

Novosti na področju farmacevtske nanotehnologije

Novelties in the field of pharmaceutical nanotechnology

Petra Kocbek

Povzetek: Farmacevtska nanotehnologija se intenzivno razvija že dobra štiri desetletja in ima pomemben vpliv na odkrivanje in zdravljenje številnih bolezni. Njen cilj je razviti sodobne nanodostavne sisteme, ki bodo povečali učinkovitost zdravljenja in zmanjšali pojav stranskih učinkov. Tako so rezultat razvoja »pametni« bioodzivni nanodostavni sistemi, nanosistemi za aktivno ciljanje in nanosistemi za ciljanje na subceličnem nivoju. Novi nanodostavni sistemi omogočajo premagovanje barier v organizmu in vnos učinkovin na mesta, ki so s klasičnimi farmacevtskimi oblikami nedostopna (npr. vnos v možgane). Novosti so tudi na področju metod za izdelavo nanosistemov, kjer so v ospredju metode, ki temeljijo na samozdruževanju gradnikov in omogočajo vgrajevanje sodobnih makromolekularnih učinkovin (peptidi, proteini, geni). Vse omenjene in še številne druge novosti na področju farmacevtske nanotehnologije obetajo boljše spremljanje in zdravljenje danes neozdravljivih ali težko ozdravljivih bolezni ob sočasno izboljšani kakovosti bolnikovega življenja.

Ključne besede: Nanovlakna, ciljana dostava učinkovin, nanoantibiotiki, nanoteranostiki

Abstract: Pharmaceutical nanotechnology has been under intensive development for more than four decades and shows a significant impact on the diagnosis and treatment of many diseases. Its main goal is development of modern nanodelivery systems for more effective therapy and reduced occurrence of side effects. The results of the current development are »smart« bioresponsive nanodelivery systems, nanosystems for active targeting and nanosystems for targeting on subcellular level. Novel nanodelivery systems can overcome barriers in the body and enable the drug delivery to the locations which are out of reach for classical formulations (e.g. brain delivery). New formulation methods have also emerged. The main focus being on self-assembly technologies, which enable incorporation of modern macromolecular drugs (peptides, proteins, genes). All these and many other innovations in the field of pharmaceutical nanotechnology promise better monitoring and therapy of nowadays incurable or poorly treatable diseases, resulting in improved patient's quality of life.

Keywords: Nanofibers, targeted drug delivery, nanoantibiotics, nanotheranostics

1 Uvod

Farmacevtska nanotehnologija se intenzivno razvija že dobra štiri desetletja in ima pomemben vpliv na odkrivanje in zdravljenje številnih bolezni. Prve nanodelce za vnos učinkovin in cepiv so razvili v skupini prof. Speiserja v poznih šestdesetih letih prejšnjega stoletja (1). Vse od takrat pa do danes potekajo raziskave in razvoj predvsem v smeri odkrivanja in načrtovanja novih nanodostavnih sistemov ter povečevanja njihove učinkovitosti in varnosti.

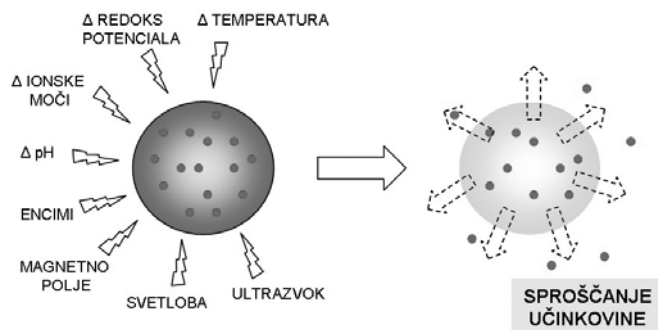
Na razvoj farmacevtske nanotehnologije v zadnjem desetletju pa lahko pogledamo z različnih zornih kotov. Z vidika bolezni je zagotovo največ novosti in raziskav povezanih z uporabo nanotehnologije za diagnostiko in zdravljenje rakavih obolenj (2-4). Z vidika premagovanja bioloških barier za učinkovito dostavo zdravilnih učinkovin je največji napredek na področju nanodostavnih sistemov za vnos učinkovin v možgane (5). Farmacevtska nanotehnologija se je v zadnjem obdobju usmerila tudi v razvoj zdravil za bolezni tretjega sveta – nanosistemi za zdravljenje malarije, tuberkuloze, okužb z virusom HIV (6, 7). Razvoj nanosistemov pa se uveljavlja tudi kot nov tehnološki pristop v boju proti odpornosti

bakterij na antibiotike (7). Med učinkovinami v razvoju je vse več biomakromolekul (peptidi, proteini, nukleinske kisline), zato so novost metode za izdelavo nanosistemov v milih pogojih, ki ne zmanjšajo biološke aktivnosti biomolekul (8-10). Takšni nanosistemi nastanejo s samozdruževanjem (*angl.* »self-assembly«) osnovnih gradnikov, ki so običajno amfifilni blok kopolimeri (10). Med novimi dostavnimi sistemi velja omeniti nanovlakna, ki poleg vnosa učinkovin omogočajo tudi učinkovito obnovo tkiv (11).

Novosti so tudi na področju uporabe nanotehnoloških pristopov za racionalizacijo zdravljenja tj. z vidika doseganja večje selektivnosti dostave učinkovin na tarčno mesto in posledično večje učinkovitosti zdravljenja z manj stranskimi učinki. To lahko dosežemo z razvojem nanodostavnih sistemov za pasivno in aktivno ciljanje (12). Pasivno ciljanje temelji na izkoriščanju anatomskih, patofizioloških in fizikalno-kemijskih pogojev na tarčnem mestu, medtem ko imajo nanosistemi za aktivno ciljanje na površini vezane specifične ligande, ki prepoznajo in se vežejo na tarčno mesto. Tako so že v osemdesetih in devetdesetih letih prejšnjega stoletja razvili vrsto različnih nanodostavnih sistemov za

pasivno ciljanje, ki za nalaganje na tarčnem mestu izkoriščajo učinek povečane prepustnosti in zadrževanja (EPR učinek – angl. »*enhanced permeability and retention effect*«) (13). Ta mehanizem izkoriščajo vsi na tržišču prisotni koloidni dostavni sistemi za zdravljenje in diagnostiko rakavih obolenj. Novost pa je pojav »pametnih« nanodostavnih sistemov, ki se odzivajo na pogoje v biološkem mikrookolju (14). Takšni nanosistemi omogočajo pasivno ciljanje in sproščanje učinkovin pod vplivom endogenih dejavnikov na tarčnem mestu (pH, T, redoks potencial, prisotnost encimov) ali zunanjih dražljajev (svetloba, magnetno polje, ultrazvok) (Slika 1) (15). Še korak naprej v razvoju nanosistemov za ciljanje je koncept aktivnega ciljanja in razvoj nanosistemov, ki omogočajo ciljanje na subceličnem nivoju (npr. ciljanje v jedro (16), mitohondrije (17), citosol (18)). Nenazadnje so lahko nanosistemi tudi multifunkcionalni – združujejo terapevtsko in diagnostično komponento v enem sistemu, kar je pripeljalo do razvoja nanoteranostikov (19).

Ker je novosti ob intenzivnem razvoju področja farmacevtske nanotehnologije ogromno, so v nadaljevanju prispevka predstavljeni le nekateri izbrani primeri.



Slika 1: Sproščanje učinkovine iz pametnega nanodostavnega sistema pod vplivom različnih endogenih in eksogenih dražljajev.

Figure 1: Drug release from smart nanodelivery system induced by various endogenous and exogenous stimuli.

2 Nanovlakna

Nanovlakna so trdna vlakna s premerom od nekaj deset do 1000 nm in teoretično neomejeno dolžino (20). Odras njihove nanovelikosti so specifične fizikalne in kemijske lastnosti, ki so razlog za njihovo uporabo na različnih področjih biomedicine (21). Nanovlakna so lahko izdelana iz polimerov sinteznega ali naravnega izvora; za uporabo v biomedicini pa je zaželeno, da so nanovlakna biokompatibilna in biorazgradljiva (11). V farmaciji predstavljajo nanovlakna sodobno možnost za povečevanje topnosti in hitrosti raztapljanja težko topnih učinkovin, za doseganje prirejenega sproščanja in za vgrajevanje biomakromolekul (22-24). Tako so v raziskavah v nanovlakna vgrajevali že vrsto različnih učinkovin kot so npr. antibiotiki (25, 26), lokalni anestetiki (25), kemoterapevtiki (27), imunosupresivi (28), protivnetne učinkovine (24), rastni dejavniki (29, 30) in vitamini (31). Nanovlakna odlikuje tudi dobra adhezivnost, ki je odraz velike površine in nanoporozne zgradbe. Ob stiku z mukosom pride do trenutne absorpcije vlage v nanopore vlaknen, kar je razlog za intenzivno adhezijo na površino sluznic, zato so nanovlakna obetaven mukoadhezivni dostavni sistem in dostavni sistem za dermalno uporabo (31, 32).

Poleg uporabe nanovlaknen kot dostavnih sistemov za vnos učinkovin je zelo aktualna tudi njihova uporaba v tkivnem inženirstvu za pripravo tkivnih nadomestkov (npr. regeneracija kosti, živčevja) (33-35). Nanovlakna posnemajo topografijo in strukturne lastnosti gradnikov naravnega zunajceličnega ogrodja (ECM, angl. »*extracellular matrix*«) in omogočajo učinkovito pritrdjanje, proliferacijo in diferenciacijo celic, kar vodi v učinkovito obnovo poškodovanega ali obolelega tkiva (33). Tretja možnost uporabe vlaknen na področju biomedicine je uporaba nanovlaknen kot sodobnih oblog za celjenje ran. Podobno kot v tkivnem inženirstvu, tudi v tem primeru nanovlakna posnemajo ECM, hkrati pa omogočajo drenažo izcedka iz rane, prepuščajo pline in rano ščitijo pred okužbami. Kadar so nanovlakna izdelana iz hidrofilnega materiala zagotavljajo vlažno okolje v rani, kar omogoča hitrejše in popolnejše celjenje (36). V proces celjenja in regeneracije pa lahko aktivno posežemo z učinkovinami, ki jih vgradimo v nanovlakna ali vežemo na njihovo površino (25, 29).

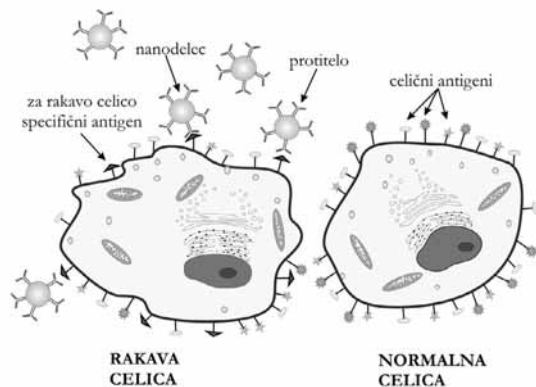
3 Aktivno ciljanje

Koncept aktivnega ciljanja ni nov, ampak star že več kot sto let. Idejo o ciljani dostavi je prvi predstavil že leta 1906 nemški kemik Paul Ehrlich (37, 38). Tak, takrat imaginarni sistem, ki bi bil sposoben prepoznati in selektivno uničiti le tarčno mesto (tj. organizem, tkivo, celico), je poimenoval »magični izstrelak« (angl. »*magic bullet*«). Prav razvoj nanodostavnih sistemov za aktivno ciljanje predstavlja uresničitev Erlichove ideje o »magičnem izstrelku«. Takšni nanodostavni sistemi (npr. polimerni terapevtiki, miceli, liposomi, polimerni nanodelci, trdni lipidni nanodelci, nanosuspenzije) imajo na površini vezane specifične ligande, zato so sposobni razlikovati med tarčnimi in netarčnimi celicami (Slika 2) (39). Vezava ligandov poveča verjetnost interakcij s tarčnim mestom in s tem terapevtsko učinkovitost, saj ligand prepozna in se selektivno veže le na tarčne celice, tkiva ali organe v telesu. Aktivno ciljanje ne prispeva bistveno k porazdeljevanju nanodostavnega sistema v organizmu, izboljša pa njegovo zadrževanje na tarčnem mestu in vstop v celice, hkrati pa podaljša tudi čas zadrževanje v znotrajceličnem prostoru (40).

Predpogoj za aktivno ciljanje je ustrezna biološka porazdelitev in razpolovni čas nanodostavnega sistema. Po sistemskem vnosu mora nanodostavni sistem v krvnem obtoku ostati dovolj časa, da doseže tarčno mesto in se tam zadrži (izkorišča EPR učinek). Šele nato nastopi aktivno ciljanje. Podaljšan čas zadrževanja v krvnem obtoku dosežemo s hidrofilno površino nanodostavnega sistema (vezava polietilen-glikolskih verig (PEGiliranje) ali drugih hidrofilnih polimerov) (41). Površina nanodostavnega sistema mora biti hidrofilna, saj v nasprotnem primeru nastopi takoj po vstopu v krvni obtok opsonizacija, ki je signal za celice retikuloendotelnega sistema, da nanodostavni sistem odstranijo iz obtoka (42).

Aktivno ciljana dostava učinkovin na/v specifične celice izkorišča prisotnost različnih antigenov (proteinov, sladkorjev, lipidov) na površini tarčnih celic. Ti antigeni so lahko selektivno izraženi le na obolelih celicah ali pa je njihovo izražanje na obolelih in zdravih celicah različno. Primer takšnih antigenov so receptorji, ki so na tumorskih celicah izraženi v povečanem obsegu npr. transferinski receptorji, folatni receptorji, receptorji za rastne dejavnike. Ligandi so lahko nizkomolekularne spojine (npr. folna kislina) ali biomakromolekule (npr. protitelesa). V raziskavah pogosto uporabljajo za ciljanje folno kislino (43, 44), transferin (45), laktine (46), sladkorje (47), peptide (48), protitelesa (49, 50) in njihove

fragmente (51) ter aptamere (52, 53). Ligand je lahko na površino vezan nekovalentno ali kovalentno, njegova gostota in orientacija na površini dostavnega sistema pa morata biti takšni, da omogočata vezavo na tarčno mesto. Vezavi na tarčno mesto lahko sledi receptorska endocitoza in znotrajcelično sproščanje vgrajene učinkovine ali pa do vstopa v celice ne pride. Nanodostavni sistem ostane vezan na tarčno mesto in učinkovina se sprošča v zunajceličnem prostoru. Aktivno ciljanje izboljša učinkovitost zdravljenja, saj poveča obseg privzema v tarčne celice in čas zadrževanja dostavnega sistema znotraj celic, hkrati pa zmanjša potencialne stranske učinke, ki so posledica neselektivnega vnosa in delovanja zdravilnih učinkovin na netarčna tkiva.



Slika 2: Shema aktivnega ciljanja z imunonanelci.

Figure 2: Scheme of active targeting with immuno-nanoparticles.

4 Nanodostavni sistemi za vnos učinkovin v centralni živčni sistem

Krvno-možgansko bariero lahko prehajajo le lipofilne, nizkomolekularne učinkovine (< 400–500 Da), zato je nabor učinkovin za zdravljenje bolezni ČŽS zelo omejen. Razvoj novih tehnoloških pristopov za vnos učinkovin v ČŽS je, ob staranju prebivalstva in zato vse večji pojavnosti nevrodegenerativnih bolezni, nujen (54). Prav nanodostavni sistemi predstavljajo nov, obetaven pristop na tem področju, če izpolnjujejo naslednje osnovne zahteve (5):

- velikost < 100 nm,
- netoksičnost, biorazgradljivost in biokompatibilnost,
- stabilnost v krvnem obtoku,
- neimunogenost,
- podaljšan čas zadrževanja v krvnem obtoku (nanosistem ni tarča celic retikuloendotelnega sistema),
- izražena afiniteta do krvno-možganske bariere,
- omogoča dostavo nizkomolekularnih učinkovin, peptidov, proteinov ali nukleinskih kislin,
- omogoča nadzorovano sproščanje.

Nanodostavni sistemi vstopajo v interakcije s krvno-možgansko bariero na molekularnem nivoju in izkoriščajo fiziološke mehanizme za vstop v možgane (55). Zato morajo imeti na površini prisotne hidrofilne površinsko aktivne snovi (npr. polisorbit 80), nabite molekule ali specifične ligande, ki omogočajo prehod čez krvno-možgansko bariero (56). Najpogosteje nanodostavni sistemi prehajajo z izkoriščanjem

mehanizmov adsorpcijske ali receptorske transcitoze (57). Adsorpcijska transcitoza temelji na elektrostatskih interakcijah med površino nanodostavnega sistema in nabito površino endotelijskih celic krvno-možganske bariere. Za izkoriščanje tega mehanizma prehoda običajno vežemo na površino nanodostavnega sistema peptide, ki prehajajo celično membrano (angl. »cell penetrating peptides«) (npr. TAT-peptidi) ali kationske proteine (npr. albumin) (55). Receptorska transcitoza poteče po vezavi funkcionaliziranega nanodostavnega sistema na receptorje, ki so izraženi na celicah krvno-možganske bariere in omogoča selektivni prenos nanodostavnih sistemov v možgane. Primeri takšnih transportnih molekul, ki lahko povečajo učinkovitost prehajanja v možgane, so rastni dejavniki (epidermalni rastni dejavnik, žilni endotelijski rastni dejavnik, bazični rastni dejavnik fibroblastov, inzulinu podoben rastni dejavnik), proteini, ki vežejo biotin (avidin, streptavidin, nevtravidin), inzulin, leptin, laktoferin, transferin in apolipoproteini (57-60).

Zdravljenje epilepsije (61), Alzheimerjeve bolezni (62, 63), Parkinsonove bolezni (64) in možganskih tumorjev (65, 66) so področja, kjer je razvoj nanosistemov za vnos v ČŽS trenutno najbolj intenziven. Sočasno z razvojem novih funkcionaliziranih nanodostavnih sistemov poteka tudi iskanje alternativnih poti vnosa v organizem, ki bi omogočile premagovanje fizioloških barrier za učinkovit vstop nanosistemov v možgane npr. nazalna aplikacija (67).

5 Nanoantibiotiki

Učinkovito zdravljenje infekcijskih bolezni ostaja, kljub velikim finančnim vložkom v raziskave in razvoj na tem področju, eden največjih izzivov v zdravstvu (7). Razvoj rezistence na poznane, danes dostopne antibiotike, prehitava odkrivanje in razvoj novih antibiotikov, zato so infekcijske bolezni, ki jih povzročajo odporni sevi, lahko grožnja človeštvu. V zadnjem času je zato velik poudarek na novih nanotehnoloških pristopih za doseganje večje učinkovitosti zdravljenja in preprečevanje pojavnosti rezistence mikroorganizmov. Govorimo o razvoju »nanoantibiotikov«. To so nanomateriali, ki imajo sami protimikrobni učinek (npr. nanodelci srebra), ali nanodostavni sistemi, ki omogočajo učinkovito dostavo antibiotikov na tarčno mesto, preprečijo pojav rezistence in zmanjšajo stranske učinke zdravljenja (7, 68). Zaradi velikega razmerja med površino in volumnom ter edinstvenih fizikalno-kemijskih lastnosti predstavljajo nanomateriali obetajoč nov pristop v boju z mikroorganizmi. Antibiotični učinek nanodelcev je posledica sočasnega delovanja po različnih mehanizmih, saj posegajo v različne biološke procese v mikroorganizmih, kar preprečuje razvoj odpornosti. Da bi se pojavila odpornost na antibiotični učinek takšnih nanodelcev, bi se moralo zgoditi več sočasnih mutacij (7).

Srebrovi nanodelci so že znan in uveljavljen primer nanodelcev s protimikrobnim učinkom. Vežejo se na površino mikroorganizmov, prehajajo pa tudi v znotrajcelični prostor, kjer vstopajo v interakcije s proteini in dednim materialom mikrobov. Hkrati se znotraj celic iz nanodelcev sproščajo srebrovi ioni, kar baktericidni učinek samih nanodelcev še poveča (68).

V raziskavah so že proučevali različne nanodostavne sisteme, ki vgrajen antibiotik ščitijo pred mehanizmi bakterijske rezistence (npr. razgradnja z β -laktamazami) in ga dostavijo v aktivni obliki do mesta delovanja (Tabela I). Znotrajcelični vnos antibiotikov z nanodostavnimi sistemi je učinkovit pristop zlasti za zdravljenje znotrajceličnih infekcijskih bolezni

npr. okužbe s klamidijo (69, 70). Nanodelci omogočajo združevanje večih neodvisnih in učinkovitih sinergističnih mehanizmov, ki povečajo protimikrobno učinkovitost tako, da preprečijo razvoj odpornosti mikroorganizmov na delovanje antibiotikov.

Pomembna novost na področju farmacevtske nanotehnologije so tudi nanodostavni sistemi za zdravljenje okužb z virusom HIV (71, 72), zdravljenje malarije (73) in tuberkuloze (74).

Tabela I: Primeri nanosistemov za dostavo antibiotikov

Table I: Examples of nanosystems for delivery of antibiotics

Zdravilna učinkovina	Nanodostavni sistem	Lit. vir
Ceftriakson	Hitosanski ND	(75)
Ciprofloksacin	PLGA ND	(76)
Ciprofloksacin	Eudragit/PLGA ND	(77)
Ciprofloksacin	Liposomi	(78)
Moksifloksacin	Polibutilcianoaktilatni ND	(79)
Penicilin	Poliaktilatni nanodelci	(80)
Penicilin, ciprofloksacin	Glikozilirani poliakrilatni ND	(81)
Rifampin, azitromicin	PLGA ND	(69)
Tilmikozin	Trdni lipidni ND	(82)
Vankomicin	ND zlata	(83)

ND – nanodelci; PLGA – kopolimer mlečne in glikolne kisline

Področje »nanoantibiotikov« je danes še v začetni fazi razvoja - sploh, če ga primerjamo z obsegom raziskav, ki poteka na področju nanotehnološki pristopov za zdravljenje raka. V prihodnje pa lahko utemeljeno pričakujemo intenzivnejši razvoj in več novosti tudi na področju »nanoantibiotikov«, ki obetajo rešitve za premagovanje odpornosti mikroorganizmov na antibiotike.

5 Nanoteranostiki

Teranostik je napredni dostavno-diagnostični sistem za uporabo v medicini. Združuje terapevtsko in diagnostično komponento ter omogoča sočasno diagnostiko in zdravljenje (19). Nanoteranostiki so teranostiki nanometerskih velikosti in predstavljajo novost na področju zdravljenja bolezni. Z njimi lahko dosežemo ciljano dostavo zdravilnih učinkovin le v tarčno populacijo celic, hkrati pa lahko neinvazivno spremljamo lokalizacijo nanodostavnega sistema v organizmu. Teranostiki se med seboj razlikujejo po zgradbi, obliki, velikosti, sposobnostih ciljanja in metodi, ki omogoča za vizualizacijo oz. spremljanja sistema v organizmu (Tabela II). Glavne sestavine vsakega teranostika so:

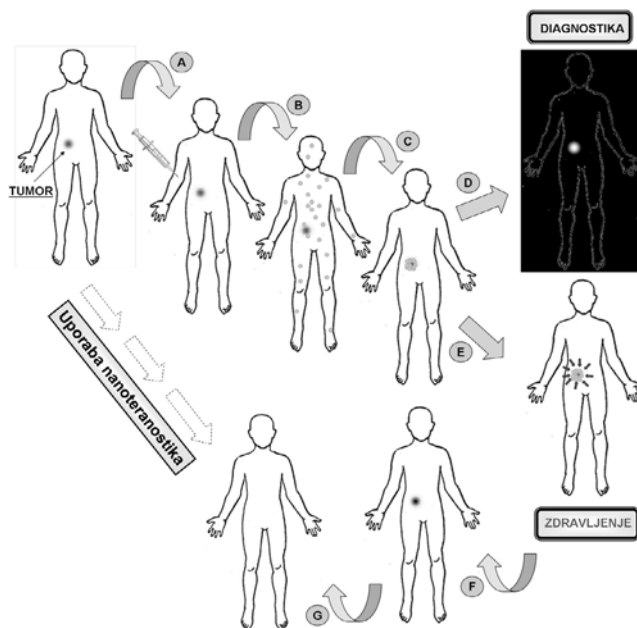
(I) **Diagnostična komponenta** omogoča neinvazivno spremljanje porazdeljevanja nanosistema v organizmu, vrednotenje obsega lokaliziranega nalaganja na tarčnem mestu in spremljanje sproščanja vgrajenih učinkovin (40). Diagnostična oz. kontrastna sredstva za *in vivo* slikanje so lahko optično aktivne majhne molekule, kovine in kovinski oksidi, ultrazvočna kontrastna sredstva ali radionuklidi (19). Pogosto v ta namen uporabljamo kovinske ali magnetne nanodelce, ki omogočajo slikanje z magnetno resonanco (MRI), fluorescentne spojine, ki omogočajo optično slikanje (fluorescenca, bioluminiscenca), ali radioizotope, ki omogočajo slikanje s pozitronsko emisijsko tomografijo (PET) ali enofotonsko emisijsko računalniško tomografijo (SPECT) (19, 84-86). Nekateri teranostiki vključujejo dve ali celo tri diagnostične komponente, zato jih lahko v organizmu spremljamo s kombinacijo različnih detekcijskih metod (87). Najpogosteje so kot diagnostična

komponenta teranostikov v uporabi superparamagnetni nanodelci železovega oksida (SPIONI, angl. "supermagnetic iron oxide nanoparticles").

(II) **Dostavni sistem** ali obloga, ki obdaja diagnostično komponento, zagotavlja stabilnost koloidne disperzije teranostika, nudi funkcionalne skupine za reakcije biokonjugacije in omogoča vgrajevanje zdravilnih učinkovin.

(III) **Zdravilna učinkovina** je kovalentno ali nekovalentno vezana na dostavni sistem in se na tarčnem mestu v organizmu sprošča spontano ali pod vplivom različnih dražajev (Slika 1). Učinkovina je lahko fizikalno ujeta v ogrodje nanodostavnega sistema, vezana z elektrostatskimi interakcijami na gradnike teranostika ali kovalentno vezana neposredno na diagnostično komponento ali na sam nanodostavni sistem.

Danes potekajo intenzivne raziskave predvsem na področju uporabe nanoteranostikov za zdravljenje raka (Slika 3), v prihodnje pa nanoteranostiki veliko obetajo tudi na področju zdravljenja številnih drugih bolezni.



Slika 3: Shema *in vivo* uporabe nanoteranostika za zdravljenje raka.

(A) parenteralni vnos nanoteranostika, (B) sistemska porazdelitev nanoteranostika takoj po vnosu, (C) lokalno nalaganje in zadrževanje na območju tumorja (EPR učinek in aktivno ciljanje), (D) *in vivo* slikanje, (E) lokalno sproščanje vgrajene učinkovine, (F) uničenje tumorskih celic, (G) ozdravitev.

Figure 3: Scheme of *in vivo* application of nanotheranostic for cancer treatment. (A) parental administration, (B) systemic distribution of nanotheranostic immediately after administration, (C) local accumulation and retention in the tumor (EPR effect and active targeting), (D) *in vivo* imaging, (E) local drug release, (F) destruction of tumor cells, (G) recovery.

Tabela 2: Primeri nanoteranostikov.

Table 2: Examples of nanotheranostics.

Diagnostična komponenta	Zdravilna učinkovina	Ligand za aktivno ciljanje	Nanodostavni sistem	Literaturni vir
Fluorescentno barvilo (dialkilkarbocianin)	Citokrom C	Folat	Polimerni ND	(88)
Kvantne pike (CdSe)	Docetaksel	Folat	Liposomi	(89)
Mikromehurčki (UZ kontrastno sredstvo)	Plazmidna DNA	/	Hibrid polipeks-mikromehurček	(90)
Paramagnetno kontrastno sredstvo Gd-DOTAMA(C ₁₈) ₂	Prednizolon	/	Liposomi	(84)
SPIONi	Doksorubicin	Folat	Polimerni ND	(91)
SPIONi	Docetaksel	/	Polimerni ND	(92)
SPIONi	Paklitaksel	Lektin	Magnetni ND	(93)
SPIONi	Doksorubicin	Folat	Miceli	(94)
SPIONi, Kvantne pike (CdTe)	Adriamicin	Folat	Polimerni ND	(87)

ND – nanodelci; SPIONi – superparamagnetni nanodelci železovega oksida; UZ - ultrazvok

6 Sklep

Ob vseh odkritjih, novostih in napredku na področju farmacevtske nanotehnologije se postavlja vprašanje, zakaj tržišče ni preplavljeno z novimi, bolj učinkovitimi, naprednimi nanozdravili. Zelo verjetna razloga sta dva: (I) zapletena zgradba in tehnološki postopki izdelave nanodostavnih sistemov ter (II) omejena učinkovitost *in vivo*. Poleg tega ostaja odprto tudi vprašanje o njihovi varnosti, ki mora biti nedvoumno zagotovljena, pred uvedbo novih nanosistemov v klinično prakso. Tako danes prednosti, ki bi jih uvedba novih naprednih nanozdravil prinesla, ne odtehtajo njihovih pomanjkljivosti. Nerešena vprašanja, pomanjkljivosti in omejitve pa ostajajo izziv za nadaljni razvoj nanosistemov za ciljan in učinkovit vnos učinkovin in doseganje zelenih terapevtskih učinkov. V prihodnje lahko pričakujemo nadaljevanje intenzivnih raziskav in razvoja na tem področju ter čakamo na trenutke, ko bodo novosti dozorele in bodo pripravljene za prehod iz raziskav na tržišče.

7 Literatura

- Kreuter J. Nanoparticles—a historical perspective. *International Journal of Pharmaceutics*. 2007;331(1):1-10.
- Gallego Ó, Puentes V. What can nanotechnology do to fight cancer? *Clinical and Translational Oncology*. 2006;8(11):788-95.
- Ferrari M. Cancer nanotechnology: opportunities and challenges. *Nat Rev Cancer*. [10.1038/nrc1566]. 2005;5(3):161-71.
- Schroeder A, Heller DA, Winslow MM, Dahlman JE, Pratt GW, Langer R, et al. Treating metastatic cancer with nanotechnology. *Nat Rev Cancer*. [10.1038/nrc3180]. 2012;12(1):39-50.
- Olivier J-C. Drug transport to brain with targeted nanoparticles. *Neurotherapeutics*. 2005;2(1):108-19.
- Look M, Bandyopadhyay A, Blum JS, Fahmy TM. Application of nanotechnologies for improved immune response against infectious diseases in the developing world. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2010;62(4-5):378-93.
- Huh AJ, Kwon YJ. "Nanoantibiotics": A new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *Journal of Controlled Release*. 2011;156(2):128-45.
- Shu S, Zhang X, Wu Z, Wang Z, Li C. Delivery of protein drugs using nanoparticles self-assembled from dextran sulfate and quaternized chitosan. *Journal of Controlled Release*. 2011;152, Supplement 1(0):e170-e2.
- Howard KA. Delivery of RNA interference therapeutics using polycation-based nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2009;61(9):710-20.
- Wiradharma N, Zhang Y, Venkataraman S, Hedrick JL, Yang YY. Self-assembled polymer nanostructures for delivery of anticancer therapeutics. *Nano Today*. 2009;4(4):302-17.
- Venugopal J, Ramakrishna S. Applications of polymer nanofibers in biomedicine and biotechnology. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2005;125(3):147-57.
- Danhier F, Feron O, Préat V. To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 2010;148(2):135-46.
- Maeda H. Tumor-Selective Delivery of Macromolecular Drugs via the EPR Effect: Background and Future Prospects. *Bioconjugate Chemistry*. 2010/05/19;21(5):797-802.
- Liechty WB, Peppas NA. Expert opinion: Responsive polymer nanoparticles in cancer therapy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2012;80(2):241-6.
- Phillips MA, Gran ML, Peppas NA. Targeted nanodelivery of drugs and diagnostics. *Nano Today*. 2010;5(2):143-59.
- Sui M, Liu W, Shen Y. Nuclear drug delivery for cancer chemotherapy. *Journal of Controlled Release*. 2011;155(2):227-36.
- Weyland M, Manero F, Paillard A, Grée D, Viault G, Jarnet D, et al. Mitochondrial targeting by use of lipid nanocapsules loaded with SV30, an analogue of the small-molecule Bcl-2 inhibitor HA14-1. *Journal of Controlled Release*. 2011;151(1):74-82.
- Vasir JK, Labhasetwar V. Biodegradable nanoparticles for cytosolic delivery of therapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2007;59(8):718-28.
- Janib SM, Moses AS, MacKay JA. Imaging and drug delivery using theranostic nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2010;62(11):1052-63.
- Rošic R, Kocbek P, Baumgartner S, Kristl J. Electro-spun hydroxyethyl cellulose nanofibers: the relationship between structure and process. *Journal of drug delivery science and technology*. 2011;21(3):229-36.
- Huang Z-M, Zhang YZ, Kotaki M, Ramakrishna S. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*. 2003;63(15):2223-53.
- Ignatious F, Sun L, Lee C-P, Baldoni J. Electrospun Nanofibers in Oral Drug Delivery. *Pharmaceutical Research*. 2010;27(4):576-88.
- Jiang H, Hu Y, Li Y, Zhao P, Zhu K, Chen W. A facile technique to prepare biodegradable coaxial electrospun nanofibers for controlled release of bioactive agents. *Journal of Controlled Release*. 2005;108(2-3):237-43.
- Shen X, Yu D, Zhu L, Branford-White C, White K, Chatterton NP. Electrospun diclofenac sodium loaded Eudragit® L 100-55 nanofibers for colon-targeted drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011;408(1-2):200-7.

25. Thakur RA, Florek CA, Kohn J, Michniak BB. Electrospun nanofibrous polymeric scaffold with targeted drug release profiles for potential application as wound dressing. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008;364(1):87-93.
26. Zamani M, Morshed M, Varshoshaei J, Jannesari M. Controlled release of metronidazole benzoate from poly ϵ -caprolactone electrospun nanofibers for periodontal diseases. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2010;75(2):179-85.
27. Ma G, Liu Y, Peng C, Fang D, He B, Nie J. Paclitaxel loaded electrospun porous nanofibers as mat potential application for chemotherapy against prostate cancer. *Carbohydrate Polymers*. 2011;86(2):505-12.
28. Holan V, Chudickova M, Trosan P, Svobodova E, Krulova M, Kubinova S, et al. Cyclosporine A-loaded and stem cell-seeded electrospun nanofibers for cell-based therapy and local immunosuppression. *Journal of Controlled Release*. 2011;156(3):406-12.
29. Choi JS, Leong KW, Yoo HS. In vivo wound healing of diabetic ulcers using electrospun nanofibers immobilized with human epidermal growth factor (EGF). *Biomaterials*. 2008;29(5):587-96.
30. Yan S, Xiaoqiang L, Lianjiang T, Chen H, Xiumei M. Poly(l-lactide-co- ϵ -caprolactone) electrospun nanofibers for encapsulating and sustained releasing proteins. *Polymer*. 2009;50(17):4212-9.
31. Taepaiboon P, Rungsardthong U, Supaphol P. Vitamin-loaded electrospun cellulose acetate nanofiber mats as transdermal and dermal therapeutic agents of vitamin A acid and vitamin E. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2007;67(2):387-97.
32. Meinel AJ, Germershaus O, Luhmann T, Merkle HP, Meinel L. Electrospun matrices for localized drug delivery: Current technologies and selected biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. (0).
33. Barnes CP, Sell SA, Boland ED, Simpson DG, Bowlin GL. Nanofiber technology: Designing the next generation of tissue engineering scaffolds. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2007;59(14):1413-33.
34. Sill TJ, von Recum HA. Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials*. 2008;29(13):1989-2006.
35. Bini TB, Gao S, Wang S, Ramakrishna S. Poly(l-lactide-co-glycolide) biodegradable microfibers and electrospun nanofibers for nerve tissue engineering: an in vitro study. *Journal of Materials Science*. 2006;41(19):6453-9.
36. Zahedi P, Rezaeian I, Ranaei-Siadat S-O, Jafari S-H, Supaphol P. A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages. *Polymers for Advanced Technologies*. 2010;21(2):77-95.
37. Fahmy TM, Fong PM, Goyal A, Saltzman WM. Targeted for drug delivery. *Materials Today*. 2005;8(8, Supplement):18-26.
38. Strebhardt K, Ullrich A. Paul Ehrlich's magic bullet concept: 100 years of progress. *Nat Rev Cancer*. [10.1038/nrc2394]. 2008;8(6):473-80.
39. Lammers T, Hennink WE, Storm G. Tumour-targeted nanomedicines: principles and practice. *Br J Cancer*. 2008;99(3):392-7.
40. Calderera-Moore ME, Peppas NA. Responsive Theranostic Systems: Integration of Diagnostic Imaging Agents and Responsive Controlled Release Drug Delivery Carriers. *Accounts of Chemical Research*. 2011 2011/10/18;44(10):1061-70.
41. Owens lii DE, Peppas NA. Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006;307(1):93-102.
42. Mahon E, Salvati A, Baldelli Bombelli F, Lynch I, Dawson KA. Designing the nanoparticle-biomolecule interface for "targeting and therapeutic delivery". *Journal of Controlled Release*. (0).
43. Garcia-Diaz M, Nonell S, Villanueva Á, Stockert JC, Cañete M, Casadó A, et al. Do folate-receptor targeted liposomal photosensitizers enhance photodynamic therapy selectivity? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*. 2011;1808(4):1063-71.
44. Liang C, Yang Y, Ling Y, Huang Y, Li T, Li X. Improved therapeutic effect of folate-decorated PLGA-PEG nanoparticles for endometrial carcinoma. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2011;19(13):4057-66.
45. Chang J, Jallouli Y, Kroubi M, Yuan X-b, Feng W, Kang C-s, et al. Characterization of endocytosis of transferrin-coated PLGA nanoparticles by the blood-brain barrier. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009;379(2):285-92.
46. Wang C, Ho PC, Lim LY. Wheat germ agglutinin-conjugated PLGA nanoparticles for enhanced intracellular delivery of paclitaxel to colon cancer cells. *International Journal of Pharmaceutics*. 2010;400(1-2):201-10.
47. Jain A, Agarwal A, Majumder S, Lariya N, Khaya A, Agrawal H, et al. Mannosylated solid lipid nanoparticles as vectors for site-specific delivery of an anti-cancer drug. *Journal of Controlled Release*. 2010;148(3):359-67.
48. Danhier F, Vroman B, Lecouturier N, Crockart N, Pourcelle V, Freichels H, et al. Targeting of tumor endothelium by RGD-grafted PLGA-nanoparticles loaded with Paclitaxel. *Journal of Controlled Release*. 2009;140(2):166-73.
49. Kocbek P, Obermajer N, Cegnar M, Kos J, Kristl J. Targeting cancer cells using PLGA nanoparticles surface modified with monoclonal antibody. *Journal of Controlled Release*. 2007;120(1-2):18-26.
50. Manjappa AS, Chaudhari KR, Venkataraju MP, Dantuluri P, Nanda B, Sidda C, et al. Antibody derivatization and conjugation strategies: Application in preparation of stealth immunoliposome to target chemotherapeutics to tumor. *Journal of Controlled Release*. 2011;150(1):2-22.
51. Talelli M, Rijcken CJF, Oliveira S, van der Meel R, van Bergen en Henegouwen PMP, Lammers T, et al. Nanobody — Shell functionalized thermosensitive core-crosslinked polymeric micelles for active drug targeting. *Journal of Controlled Release*. 2011;151(2):183-92.
52. Levy-Nissenbaum E, Radovic-Moreno AF, Wang AZ, Langer R, Farokhzad OC. Nanotechnology and aptamers: applications in drug delivery. *Trends in Biotechnology*. 2008;26(8):442-9.
53. Aravind A, Varghese S, Veeranarayanan S, Mathew A, Nagaoka Y, Iwai S, et al. Aptamer-labeled PLGA nanoparticles for targeting cancer cells. *Cancer Nanotechnology*. 1-12.
54. Kabanov AV, Gendelman HE. Nanomedicine in the diagnosis and therapy of neurodegenerative disorders. *Progress in Polymer Science*. 2007;32(8-9):1054-82.
55. Re F, Gregori M, Masserini M. Nanotechnology for neurodegenerative disorders. *Maturitas*. (0).
56. Wilson B, Samanta MK, Santhi K, Kumar KPS, Paramakrishnan N, Suresh B. Poly(n-butylcyanoacrylate) nanoparticles coated with polysorbate 80 for the targeted delivery of rivastigmine into the brain to treat Alzheimer's disease. *Brain Research*. 2008;1200(0):159-68.
57. Bhaskar S, Tian F, Stoeger T, Kreyling W, de la Fuente J, Grauz V, et al. Multifunctional Nanocarriers for diagnostics, drug delivery and targeted treatment across blood-brain barrier: perspectives on tracking and neuroimaging. *Particle and Fibre Toxicology*. 2010;7(1):1-25.
58. Lu W, Zhang Y, Tan Y-Z, Hu K-L, Jiang X-G, Fu S-K. Cationic albumin-conjugated pegylated nanoparticles as novel drug carrier for brain delivery. *Journal of Controlled Release*. 2005;107(3):428-48.
59. Hu K, Li J, Shen Y, Lu W, Gao X, Zhang Q, et al. Lactoferrin-conjugated PEG-PLA nanoparticles with improved brain delivery: In vitro and in vivo evaluations. *Journal of Controlled Release*. 2009;134(1):55-61.
60. Hu K, Shi Y, Jiang W, Han J, Huang S, Jiang X. Lactoferrin conjugated PEG-PLGA nanoparticles for brain delivery: Preparation, characterization and efficacy in Parkinson's disease. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011;415(1-2):273-83.
61. Bennewitz M, Saltzman W. Nanotechnology for delivery of drugs to the brain for epilepsy. *Neurotherapeutics*. 2009;6(2):323-36.
62. Roney C, Kulkarni P, Arora V, Antich P, Bonte F, Wu A, et al. Targeted nanoparticles for drug delivery through the blood-brain barrier for Alzheimer's disease. *Journal of Controlled Release*. 2005;108(2-3):193-214.
63. Sahni JK, Doggui S, Ali J, Baboota S, Dao L, Ramassamy C. Neurotherapeutic applications of nanoparticles in Alzheimer's disease. *Journal of Controlled Release*. 2011;152(2):208-31.
64. Wen Z, Yan Z, Hu K, Pang Z, Cheng X, Guo L, et al. Odorranalectin-conjugated nanoparticles: Preparation, brain delivery and pharmacodynamic study on Parkinson's disease following intranasal administration. *Journal of Controlled Release*. 2011;151(2):131-8.
65. Blasi P, Giovagnoli S, Schoubben A, Ricci M, Rossi C. Solid lipid nanoparticles for targeted brain drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2007;59(6):454-77.
66. Béduneau A, Saulnier P, Benoit J-P. Active targeting of brain tumors using nanocarriers. *Biomaterials*. 2007;28(33):4947-67.
67. Mistry A, Stolnik S, Illum L. Nanoparticles for direct nose-to-brain delivery of drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009;379(1):146-57.
68. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*. 2009;27(1):76-83.

69. Toti US, Guru BR, Hali M, McPharlin CM, Wykes SM, Panyam J, et al. Targeted delivery of antibiotics to intracellular chlamydial infections using PLGA nanoparticles. *Biomaterials*. 2011;32(27):6606-13.
70. Briones E, Isabel Colino C, Lanao JM. Delivery systems to increase the selectivity of antibiotics in phagocytic cells. *Journal of Controlled Release*. 2008;125(3):210-27.
71. Gunaseelan S, Gunaseelan K, Deshmukh M, Zhang X, Sinko PJ. Surface modifications of nanocarriers for effective intracellular delivery of anti-HIV drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2010;62(4-5):518-31.
72. Gupta U, Jain NK. Non-polymeric nano-carriers in HIV/AIDS drug delivery and targeting. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2010;62(4-5):478-90.
73. Santos-Magalhães NS, Mosqueira VCF. Nanotechnology applied to the treatment of malaria. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2010;62(4-5):560-75.
74. Sosnik A, Carcaboso ÁM, Glisoni RJ, Moreton MA, Chiappetta DA. New old challenges in tuberculosis: Potentially effective nanotechnologies in drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2010;62(4-5):547-59.
75. Zaki N, Hafez M. Enhanced Antibacterial Effect of Ceftriaxone Sodium-Loaded Chitosan Nanoparticles Against Intracellular *Salmonella typhimurium*. *AAPS PharmSciTech*. 1-11.
76. Jeong Y-I, Na H-S, Seo D-H, Kim D-G, Lee H-C, Jang M-K, et al. Ciprofloxacin-encapsulated poly(dl-lactide-co-glycolide) nanoparticles and its antibacterial activity. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008;352(1-2):317-23.
77. Dillen K, Vandervoort J, Van den Mooter G, Ludwig A. Evaluation of ciprofloxacin-loaded Eudragit® RS100 or RL100/PLGA nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006;314(1):72-82.
78. Wong JP, Yang H, Blasetti KL, Schnell G, Conley J, Schofield LN. Liposome delivery of ciprofloxacin against intracellular *Francisella tularensis* infection. *Journal of Controlled Release*. 2003;92(3):265-73.
79. Kisich KO, Gelperina S, Higgins MP, Wilson S, Shipulo E, Oganasyan E, et al. Encapsulation of moxifloxacin within poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles enhances efficacy against intracellular *Mycobacterium tuberculosis*. *International Journal of Pharmaceutics*. 2007;345(1-2):154-62.
80. Turos E, Reddy GSK, Greenhalgh K, Ramaraju P, Abeylath SC, Jang S, et al. Penicillin-bound polyacrylate nanoparticles: Restoring the activity of β -lactam antibiotics against MRSA. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2007;17(12):3468-72.
81. Abeylath SC, Turos E, Dickey S, Lim DV. Glyconanobiotics: Novel carbohydrate nanoparticle antibiotics for MRSA and *Bacillus anthracis*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2008;16(5):2412-8.
82. Wang XF, Zhang SL, Zhu LY, Xie SY, Dong Z, Wang Y, et al. Enhancement of antibacterial activity of tilimicosin against *Staphylococcus aureus* by solid lipid nanoparticles in vitro and in vivo. *The Veterinary Journal*. 2012;191(1):115-20.
83. Gu H, Ho PL, Tong E, Wang L, Xu B. Presenting Vancomycin on Nanoparticles to Enhance Antimicrobial Activities. *Nano Letters*. 2003/09/01;3(9):1261-3.
84. Cittadino E, Ferraretto M, Torres E, Maiocchi A, Crielaard BJ, Lammers T, et al. MRI evaluation of the antitumor activity of paramagnetic liposomes loaded with prednisolone phosphate. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012;45(4):436-41.
85. Xiao Y, Hong H, Javadi A, Engle JW, Xu W, Yang Y, et al. Multifunctional unimolecular micelles for cancer-targeted drug delivery and positron emission tomography imaging. *Biomaterials*. 2012;33(11):3071-82.
86. Debbage P, Jaschke W. Molecular imaging with nanoparticles: giant roles for dwarf actors. *Histochemistry and Cell Biology*. 2008;130(5):845-75.
87. Xie J, Chen K, Huang J, Lee S, Wang J, Gao J, et al. PET/NIRF/MRI triple functional iron oxide nanoparticles. *Biomaterials*. 2010;31(11):3016-22.
88. Santra S, Kaittanis C, Perez JM. Cytochrome c Encapsulating Theranostic Nanoparticles: A Novel Bifunctional System for Targeted Delivery of Therapeutic Membrane-Impermeable Proteins to Tumors and Imaging of Cancer Therapy. *Molecular Pharmaceutics*. 2010/08/02;7(4):1209-22.
89. Muthu MS, Kulkarni SA, Raju A, Feng S-S. Theranostic liposomes of TPGS coating for targeted co-delivery of docetaxel and quantum dots. *Biomaterials*. 2012;33(12):3494-501.
90. Sirsi SR, Hernandez SL, Zielinski L, Blomback H, Koubaa A, Synder M, et al. Polyplex-microbubble hybrids for ultrasound-guided plasmid DNA delivery to solid tumors. *Journal of Controlled Release*. 2012;157(2):224-34.
91. Wang H, Wang S, Liao Z, Zhao P, Su W, Niu R, et al. Folate-targeting magnetic core-shell nanocarriers for selective drug release and imaging. *International Journal of Pharmaceutics*. (0).
92. Ernsting MJ, Foltz WD, Undzys E, Tagami T, Li S-D. Tumor-targeted drug delivery using MR-contrasted docetaxel – Carboxymethylcellulose nanoparticles. *Biomaterials*. 2012;33(15):3931-41.
93. Singh A, Dilnawaz F, Sahoo SK. Long Circulating Lectin Conjugated Paclitaxel Loaded Magnetic Nanoparticles: A New Theranostic Avenue for Leukemia Therapy. *PLoS ONE*. 2011;6(11):e26803.