

Vpliv nanotehnologije na razvoj zdravil

Implication of nanotechnology on development of medicines

Julijana Kristl

Povzetek: Nanotehnologija ima velik vpliv na razvoj nanozdravil, ki predstavljajo pripravo bionanosistemov, ciljano dostavljanje učinkovin pa tudi tkivni inženiring, vključno z nanoelektronskimi biosenzorji. Izdelava, karakterizacija in vrednotenje zahtevajo nove sofisticirane metode, postopke in opremo, drugačno, kot smo jo poznali doslej. Predstavljen je kratek pregled trendov v nanotehnologiji in nanozdravilih, njihova implementacija in nekatere obetajoče tehnike, ki bodo temeljito spremenile naše predhodno razumevanje zdravljenja. Države po vsem svetu so pograbile priložnosti, ki jih ponuja nanotehnologija za pomemben prodor tako v raziskavah, inovacijah in trženju nanozdravil. Njihove strategije so prilagojene na dinamične in hitre spremembe, tako z vidika sodelovanja in konkurence. Posebno pozornost namenjajo toksikološkimi in regulatornim vidikom nanozdravil.

Ključne besede: nanotehnologija, nanozdravila, nanodelci, dostavni sistemi

Abstract: Nanotechnology has a significant impact on the development of nanomedicines, which represent formulation bionanosystems, targeting drug delivery and tissue engineering including nanoelectronic biosensors. Preparation, characterization and evaluation need new sophisticated methods, procedures and equipments, different from known before. A brief review of novel trends in the scope of nanotechnology and nanomedicine is presented, their implementation and some promising techniques, which could thoroughly change our previous understanding of healing. Countries around the world have seized on the opportunities offered by nanotechnology for significant breakthroughs in development, innovation and marketing of nanomedicine. Their strategies are adapted on dynamic, fast moving changes in view to collaboration and competition. Special attention is focused on toxicological and regulatory aspect of nanomedicine.

Keywords: nanotechnology, nanomedicine, nanoparticles, drug delivery

1 Uvod

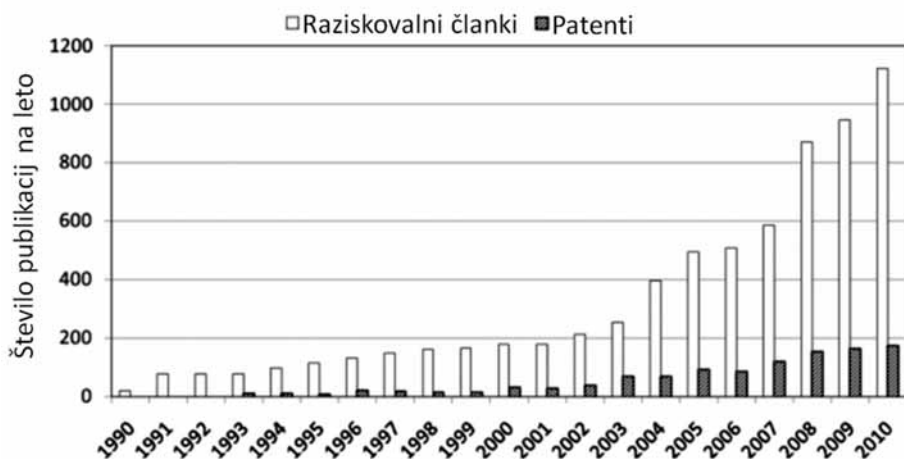
Napredek nanotehnologije je najbolj viden v zadnjih desetih letih, čeprav je prve izvirne ideje dal že leta 1959 Richard Feynman, eden največjih fizikov in Nobelov nagrajenec, pa tudi velik vizionar. V enem od svojih del je nekoč omenil tovarne, v katerih naj bi nanostroj izdelovali kompleksne produkte, med drugim tudi nove nanostroje (1). Ta ideja predstavlja osnovo za vpeljavo pojma »nanotehnologija« v znanstvene vode. O tem je kasneje obširno pisal Eric Drexler v svojih priljubljenih knjigah *Engines of Creation*, 1986 (2), in v *Nanosystems: Molecular Machinery, Manufacturing, and Computation*, 1992 (3). Najbolj podrobna teoretična razprava o nanostrojih, vključno s specifičnimi vprašanji, kot so zaznavanje, moč komunikacije, navigacija, manipulacija, gibanje in računanje, je predstavil Robert Freitas v treh knjigah *Nanomedicine* v letih 1998 in 1999 (4, 5). Freitas je videl prednosti in zmožnosti molekularnih strojev in implementacijo le teh na področje medicine in sorodnih znanosti, ter že znano na področju nanotehnologije predstavil v povsem novi luči.

Rast števila znanstvenih objav in patentov na področju nanotehnologije farmacevtskih oblik za zadnje desetletje je prikazana na sliki 1. Presenetljivo je, da so kreirali več kot 64 novih znanstvenih revij, ki so ekskluzivno posvečene nanopodročju (tabela 1). Revija *Nano Letters* je bila lansirana v letu 2001, *Small* 2005, *Nature Nanotechnology* v 2006,

ACS Nano v 2007 itd. Po letu 2004 tvorijo tovrstne revije s faktorjem vpliva samostojno skupino »nanoznanost in nanotehnologija«. Razen tega so bili v zadnjem desetletju ustanovljeni veliki raziskovalni inštituti, pripravljene študijski programi na vseh treh stopnjah univerzitetnega izobraževanja in razpisani številni veliki in majhni projekti širom sveta. Upošteva napredek v razvoju in inovacijah v sorodnih strokah farmacevtskih znanosti (molekularni in celični biologiji, proteomiki, genetiki, toksikologiji, bioinženiringu, bioinformatiki, naprednih materialih in raziskavah na mejnih površinah), predstavlja osnovo za identificiranje novih izzivov, temelječih na molekularnem prepoznavanju, genomskih informacijah in »omics« udejanjanju, ki so dokaj realni v bližnji prihodnosti, še posebej, ker je obetajoč napredek v ključnih inženirskih tehnologijah za izvedbo idej (6,7).

2 Nanoznanost in nanotehnologija

Nanoznanost je veda o proučevanju zgradbe in dinamike materialov na atomskem in molekularnem nivoju (8). *Nanotehnologija* udejanja nastanek in uporabo funkcionalnih materialov, naprav in sistemov z novimi funkcijami in lastnostmi, ki temeljijo bodisi na velikosti ali na specifičnih posebnostih nanostruktur (8,9). S poznavanjem metod za mikromanipulacijo atomov in molekul je možno zgraditi nove spojine, naprave in stroje s povsem novimi lastnostmi in novimi uporabnimi



Slika 1: Število znanstvenih objav in patentov s področja nanotehnologije dostavnih sistemov učinkovin v zadnjih dvajsetih letih

možnostmi v primerjavi z istimi materiali večjih dimenzij. Nanotehnologija je zelo raznolika. Ukvarja se z razvojem materialov, naprav ali drugih izdelkov, ki imajo vsaj eno dimenzijo v velikosti od 1 do 100 nanometrov in kjer se izražajo tudi kvantno-mehanski pojavi.

O prihodnosti nanotehnologije obstaja veliko razprav. Z nanotehnološkimi procesi lahko ustvarimo veliko novih materialov in naprav s še večjo paleto aplikacij v medicini, elektroniki, na področju biomaterialov, proizvodnje energije in drugje. Po drugi strani pa se na račun nanotehnologije postavljajo številna vprašanja, tako kot so se vse nove tehnologije, vključno z vprašanji o toksičnosti in vplivu nanomaterialov na ljudi in okolje ter o možnih posledicah za svetovno ekonomijo, pa tudi špekulacije o različnih črnih scenarijih. Ti pomisleki so pripeljali do razprave med zagovorniki skupin in vlad o tem, ali je potrebna posebna zakonska ureditev nanotehnologije (10).

Tabela 1: Naslovi najodmevnejših revij v skupini »nanoznanost in nanotehnologija« v letu 2011

	Ime revije
1	Nature Nanotechnology
2	Nano Letters
3	Nano Today
4	Advanced Materials
5	ACS Nano
6	Advanced Functional Materials
7	Small
8	Lab on a Chip
9	Nanomedicine
10	Biosensors & Bioelectronics
11	Nano Research
12	Internat. Journal of Nanomedicine
13	Nanomedicine-Nanotechnology, Biology and Medicine
14	Journal of Physical Chemistry C
15	Biomicrofluidics
16	Nanotoxicology
17	Nanotechnology

Z odkritjem mikroskopa na atomsko silo, ki omogočajo spremljanje zgradbe, karakterizacijo in izdelavo posameznih nano elementov, kot tudi

vedno večji vpogled v samoorganizacijo teh struktur, se je pričel viden nanotehnološki razvoj. Nanotehnologija je trenutno najbolj v razmahu v računalništvu, na področju pridobivanja energije in materialov, saj je potreba po teh izdelkih vedno večja, le-ta pa potiska meje izdelave v vedno manjše dimenzije. Pri tem ni zanemarljivo dejstvo, da na teh področjih dolgotrajne študije klinične učinkovitosti in toksičnosti niso nujne. Hitrost tržnih inovacij je privedla do stanja, ko so teoretične osnove še v fazi raziskav, medtem ko so prve skupine proizvajalcev in zdravil že na svetovnih trgih ali v kliničnem testiranju (11, 12).

3 Nanomedicina in nanozdravila

Izraz *nanomedicina* uporabljajo danes za različne namene in ni nedvoumne definicije. Dejstvo je, da je znanstveno in tehnološko podskupina nanotehnologije, ki uporablja različne pristope, metode, orodja in sisteme (nanorobote, biočipe, nanozdravila) za nadzor in manipuliranje na nivoju nanometra oz. reda velikosti molekul in atomov, z namenom diagnosticiranja, zdravljenja in preprečevanja bolezni (13, 14). Področje nanomedicine se razvija v dveh smereh, prva je razvoj natančno nadzorovanih ali programiranih medicinskih nanonaprav in nanorobotov (medicinska nanotehnologija) in druga razvoj nanozdravil in medicinskih pripomočkov, kamor sodijo tudi diagnostična sredstva. Medicinska nanotehnologija pokriva vse druge poti, po katerih nanotehnologija vpliva na zdravje, predvsem vse tisto, kar povezuje informacije in komunikacijske tehnologije v diagnostična orodja in spremljanje zdravja. Ta vrsta medicinske nanotehnologije lahko sproži temeljito prestrukturiranje odnosov med zdravniki, bolniki in bolnicami. Takšen razvoj je verjetno mogoče izpodbijati, in pozivajo k razpravi o njihovih etičnih in družbenih posledicah (15).

Nanozdravila (nanomedicine) so kompleksni sistemi z velikostjo od nekaj do več sto nanometrov, ki so sestavljena najmanj iz dveh komponent od katerih je ena aktivno delujoča sestavina, ki določa namen in funkcijo sistema (16,17,18). Nanosistemi so lahko vključeni v mikro ali makrosisteme, ali kar v biološko okolje(19). Težišče je vedno na nanointerakcijah bodisi v okviru večjih sistemov ali biološkem okolju celic in njenih organel ali encimov. Cilji nanomedicine je spremljanje, nadzorovanje, varovanje, izboljšanje in popravljanje bioloških sistemov na nivoju molekul z uporabo nanosistemov/nanozdravil z namenom, da

se doseže želeni klinični izid (20). Predstavlja stičišče različnih strok, ki se povezujejo v smislu razvoja:

- analiznih in diagnostičnih metod in tehnik
- lastnosti nanomaterialov, pripomočkov in sistemov
- novih terapevtikov in dostavnih sistemov
- boljšega razumevanja patofizioloških procesov bolezni in zdravljenja
- klinične uporabnosti nanoterapevtikov ter
- regulative in toksikologije.

V povezavi z raziskavami nanozdravil najpogosteje krožijo izrazi kot so *teranostiki* (21) (to so zdravila, ki vsebujejo učinkovino in diagnostično sredstvo hkrati v nanodelcu), *ciljano dostavljanje učinkovin* (19, 26) in *regenerativna zdravila*. Cilji, povezani s temi izrazi so terapevtsko bolj učinkovita in individualizirana zdravila (22, 42). Od njih ne moremo pričakovati, da bi povzročila revolucijo medicine, lahko pa njen napredek. Nanozdravila bodo prispevala k zdravljenju določenih bolezni, povečala bodo biološko uporabnost določenih učinkovin, prispevala k izboljšanju slikovnih tehnik in drugih diagnostičnih orodij.

Po vseh teh novostih se lahko vprašamo, kaj ločuje rezultate nanotehnoloških raziskav od temeljnih raziskav interakcij atomov in molekul, ki so že stoletje tradicionalno raziskovalno področje in ali je še vedno potrebno? Odgovor je v različni jakosti in vrsti interakcij, ki so posledica bistveno drugačnih lastnosti novih nanostrukturiranih materialov, pridobljenih po nadzorovani pripravi na atomski in molekularni ravni.

Kaj pa podskupina nanotehnologije, nanomedicina? Kako se nanomedicinske raziskave ločijo od tradicionalnih medicinskih raziskav, ki so jih znanstveniki opravljali desetletja ali več nazaj? Bistvena razlika je v tem, da se bolezenski dogodki raziskujejo z vidika procesov in mehanizmov na nanonivoju, čemur ustrezno sledi zdravljenje. Ali drugače, enostavneje, uvajanje natančnejših slikovnih in biokemičnih tehnik, uporaba novih zdravil in pripomočkov s ciljem uvajanja preiskav in terapij, ki bodo učinkovitejše in prijaznejše za uporabnika.

4 Nanotehnologija v dostavljanju učinkovin in tkivnem inženirstvu

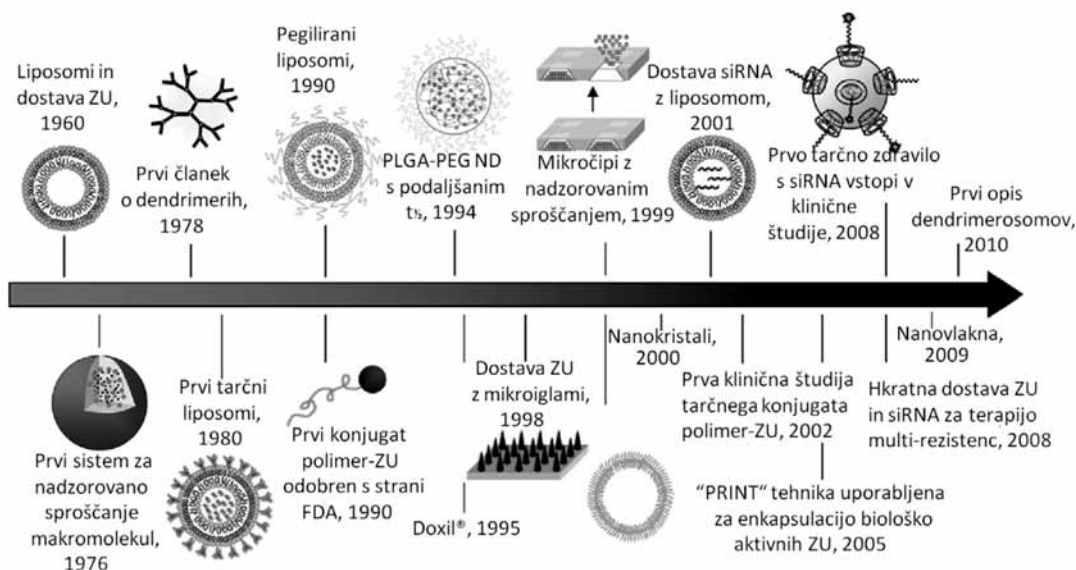
Nanotehnologija ima vse večji vpliv na oblikovanje dostavnih sistemov (7, 22). Danes znane različne vrste nanodelcev (ND), ki so v razvojni fazi ali se že uporabljajo za zdravljenje so navedene v tabeli 2. ND so lahko iz različnih materialov in vsaka skupina ima edinstveno arhitekturo (slika 2) (22). Primarni podatki ND za klinično uporabo so velikost in oblika, biokompatibilnost, zadržano sproščanje, pa tudi njihov vstop v celice in mehanizem biološke razgradnje (23-30). ND lahko penetrirajo skozi biološke bariere, celo skozi krvno-možgansko bariero, skozi odprtine majhnih kapilar v posamezne celice, ali pa tudi ne, če niso dovolj majhni in ustreznih lastnosti. Pri izdelavi in uporabi ND je potrebna velika pozornost za varnost in toksičnost. Poseben pomen moramo posvetiti toksičnosti praznih delcev. V primeru počasi razgradljivih ali nerazgradljivih ND lahko opazimo odlaganje na enem mestu, ki na koncu rezultira v kroničnem vnetnem odgovoru. ND imajo kvalitativno različne lastnosti od večjih delcev iz istega materiala, kar lahko vodi do spremenjene porazdelitve po telesu, prehajanja skozi BBB, lahko sprožijo hemolizo ali koagulacijo krvi in drugo. Obloženi ali neobloženi ND težijo k zbiranju v jetrih in vranici, zato je pomembno, da natančno proučimo mehanizem distribucije in izločanja iz telesa (31).

Prednosti nanodelcev

- povečajo vodotopnost učinkovine pod 100 nm velikosti delcev
- zaščitijo učinkovino pred razgradnjo
- zagotovijo podaljšano sproščanje
- izboljšajo biološko uporabnost učinkovin
- zagotovijo ciljano dostavljanje učinkovin,
- zmanjšajo toksične vplive učinkovin
- nudijo ustrezno obliko za vsakvrsten način dajanja

Tabela 2: Primeri različnih nanodelcev, kot dostavnih sistemov za zdravilne učinkovine

Vrsta	Opis
Liposomi 120-250 nm	Lipofilni dvosloj, hidrofilna notranjost in modificirana površina; poznane so 4 generacije liposomov, ki se razlikujejo predvsem po površinskih skupinah. Možnost vgrajevanja hidrofilnih, lipofilnih ali amfifilnih učinkovin
Dendrimeri 2-10 nm	So simetrično razvejani polimeri z velikim številom perifernih funkcionalnih skupin, ki omogočajo lažjo pripenjanje ligandov, fluorescentnih barvil ali učinkovin.
Polimerni nanodelci 20-400 nm	Najpogostejši nano-dostavni sistemi, so izjemno raznoliki po sestavi in funkcijah. Učinkovino lahko vgradimo v jedro, ali na mejno površino z adsorpcijo ali s kovalentnimi vezmi. Površina nanodelcev lahko vsebuje hidrofilne polimere, pripete različne ligande in druge skupine.
Kvantne pike 2-10 nm	Običajno se uporabljajo kot diagnostična sredstva, za dostavo ZU, so multifunkcionalni, primerni za termično ablacijo po laserskem vzburjenju
Ogljikove nanocevčice 0,4-3 nm x 2-100 nm	Predstavljajo novo obliko ogljika. So inertne, biološko nerazgradljive in težko topne. Na površino lahko pripnemo različne ligande, da povečamo njihovo funkcionalnost. Funkcionalizirane ogljikove nanocevčice lahko <i>in vivo</i> delujejo kot inertni bio-konjugati
Lipoproteini	Biokompatibilni kompleksi protein-lipid, ki omogočajo dostavo hidrofobnih ZU do tarčnega tumorja, z minimalno toksičnostjo
Polimerni miceli 20-250 nm	So primer samo-asocirajočih blokovnih polimerov ali konjugatov polimer-učinkovina, ki tvorijo velike micle in ob tem vgradijo učinkovino
Nanovlakna premer od nekaj 10 do 1000 in teoretično neomejene dolžine	Trdna vlakna, za katere je značilna relativno velika površina na enoto mase, majhna velikost por, večja prožnost in mehanska trdnost v primerjavi s katerokoli obliko istega materiala večjih dimenzij. Njihova uporabnost v biomedicini se kaže kot razvoj tkivnih nadomestkov, sodobnih oblog za celjenje ran in dostavnih sistemov za vnos zdravilnih učinkovin.

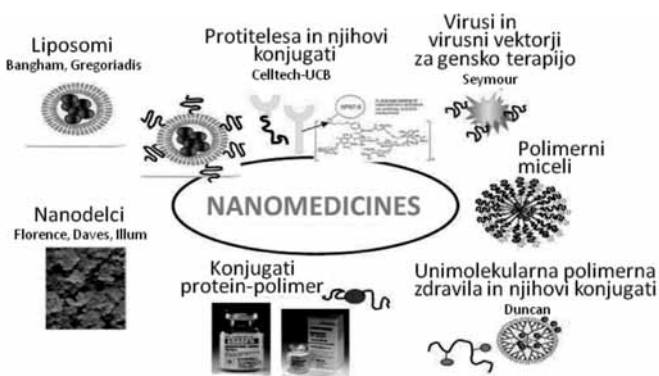


Slika 2: Nekateri mejniki v zgodovini nanodostavnih sistemov učinkovin

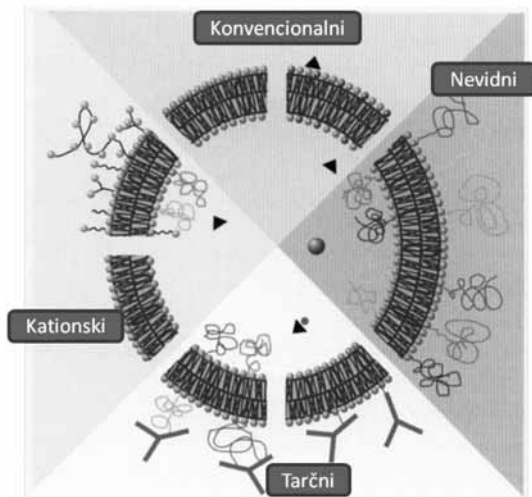
Nekatere biotehnoško pridobljene učinkovine, kot so peptidi, proteini in nukleinske kisline, imajo mesto delovanja znotraj celic, zato morajo prispeti tja, da dosežejo farmakološki učinek. Zaradi omejene permeabilnosti in stabilnosti biofarmaceutikov, je za učinkovito dostavo potrebno vgrajevanje v specializirane dostavne sisteme (DDS), usmerjene na mesto delovanja. DDS za ciljanje v organ, tkivo ali celice je tema intenzivnih raziskav številnih raziskovalcev (slika 3). Izvedljivost in potencialna učinkovitost tega pristopa še nista popolnoma jasni, zahtevajo razvoj novih DDSs, kot na primer funkcionaliziranih nanodelcev s posebnimi usmerjevalnimi ligandi in njihovo podrobno *in vitro* in *in vivo* karakterizacijo, pa tudi varnost (slika 4) (26, 32). Varno in ciljano dostavljanje bo izboljšalo prihodnost že nekaterih znanih učinkovin na trgu, še več, imelo bo implikacije na razvoj novih terapevtskih pristopov. V farmacevtsko biotehnoškem sektorju predstavljajo nanodelci izboljšanje ali celo rešitev terapevtskega indeksa novim in prihajajočim vrstam biotehnoških produktov, kot so rekombinantni proteini in oligonukleotidi. Nanodelci odpirajo nove terapevtske možnosti za učinkovine, ki sicer nebi mogle biti učinkovito uporabljane v konvencionalnih farmacevtskih oblikah zaradi majhne biološke uporabnosti in nestabilnosti. Samo nanotehnoški pristopi omogočajo, in bodo v prihodnosti še bolj, uresničevanje želja in izdelavo novih, biodozivnih DDS (slika 5) in s tem neposredno korist ne le za bolnika, pač pa tudi za gospodarstvo in družbo v celoti (31, 33).

Prve uporabne aplikacije nanosistemov so bile namenjene zdravljenju rakavih tumorjev ali hkrati za identifikacijo in uničenje rakavih celic (11). Nove raziskave, ki se bodo na področju nanozdravil še stopnjevale so usmerjene v nanozdravila proti raku, proti znotrajceličnim patogenom (bolezni tuberkuloza, hepatitis, HIV/AIDS), za zdravljenje nevroloških motenj in s tem dostavljanje v možgane, dostava v vnetna področja, aktivno ciljanje s protitelesi in podpora regenerativni medicini (34-40). Zadnji tehnološki napredek v nanotehnologiji in nanomedicini je vzporeden z odkritji in napredkom farmakogenomike, kar daje temelje za osebna zdravila (personalized medicine), kot nova usmeritev za zdravljenje z zdravili (41) (slika 6). Skratka, nerešene zdravstvene težave čakajo na nanomedicinske rešitve.

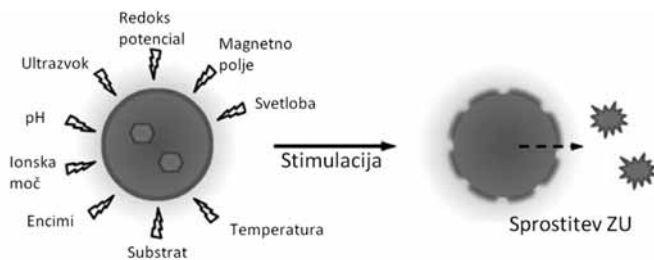
Diagnostične nanonaprave bodo uporabne za spremljanje notranjega biokemijskega stanja telesa. Mobilni nanoroboti, opremljeni z brezžičnimi oddajniki, bi zaradi svoje majhnosti lahko krožili v krvi in limfnih žilah in oddajali opozorila, ko pride do kemičnih neravnovesij ali sprememb. Torej, v prihodnosti se od nanotehnologije pričakuje, da bi nanoroboti po injiciranju opravili delo na celičnem nivoju, nanozdravila pa izboljšala tiste specifične lastnosti, ki jih s klasičnimi farmacevtskimi oblikami ni moč doseči (povečanje hitrosti raztapljanja, biološke uporabnosti, ciljano dostavo učinkovin in drugo), kar je obširno prikazano v naslednjih dveh prispevkih Farmaceutskega vestnika (11, 12). Danes so pogosto škodljivi stranski učinki zdravljenja s citostatiki rezultat načina sproščanja učinkovin, ker ne prispejo do obolelih ciljnih celic, kar pa rešimo, če jih vgradimo v nanodelce.



Slika 3: Shematski izgled in primeri nanozdravil



Slika 4: Možnosti za spremembo površine liposomov in doseganje specifičnih lastnosti. Enak princip lahko uporabljamo tudi na drugih vrstah nanodelcev. Konvencionalni liposomi so na površini prazni, nevidni liposomi so sterično stabilizirani z molekulami PEG in jih makrofagi v krvnem obtoku ne prepoznajo, tarčni imajo PEG verige in ligande za ciljno vezavo na specifično mesto na celicah in kationski, ki imajo pozitiven naboj in omogoča vgraditev dezoksiribonukleinske kisline.

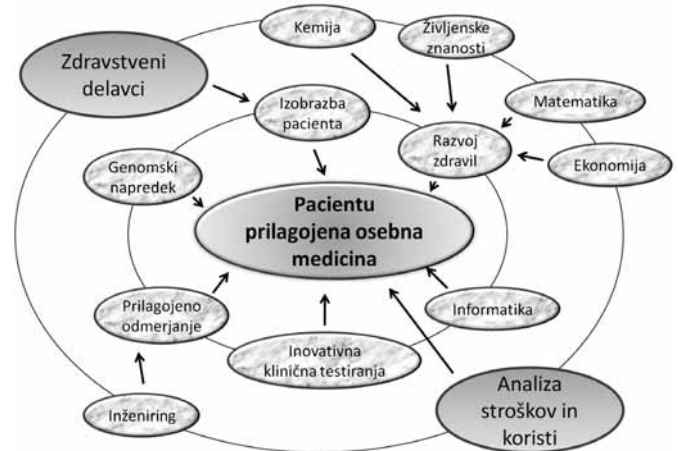


Slika 5: Primer nanodelca, ki se odziva na šibke dražljaje iz okolja in sprošča učinkovino

5 Nanovlakna v regenerativni medicini

Tkivno inženirstvo, imenovano tudi regenerativna medicina, je obetavno multidisciplinarno področje, katerega osnovni cilj je razvoj in izdelava biokompatibilnih tkivnih nadomestkov, ki v kombinaciji z živimi celicami in/ali bioaktivnimi molekulami obnavljajo, nadomeščajo, ohranjajo ali zdravijo poškodovane celice ali tkiva ter spodbujajo fiziološke procese regeneracije. Osnovna ideja je pripraviti nosilec iz biomaterialov v obliki prizadetega tkiva ali organa, nanj naseliti avtologne pacientove celice, ki naj bi tvorile celične elemente in elemente zunajceličnega ogrodja, nato pa celoten sistem implantirati v telo (22). Po drugi strani pa je v regenerativni medicini za zdaj v prednosti strategija, ko gre za aplikacijo samega poroznega tridimenzionalnega nadomestka, ki posnema naravno zunajcelično ogrodje (ECM). Ob poškodbah ali različnih patoloških stanjih namreč pride do sprememb ECM in celic, ki se morajo

v procesu regeneracije obnoviti. Pogosto se zgodi, da je obnova ECM okrnjena ali motena. Prav v takšnih primerih je smotno uporabiti tkivne nadomestke, ki posnemajo naravni ECM, saj je smiselno pričakovati, da tkivo slednjega sprejme kot svoje in spodbudi lastno obnovo. Najobetavnejši primer analogov ECM so nanovlakna, ki s svojo vlaknasto nanometrsko strukturo posnemajo fibrilarne elemente ECM na najbolj pristen način (42, 43, 44) in številne druge.



Slika 6: Znanstveni, ekonomski in strokovni dejavniki, ki vplivajo na razvoj osebnih zdravil

6 Nove tehnike v nanotehnologiji

V zadnjem desetletju so razvili številne nove tehnike, ki omogočajo izdelavo, vrednotenje in udejanjanje novih idej na nanonivoju.

Bionanorobotika je nastajajoča podskupina nanotehnologije s ciljem inženirskega oblikovanja nanorobotov. Natančneje, nanorobotika je načrtovanje in izgradnja nanorobotov, torej naprav v velikosti od 0.1-10 mikrometrov, sestavljenih iz kovinskih delcev ali tudi bioloških komponent postavljenih na nanorazdaljah. Takšni programirani in nadzorovani nanoroboti bodo omogočili zdravnikom samodejno izvedbo terapevtskih in rekonstruktivnih postopkov v človeškem telesu na celični in molekularni ravni (45). Za opis tovrstnih nanonaprav se trenutno v raziskavah in razvoju uporabljajo različni izrazi - nanoids, nanorobots, nanites ali nanomites.

Danes so že znani tudi primeri nanosenzorjev, ki predstavljajo tehnične inovacije, kot na primer sprehajajoč nanotermometer v obliki fluorescentnih nanodelcev, ki vstopijo v celico z endocitozo, se vključijo v kisle organele, potujejo po mikrotubulih in prikazujejo temperaturne spremembe (46), biočipi za določen namen (47), imuno senzor za hitro diagnozo tuberkuloze (48, 49,50) in številne druge.

S pojavom nanotehnologije je mikrofluidika doživela korenite spremembe, ki zajemajo vse večje področje nanofluidikov. Prav slednje je pomembno z vidika izdelave »pametnih DDS« in analiznih možnosti. Nedavno so razvili mikrofluidne tehnike za spremljanje celic. Cilj teh mikro- ali nanofluidnih sistemov je posnemanje in vivo mikrookolja in občutljivo merjenje bioloških odzivov. Z ugodnimi lastnostmi, kot so

optična preglednost in sposobnost za avtomatizacijo protokolov, lahko gojijo različne vrste celic in jih spremljajo v realnem času, ter s tem sistematično raziskujejo njihovo rast, delitev, morfologijo in funkcije v dobro nadzorovanih pogojih kot odgovor na različne dražljaje (51, 52). Biomikrofluidika, predstavlja veliko različnih aplikacij do tkivnega inženirstva in celične biologije. Popolna integracija bioloških sestavin z elektrokemijskimi senzorji na čipih je ključnega pomena pri razvoju mikronaprav za analizo celic. V prihodnje se bodo Biomicrofluidics z Biosensorji naprave uporabljale za spremljanje odzivov celic na patogene, za preučevanje vnetnega ali drugih odgovorov, ali celo medcelično signalizacijo v celičnih kulturah, pač odvisno od senzorjev. Torej za najrazličnejše namene, kot so farmakološki ali toksikološki odziv, proučevanje mehanizmov bolezni ali zdravljenja, vedno pa ob minimalnih količinah reagentov in obremenjevanja okolja (51 - 54).

7 Regulativni in toksikološki vidik nanodelcev

Življenji cikel vsakega zdravila je proizvodnja, distribucija in transport, vnos in zdravljenje (farmakološki učinki, stranski učinki), klinična varnost in odpad. Uporaba v kliniki zajema le določene faze cikla nekega zdravila, medtem ko toksikološki vidik zajema vse stopnje. Dejstvo je, da zahtevata klinična preizkušanja in epidemiologija nanodelcev drugačne pristope kot so znani in preizkušeni pri klasičnih zdravilih, kar zahteva posebno načrtovanje in izvedbo. Predvsem je nujen zgodnji, odprt dialog med znanstveniki, kliniki, toksikologi in regulatornimi organi.

Glavna značilnost nanosistemov (tja do 1000 nm) ki se razlikuje od sistemov večjega reda velikosti je, da ti izkazujejo popolnoma drugačne fizikalne, kemijske in biološke lastnosti. Gre za velikostni razred samih biomolekul, ki so osnova naravnih procesov, zaradi česar je klinična uporabnost ogromna. Vrednost nanozdravil je tako v specifični zgradbi vse do molekularnega nivoja, kot tudi v mehanizmu delovanja (55).

Pred prihodom na trg morajo vsa zdravila, tudi nanozdravila, skozi stroge preskuse, da zadostijo zakonskim predpisom. Nanozdravila pa zaradi nanometrskih velikosti zahtevajo še dodatna testiranja, zlasti testiranje toksičnosti in varnosti. To naj bi potekalo vzporedno že v fazi raziskav in razvoja. Tako se mora toksikologija vključiti v vse cikle razvoja razvojne faze nanozdravila: od proizvodnje, preko predklinike in klinike, skozi obdobje uporabe do odpada in emisije v okolje. Proces je potrebno bolj natančno ovrednotiti v smislu toksičnih učinkov nanodelcev, ki pridejo v okolje kot polutanti ali kot proizvod v oblikovanju nanozdravil.

8 Od nanotehnologije skozi nanoindustrijo do nanozdravil

Pri raziskavah na področju nanotehnologije so tri osnovne potrebe: močna potreba po ustvarjanju novih konceptov z združevanjem različnih raziskovalnih področij, potreba po intenzivnem delu, usmerjenem proti točno določenim ciljem in potreba po tesnem sodelovanju med raziskovalci pod močnim vodstvom. Poleg nanotehnologije, materialov in proizvodnih postopkov se vključujejo tudi področja kot so informacijske tehnologije, naravoslovne znanosti, standardi ter metodologije in okoljevarstvena iniciativa, ki združuje raziskovalce iz različnih disciplin, torej tudi tiste zunaj področij nanotehnologije. Prav zato omogočajo razvoj popolnoma novih pristopov in postopkov z velikimi razvojnimi in

ekonomskimi možnostmi, ne le na področju zdravil, pač pa skoraj za vse veje zdravstvene dejavnosti (56, 57).

Industrija bo lahko izkoristila nova odkritja na področju nanotehnologije le, če ji bo uspelo združiti obstoječo mikro-elektroniko in mikro-tehnologijo (microfluidics) s specifičnimi zahtevami s področja nanozdravil. Če želimo zagotoviti ugodno okolje za razvoj nanoindustrije, se ne moremo več zanašati na obstoječe raziskovalne strukture in opremo, pač pa se je potrebno soočiti z dejstvi, da so procesi kompleksnejši, inovacije zahtevnejše, pogosto nezadostno znanje v razvojno raziskovalnih skupinah in večji stroški za raziskovalno in proizvodnjo opremo.

Področje trenutno predstavlja globalni izziv, kajti priča smo neštetim raziskavam priznanih inštitutov in univerz po vsem svetu, pa tudi državnim finančnim spodbudam in poslovnim pobudam privatnega ali privatno-javnega partnerstva, še posebej na nanomedicinskem področju. Odprta ostajajo vprašanja, katere vrste poslovnega modela najbolj ustrezajo tem podjetjem in strategije, ki bi jim omogočile trajnostno rast, ko bi uspešno prišli na trg, dosegli zadovoljivo tržni delež in gradili oz. vzdrževali konkurenčno prednost (58).

Izbor konkurenčnih dostavnih sistemov nanometrskih velikosti za ciljanje, raztapljanje ali privzem v tarčne celice je ključnega pomena za napredek zdravljenja. Klinične koristi nanozdravil, ki so povečana učinkovitost in varnost, morajo prevladati nad njihovim daljšim časovnim obdobjem razvoja, povečanimi stroški za razvoj in raziskave ter tudi tveganja v primerjavi z alternativnimi možnostmi zdravil (standardne tehnologije, materiali in farmacevtske oblike). Viden je napredek v novih indikacijskih področjih in trženju, ki je izrazito konkurenčno.

9 Prihodnost nanozdravil

- Uporaba tistih, ki so že v klinični rabi se bo stopnjevala v naslednjih letih (nanozdravila za zdravljenje raka, virusov, arterioskleroze, kroničnih pljučnih bolezni, diabetesa)
- V naslednjih 10 letih se pričakuje uporaba tistih, ki so v fazi kliničnih testiranj (za gensko zdravljenje, tkivno inženirstvo, tkivno/celično zdravljenje)
- Razvili bodo nano-pripomočke za vnos učinkovin, nova diagnostična sredstva pa tudi nanoelektronske biosenzorje

10 Zaključek

Trenutno smo v obdobju, ko se piše zgodovina o nanotehnologiji, interdisciplinarno področje nanomedicina pa se razvija hitreje kot so pričakovali. Obseg znanja se veča, prav tako raste nabor materialov, analizičnih metod, predpisov in izdelkov. Raziskovalci iz različnih znanstvenih disciplin se tako ali drugače ukvarjajo z nanodelci in drugimi oblikami nanozdravil, bodisi s sintezo materialov bodisi z učinki, ki jih doslej nismo poznali, saj tako majhnih struktur ni bilo možno proučevati. Argumenti, ki bodo pri izboru in izdelavi nanozdravil prevladali, bodo temeljili predvsem na stroških izdelave, varnosti materiala za človeka in okolje, pa tudi možnostih za prenos v industrijo in ceno, ki jo bo mogoče doseči na trgu.

Po vsem svetu so okrepili raziskovalna prizadevanja, pa tudi farmacevtska industrija je spoznala uporabnost nanotehnologije za razvoj zdravil, kot eno od obetavnih perspektiv. Poleg tega, v primerjavi z letom prej, je

področje nanomedicine precej povečalo interes investitorjev in zato prejema pozornost širše družbe. Dejansko je prepletanje med industrijo, akademskim svetom, politiko in regulatornimi organi spodbudno za razvoj nanomedicinskega področja v korist bolnika in družbe v celoti.

11 Zahvala

Pregledni članek je bil pripravljen v okviru projektov P1-01810 in J1-4236, ki jih finančno podpira Javni agenciji za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije.

12 Literatura

- Feynman R. Leighton, R. (contributor). Surely You're Joking, Mr. Feynman!: Adventures of a Curious Character, Richard Feynman. Edward Hutchings (editor), W.W. Norton. 1985
- Drexler K. Engines of Creation. In: Anchor Books, 1986, 65.
- Drexler K.E. Nanosystems: Molecular Machinery, Manufacturing, and Computation. Wiley, 1992: 125
- Freitas, R.A. Nanomedicine, Volume I, II, III: Basic capabilities. Austin, TX : Landes Bioscience, United States, 1999.
- Freitas, R.A. Exploratory Design in Medical Nanotechnology: A Mechanical Artificial Red Cell, Artif Cells Blood Subtit Immobil Biotech 1998; 26: 411-430
- Merkle RC. Nanotechnology and medicine. Adv Anti Aging Med 1996; 7: 277-286
- Shah V. et. al. The Pharmaceutical Sciences in 2020. Pharm Res 2010; 27: 396-399
- Hornyak GL et. al. Introduction to Nanoscience, CRS Press, 2008
- Lajos P. Balogh Why do we have so many definitions for nanoscience and nanotechnology? Nanomed-Nanotechnol 2010; 6: 397-398
- Bogunia-Kubik K. et. al. From molecular biology to nanotechnology and nanomedicine. Biosystems 2002; 65: 123-138
- Kocbek P. Novosti na področju farmaceutske tehnologije. Farm Vestn 63, 2012; 75-81.
- Cegnar M. Nanozdravila. Farm Vestn 63, 2012; 75-81.
- Freitas R.A. What is nanomedicine? Nanomed-Nanotechnol 2005; 1: 2-9
- www.nanobio-raise.org
- Catherine S. Nanomedicine transforms drug delivery. Drug Discovery Today 2005; 10: 1581-1582
- Farokhzad OC et.al. Nanomedicine. Adv Drug Del Rev 2006; 58: 1456-1459
- Challa S. et. al. Nanomaterials for Medical diagnosis and therapy, Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, 2007.
- Sahoo SK et. al. The present and future of nanotechnology in human health care. Nanomed-Nanotechnol 2007; 3: 20-31
- Mishra B. et. al. Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. Nanomed-Nanotechnol 2010; 6: 9-24
- Tibbals HF. Medical Nanotechnology and Nanomedicine, CRS Press, 2011
- Jin Xie, Seulki lee, Xiaoyuan Chen. Nanoparticle-based theranostic agents. Adv Drug Del Rev, 2010; 62: 1064-1079
- Jinjun S. et.al. Nanotechnology in Drug delivery and Tissue Engineering: from discovery to applications. Nano Lett 2010; 10: 3223-3230
- Nataliya M. et. al. Flipsomes: pH-Sensitive Liposomes Containing a trans-2-morpholino-cyclohexanol-Based Lipid That Performs a Conformational Flip and Triggers an Instant Cargo Release in Acidic Medium. Pharmaceutics 2011; 3: 379-405
- Kocbek P. et. al. Preparation and evaluation of nanosuspensions for enhancing the dissolution of poorly soluble drugs. Int J Pharm 2006; 312: 179-186
- Cegnar M. et. al. Intracellular delivery of cysteine protease inhibitor cystatin by polymeric nanoparticles. J Nanosci Nanotechnol 2006; 6: 3087-3094
- Kocbek P. et. al. Targeting cancer cells using PLGA nanoparticles surface modified with monoclonal antibody. J Control Release 2007; 120: 18-26
- Egle R. et. al. A novel gene delivery system for stable transfection of thiopurine-S-methyltransferase gene in versatile cell types. Eur J Pharm Biopharm 2008; 69: 23-30
- Kristl J. et. al. Improvements of cellular stress response on resveratrol in liposomes. Eur J Pharm Biopharm 2009; 73: 253-259
- Kristl J. et. al. Current view on nanosized solid lipid carriers for drug delivery to the skin. J Biomed Nanotechnol 2010; 6: 529-542
- Teskač K. et. al. A novel fluorescent probe for more effective monitoring of nanosized drug delivery systems within the cells. Int J Pharm 2011; 416: 384-393
- Nyström AM et. al. Safety assessment of nanomaterials: Implications for nanomedicine. J Control Release 2012; In Press
- Crielaard BJ et. al. Drug targeting systems for inflammatory disease: One for all, all for one. J Control Release 2011, In Press
- Kim B. et. al. Complexation phenomena in pH-responsive copolymer networks with pendant saccharides. Macromolecules 2002; 35: 9545-9550
- Huh AJ et. al. Nanoantibiotics: A new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. J Control Release 2011; 156: 128-145
- Teskač K. et. al. The evidence for solid lipid nanoparticles mediated cell uptake of resveratrol. Int J Pharm 2010; 390: 61-69
- Cegnar M. et. al. Nanoscale polymer carriers to deliver chemotherapeutic agents to tumours. Expert Opin Biol Ther 2005; 5: 1557-1569
- Teskač K. et. al. Mehanizmi vstopa nanodelcev v celice in njihov vpliv na dostavljanje učinkovin. Zdrav Vestn 2012; 81: 225-235
- Pan D. et. al. Nanomedicine: Perspective and promises with ligand-directed molecular imaging. Eur J Radiology 2009; 70: 274-285
- Fleiga E. et. al. Stimuli-responsive polymeric nanocarriers for the controlled transport of active compounds: Concepts and applications. Adv Drug Deliver Rev 2012; In Press
- Owens DE et. al. Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. Int J Pharm 2006; 307: 93-102
- Ioannis S. et. al. Nanomedicine and personalized medicine toward the application of pharmacotyping in clinical practice to improve drug-delivery outcomes. Nanomed-Nanotechnol 2011; 7: 11-17
- Tabata Y. Biomaterial technology for tissue engineering applications. J R Soc Interface 2009; 6: 311-24.
- Ji W, Sun Y, Yang F, van den Beucken JJ, Fan M, Chen Z, et al. Bioactive electrospun scaffolds delivering growth factors and genes for tissue engineering applications. Pharm Res 2011; 28: 1259-72.
- Wei G, Ma PX. Nanostructured biomaterials for regeneration. Adv Funct Mater 2009; 18 (22): 3566-82.
- Svennersten K. et. al. Organic bioelectronics in nanomedicine. Biochim Biophys Acta 2011; 1810: 276-285
- Oyama K. et. al. Walking nanothermometers: spatiotemporal temperature measurement of transported acidic organelles in single living cells. Lab Chip 2012; 12: 1591-1593
- Joon SS et. al. An on-chip whole blood/plasma separator using hetero-packed beads at the inlet of a microchannel Lab Chip 2012; 12: 863-866
- Kim JH et. al. Immunosensor towards low-cost, rapid diagnosis of tuberculosis. Lab Chip 2012; 12: 1437-1440
- Lehr CM et. al. Biological barriers – A need for novel tools in nanotoxicology and nanomedicine. Eur J Pharm Biopharm 2011; 77:
- Patel VF et. al. Advances in oral transmucosal drug delivery. J Control Release 2011; 153: 106-116
- Stratakis E, Ranella A., Fotakis C., Biomimetic micro/nanostructured functional surfaces for microfluidic and tissue engineering applications, Biomicrofluidics 2011; 5, 013411
- Huei-Wen Wu, Chun-Che Lin, and Gwo-Bin Lee, Stem cells in microfluidics, Biomicrofluidics 2011; 5, 013401
- Yu Huang, Basheal Agrawal, Dandan Sun, John S. Kuo, and Justin C. Williams, Microfluidics-based devices: New tools for studying cancer and cancer stem cell migration, Biomicrofluidics 2011; 5, 013412
- Jun Yan, Valber A P, Enomoto J, Simonian AL, Revzin A, Electrochemical biosensors for on-chip detection of oxidative stress from immune cells. Biomicrofluidics 2011; 5, 032008
- Kocbek P. et. al. Toxicological aspects of long-term treatment of keratinocytes with ZnO and TiO₂ nanoparticles. Small 2010; 6: 1908-1917
- Eaton AW. How do we develop nanopharmaceuticals under open innovation? Nanomed-Nanotechnol 2011; 7: 371-375
- Nijhara R. et. al. Bringing nanomedicines to market: regulatory challenges, opportunities, and uncertainties, Nanomed-Nanotechnol 2006; 2: 127-136
- Lulijten P. R, in drugi; Public-private partnership in translational medicine: concepts and practical examples. J Control. Rel 2012, in press.



Chiesi

People and ideas for innovation in healthcare

 **ATIMOS**[®]

 **FOSTER**[®]

Budi*air*[®] **Jet**

RE*VIA*[®]

 **Orthokin**[®]

CUROSURF[®]



Chiesi Slovenija, d.o.o.

www.torrex-chiesi.si www.moja-astma.si www.orthokin.si