at de sociale grupper i samfundet håndterer sygdom og symptomer på sygdom forskelligt. Vore analyser kan ikke forklare hvorfor og hvordan, men viser blot at der i Danmark findes sociale forskelle inden for nogle former for lægemiddel-anvendelse.

VIDEN, DER KAN BRUGES

Viden om medicinforbrugets sociale fordeling og årsager til fordelingen kan anvendes i folkesundhedsprogrammer og bruges ved reguleringer på sundhedsområdet.

Reduktion af social ulighed i sundhed er et prioriteret mål i regeringens folkesundhedsprogram 2002-2010. Når man kender lægemiddelforbrugets fordeling, forbedres mulighederne for at reducere sociale forskelle på området.

Lægemidler har stigende økonomisk betydning for samfundet, fordi omkostningerne stiger. Derfor er der god grund til at forestille sig fremtidige reguleringer, som resulterer i en omfordeling af forbruget. Når man kender forbrugets fordeling, har man et godt grundlag for reguleringerne.



Cand.pharm. Merete W. Nielsen er ph.d.-studerende ved Institut for Samfundsfarmaci og tilknyttet Forskningscenter for Kvalitetssikret Lægemiddelanvendelse (FKL).



Cand.pharm. Ebba Holme Hansen er professor ved Institut for Samfundsfarmaci og leder af FKL.



Mag.scient.soc. Niels Kristian Rasmussen er forskningsleder ved Statens Institut for Folkesundhed og tilknyttet FKL.

Lille spejl på væggen der...

Praktiserende lægers vurdering af, hvem de er som person og læge, og hvem de ønsker at være, har betydning for deres udskrivning af lægemidler. Fremtidige forsøg på at ændre udskrivningsvanerne bør tage udgangspunkt i den enkelte læges opfattelse af sig selv.

Af Kristin Eskildsen og Ebba Holme Hansen

Talrige undersøgelser har vist, at praktiserende læger ikke altid udskrives, som de burde ifølge idealerne for rationel lægemiddelterapi. Nogle gange får patienterne for eksempel recepter på antibiotika, selv om de næppe har bakterieinfektioner, og i andre tilfælde udskrives nervemedicin eller smertestillende piller i unødigt omfang.

Derfor har blandt andre amterne og de praktiserende lægers organisation forsøgt at ændre lægernes udskrivningsvaner med for eksempel skriftlig information - uden at det er lykkedes. Det skyldes blandt andet, at man har set på lægerne som en slags robotter. Hvis man bare trykkede på de rigtige knapper og gav den rigtige information, ville lægerne automatisk begynde at udskrive rigtigt.

I de senere år er instanserne begyndt at finde ud af, at dette billede af lægerne er for simpelt. Hvis kampagnerne skal virke, er det nødvendigt at sætte sig grundigt ind i, hvad lægerne tænker, forstå deres dagligdag og samarbejde med dem for at fremme kvalitetsudviklingen.

For at få en forståelse af lægernes eget perspektiv på deres udskrivning af lægemidler har vi interviewet 20 læger, hver i ca. to timer. Ni af lægerne blev også observeret en hel dag i deres praksis.

Undersøgelsen viste, at lægernes selvurdering har afgørende betydning for deres udskrivning af lægemidler. Hvis lægerne i den konkrete situation mangler respekt for sig selv, øger de ofte deres selvagtelse ved at udskrive, som de mener er rigtigt - uden at gå på kompromis. Når lægerne derimod har stor selvrespekt, går de nogle gange lettere på kompromis i deres udskrivninger.

Pres på lægerne

De praktiserende læger oplever, at de bliver presset af patienter, sygehuse, amter, kommuner og lægemiddelindustrien til at udskrive på en måde, de ikke selv ønsker. Ofte skærpes presset af mangel på tid til patienterne i dagligdagen.

Når lægerne giver efter for pression, bliver de skuffede over sig selv. Overgivelsen får dem til at stille spørgsmålstegn ved, hvem de egentlig er som læger og som personer. De begynder at tvivle på, om de virkelig er så stærke, gode og dygtige, som de havde troet og håbet.

Lægernes skuffelse over sig selv er ikke bare faglig, men lige så udtalt på det menneskelige plan. De oplever, at de ikke lytter nok til patienterne, ikke forstår dem og ikke håndterer

patienterne godt nok ved udskrivning af lægemidler. Ofte udskrives lægerne recepter til trods for, at de ved, at det ikke er rigtigt fagligt set. Flere læger rapporterede for eksempel, hvordan de udskrev antibiotika, selv om sandsynligheden for, at patienten havde en bakterieinfektion var lille.

Mange gange er det svært både at håndtere patienterne rigtigt og samtidig udskrive korrekt. Lægerne er nødt til at prioritere det ene aspekt over det andet og oplever således både skuffelse og tilfredshed på samme tid.

En af lægerne fortalte, hvordan han helst udskrev nye lægemidler, fordi han mente, at de tit er bedst, fagligt set. Det gav dog et skår i glæden, menneskelig set, at patienterne skulle bruge mange penge.

"Problemet med de nye præparater er jo, at de er så dyre, ikke? Det er synd for vores patienter. Men man kan jo ikke lade være. Eller jeg kan i hvert fald ikke lade være med at sige: Hvis de nu er bedre, hvorfor skal patienterne så ikke have glæde af det?"

Ubehageligt at give efter

Lægerne oplever, at det er ubehageligt både at blive presset og at give efter for pres. En læge fortalte, hvordan han følte det efter at have givet efter for pres fra en migrænepatient, der ville have mere medicin:

"Jamen jeg føler, jeg bliver groft udnyttet. Sådan en patient tærer jo på min personlighed. Det bliver et irritationsproblem frem for en rutineopgave, ikke? Så jeg kan gå og tygge på det i flere timer bagefter. I stedet for at lægge det væk." Lægen oplevede at blive behandlet som et objekt, som en genstand, i stedet for som et menneske, en samarbejdspartner eller rådgiver. Han oplevede, at patienten manglede respekt for ham både som menneske og som læge. Lægen begyndte at spørge sig selv, om han i virkeligheden var for svag, om han nu egentlig var god nok?

At se sig selv i spejlet

Lægerne prøver at undgå at blive skuffede over sig selv ved at argumentere, at det de gjorde, var godt nok. En af lægerne beskriver, hvordan han hele tiden er nødt til at reflektere over sine handlinger og begrunde over for sig selv, hvorfor han nogle gange vælger at handle mindre fagligt korrekt:

"Vi har alle sammen situationer, hvor vi siger: Det her har jeg ikke evidens for, at jeg bør gøre. Men jeg gør det i denne situation. Men når jeg gør det, vil jeg også gå hen og kigge mig i spejlet og sige: Du valgte at gøre det på den og den baggrund."

Det er altså vigtigt for lægen at kunne se sig selv i spejlet, at være tilfreds med sig selv efter en udskrivning. Lægen er nødt til at overbevise sig selv om, at det han gør er rigtigt. At overbevise sig selv kan være svært, fordi det langt fra er alle argumenter, som bygger på sikre fakta. Lægerne oplever



Nu er det slut! Næste gang lille Peter bliver forkølet, får fru Hansen ikke en recept på antibiotika til ham.



Der var jeg god. Han fik ikke vredet flere smertestillende ud af mig. Skidt med hans fortvivlelse, da han gik ud af døren.

derfor at være på gyngende grund og at være usikre på, om de nu gør det rigtige. For at klare sig bliver de nødt til at leve med usikkerheden og tro på sig selv: "Det skøn må man leve med. Det er ikke altid sort hvidt. Det er det, der præger mange af vores udskrivninger, at de er tricky. Man kan sige, at det er ikke sort hvidt det her. Det er en gråzone."

I situationer hvor lægerne erkender, at de har udskrevet forkert, er det vigtigt at lære af fejlen, tilgive sig selv og komme videre.

Når kampen tages op

Lægerne giver bestemt ikke altid efter, når patienter kræver mere medicin. Ofte vælger de at tage kampen op, når de møder kravene, gøre det de tror på og således markere sig selv:

"Når patienten plager om den løsning, som jeg ikke tror på, bliver jeg nogle gange stædig og siger: Nej. Og siger: Jeg ved mere end du gør, og jeg mener ikke du skal sådan og sådan. Andre gange siger jeg: Jeg giver mine råd, og så må du selv om det. For patientens autonomi og min autonomi har noget at gøre med, hvornår jeg har brug for selvrespekt. For at kunne lide at se mig selv i spejlet."

Hvis lægerne får det skidt med sig selv, kan det medføre, at de gør sig ekstra umage for at udskrive fagligt korrekt. Hvis lægerne har det godt med sig selv, går de lettere på kompromis med patienterne.

Det er værd at bemærke, at lægerne ofte bevidst vælger at skrive faglig ukorrekt uden at have det skidt med sig selv, fordi de føler, at de menneskelige argumenter er i orden. Hvornår lægerne vælger at tage kampen op, og hvornår de vurderer, at sejren er i hus, varierer med, om lægerne synes, at det faglige eller det menneskelige i situationen er det vigtigste. Nogle læger er ikke tilfredse, før patienten gør lige præcis, som lægen synes er bedst fagligt set. Andre læger synes, at det er vigtigere at møde patienten på halvvejen:

"Så må man jo forhandle sig frem til et eller andet niveau man kan leve med." Interviewer: "Selv som læge? Er det det

du mener?" Læge: "Som læge og som person, ja. Fordi man er nødt til at møde patienten. Man bliver i nogle situationer nødt til at give, slække på sine egne idealer. Fordi patientens idealer er der jo også."

Fagligt fællesskab

Et fagligt og kollegialt fællesskab er vigtigt for, at lægerne lærer at være opmærksomme på, hvornår de får det skidt med sig selv og for at lære, hvornår de skal tage sig selv i nakken. De søger refleksion, inspiration og udvikling ved hjælp af pauser, kollegialt samvær, lægemiddelindustrien, patienterne, kurser, læsning af faglitteratur, sport, musik osv. "Risikoen er jo, at når man er alene, kan man gå og få sig sådan nogle uvaner, måske. Men der prøver vi at have sådan lidt faglig fællesskab."

Ved at bremse op, tage sig selv i nakken og udvikle sig bliver lægen bedre rustet til at tage kampen op mod kravene og beskytte sig selv. Risikoen bliver mindre for, at de ikke kan lide at se sig selv i spejlet.

HVORDAN KAN VI KVALITETSUDVIKLE?

Hvis man skal hjælpe lægerne til at ændre deres udskrivninger, bliver man nødt til at tage udgangspunkt i lægernes opfattelse af sig selv.

Meget arbejde venter, før et godt koncept, der tager udgangspunkt i den enkelte læges selvopfattelse, kan føres ud i livet. Vores undersøgelse peger på, at kvalitetsudvikling bør tage udgangspunkt i samtaler med den enkelte læge, at lægen selv aktivt bør definere sine problemer med udskrivning af lægemidler og gives redskaber til at arbejde med dem.



Cand.pharm. Kristin Eskildsen er ph.d.-studerende ved Institut for Samfundsfarmaci.



Cand.pharm. Ebba Holme Hansen er professor ved Institut for Samfundsfarmaci.

Hormoner fra mennesket forstyrrer reproduktionen hos fisk

Renset spildevand fra københavnske rensningsanlæg indeholder østrogener i koncentrationer, der kan få hanfisk til at danne ægproducerende celler og æggeblommemproteiner. Derfor bør anlæggenes evne til at nedbryde østrogener i spildevandet undersøges.

Af Henrik Andersen, Anne Marie Jakobsen, Kristine Andersen Krogh, Flemming Ingerslev og Bent Halling-Sørensen

Udledning af østrogene steroidhormoner i rensat spildevand er blevet kædet sammen med skader på fisk i en række lande. Hormonerne får hanfisk og ungfisk til at producere æggeblommemproteiner, som ophobes i blodet, og desuden kan hanfisk danne ægproducerende celler i testiklerne, hvilket kan formindske deres fertilitet.

I Danmark er de biologiske effekter af østrogene stoffer i vandmiljøet blevet observeret i skaller og ørreder fra vandløb og søer i Århus amt. I 2001 undersøgte professor Poul Bjerregaard og medarbejdere fra Biologisk Institut på Syddansk Universitet i Odense de to fiskearter for forekomst

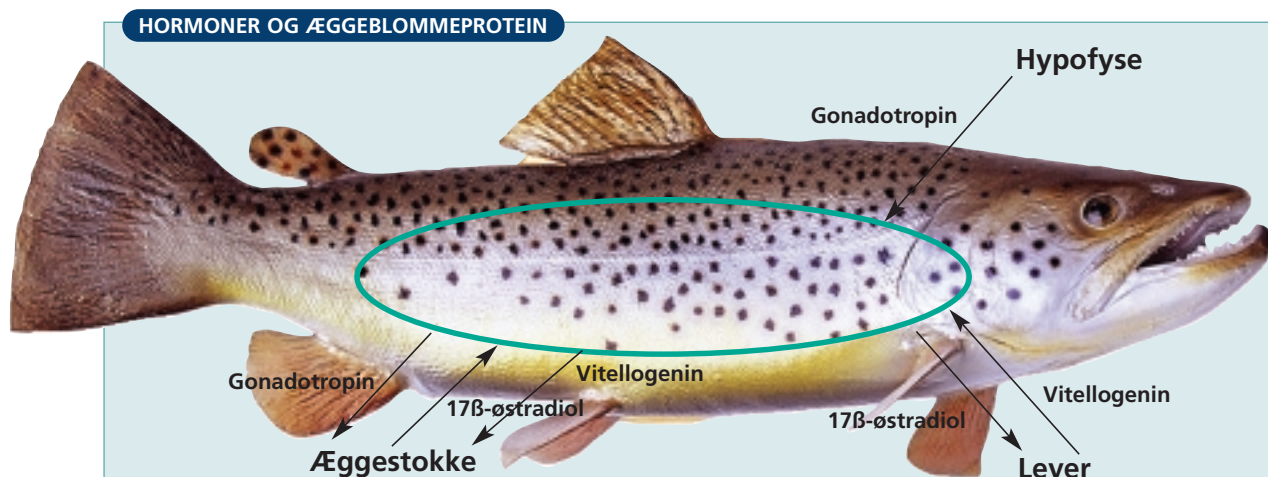
af ægproducerende celler og andre unormale kønstræk i hanfisk samt for tilstedeværelse af æggeblommemprotein i blodet. Forskergruppen fandt østrogenpåvirkede fisk, men i mindre omfang end i sammenlignelige studier i England.

De østrogene effekter fra udledning af spildevand til vandmiljøet har i nogle tilfælde været tilskrevet industrikemikalier med hormonlignende egenskaber såsom 4-alkylphenoler, der især stammer fra nedbrydning af sæbestoffer, som anvendes i industrien og husholdningerne. De pågældende sæbestoffer er alkylphenoethoxylater, som næsten ikke anvendes i Danmark mere.

I andre tilfælde har de østrogene stoffer i spildevand været steroidhormoner som 17α -ethinøstradiol, der stammer fra P-piller, og 17β -østradiol og østron, der er naturlige hormoner, som mennesker udskiller i urin. I udlandet er østrogenerne blevet fundet i rensat husholdningsspildevand i koncentrationer, der kan skade fisk.

Effektive danske anlæg?

Befolkningen og forbrugsmønstret af P-piller i Danmark er ikke væsentligt forskelligt fra andre europæiske lande, og



Når hunfisk danner æggeblommemproteinet vitellogenin til produktion af æg, sker det under hormonal kontrol.

Først fremstiller hypofysen en type hormoner, som kaldes gonadotropiner. Disse hormoner påvirker æggestokkene til at danne østrogen, som efter frigivelse til blodbanen optages i leveren. Her reagerer kønshormonet med østrogenreceptoren, hvilket sætter gang i leverens produktion af æggeblommemprotein.

Hanfisk, der ikke skal fremstille æg, danner derimod normalt ikke vitellogenin. Men da hanfisk bærer genet for østrogenreceptoren, vil

Illustrationen viser, hvordan hormoner styrer dannelsen af æggeblommemprotein hos fisk.

tilstedeværelsen af østrogen i hanfisk medføre, at de danner æggeblommemproteinet.

Hvis spildevand indeholder østrogen eller østrogenlignende stoffer, optages hormonerne i hanfisken, hvilket kan påvises ved at måle dannelsen af vitellogenin. Forskellige fiskearter har en forskellig følsomhed for dannelse af æggeblommemproteinet.

	Østrogen	Median	Min	Max	n
Canada	Østron	3	<1	48	10
	17 β -østradiol	6	<1	6	10
	17 α -ethinyløstradiol	9	<1	42	10
England	Østron	9	1	80	7
	17 β -østradiol	6	1	50	7
	17 α -ethinyløstradiol	0,25	<0,2	7	7
Holland	Østron	4,5	<0,5	47	6
	17 β -østradiol	0,9	<0,6	12	4
	17 α -ethinyløstradiol	<0,3	<0,2	7,5	6
Italien	Østron	9,3	2,5	82,1	30
	17 β -østradiol	1,0	0,35	3,5	30
	17 α -ethinyløstradiol	0,45	<0,3	1,7	30
Tyskland	Østron	9	<1	7 0	16
	17 β -østradiol	<1	<1	3	16
	17 α -ethinyløstradiol	1	<1	1 5	16
USA	17 β -østradiol	0,68	nd	3,7	8
	17 α -ethinyløstradiol	nd	nd	0,76	8
Århus amt	Østron	1,2	0,3	6,1	8
	17 β -østradiol	<1	0,6	2,5	8
	17 α -ethinyløstradiol	<1	<1	4,7	8
Storkøbenhavn	Østron	<1	<1	63	4
	17 β -østradiol	<1	<1	11	4
	17 α -ethinyløstradiol	6,3	4,9	7,0	4

Tabellen viser forekomsten af østrogener i spildevandsudløb fra rensningsanlæg forskellige steder i verden. Koncentrationerne er målt i nanogram pr. liter.

derfor skulle man forvente, at østrogener tilføres rensningsanlæg i Danmark i samme omfang som i resten af Europa. Det kan derfor undre, at man i Danmark ikke finder de samme markante effekter hos fisk som i f.eks. England. De mindre udtalte biologiske effekter hos fisk i Århus Amt kan måske forklares med, at spildevandsbelastningen her er mindre end i de undersøgte områder fra England. Desuden er det muligt, at danske rensningsanlæg fjerner østrogener mere effektivt end engelske, da der foretages mere avanceret rensning af spildevand i Danmark. For at efterprøve denne teori har vi analyseret indholdet af de to naturlige østrogene hormoner, 17 β -østradiol og østron, samt det syntetiske østrogen, 17 α -ethinyløstradiol, i rensset spildevand fra fire storkøbenhavnske rensningsanlæg.

Resultater fra København

Vi tog prøver af spildevand fra udløbet af de fire rensningsanlæg, der repræsenterede forskellige størrelser og design. Analyserne viste, at de to naturlige østrogene hormoner, som mennesker udskiller, fandtes i varierende koncentrationer fra under analysemetodens detektionsgrænse på 1 ng/l til henholdsvis 11 og 63 ng/l. Det syntetiske østrogen, der anvendes i P-piller, var tilstede i alle prøver i et snævert koncentrationsområde på mellem 5-7 ng/l. Blindprøver, som bestod af grundvand, gav ikke noget målbart signal af nogen af de tre østrogener. Generelt er de fundne koncentrationer i København højere end de koncentrationer, der blev påvist i undersøgelsen fra Århus Amt. Her var koncentrationen det syntetiske østrogen fra p-piller på op til 4,7 ng/l, mens de naturlige østrogener 17 β -østradiol og østron blev fundet i koncentrationer på op til henholdsvis 2,5 og 6,1 ng/l. De højere koncentrationer af østrogener i det rensede københavnske spildevand er mere i overensstemmelse med, hvad der tidligere er observeret i resten af Europa, end med resultaterne fra Århus Amt.

I England og Canada findes der højere koncentrationer af 17 β -østradiol end i Danmark. Det kan ifølge japanske undersøgelser skyldes, at biologiske rensningsanlæg med effektiv anaerob fjernelse af kvælstof kan nedbryde det naturlige østrogen. I flere af de københavnske rensningsanlæg fungerer kvælstoffjernelsen godt, og det kan derfor være en mulig forklaring på, hvorfor koncentrationen af 17 β -østradiol er lavere i Danmark end i England og Canada.

At der generelt finder langt højere koncentrationer af alle tre østrogener i København end i Århus Amt, kan skyldes årstidsvariationer. Fra engelske undersøgelser ved man, at koncentrationen af østrogenerne i spildevandet kan svinge en del fra det ene år til det andet. Desuden kan der være forskelle i rensningsanlæggenes konstruktion, og også målemetoderne kan betyde noget.

Fisk påvirkes

I en lang række laboratorieforsøg verden over har man undersøgt, hvilke doser af østrogener, som påvirker reproduktionsevnen hos fisk. En gennemgang af resultaterne for østron, 17 β -østradiol og 17 α -ethinyløstradiol viser, at de laveste koncentrationer, som giver statistisk signifikant effekt, er på henholdsvis 8, 0,5 og 0,03 ng/l.

Når man sammenligner disse data med de målte koncentrationer i ufortyndet spildevand fra de fire københavnske rensningsanlæg, er der ikke plads til sikkerhedsfaktorer, der normalt anvendes i miljørisikovurderingen: Vi må slå fast, at det behandlede spildevand i Storkøbenhavn kan forstyrre reproduktionsevnen hos fisk.

Derfor foreslår vi, at man gennemfører en tilbundsgående undersøgelse af de danske rensningsanlæg for deres evne til at nedbryde naturlige og syntetiske østrogener.

ANALYSE AF SPILDEVAND

Spildevandet fra de københavnske rensningsanlæg blev analyseret med en metode, som er udviklet af Thomas Ternes fra ESWE instituttet i Tyskland, hvor målingerne også blev udført.

Spildevandet blev inddelt i prøver af 1 kg, som hver blev tilsat 100 nanogram af det syntetiske østrogen 17 β -østradiol-acetat, der fungerede som kontrolstandard ved den efterfølgende ekstraktion af spildevandets indhold af østrogener.

Ekstrakterne blev inddampet og oprenset på silicakolonner og blev derefter analyseret ved hjælp af gaskromatografi-ionfældemassespektrometri. Analysen viste prøvens indhold af de to naturlige østrogener og det syntetiske østrogen fra P-piller. Som blindprøve for analyserne blev der anvendt grundvand.



Cand.scient. Henrik Andersen er ph.d.-studerende og videnskabelig medarbejder ved Institut for Analytisk Kemi.



Cand.scient. Anne Marie Jacobsen er ph.d.-studerende ved Institut for Analytisk Kemi.



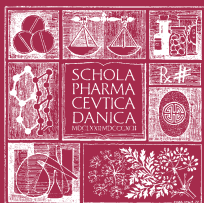
Cand.scient. Kristine Andersen Krogh er ph.d.-studerende og amanuensis ved Institut for Analytisk Kemi.



Ph.d. Flemming Ingerslev er adjunkt ved Institut for Analytisk Kemi.



Lic.pharm. Bent Halling-Sørensen er lektor ved Institut for Analytisk Kemi.



Lægemiddelforskning

udgives af Danmarks Farmaceutiske Højskole

Redaktion:

Mette Rasmussen (ansvarshavende), Jesper Munck
og Rolf Haugaard

Grafik/Illustrationer:

Henning Dalhoff (17, 21, 25, 28), Henning
Christensen (37), Martin Weile (11, 13, 18, 21) og
Jesper Munck (25)

Fotos:

Jesper Munck og Anne Sørensen (artikelforfattere)

Grafisk design og produktion:

ProGrafica as

ISSN 0905-0051

Danmarks Farmaceutiske Højskole

Universitetsparken 2
2100 København Ø
Tlf · 35 30 60 00
Fax · 35 30 60 01
E-mail · dfh@dfh.dk
Internet · www.dfh.dk