Nanofarmaceutski preparati – karakteristike značajne za farmaceutsku praksu

**Bubić Pajić Nataša^{1*}, Gatarić Biljana¹, Čivčija Jelena²,
Vuleta Gordana³**

¹ Univerzitet u Banjoj Luci, Medicinski fakultet – studijski program Farmacija, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Save Mrkalja 14, Banja Luka

² Paracelsus Apotheke, Schillerstraße 35, Schönebeck (Elbe), Njemačka

³ Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Vojvode Stepe 450, 11000 Beograd, Srbija

* Adresa autora za korespondenciju: natasa.bubic.pajic@med.unibl.org

Kratak sadržaj

U polju farmaceutske tehnologije, nanofarmaceutski preparati/nanofarmaceutici su trenutno tema koja se najviše ispituje i koja najviše obećava. Primjenom materijala zasnovanih na nanotehnologiji, kao nosača za isporuku lijekova, mogu da se poboljšaju njihove farmakološke osobine, mijenjajući farmakokinetiku i distribuciju ljekovitih supstanci u biološkoj sredini. Ovaj pristup je naročito koristan u isporuci lijekova u tumorska tkiva. Zbog svojih karakteristika, nanofarmaceutici imaju mnoge prednosti u odnosu na konvencionalne preparate u hemoterapiji. Najveća prednost je ciljana isporuka lijeka do tumorskog tkiva, što za rezultat ima smanjenu sistemsku toksičnost, koja je najistaknutija mana konvencionalne hemoterapije. Zahvaljujući klinički postignutom uspjehu, poslednjih godina, od svih nanonosaa, najviše pažnje i najveću primjenu, postigli su liposomi i micele. Na tržištu je komercijano dostupno više različitih nanofarmaceutika sa ljekovitim supstancama iz farmakoloških grupa kao što su antineoplastici, anestetici, analgetici, antibiotici, a najčešće su u slijedećim farmaceutskim oblicima: prašak za rastvor za infuziju, suspenzija za injekciju i emulzija za injekciju. Takođe, veći broj nanofarmaceutika je u različitim fazama kliničkih ispitivanja. Ipak, regulatorna tijela do sada nisu ponudila konkretne informacije o ispitivanjima njihovih karakteristika, kontroli kvaliteta i pitanjima bezbjednosti nanofarmaceutika, koje su farmaceutskim kompanijama neophodne u procesu razvoja i pripremi dokumentacije za registraciju nanofarmaceutika, što otežava/odgađa pojavu većeg broja novih lijekova iz ove grupe.

Ključne riječi: nanofarmaceutski preparati/nanofarmaceutici, liposomi, nanokristali, micele, nanoemulzije, nanokompleksi, bezbjednost

Uvod

Nanotehnologija (grč. *nano* – učiniti da nešto izgleda malo), u kontekstu nanomedicine, može se definisati kao tehnologija koja obuhvata proizvodnju nanonosača za ljekovite supstance i dijagnostičke reagense, nanoelektroničkih biosenzora, nanouređaja, kao i nanostrukturiranih mikrouređaja. Na području EU, 2011. godine je usvojena preporuka o definiciji nanomaterijala, prema kojoj nanomaterijal predstavlja prirodni ili materijal proizveden nenamjerno ili namjenski, koji se sastoji od pojedinačnih čestica, ili ima oblik agregata ili aglomerata, pri čemu najmanje 50% čestica ima jednu ili više spoljašnjih dimenzija u rasponu 1-100 nm (http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/faq/definition_en.htm). Međutim, iako se u polju nanotehnologije, prema većini definicija koje su dale različite druge organizacije, udruženja i regulatorna tijela, „nano“ veličina odnosi na veličinu od 1-100 nm u najmanje jednoj dimenziji (1, 2), u polju biomedicine ova definicija treba da se proširi i približi koloidnoj nauci, prema kojoj koloidni sistemi sadrže čestice koje imaju veličinu od 1 nm do 1 μ m u najmanje jednoj dimenziji (3, 4). Istraživanja u oblasti biomedicine su prvenstveno usmjerena na razvoj nanonosača koji će dovesti do značajnih poboljšanja u terapiji bolesti, nego na razvoj nosača čije bi se dimenzije strogo uklopile u definiciju nanotehnologije. Stoga, definicija nanotehnologije primijenjene u biomedicinske i kliničke svrhe predstavlja nešto širi pojam (5). Takođe, i FDA, kroz svoj vodič namjenjen industriji (*Guidance for Industry Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology* (6)), navela je da materijali i proizvodi dimenzija između 100 i 1000 nm mogu da imaju osobine i ispoljavaju fenomene karakteristične za nanomaterijale veličine 1-100 nm. Stoga, postavljanje gornje granice od 1000 nm, u kombinaciji sa prisustvom karakteristika koje su zavisne od veličine čestica, kao i fenomena tipičnih za nanomaterijale (1-100 nm), predstavlja inicijalnu alatku kojom se identifikuju materijali ili proizvodi sa osobinama koje su, sa regulatornog aspekta, od posebne važnosti (6).

Nanomedicina je definisana kao primjena nanotehnologije u cilju postavljanja medicinskih dijagnoza, liječenja ili prevencije bolesti, korišćenjem poboljšanih ili novih fizičkih, hemijskih i bioloških materijala na nanometarskoj skali (5) i obuhvata nanofarmaceutike (namijenjene za isporuku lijekova), nanodijagnostičke preparate, preparate koji se koriste za terapiju i dijagnostiku (engl. *nanotheranostics*) i nanobiomaterijale (npr. medicinski implantati) (8). Nanofarmaceutici, koji čine oko 75% odobrenih nanomedicinskih proizvoda, su lijekovi u čijoj proizvodnji najvažniju ulogu imaju tehnike nanoinženjeringa, pri čemu je korišćeni nanomaterijal od krucijalnog značaja za terapijsku aktivnost preparata ili nanomaterijal aktivnim supstancama mijenja funkcionalnost, dajući im dodatne i jedinstvene karakteristike (3). U razvoju farmaceutskih preparata koji sadrže nanomaterijale (nanofarmaceutici), nanotehnologija je korišćena u cilju poboljšanja rastvoljivosti lijeka (micele,

nanokristali), usmjeravanja lijeka do željenog mjesta sa većom preciznošću, kontrolisanja oslobađanja lijeka (nanočestice i liposomi), i/ili poboljšanja transporta kroz biološke barijere (micele i nanočestice). Ovi pristupi imaju za krajnji cilj povećanje biološke raspoloživosti lijeka, veću farmakološku efikasnost i bezbjednost, te poboljšanje liječenja bolesti koje trenutno ne može biti postignuto upotrebom konvencionalnih farmaceutskih oblika (9, 10). Razvoj nanodisperznih sistema je doveo do značajnog napretka u farmakoterapiji: zadovoljavajuće stabilnosti, veće selektivnosti, manje toksičnosti, odgovarajućeg farmakokinetičkog profila inkorporirane ljekovite supstance. Prvi dobijeni nanonosači (nanoemulzije i liposomi) su inkorporirani u određeni broj odobrenih farmaceutskih preparata sa lijekovima kao što su doksorubicin, daunorubicin, amfotericin B, nistatin, morfin, propofol, diazepam, deksametazon, ciklosporin, etomidat. Razvojem nanočestica se otvorio put za kontrolisano oslobađanje i ciljnu isporuku ljekovitih supstanci, s obzirom da one obezbjeđuju bolju zaštitu inkorporiranih supstanci. Takođe, u budućnosti se može očekivati sve veći broj nanofarmaceutskih preparata sa biotehnološkim ljekovitim supstancama (engl. biotech drugs), kao što su nukleinske kiseline, proteini, peptidi, oligonukleotidi, DNK (11, 8).

Od ranih 90. godina prošlog vijeka pa do danas, broj objavljenih naučnih publikacija u kojima su proučavani nanofarmaceutici eksponencijalno raste. U ovoj oblasti je zabiježeno preko 10000 naučnih radova, 1500 патената i 115 kliničkih ispitivanja (12). Svjetska zdravstvena organizacija (SZO), FDA (Food and Drug Administration) i EMA (European Medicines Agency) su odobrile da više različitih nanofarmaceutskih preparata za liječenje različitih bolesti postane komercijalno dostupno (13). Godine 2016. je procenjeno da je oko 250 nanofarmaceutika odobreno ili je u nekoj od faza kliničkih studija (8). Takođe, prema podacima iz 2017. godine, preko 100 novih lijekova sa nanomaterijalima prolazi kroz različite faze kliničkih ispitivanja (12). Najčešće se radi o ispitivanjima preparata sa ljekovitim supstancama koje su već komercijalno dostupne u farmaceutskim oblicima koji nisu bazirani na nanotehnologiji, a cilj je da se postigne veća efikasnost i/ili bolja podnošljivost lijekova u odnosu na postojeće preparate (13). Osim toga, klinički se ispituju i nanonosači za ciljnu isporuku lijekova i nanočestica zasnovanih na metalima, kojima se lijek na željeno mjesto dostavlja uvođenjem različitih spoljašnjih stimulusa (8).

Terapijska efikasnost i bezbjednosti lijekova, pored kvaliteta, osnovni su zahtjevi koje preparat treba da ispuni da bi postigao komercijalni uspjeh. Međutim, većina nanofarmaceutika ne ispuni pomenute uslove za registraciju lijeka na tržištu (14). Kao uzroci za ograničen klinički uspjeh nanofarmaceutskih lijekova se najčešće navode nedostatak metoda i standardizovanih protokola za pretklinički razvoj, kao i za ispitivanje efikasnosti, toksičnosti i bezbjednosti ove grupe preparata (15-17).

Odobreni nanofarmaceutski preparati na tržištu lijekova

Na svjetskom tržištu lijekova odobreni nanofarmaceutski preparati uključuju formulacije zasnovane na liposomima, nanoemulzijama, nanokristalima, polimer-protein konjugatima, polimernim lijekovima, nanokompleksima, polimernim micelama, nanočesticama i virosomima (3, 10, 18). U Tabeli I su opisane različite vrste nosača ljekovitih supstanci u nanofarmaceutskim preparatima i shematski prikazana njihova struktura.

Tabela I Nosači aktivnih supstanci u odobrenim nanofarmaceutskim preparatima – karakteristične osobine i prikaz strukture

Table I Drug carriers in commercially available nanopharmaceutical preparations – characteristics and structure

Nosač aktivne supstance	Definicija/osobine	Shematski prikaz strukture
Liposomi	<ul style="list-style-type: none"> Sferične vezikule sastavljene od jednog ili više zakrivljenih lipidnih dvoslojeva koji okružuju vodeno jezgro i po svojoj građi su slični ćelijskim membranama. Lipofilni krajevi dvoslojeva su orjentisani jedni prema drugima i grade unutrašnji, lipofilni dio vezikule. U ovaj lipofilni dio se mogu inkorporirati lipofilni ili amfifilni lijekovi, ukoliko su pogodne veličine i geometrije molekula. Hidrofilne glave lipida su okrenute prema spoljašnjoj vodenoj fazi i unutrašnjem vodenom jezgru vezikule. U hidrofilne dijelove se mogu inkorporirati lijekovi rastvorljivi u vodi. Veličine su od 10 nm do 10 μm (19-21).	<p>Preuzeto i prilagođeno prema referenci 21</p>
Nanokristali	<ul style="list-style-type: none"> Nanočestice ljekovitih supstanci dimenzija od nekoliko nm do 1000 nm (22, 23). Rastvorljivost aktivnih supstanci je konstantna vrijednost i zavisi od hemijske prirode supstance i rastvarača, i od temperature. Ispod kritične veličine od 1000 nm, saturaciona rastvorljivost supstance je u funkciji veličine čestica i sa smanjenjem njihove veličine, rastvorljivost raste, što povećava stepen njihove resorpcije kada se nađu u GIT-u (3, 24).	<p>Povećanje površine i broja čestica, smanjenjem veličine čestica Preuzeto iz reference 22</p>

Nosač aktivne supstance	Definicija/osobine	Shematski prikaz strukture
Nanoemulzije	<ul style="list-style-type: none"> Nanoemulzije (ranije submikronske emulzije ili mini emulzije) su disperzije ulja i vode stabilizovane surfaktantima, gdje su dispergovane kapi reda nanometarskih veličina (50-1000 nm, a najčešće 100-500 nm) (25).	<p>Preuzeto i prilagođeno prema: http://blogs.nottingham.ac.uk/malaysiaknowledgetransfer/2013/06/25/what-is-pharmaceutical-nanoemulsion/</p>
Nanočestice	<ul style="list-style-type: none"> Koloidni sistemi, obično prečnika od 1 do 100 nm, koji su uglavnom izgrađeni od biodegradabilnih polimera (GRAS status, eng. Generally Recognized and Safe) (11, 26). Dijeje se na: <ul style="list-style-type: none"> ➤ nanosfere – nanočestice matriksnog tipa čiji cijeli volumen zauzima polimer, sa lijekom dispergovanim u polimerni matriks nanosfere ili adsorbovanim na njenu površinu; ➤ nanokapsule – nanočestice sastavljene od polimerne membrane koja okružuje jezgro ispunjeno tečnošću (ulje ili voda) sa lijekom, ili je lijek adsorbovan na površinu nanokapsule (27-30).	<p>Preuzeto i prilagođeno prema referenci 29</p>

Nosač aktivne supstance	Definicija/osobine	Shematski prikaz strukture
Polimerne micelle	<ul style="list-style-type: none"> Klasa micela (obično sfernog oblika i prečnika 5-100 nm) koja se obrazuje u vodenoj sredini samoorganizovanjem blok kopolimera, sastavljenih od hidrofilnih i hidrofobnih monomernih jedinica, pri koncentraciji višoj od kritične micelarne koncentracije. Ove čestice imaju jezgro izgrađeno od hidrofobnih blokova stabilizovano omotačem od hidrofilnih polimernih lanaca. Iako se za sintetisanje polimernih micela mogu koristiti različiti hidrofilni polimeri, za obrazovanje hidrofilnog omotača se najčešće koriste PEG blokovi sa molekulskom masom od 1 do 15 kDa, a dužina blokova za obrazovanje jezgra je nešto manja nego za formiranje hidrofilnog dijela micelle (27, 29, 30).	<p>Preuzeto i prilagođeno prema referenci 30</p>
Preparati zasnovani na polimerima	<ul style="list-style-type: none"> Ova grupa nosača ljekovitih supstanci se razlikuje od polimernih nanočestica i zasnovana je na upotrebi rastvorljivih polimera kao osnovne komponente jezgra nosača (10). Vrste: polimerni lijekovi, polimer-lijek konjugati, polimer-protein konjugati, polimerni vektori i dendrimeri (31).	<p>Preuzeto i prilagođeno prema referencama 32 i 33</p>

Nosač aktivne supstance	Definicija/osobine	Shematski prikaz strukture
Nanočestice oksida gvožđa	<ul style="list-style-type: none"> Magnetne nanočestice (10-100 nm), sintetisane od gvožđe-oksida ili magnetita, koje ispoljavaju superparamagnetni efekat. Nakon injektovanja u krvni sistem, lijek, koji je vezan za njih, se do mjesta djelovanja vodi primjenom lokalnog magnetnog polja (27, 30).	<p>Preuzeto i prilagođeno prema referenci 10</p>
Virosomi	<ul style="list-style-type: none"> Male unilamelarne fosfolipidne vezikule koje sadrže na svojoj površini glikoproteine virusa, što im omogućuje fuziju sa ciljanim ćelijama, indukujući pojačan imuni odgovor (9, 10).	<p>Preuzeto i prilagođeno prema referenci 34</p>

Većina nanofarmaceutika koji su komercijalno dostupni predstavljaju formulacije koje sadrže ljekovite supstance koje su takođe odobrene u konvencionalnim farmaceutskim oblicima. Među aktivnim supstancama su najviše zastupljeni lijekovi visoke toksičnosti, a najveći broj formulacija sadrži paklitaksel (Abraxane® prašak za suspenziju za infuziju, Abraxis Bio Science; Genexol®-PM prašak za suspenziju za infuziju, Samyang Biopharmaceuticals Corporation; Nanoxel® rastvor za infuziju, Dabur Pharma) ili doksorubicin (Caelyx®/Doxil® koncentrat za rastvor za infuziju, Janssen-Cilag; Myocet® prašak, disperzija i rastvarač za koncentrat za disperziju za infuziju, Cephalon). Mnogi od lijekova imaju i veoma nisku rastvorljivost, zbog čega se u njihovim konvencionalnim farmaceutskim oblicima morao upotrebiti solubilizator neodgovarajućeg toksikološkog profila (makrogol-1500-gliceril triricinoleat – Cremophor® EL) za rastvaranje paklitaksela u Taxol® rastvoru za infuziju, kao i ciklični oligosaharid, hidroksipropil- β -ciklodekstrin, kao posrednik za obrazovanje inkluzionih kompleksa sa itakonazolom u Sporanox® oralnom rastvoru (13, 22). Kao nosači za

isporuku lijekova u odobrenim nanofarmaceutskim preparatima najčešće su korišćeni liposomi (doksorubicin, daunorubicin, vinkristin, amfotericin B, nistatin, mifamurtid, irinotekan, citarabin, heparin) i nanoemulzije (etomidat, propofol, deksametazon, diazepam, liposolubilni vitamini, ciklosporin, difluprednat), a značajan broj preparata sadrži nanokristale aktivnih supstanci (rapamicin, aprepitant, fenofibrat, megesetrolacetat, paliperidon, olanzapin, morfin, metilfenidat, tizanidin). Takođe, nanofarmaceutici su najčešće odobreni u farmaceutskim oblicima za parenteralnu primjenu: prašak za rastvor za infuziju (Ambisome[®], formulacija amfotericina B sa liposomima), suspenzija za injekciju (Exparel[®], sadrži bupivakain inkapsuliran u liposome) i emulzija za injekciju (Etomidat[®] Lipuro), zatim kao čvrsti farmaceutski oblici za peroralnu primjenu (meke kapsule (Sandimmun Neoral[®], samomikroemulgujući preparat sa ciklosporinom), tablete (Triglide[®], sadrži nanokristale fenofibrata), kapsule sa produženim oslobađanjem (Avinza[®], sa nanokristalima morfina; Focalin XR[®], sadrži nanokristale deksametilfenidata)). Osim toga, dostupno je i nekoliko preparata za ostale puteve primjene, i to: pulmonalna (Curosurf[®] suspenzija za endotraheopulmonalno ukapavanje), oftalmološka (Durezol[®] kapi za oči, Restasis[®] kapi za oči, Ikervis[®] kapi za oči) i dermalna primjena (ViaTromb[®] sprej za kožu/gel)), ali i lijekovi iz grupe vakcina, kod kojih su nosači virosomi (Epaxal[®], suspenzija za injekciju, vakcina protiv hepatitisa A; Inflexal[®] V, suspenzija za injekciju, vakcina protiv influence).

Tabela II Primjeri odobrenih nanofarmaceutskih preparata na tržištu Srbije i Bosne i Hercegovine (<https://www.alims.gov.rs/ciril/>, <http://www.almbih.gov.ba/>)

Table II Examples of commercially available nanopharmaceutical preparations in Serbia and Bosnia and Herzegovina (<https://www.alims.gov.rs/ciril/>, <http://www.almbih.gov.ba/>)

Nosač aktivne supstance	Ime lijeka i farmaceutski oblik	Ljekovita supstanca i sadržaj	Indikacija	Proizvođač
Liposomi	Curosurf [®] suspenzija za endotraheopulmonalno ukapavanje	Fosfolipidna frakcija iz pluća svinje (poraktant alfa) 80 mg/ml	Prevenција i terapija respiratornog distres sindroma kod prijevremeno rođene djece	Chiesi Farmaceutici GmbH, Austrija
	Alveofact [®] prašak i rastvarač za suspenziju za endotraheopulmonalno ukapavanje	Fosfolipidna frakcija iz pluća goveda (surfaktant) 45 mg/ml	Prevenција i terapija respiratornog distres sindroma kod prijevremeno rođene djece	Lyomark Pharma GmbH, Njemačka
	Survanta [®] suspenzija za endotraheopulmonalno ukapavanje	Beraktant (ekstrakt goveđih pluća) 25 mg/ml	Prevenција i terapija respiratornog distres sindroma kod prijevremeno rođene djece	AbbVie Inc., SAD

Nosač aktivne supstance	Ime lijeka i farmaceutski oblik	Ljekovita supstanca i sadržaj	Indikacije	Proizvođač
Nanokristali	Rapamune® obložena tableta	Rapamicin (sirolimus) 1 mg	Prevenција odbacivanja transplantiranog organa	Pfizer Ireland Pharmaceuticals, Irska
	Emend® kapsula, tvrda	Aprepitant 80 mg i 125 mg	Prevenција mučnine i povraćanja kod emetogene hemoterapije karcinoma	Merck Sharp & Dohme B.V., Holandija
	Lipidil® 145/ Lipanthyl® 145/ Zyglic film tableta tableta	Fenofibrat 145 mg	Hipertrigliceridemija, hiperholesterolemija, dislipidemija	Recipharm Fontaine, Francuska/ Mylan Laboratories SAS, Francuska/ Alkaloid AD, Makedonija
	Xeplion® suspenzija za injekciju sa produženim oslobađanjem	Paliperidon-palmitat (39, 78, 117, 156 i 234 mg/ml)	Bipolarni poremećaji, šizofrenija	Janssen Pharmaceutica N.V., Belgija
Nanoemulzije	Diprivan® emulzija za injekciju/ infuziju	Propofol 10 mg/ml	Anestetik	Astra Zeneca, Velika Britanija/Corden Pharma Societa per Azioni, Italija
	Vitalipid® N Adult koncentrat za emulziju za infuziju	Retinol 194,1 µg/ml, fitomenadion 15 µg/ml, ergokarciferol 0,5 µg/ml, tokoferol 0,91 µg/ml	Nadoknada vitamina	Fresenius Kabi AB, Švedska
	Vitalipid® N Infant koncentrat za emulziju za infuziju	Retinol 135,3 µg/ml, fitomenadion 20 µg/ml, ergokarciferol 1 µg/ml, tokoferol 0,64 µg/ml	Nadoknada vitamina	Fresenius Kabi AB, Švedska
SMEDDS*	Sandimmun Neoral® kapsula, meka oralni rastvor	Ciklosporin 25 mg, 50 mg i 100 mg 100 mg/ml	Profilaksa odbacivanja transplantiranog organa	Novartis Pharma, Švajcarska
Polimerne nanočestice	AbraXane® prašak za suspenziju za infuziju	Paklitaksel 5 mg/ml	Metastazirani rak dojke	Celgene Europe Limited, Velika Britanija
Preparati zasnovani na polimerima	Renvela® film tableta prašak za oralnu suspenziju	Sevelamer-hidrohlorid 800 mg 2,4 g	Hiperfosfatemija kod pacijenata na hemodijalizi ili peritonealnoj dijalizi	Genzyme Limited, Velika Britanija/ Genzyme Limited, Irska
	Copaxone® rastvor za injekciju u napunjenom injekcionom špricu	Glatiramer-acetat 20 mg/ ml i 40 mg/ml	Multipla skleroza	Teva Pharmaceuticals Industries Ltd, Izrael/ Teva Pharmaceuticals Europe BV, Holandija/ Norton Healthcare Limited T/A Ivax Pharmaceuticals, Velika Britanija
	Somavert® prašak i rastvarač za rastvor za injekciju	Pegvisomant 10 mg, 15 mg i 20 mg	Akromegalija	Pfizer Manufacturing, Belgija
	PegIntron® prašak i rastvarač za rastvor za injekciju	Peginterferon alfa-2b 50 µg, 80 µg i 100 µg / 0,5 ml	Hronični hepatitis C	Schering-Plough Labo N.V., Belgija

Nosač aktivne supstance	Ime lijeka i farmaceutski oblik	Ljekovita supstanca i sadržaj	Indikacije	Proizvođač
Preparati zasnovani na polimerima	Pegasys® rastvor za injekciju u napunjenom injeksionom špricu/ rastvor za injekciju u penu sa uloškom	Peginterferon alfa-2b 90 µg/0,5 ml, 135 µg/0,5 ml, 180 µg/0,5 ml	Hepatitis B, hronični hepatitis C	F. Hoffmann-La Roche Ltd, Švajcarska
	Neulastim® rastvor za injekciju u napunjenom injeksionom špricu	Pegfilgrastim 6 mg/0,6 ml	Neutropenija indukovana hemoterapijom	Amgen Europe B.V., Holandija
	Mircera® rastvor za injekciju u napunjenom injeksionom špricu	Metoksi-PEG-epoetin beta 50, 75, 100, 120, 150 i 200 µg /0,3 ml, 360 µg/0,6 ml	Anemija kod hroničnih oboljenja bubrega	Roche Diagnostics GmbH, Njemačka
	Eligard® prašak i rastvarač za rastvor za injekciju	Leuprorelin-acetat 7,5 mg, 22,5 mg i 45 mg	Kancer prostate	Astellas Pharma Europe B.V., Holandija
Nanočestice oksida gvožđa	Venofer® rastvor za injekciju/infuziju	Kompleks gvožđe(III)-oksida i saharoze 20 mg/ml elementarnog gvožđa	Anemija uzrokovana nedostatkom gvožđa	Vifor (International) Inc, Švajcarska
	Monofer® rastvor za injekciju/infuziju	Gvožđe(III)-izomaltozid 1000 100 mg/ml elementarnog gvožđa	Anemija uzrokovana nedostatkom gvožđa	Pharmacosmos A/S, Danska

* SMEDDS (engl. Self Microemulsifying Drug Delivery System) – Samo-mikroemulgujući nosač za isporuku lijeka

S obzirom da su se liposomi kao nosači aktivnih supstanci počeli ispitivati od 1976. godine (35), očekivano je da su najstarija i najzastupljenija klasa nanonosača u kliničkoj primjeni. Osim formulacija lijekova koji se koriste u hemoterapiji (doksorubicin, daunorubicin, vinkristin, citarabin, mifamurtid), preparati sa liposomima su dostupni i za liječenje gljivičnih infekcija (amfotericin B, nistatin), bola (bupivakin, mofin), oboljenja oka (verteporfin), kao i respiratornih oboljenja novorođenčadi (beraktant, bovektant, poraktant alfa). Inkapsulacijom aktivnih supstanci u liposome se usporava njihovo oslobađanje i umanjuje renalni klirens, što mijenja farmakokinetiku slobodnih lijekova (36). Takođe, oblaganjem površine liposoma polietilenglikolima (PEG) ili drugim polimerima se obezbjeđuje sterno ometanje za opsonizaciju od strane retikulo-endotelnog sistema i produžuje vrijeme zadržavanja liposoma u cirkulaciji. Produženo prisustvo liposoma u cirkulaciji omogućuje njihov prolazak na mjesta gdje su krvni sudovi propustljiviji (npr. u regiji tumora) (3, 19, 36). Razvojem preparata sa liposomima DaunoXome® koncentrat za rastvor za infuziju i Caelyx®/Doxil® koncentrat za rastvor za infuziju značajno je smanjena kardiotoksičnost, koja je uobičajena za terapiju daunorubicinom i doksorubicinom (10), kao i povećana akumulacija lijekova u

tumorskom tkivu (3). Slično, neželjena dejstva amfotericina B (reakcije povezane sa primjenom infuzije lijeka i nefrotoksičnost indukovana hroničnom primjenom lijeka) su prevaziđena upotrebom liposoma kao nosača ljekovite supstance u AmBisome® prašku za rastvor za infuziju. Iako je klinička prednost upotrebe nanofarmaceutskih preparata sa liposomima najčešće smanjenje neželjenih efekata lijekova (13), takođe moguće je produžiti poluživot i usporiti oslobađanje lijekova (Caelyx®/Doxil®, DepoCyt®, DepoDur®, Myocet®), smanjiti učestalost doziranja citarabina (DepoCyt®) ili dozu morfin-sulfata za adekvatnu kontrolu bolesti (DepoDur®), kao i oponašati prirodnu strukturu virusa (preparati sa virosomima, poput Inflexal® V, Epaxal®) (3, 10). Godine 2016. je odobren preparat sa liposomima Onivyde® disperzija za injekciju/infuziju, koji sadrži inhibitor topoizomerase I (irinotekan) inkapsuliran u liposome, a upotrebom ovog lijeka se produžava vrijeme preživljavanja pacijenata sa metastatskim tumorom pankreasa (24).

Antineoplastik paklitaksel je aktivna supstanca u više različitih nanofarmaceutika na tržištu: Genexol-PM®, prašak za suspenziju za infuziju, Nanoxel®, rastvor za infuziju i Abraxane®, prašak za suspenziju za infuziju. S obzirom na njegovu veoma nisku rastvorljivost u vodi, za rastvaranje lijeka u konvencionalnim farmaceutskim oblicima (Taxol® rastvoru za infuziju i generički ekvivalenti) je korišćena smjesa dviju pomoćnih supstanci – surfaktant makrogol-1500-gliceril triricinoleat (Cremophor® EL) i etanol (50:50). Međutim, prisustvo pomenutog surfaktanta u formulaciji je povezano sa pojavom ozbiljnih neželjenih efekata, kao što su hipersenzitivne reakcije (37). U poređenju sa Taxol® rastvorom za infuziju pokazano je da su neželjeni efekti smanjeni upotrebom nanofarmaceutskih preparata sa paklitakselom. Takođe, postignuta je veća ili slična efikasnost u slučaju primjene Genexol®-PM (koji će vjerovatno biti odobren u EU pod imenom Cynvilog®) i Nanoxel®-a, respektivno, kao jedina dva odobrena preparata zasnovana na polimernim micelama (10, 35, 38-40). Abraxane® je zasad jedini odobreni lijek u kojem su polimerne nanočestice nosači paklitaksela. Ovaj sterilni liofilizat sadrži 100 mg paklitaksela u amorfnim nanočesticama albumina prosječnog prečnika od 130 nm i upotrebljava se u obliku suspenzije za infuziju, upravo zahvaljujući veličini čestica od 130 nm, koje se mogu primjenjivati intravenski. Zbog manje toksičnosti i dužeg zadržavanja nanočestica albumina u cirkulaciji, dozvoljena je upotreba paklitaksela u većim dozama, u poređenju sa Taxol®-om (37). Zbog klinički dokazane prednosti u odnosu na konvencionalne formulacije infuzionih rastvora paklitaksela sa surfaktantom, Abraxane® se danas rutinski koristi u kliničkoj praksi za indikaciju metastaziranog raka dojke (13).

Slično kao u slučaju liposoma, polimernih micela i polimernih nanočestica, i u kategoriji nanoemulzija, najveći broj preparata je odobren u farmaceutskim oblicima za parenteralnu primjenu. Tradicionalno, nanoemulzije se već oko pet decenija koriste u totalnoj parenteralnoj ishrani pacijenata. Kapacitet za rastvaranje velikih količina

hidrofobnih lijekova, kao i mogućnost zaštite aktivnih supstanci od hidrolize i enzimske degradacije, čini nanoemulzije veoma pogodnim nosačima za parenteralnu primjenu lijekova. Određen broj nanofarmaceutskih preparata sa nanoemulzijama je odobren za nadokanadu liposolubilnih vitamina (vitamin A, D, E i K) i liječenje različitih bolesti nanofarmaceuticima diazepama, propofola, deksametazona, etomidata, flurbiprofena i prostaglandina E1) (41). Takođe, veliku pažnju istraživača privlače samodispergujući nosači za isporuku lijekova zasnovani na lipidima, koji sadrže lijek u homogenoj, izotropnoj smješi sastavljenoj iz lipida (ulja), hidrofilnih surfaktanta/kosurfaktanta, a mogu da sadrže i hidrofilne korastvarače. Kada takvi preparati dospiju u lumen GIT-a, miješanjem sa gastrointestinalnom tečnošću se obrazuje U/V mikroemulzija (samo-mikroemulgujući nosači za isporuku aktivnih supstanci) ili U/V nanoemulzija (samo-nanoemulgujući nosači za isporuku aktivnih supstanci) (42). Za sada, uglavnom zbog ograničenja vezanih za upotrebu surfaktanta i korastvarača, i mogućnosti precipitacije lijeka nakon razblaženja *in vivo* (što vodi do nepredviđene oralne biološke raspoloživosti), samo nekoliko preparata na bazi samo-mikroemulgujućih/samo-nanoemulgujućih nosača je dostupno na tržištu, poput Sandimmun Neoral[®] mekih kapsula, Sandimmun Neoral[®] oralnog rastvora (Novartis Pharma, Njemačka) i Norvir[®] mekih kapsula (Aessica Queenborough Ltd, Velika Britanija) (10, 43).

Najveći broj preparata koji sadrže nanokristale lijekova je namjenjen za peroralni put primjene (tablete, kapsule sa produženim oslobađanjem, tvrde kapsule, oralna suspenzija), dok se manji broj lijekova iz ove kategorije nanofarmaceutika primjenjuje parenteralno. Kao glavne prednosti peroralnih farmaceutskih oblika sa nanokristalima (npr. Rapamune[®] obložene tablete, Emend[®] tvrde kapsule, Tricor[®] tablete, Megace[®] ES oralna suspenzija) navode se prihvatljivost od strane pacijenata (što može povećati komplijansu) i veća biološka raspoloživost u odnosu na rastvore lijekova, proistekla iz smanjivanja čestica lijeka do nanometarskih veličina, što dovodi do povećanja rastvorljivosti lijeka (22). Nadalje, upotreba nanokristala može značajno da umanji zahtjevanu dozu lijeka, kao što je slučaj sa Tricor[®] tabletama (145 mg fenofibrata u nanofarmaceutiku u poređenju sa tabletama (160 mg) i kapsulama (200 mg) koje sadrže mikronizirani, odnosno nemikronizirani fenofibrat) (44). Osim toga, u slučaju Tricor[®] tableta, nanokristali fenofibrata značajno umanjuju razliku u apsorpciji između „natašte“ i „site“ faze, u poređenju sa tabletama/kapsulama koje ne sadrže nanokristale aktivne supstance, jer adhezivna svojstva nanokristala na crijevnoj sluzokoži nisu ugrožena u prisustvu hrane, što može biti od značaja za komercijalni uspjeh lijekova ukoliko bi bilo zahtijevano da se uzimaju sa hranom (10).

Parenteralni put primjene lijeka je dominantan i u slučaju formulacija lijekova baziranih na nanočesticama gvožđe(III)-oksida: FerahemeTM (Advanced Magnetics)/Rienso[®] (Takeda Italia Farmaceutici SpA), Ferinject[®] (Vifor France SA)/Injectafer[®] (Luitpold Pharmaceuticals), Venofer[®] (Vifor (International) Inc),

Ferrlecit® (Aventis Pharma), Monofer® (Pharmacosmos A/S), Ferrisat® (Pharmacosmos A/S) i Cosmofer® (Pharmacosmos A/S). Navedeni rastvori za injekciju/infuziju sa nanočesticama oksida gvožđa koriste se u terapiji anemije, ukoliko se oralnom terapijom ne postiže odgovarajući efekat ili pacijenti imaju hroničnu insuficijenciju funkcije bubrega. Gvožđe se iz ovakvih kompleksnih struktura oslobađa u makrofage retikulo-endotelnog sistema, odakle prelazi intracelularno u zalihe gvožđa ili u transferin u plazmi i postaje dostupno za efektivnu eritropoezu (3, 45). S obzirom da proizvodnja različitih nanokompleksa oksida gvožđa podrazumijeva različite polazne materijale i različite uslove proizvodnje (npr. reakciono vrijeme, pH, temperatura), odobreni lijekovi se razlikuju međusobno po svojim fizičko-hemijskim osobinama, od kojih neke uopšte ne mogu da se otkriju uobičajenim metodama u kontroli kvaliteta lijekova. Stoga, razlike u strukturi jezgra, veličini čestica i njihovoj distribuciji, odnosu između gvožđa i ugljenog hidrata, mogu značajno da utiču na stabilnost kompleksa, dispoziciju lijeka nakon primjene i oslobađanje gvožđa (45). Ove razlike takođe mogu imati uticaja i na pojavu neželjenih dejstava nakon primjene parenteralnih nanofarmaceutika, kao što je pojava hipofosfatemije (Ferinject®/Injectafer®), prolazne proteinurije (Venofer®), oštećenja jetre (Ferrlecit®) ili alergijskih reakcija, koje su izazvane prisustvom dekstrana, što je zajedničko za sve parenteralne preparate gvožđa (10). U slučaju Monofer® rastvora za injekciju/infuziju, u kojem je nanokompleks matriksne strukture, oslobađanje gvožđa je kontrolisano i usporeno, što obezbjeđuje brzu primjenu lijeka kao visokodozne *i.v.* infuzije ili bolus injekcije, sa malim rizikom za pojavu intoksikacije slobodnim gvožđem (10). Osim lijekova za nadoknadu gvožđa, od 2013. godine je u Evropi odobren još jedan preparat koji sadrži superparamagnetne nanočestice gvožđa obložene aminosilanom, a koristi se u terapiji tumora (glioblastoma, prostate i pankreasa): NanoTherm® (MagForce Ag, Njemačka). Injektovane nanočestice se podvrgavaju djelovanju promjenjivog magnetnog polja, što uzrokuje njihovu oscilaciju, koja generiše toplotu direktno u tumorskom tkivu i uništava ga kroz termalnu ablaciju (3).

U kategoriji nanofarmaceutika koji su zasnovani na polimerima, a imaju različite osobine od polimernih nanočestica, najveći broj lijekova predstavlja konjugate proteinskih molekula sa PEG ili lijek-protein konjugate. Zbog svojih dimenzija, fiziološki makromolekuli koji se koriste u terapiji, mogli bi se i sami svrstati u kategoriju nanofarmaceutika, ali se njihovo PEG-ilovanje (uvođenje PEG lanaca) koristi da bi se produžilo njihovo vrijeme zadržavanja u cirkulaciji i smanjila imunogenost (3). Tako je PEG-ilovanje interferona (PegIntron® and Pegasys®) značajno produžilo njihovo vrijeme zadržavanja u cirkulaciji i prelazak u hepatocyte, što je dovelo do poboljšanja u liječenju hepatitisa (10). Iako razvoj polimernih terapeutika počinje sa formulacijama za tretman malignih oboljenja, odobreni lijekovi uključuju brojne indikacije, poput infektivnih oboljenja (PegIntron® prašak i rastvarač za rastvor za

injekciju i Pegasys® rastvor za injekciju u napunjenom injekcionom špricu), reumatoidnog artritisa (Cimzia® rastvor za injekciju i prašak za rastvor za injekciju) i makularne degeneracije (Macugen® rastvor za injekciju) (32). Slično kao kod ostalih grupa nanofarmaceutskih lijekova, i u grupi polimernih terapeutika, parenteralni put primjene lijeka se izdvaja kao dominantan. Samo nekoliko lijekova je namijenjeno za oralnu upotrebu, kao što su Renagel®/Renvela® film tablete i Welchol® tablete i prašak za oralnu suspenziju, a koriste se za liječenje hroničnih oboljenja bubrega, odnosno dijabetesa tipa 2 (32).

U Tabeli II su prikazani odobreni nanofarmaceutici dostupni na tržištu Bosne i Hercegovine i Srbije. U odnosu na preparate koji su odobreni na svjetskom tržištu, gdje se za najveći broj lijekova kao nosači koriste liposomi, na našoj regiji je najviše preparata zasnovanih na polimerima, a slijede ih lijekovi sa nanokristalima aktivnih supstanci.

Nanofarmaceutici u fazi kliničkih ispitivanja

Pored nanofarmaceutskih lijekova koji su odobreni za terapiju, veliki broj nanofarmaceutika trenutno prolazi kroz različite faze kliničkih ispitivanja (Tabela III). Status ovih lijekova je značajan jer daje smjernice za buduća istraživanja, kao što obezbjeđuje uvid u promjene koje se dešavaju u ovoj oblasti, i preparate koji bi mogli da se nađu na tržištu u skorijoj budućnosti (24). U odnosu na odobrene lijekove, sve je veći broj ispitivanih nanofarmaceutika zasnovanih na micelama i konjugatima proteina i lijekova, a kako se iz Tabele III može uočiti, najviše se ispituju formulacije za liječenje malignih bolesti. Tri nanofarmaceutska preparata doksorubicina su trenutno u različitim fazama kliničkih ispitivanja. Kao nosači doksorubicina u ovim preparatima se koriste liposomi (MM-302 i Thermodox®) i polimerne micle (SP-1049-C). Thermodox® je sličan Doxil®-u, ali su u formulu liposoma uključeni lipidi osjetljivi na promjene temperature, čija se struktura mijenja kada se izlože temperaturi od 40-45°C (izazvana radiofrekventnim talasima), pri čemu se na njihovoj membrani obrazuju kanali kroz koje se doksorubicin oslobađa direktno unutar i oko ciljnog tumorskog tkiva dojke i jetre (24, <http://celsion.com/thermodox/>). U nekim zemljama (EU, Švajcarska, Turska i Izrael) je već dozvoljena njegova upotreba prije registracije, kako bi se tretirala hitna stanja povezana sa hepatobilijarnim tumorima (<http://celsion.com/thermodox/>). Još jedan preparat sa liposomima koji obećava – CPX-351, razvila je kompanija Celator Pharma. Preparat sadrži citarabin i daunorubicin u molarnom odnosu 5:1, a ova kombinacija lijekova se često koristi u terapiji akutne mijeloidne leukemije (46). Međutim, primjenom konvencionalnih metoda liječenja je često veoma teško postići maksimalan sinergistički efekat ovih lijekova, za razliku od primjene nanopreparata, gdje je to omogućeno zbog sekvencionalne isporuke lijekova unutar tumorskog tkiva (13).

Tabela III Primjeri nanofarmaceutskih preparata u stadijumu kliničkih ispitivanja (8, 13, 22, 32, 35)

Table III Examples of nanopharmaceutical preparations in clinical trials (8, 13, 22, 32, 35)

Nosač aktivne supstance	Ime lijeka i/ili ljekovita supstanca	Indikacije	Status / faza kliničkih ispitivanja
Liposomi	Thermodox® (doksorubicin)	Hepatobilijarni tumori	III
	Lipoplatin™ (cisplatin)	Različite vrste kancera	II/III
	Lipoxal™ (oksaliplatin)	Rak dojke i gastrointestinalnog trakta	I
	Nanocort® (prednizolon)	Reumatoidni artritis i ulcerozni kolitis	II
	MM-302 (doksorubicin)	Metastazirani rak dojke	III
	CPX-351 (citarabin, daunorubicin)	Visokorizična mijeloblastna leukemija	II
	IHL-305 (irinotekan)	Uznapredovali čvrsti maligni tumori	I
	MM-398 (irinotekan)	Metastazirani rak prostate	III
	Promitil® (mitomicin C)	Uznapredovali čvrsti maligni tumori	I
	Arikace® (amikacin)	Gram negativni mikroorganizmi, Pseudomonas, Mycobacterium avian	III
	Lipoquin® (ciprofloksacin)	Gram negativni mikroorganizmi	II
	Pulmaquin® (ciprofloksacin)	Gram negativni mikroorganizmi	II/III
	Amfotericin B	Kožna lajšmanijaza	II
	L-CsA (ciklosporin)	Komplikacije bronhiolitisa	I/II
	HL-009 (adenozil-kobalamin)	Atopijski dermatitis	II
Nanokristali	ReadiSorb Glutathione (glutation)	Šizofrenija	I
	Fenofibrat	Dislipidemija, prekomjerna težina	II
	Budesonid	Astma	III
	Panzem® NCD	Karcinom prostate	II
	Panzem® NCD (2-metoksiestradiol) i tamozolamid	Karcinom jajnika	II

Nosač aktivne supstance	Ime lijeka i/ili ljekovita supstanca	Indikacije	Status / faza kliničkih ispitivanja
Nanokristali	Panzem® NCD (2-metoksiestradiol) i Avastin (bevacizumab)	Karcinoidni tumor	II
	Theralux® (timektacin)	Kancer	II
	Paxceed® (paklitaksel)	Reumatodini artritis, psorijaza	okončana
	Megesterol-acetat	HIV infekcija, anoreksija, opšta slabost uzrokovana hroničnim oboljenjem	II
Nanoemulzije	Estradiol i progesteron	Supstitucija hormona (transdermalna)	II
Polimerne micele	Paclital® (paklitaksel)	Maligniteti u ginekologiji	III
	NK-015 (paklitaksel)	Metastazirani rak dojke	III
	NK-012 (metabolit irinotekana)	Uznapredovali čvrsti maligni tumori	I/II
	Nanoplatin® (cisplatin)	Uznapredovali čvrsti maligni tumori	II/III
	NC-4016 (oksaliplatin)	Uznapredovali čvrsti maligni tumori	I
	SP1049-C (doksorubicin)	Uznapredovali rak želuca	III
	BIND-014 (docetaksel)	Metastazirajući rak prostate, rak pluća	II
Polimerne nanočestice	Livatag® (doksorubicin)	Rezistentni hepatocelularni karcinom	III
Preparati zasnovani na polimerima	DTX-SPL8783 (DEP® docetaxel)	Uznapredovali karcinomi	I
	CRLX-101 (kamptotehin)	Uznapredovali čvrsti maligni tumori, kancer rektuma	II
	CRLX-301 (docetaksel)	Refraktorni tumori	I (planirana)
	Opaxio * (paklitaksel)	Karcinom glave i vrata, glioblastoma, ginekološki maligniteti	II/III
	Vivagel® STI	Prevenција infekcija HIV, HPV i genitalnog herpesa	III
	NANOefavirenz	HIV infekcija	I
	NANOlopinavir	HIV infekcija	I
Preparati zasnovani na polimerima	NKTR-118 (nalokson)	Konstipacija indukovana opioidima	II

*FDA dodijelila status „lijek siročić” (engl. „Orphan drug”)

Klinički se ispituju i nanofarmaceutici koji sadrže docetaksel, paklitaksel, mitomicin C i irinotekan. Može se primjetiti da su polimerne micele korišćene kao nosač za isporuku lijekova u tumorsko tkivo u većem broju preparata, što je i očekivano jer su se polimerne micele, zbog svojih jedinstvenih osobina, pokazale kao efikasan

nosač lijekova. Mnogi od njih su u kasnim fazama ispitivanja, poput onih koji sadrže paklitaksel (NK-015 i Paclital®). Takođe, BIND-014, koji je privukao značajnu pažnju zbog svog potencijala u terapiji karcinoma prostate, ima polimerne micle kao nosač za docetaksel, koji je inkorporiran u jezgro polimernih micela, konjugovanih ligandom za ciljano vezivanje sa antigenom specifičnim za membranu ćelija prostate. Slično tome, upotrebom CriPec® polimernih micela, koje je razvila kompanija Cristal Therapeutics, docetaksel se ciljano isporučuje u tkivo čvrstih tumora (24). Takođe, docetaksel je jedina aktivna supstanca podvrgnuta kliničkom ispitivanju u formulaciji zasnovanoj na dendrimerima (DEP® docetaxel/DTX-SPL8783, Starpharma, Australija). Ovaj preparat je trenutno u fazi I kliničkih ispitivanja, čiji rezultati još uvijek nisu dostupni. Međutim, u prekliničkim studijama je pokazano da je nanopreparat efikasniji i ima manju toksičnost u odnosu na Taxotere® koncentrat za rastvor za infuziju (Sanofi Aventis), pri čemu se naročito ističe odsustvo neutropenije, koja je glavni nedostatak terapije visokim dozama Taxotere®-a (http://www.starpharma.com/drug_delivery/dep_docetaxel). Kompanija Starpharma je razvila takođe i vaginalni gel zasnovan na dendrimerima - VivaGel®. Ovaj gel ne sadrži aktivne supstance, a antimikrobno djelovanje gela, razvijenog za liječenje rekurentnih bakterijskih vaginoza i prevencije HIV infekcije, potiče od polilizina u strukturi dendrimera (35). VivaGel® BV, koji je indikovano za liječenje bakterijskih vaginoza, je dobio odobrenje za registraciju na teritoriji Australije i EU i očekuje se njegova skora pojava na tržištu. Takođe, na tržištu Australije i Kanade je dostupan VivaGel® kondom, koji se koristi za prevenciju seksualno prenosivih bolesti. Osim toga, za VivaGel® STI, indikovano za prevenciju HIV infekcije, genitalnog herpesa i infekciju humanim papiloma virusom (HPV), trenutno su u toku ispitivanja koja obuhvata III faza kliničkih studija (http://www.starpharma.com/about_us, http://www.starpharma.com/vivagel/vivagel_clinical_trials). Osim Vivagel®-a, još dvije formulacije zasnovane na polimerima, koje sadrže antiretroviralne lijekove indikovane za liječenje HIV infekcija, prolaze kroz I fazu kliničkih ispitivanja (NANOefavirenz i NANOlopinavir). Od ovih preparata se očekuje da zadrže efikasnost postojećih preparata i povećaju podnošljivost lijekova, uz smanjenje doze lijeka i troškova terapije (13).

Nanofarmaceutici i njihova komercijalizacija

Nanofarmaceutici predstavljaju oko 15% globalnog farmaceutskog tržišta sa približno 250 nanopreparata koji su u kliničkoj praksi ili su u fazi kliničkih ispitivanja (10, 47). Procjenjuje se da će do 2019. godine vrijednost globalnog tržišta nanofarmaceutika dostići vrijednost od 528 milijardi dolara (47). Međutim, iako je ovaj sektor u ekspanziji, komercijalizacija nanofarmaceutika predstavlja veliki izazov. Da bi lijek bio odobren i komercijalizovan, potrebno je dokazati njegovu terapijsku efikasnost i bezbjednost. Nažalost, veliki broj nanofarmaceutskih preparata nije ispunio ove

kriterijume zbog izazova u optimizaciji formulacije, neujednačenosti u kvalitetu od serije do serije, kao i poteškoćama u razvoju robustnog i reproduktibilnog procesa proizvodnje, otežanom *scale-up* postupku i karakterizaciji, nestabilnosti u biološkim uslovima i regulatornim preprekama (10, 14, 16, 18, 48). Takođe, mnogi inovativni nanofarmaceutici sa aktivnim supstancama koje se koriste za liječenje rijetkih oboljenja se neće pojaviti na tržištu, zbog troškova registracije koji su daleko veći od očekivane prodaje takvih preparata (10).

Jedan od najvećih izazova, kako za regulatorna tijela tako i za farmaceutske kompanije, predstavlja nedostatak međunarodno prihvaćene definicije za prefiks "nano", tj. za ključne izraze kao što su nanotehnologija, nanomedicina, nanobiotehnologija, nanolijek, nanoterapeutik, nanofarmaceutski preparat/nanofarmaceutik i nanomaterijal. Usvajanje međunarodno prihvaćenih definicija za ove pojmove je neophodno za harmonizaciju regulative, patentiranje, razvoj standardizovanih postupaka i testova u kontroli kvaliteta nanofarmaceutika, kao i za procjenu bezbjednosti i etičnosti upotrebe ovih lijekova. Ukoliko se granice za veličinu moraju uključiti u definiciju "nano", onda bi, možda, gornja granica od 1000 nm bila najprikladnija, barem u pogledu rasprave koja se vodi o nanofarmaceuticima (49), kao i uzimajući u obzir da je FDA od 2010. godine podigla gornju granicu na 1000 nm u svrhu procjene dokumentacije za registrovanje preparata sa nanomaterijalima (kao što su lijekovi, medicinska sredstva, kozmetički proizvodi) (48), a što je kasnije uključeno i u vodič namjenjen industriji (6).

Doxil[®] koncentrat za rastvor za infuziju je lijek koji se širom svijeta uspješno koristi u terapiji karcinoma ovarijuma. Do sada je ovaj lijek primijenjen na više od 500 000 pacijenata. Međutim, uprkos širokoj primjeni i velikim naporima farmaceutskih kompanija, nakon više od četiri godine od isteka posljednjeg patenta vezanog za Doxil[®], postoji samo jedan generički lijek; Lipodox[®], koji je zvanično odobren 2013. godine od strane FDA (8). Prestroga regulativa u oblasti nanomedicine potencijalno stvara nepotrebnu barijeru ka komercijalizaciji nanoterapeutika nanoseći time štetu javnom zdravlju. Sa druge strane, jasno je da postoji potreba za kreiranjem regulatornih vodiča koji bi imali pristup zasnovan na naučnoj osnovi i koji bi omogućili objektivnu procjenu rizika kod primjene nanoterapeutika. Drugim riječima, regulatorni vodiči treba da budu dovoljno fleksibilni da bi mogli da se mijenjaju u korak sa tehnološkim inovacijama u ovoj oblasti. Međutim, iako je FDA održala veliki broj javnih rasprava na ovu temu, postavljala informacije sa različitih konferencija na svoju zvaničnu internet stranicu (<https://www.fda.gov/>), osnovala radnu grupu za pitanja nanotehnologije, objavila veliki broj saopštenja i izdala nacрте vodiča, nije uspjela da ponudi konkretne informacije o ispitivanjima, testovima u kontroli kvaliteta i drugim praktičnim pitanjima, koje su farmaceutskim kompanijama neophodne u procesu razvoja i registracije nanofarmaceutika. Kao posljedica toga, farmaceutska industrija je osuđena da

samostalno sakuplja sve dostupne informacije o "nanoregulativi" ili odobrenim preparatima koji sadrže nanomaterijale ili su proizvedeni prema principima nanotehnologije (49).

Bezbjednost nanofarmaceutskih preparata

Na tržištu postoji relativno veliki broj nanofarmaceutskih preparata za humanu upotrebu, ali se još uvek malo zna o njihovim efektima na zdravlje ljudi i potencijalnoj toksičnosti. Iako je nanotoksičnost kompleksna, poznato je da sistemi i čestice nanovelikine često imaju različite osobine u odnosu na isti materijal na makro nivou (*bulk* materijal) (50). U suštini ne može se pretpostaviti da će nanopreparat biti bezbjedan ili čak "bioekvivalentan" *bulk* materijalu. Ekstremno mala veličina čestica kod nanofarmaceutika može značajno uticati na ADME (Apsorpcija, Distribucija, Metabolizam i Eliminacija) osobine lijeka (7). S obzirom na to da je stav FDA takav da reguliše samo nanopreparate, a ne nanotehnologiju *per se*, postoji značajan toksikološki rizik za javno zdravlje. Međutim, uprkos zabrinutosti javnosti i farmaceutske industrije ne postoje jasni vodiči ili nacrti vodiča koji bi regulisali ova pitanja. Većina toksikoloških testova omogućava samo procjenu kratkoročne toksičnosti, te je stoga potrebno razviti testove za dugotrajnu procjenu toksičnosti nanofarmaceutskih preparata.

Karakterizacija nanofarmaceutskih preparata se često sprovodi u uslovima koji ne oslikavaju realno fiziološko i biološko okruženje i potrebno je inkorporirati nove metode za kreiranje okruženja koje će bolje imitirati *in vivo* uslove, kao što su mikrofluidi. Osim toga, veoma je bitan odabir pravog životinjskog modela za ispitivanje različitih nanopreparata i sakupljanje podataka koje je moguće ekstrapolirati na čovjeka. Dakle, neophodno je dobro razumjeti kritične fizičko-hemijske karakteristike kao i *in vivo* ponašanje nanofarmaceutskih preparata (14). Mnoge studije na životinjama su pokazale da određeni nanomaterijali ne djeluju toksično na jetru i bubrege (51, 52). Ipak, potrebno je sprovesti dodatna istraživanja da bi se razumjela biodistribucija, imuni odgovor, toksičnost i eliminacija nanomaterijala u tijelu čovjeka.

Procjena bezbjednosti primjene nanomaterijala kod čovjeka još uvijek predstavlja veliki izazov. S obzirom na to da ne postoje standardizovane metode za procjenu bezbjednosti, veoma je teško upoređivati rezultate prekliničkih i kliničkih testova iz različitih laboratorija ili zdravstvenih ustanova. Osim toga, većina izvještaja o rezultatima kliničkih studija za nanofarmaceutike je uglavnom usmjerena na terapijsku efikasnost lijeka, ali ne i na njegovu bezbjednost i potencijalne neželjene efekte kod čovjeka. Dakle, neophodno je razviti jedinstvene standardizovane testove za procjenu bezbjednosti primjene nanomaterijala kod čovjeka (53).

Farmaceutska industrija je u potpunosti svjesna da regulatorne agencije ne mogu ponuditi opšte vodiče i protokole za testiranje svih nanolijekova (nanopreparata). Ipak,

regulatorne agencije bi trebalo da obezbjede vodiče koji bi barem mogli da daju naznake industriji da li će i u kojem obimu njihov nanopreparat biti podvrgnut sveobuhvatnijem regulatornom ispitivanju, u odnosu na konvencionalne lijekove. Za sada se proizvođačima savjetuje da se u ranim fazama razvoja nanofarmaceutika konsultuju sa FDA, kako bi se olakšalo razumijevanje naučnih i regulatornih pitanja i preparati dobili odobrenje da se nađu na tržištu (10, 49). Sa regulatornog aspekta, imperativ je da se definišu kritične osobine preparata, na osnovu kojih bi bilo moguće predvidjeti njegovo ponašanje u *in vivo* uslovima (npr. veličina i raspodjela veličine nanočestica, osobine površine) (10). U tom smislu, FDA je načinila i prvi korak, izdavanjem vodiča koji bi olakšao identifikaciju proizvoda koji sadrže nanomaterijale (6). Potrebno je takođe obezbjediti koordinaciju na globalnom nivou u cilju regulisanja pitanja nanolijekova i definisati koje regulatorne agencije, pored FDA i EMA, bi trebale da imaju ključnu odgovornost u rješavanju ovog pitanja (49). U tom kontekstu, bitno je istaći saradnju između EMA i Japanskog ministarstva zdravlja (engl. *Japanese Ministry of Health, Labor, and Welfare* (MHLW)) koja je rezultirala osnivanjem specijalne radne grupa za pitanje nanolijekova u koje su uključeni regulatorni eksperti i koja djeluje u okvirima Međunarodnog farmaceutskog regulatornog foruma (engl. *International Pharmaceutical Regulatory Forum* (IPRF)) (54).

Primjena nanotehnologije u medicini je dovela do značajnog napretka u postizanju pozitivnog zdravstvenog ishoda kod velikog broja pacijenata. Veoma je bitno ocijeniti da li će primjenom postojećih metoda karakterizacije nanolijekova i regulatornih vodiča moći adekvatno procijeniti njihova bezbjednost i efikasnost. Takođe je neophodno jačati saradnju između akademske zajednice, industrije i regulatornih tijela u cilju boljeg razumijevanja i razvoja regulatornih vodiča u oblasti nanolijekova (13).

Zaključak

U poslednjih nekoliko decenija, razvoj nanofarmaceutika je bio usmjeren ka poboljšanju fizičko-hemijskih osobina nanočestica, kao što su veličina, oblik, osobine površine, naelektisanje i karakteristike oslobađanja lijeka, kako bi se poboljšao farmakokinetički profil lijeka te osigurala njegova selektivna isporuka. Razvijen je niz različitih tipova nanofarmaceutika od kojih su mnogi u kliničkoj primjeni. U većini slučajeva, riječ je o lijekovima koji osiguravaju pasivnu ciljanu dostavu citostatika u tumorska tkiva, zahvaljujući prolasku nanonosača kroz propustljive krvne sudove tumora, čime je značajno smanjena sistemska toksičnost tih lijekova i/ili povećana efikasnost lijekova u poređenju sa konvencionalnim farmaceutskim oblicima iste ljekovite supstance. Osim odobrenih (registrovanih) lijekova, veliki broj nanofarmaceutika se nalazi u različitim fazama kliničkih ispitivanja. Međutim, ograničen klinički uspjeh nanofarmaceutika je uglavnom uzrokovan izazovima u optimizaciji formulacija, konzistentnosti od serije do serije ovih preparata, robusnošću

procesa proizvodnje, metodama za karakterizaciju i ispitivanje njihovog kvaliteta, regulatornim zahtjevima, nestabilnošću preparata u biološkoj sredini, kao i nepoznavanjem bezbjednosti ove nove vrste lijekova, uglavnom zbog nedostatka adekvatnih testova kojima bi se ispitala i potencijalna dugoročna toksičnost nanopreparata.

Literatura

1. Lövestam G, Rauscher H, Roebben G, Klüttgen BS, Gibson N, Putaud J-P, Stamm H. Considerations on a Definition of Nanomaterial for Regulatory Purposes. JRC Reference Report, 2010. Available from https://ec.europa.eu/jrc/sites/jrcsh/files/jrc_reference_report_201007_nanomaterials.pdf.
2. Linsinger T, Roebben G, Gilliland D, Calzolari L, Gibson N, Klein C. Requirements on measurements for the implementation of the European Commission definition of the term “nanomaterial”. JRC Reference Report, 2012. Available from https://ec.europa.eu/jrc/sites/jrcsh/files/irmm_nanomaterials_%28online%29.pdf.
3. Weissig V, Pettinger TK, Murdock N. Nanopharmaceuticals (part I): products on the market. *Int J Nanomed*. 2014;9:4357-73.
4. Kalepu S, Nekkanti V. Insoluble drug delivery strategies: review of recent advances and business prospects. *Acta Pharm Sin B*. 2015;5(5):442-53.
5. Wong HL, Wu XY, Bendayan R. Nanotechnological advances for the delivery of CNS therapeutics. *Adv Drug Deliv Rev*. 2012;64(7):686-700.
6. Guidance for Industry Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology. Technical Report. U.S. Department of Health and Human Services, 2014. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/RegulatoryInformation/Guidances/UCM401695.pdf>.
7. European Technology Platform on NanoMedicine – Nanotechnology for Health. Vision Paper and Basis for a Strategic Research Agenda for NanoMedicine. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2005.
8. Ragelle H, Danhier F, Preat Veronique, Langer R, Anderson DG. Nanoparticle-based drug delivery systems: a commercial and regulatory outlook as the field matures. *Expert Opin Drug Deliv*. 2017; 14(7):851-64.
9. Wagner W, Husing B, Gaisser S, Bock A. Nanomedicine: drives for development and possible impact, Center ECJR, Studies IfPT, European Commision Joint Research Centre, Institute for Prospective Technological Studies, 2006.
10. Hafner A, Lovrić J, Perina Lakoš G, Pepić I. Nanotherapeutics in the EU: an overview on current state and future directions. *Int J Nanomed*. 2014;9:1005-23.

11. Savić S, Gluščević I, Milić J, Vuleta G. Nanodisperzni sistemi kao nosači lekovitih supstanci. *Arh farm* 2005;55:437-54.
12. Alhareth K, Sancey L, Tsapis N, Mignet N. How should we plan the future of nanomedicine for cancer diagnosis and Therapy? *Int J Pharm.* 2017; doi: 10.1016/j.ijpharm.2017.05.037.
13. Caster JM, Patel AN, Zhang T, Wang A. Investigational nanomedicines in 2016: a review of nanotherapeutics currently undergoing clinical trials. *WIREs Nanomed Nanobiotechnol.* 2017;9:e1416.
14. Agrahari V, Hiremath P. Challenges associated and approaches for successful translation of nanomedicines into commercial products. *Nanomedicine (Lond.)*; 2017;12(8):819-23.
15. Hassan S, Prakash G, Ozturk AB, Saghadzadeh S, Sohail MF, Seo J, Dokmeci MR, Zhang YS, Khademhosseini A. Evolution and clinical translation of drug delivery nanomaterials. *Nano Today*; 2017;15:91-106.
16. Kaur IP, Kakkar V, Deol PK, Yadav M, Singh M, Sharma I. Issues and concerns in nanotech product development and its commercialization. *J Control Release.* 2014;193:51-62 .
17. Sainz V, Coniot J, Matos AI, Peres C, Zupančič E, Moura L, Silva LC, Florindo HF, Gaspar RS. Regulatory aspects on nanomedicines. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015;468:504-10.
18. Anselmo AC, Mitragotri S. Nanoparticles in the clinic. *Bioeng Transl Med.* 2016;1(1): 10-29.
19. Milić J, Petrović S.D. Karakteristike savremenih farmaceutskih oblika. *Hem ind* 2003;57(10):424-36.
20. Jores K. Lipid Nanodispersions as Drug Carrier Systems – a Physicochemical Characterization (dissertation). *Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technische Fakultät der Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg, Halle*, 2004.
21. Cukierman E, Khan DR. The benefits and challenges associated with the use of drug delivery systems in cancer therapy. *Biochem Pharmacol* 2010;80:762-70.
22. Junghanns J-U, Müller R. Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications. *Int J Nanomedicine.* 2008;3:295-309.
23. Keck CM, Kobierski S, Mauludin R, M Müller RH. Novel top-down technologies: effective production of ultra-fine drug nanocrystals. In: Douroumis D, Fahr A, editors. *Drug delivery strategies for poorly water-soluble drugs.* John Wiley & Sons, Ltd., West Sussex, 2013, p. 247-63.
24. Bobo D, Robinson KJ, Islam J, Thurecht KJ, Corrie SR. Nanoparticle-based medicines: a review of FDA-approved materials and clinical trials to date. *Pharm Res.* 2016;33(10):2373-87.
25. Souto EB, Nayak AP, Murthy RSR. Lipid Nanoemulsions for Anti-Cancer Drug Therapy. *Pharmazie* 2011; 66(7):473-8.
26. Hall J.B, Dobrovolskaia M.A, Patri A.K, McNeil S.E. Characterization of nanoparticles for therapeutics. *Nanomedicine* 2007; 2(6):789-803.
27. Parveen S, Misra R, Sahoo SK. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. *Nanomedicine* 2012;8(2):147-66.
28. Pepić I, Kaić N, Filipović-Grčić J. Nanočestice kao terapijski sustavi za primjenu lijekova u oko. *Farmaceutski glasnik* 2011; 67(2):73-86.

29. Christoforidis J.B, Chang S, Jiang A, Wang J, Cebulla C.M. Intravitreal devices for the treatment of vitreous inflammation. *Mediators Inflamm* 2012; 2012:126463.
30. Mishra B, Patel BB, Tiwari S. Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. *Nanomedicine* 2010;6:9-24.
31. Gaspar R, Duncan R. Preclinical safety and the regulatory implications for design and development of polymer therapeutics. *Adv Drug Deliv Rev.* 2009;61:1220–1231.
32. Duncan R. Polymer therapeutics as nanomedicines: new perspectives. *Curr Opin Biotechnol.* 2011;22(4):492-501.
33. Lee J, Nan A. Combination drug delivery approaches in metastatic breast cancer. *J Drug Deliv.* 2012; article ID 915375, doi: 10.1155/2012/915375.
34. Xu Y, Yuen PW, Lam JK. Intranasal DNA vaccine for protection against respiratory infectious diseases: the delivery perspectives. *Pharmaceutics.* 2014;6(3):378-415.
35. Đekić Lj. Nanomaterijali u farmaceutskim preparatima: karakteristike i primena (specijalistički rad). Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Beograd, 2013.
36. Gabizon A. Liposomal drug carriers in cancer therapy. In: Torchilin VP, editor. *Nanoparticulates as drug carriers.* Imperial college Press, London, 2006, p. 436-62.
37. Miele E, Spinelli GP, Miele E, Tomao F, Tomao S. Albumin-Bound formulation of paclitaxel (Abraxane ABI-007) in the treatment of breast cancer. *Int J Nanomedicine,* 2009;4:99-105.
38. Lee S-W, Yun M-H, Jeong SW, In C-H, Kim J-Y, Seo M-H, Pai C-M, Kim S-O. Development of docetaxel-loaded intravenous formulation, Nanoxel-PM™ using polymer-based delivery system. *J Control Release.* 2011;155(2):262-71.
39. Werner ME, Cummings ND, Sethi MS, Wang EC, Sukumar R, Moore DT, Wang AZ. Preclinical evaluation of Genexol-PM, a nanoparticle formulation of paclitaxel, as a novel radiosensitizer for the treatment of non-small cell lung cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2013;86(3):463-8.
40. Ranade AA, Joshi DA, Phadke GK, Patil PP, Kasbeker RB, Apte TG, Dasare RR, Mengde SD, Parikh PM, Bhattacharyya GS, Lopes GL. Clinical and economic implications of the use of nanoparticle paclitaxel (Nanoxel) in India. *Ann Oncol.* 2013;24(suppl5):v6-v12.
41. Patil PA, Bhutkar BR. Biomedical application of nanoemulsion – a features review. *IJRM Human.* 2016; 1(3):37-58.
42. Cerpnjak K, Zvonar A, Gasperlin M, Vrečer F. Lipid-based systems as a promising approach for enhancing the bioavailability of poorly water-soluble drugs. *Acta Pharm.* 2013;63:427-45.
43. Narang AS, Delmarre D, Gao D. Stable drug encapsulation in micelles and microemulsions. *Int J Pharm.* 2007;354(1-2):9-25.
44. Ling H, Luoma JT, Hilleman D. A review of currently available fenofibrate and fenofibric acid formulations. *Cardiol Res.* 2013;4(2):47-55.
45. Borchard G, Flühmann B, Mühlebach S. Nanoparticle iron medicinal products – Requirements for approval of *intended copies* of non-biological complex drugs (NBCD) and the importance of clinical comparative studies. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2012;64(2):324-8.

46. Min Y, Caster JM, Eblan MJ, Wang AZ. Clinical translation of nanomedicine. *Chem Rev.* 2015;115(19):11147-90.
47. BCC Research, Nanotechnology in medical applications: the global market. BCC Research LLC; 2015.
48. Desai N. Challenges in development of nanoparticle-based therapeutics. *AAPS J.*2012; 14(2): 282-95.
49. Bawa R, Barenholz Y, Owen A. The Challenge of Regulating Nanomedicine: Key Issues. In: Braddock M, editor. *Nanomedicines Design, Delivery and Detection*. The Royal Society of Chemistry, 2016, p. 290-314.
50. De Jong WH, Borm PJA. Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. *Int J Nanomedicine.* 2008; 3(2):133-49.
51. Oberdorster O, Stone V, Donaldson K. Toxicology of nanoparticles: a historical perspective. *Nanotoxicology.*2007;1:2-25.
52. Vega-Villa KR, Takemoto JK, Yanez JA, Remsberg CM, Forrest M L, Davies N M. Clinical toxicities of nanocarrier systems. *Adv Drug Delivery Rev.*2008;60:229-38.
53. Su H, Wang Y, Gu Y, Bowman L, Zhao J, Ding M. Potential applications and human biosafety of nanomaterials used in nanomedicine. *J Appl Toxicol.* 2018;38:3-24.
54. IPRF Nanomedicines Working Group Mandate, International Pharmaceutical Regulators Forum, 2017. Available from: <https://www.i-p-r-f.org/index.php/en/>.

Nanopharmaceuticals – characteristics of importance for pharmaceutical practice

Bubić Pajić Nataša ^{1*}, Gatarić Biljana¹, Čivčija Jelena²,
Vuleta Gordana³

¹ University of Banja Luka, Faculty of Medicine – Pharmacy Department, Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Save Mrkalja 14, Banja Luka

² Paracelsus Apotheke, Schillerstraße 35, Schönebeck (Elbe), Germany

³ University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Vojvode Stepe 450, 11000 Belgrade, Serbia

* Correspondence: natasa.bubic.pajic@med.unibl.org

Summary

In the field of pharmaceutical technology, nanopharmaceutical preparations/nanopharmaceuticals are currently the most studied and most promising topic. By using nanomaterials as drug delivery carriers, the pharmacological properties of drugs can be improved by changing their pharmacokinetic properties and distribution in the biological environment. This approach is particularly useful in delivery of chemotherapeutic agents into tumor tissues. Due to their characteristics, nanopharmaceuticals have many advantages over preparations used in conventional chemotherapy. The greatest advantage is the targeted drug delivery to tumor tissues, resulting in reduced systemic toxicity, which is the most prominent disadvantage of conventional chemotherapy. Among various types of nanocarriers, the most attention was drawn to liposomes and micelles, which represent the most successful and commercialized categories within the field of nanomedicine. Several nanotherapeutics, which contain active substances belonging to different pharmacotherapeutical groups (e.g. chemotherapeutical agents, anesthetics, antibiotics, sedatives, etc.), have already entered clinical practice, mainly in following dosage forms: powder for solution for infusion, suspension for injection and emulsion for injection. On the other hand, there is a greater number of drugs undergoing clinical investigation for a variety of indications. However, regulatory agencies have so far failed to provide concrete information on tests for nanopharmaceuticals characterization and quality control, as well as for other practical issues, such as safety, needed in the process of development and registration of nanopharmaceuticals, which complicates/defers the emergence of a larger number of new licensed nanopharmaceutical preparations.

Keywords: nanopharmaceutical preparations/nanopharmaceuticals, liposomes, nanocrystals, nanoparticles, micelles, nanocomplexes, safety