

Polymerní nanočástice

Kamil Záruba

2020

Polymerní nanočástice

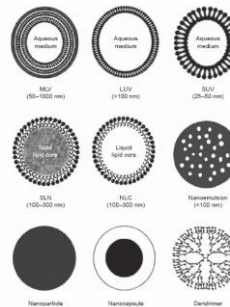


FIGURE 3 Schematic of various nanosystems (not to scale). Abbreviations: MLV, multilamellar vesicle; LUV, large unilamellar vesicle; SUV, small unilamellar vesicle; SLN, solid lipid nanoparticle; Nanoemulsion, nanoemulsion; NP, nanoparticle.

- Polymerní NP pro terapii a diagnostiku
 - NP polymerů
 - dendrimery
 - lipoproteiny
 - liposomy
 - micely
 - emulze

Polymerní nanočástice

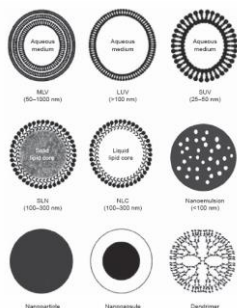


FIGURE 3 Schematic of various nanosystems (not to scale). Abbreviations: MLV, multilamellar vesicle; LUV, large unilamellar vesicle; SUV, small unilamellar vesicle; SLN, solid lipid nanoparticle; Nanoemulsion, nanoemulsion; NP, nanoparticle.

- Cíle aplikace nanoformulace léčiva
 - minimalizace degradace po podání
 - omezení vedlejších účinků
 - zvýšení biodostupnosti
 - zvýšení akumulovaného množství v oblasti nálezu

Polymerní nanočástice

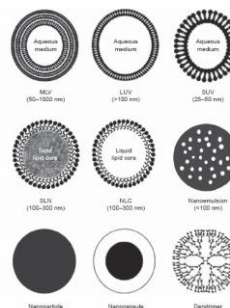


FIGURE 3 Schematic of various nanosystems (not to scale). Abbreviations: MLV, multilamellar vesicle; LUV, large unilamellar vesicle; SUV, small unilamellar vesicle; SLN, solid lipid nanoparticle; Nanoemulsion, nanoemulsion; NP, nanoparticle.

- Vlastnosti NP formulací
 - snadná příprava
 - biodegradovatelnost
 - malé rozměry
 - vysoká kapacita
 - dlouhá cirkulace
 - akumulace v patologické oblasti

Výběr schválených nanoformulací léčiv (FDA)

Trade Name	Active Ingredient	Indication*	Manufacturer	Approval
Abelcet	Liposomal amphotericin B	Invasive fungal infections	Sigma Tau	1995
Abraxane	Albumin protein-bound paclitaxel	Metastatic breast cancer	Celgene	2005
Adagen	Pegylated adenosine deaminase enzyme	Severe combined immunodeficiency disease	Sigma Tau	1990
Alimta	Pemetrexed	Nonsquamous NSCLC, malignant pleural mesothelioma	Lilly	2004
Ambisome	Liposomal amphotericin B	Fungal infections, leishmaniasis	Astellas/Gilead	1997
Amphotec	Liposomal amphotericin B	Invasive aspergillosis	Atkapharma	1996
Cimzia	Pegylated Fab' fragment of a humanized anti-TNF-alpha antibody	Crohn's disease, rheumatoid arthritis	UCB	2008
Copaxone	Glutathione acetate (copolymer composed of L-glutamic acid, L-alanine, L-lysine, and L-tyrosine)	Multiple sclerosis	Teva	1996
Daunoxome	Liposomal daunorubicin citrate	HIV-associated Kaposi's sarcoma	Galen	1996
Depocyt(e)	Liposomal cytosine arabinoside	Lymphomatous meningitis	Pacira	1999
Doxil	Pegylated-stabilized liposomal doxorubicin	AIDS-related Kaposi's sarcoma, refractory ovarian cancer, multiple myeloma	Janssen	1995
Eligard	Leuprolide acetate and PLGH polymer formulation	Advanced prostate cancer	Sanofi	2002
Emend	Aprepitant nanocrystal particles	Chemotherapy-related nausea and vomiting	Merck	2003

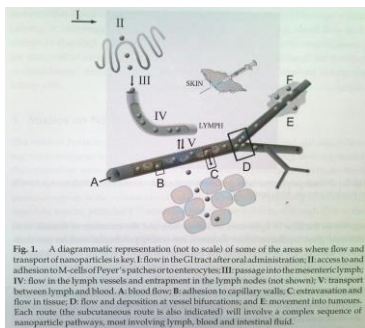
Výběr schválených nanoformulací léčiv (FDA) (pokrač.)

Macugen	Pegaptanib (PEG-anti-VEGF aptamer)	Wet age-related macular degeneration	Eyetech	2004
Mircera	Methoxy PEG-epoetin beta	Symptomatic anemia associated with CKD	Hoffman La Roche	2007
Neulasta	Pegfilgrastim	Chemotherapy-associated neutropenia	Amgen	2002
Oncaspar	PEG-asparaginase	Acute lymphocytic leukemia	Sigma Tau	1994
Ontak	Interleukin-2 diphtheria toxin fusion protein	Cutaneous T-cell lymphoma	Eisai	1999
Pegasys	Peginterferon alpha-2a	Hepatitis B and C	Genentech	2002
PegIntron	Peginterferon alpha-2b	Hepatitis C	Merck	2001
Renagel	Amine-loaded polymer	Serum phosphorus control in patients with CKD on dialysis	Genzyme	2000
Somavert	Pegylated human growth hormone receptor antagonist	Acromegaly	Pfizer	2003
Tricor	Fenofibrate	Hypercholesterolemia, mixed dyslipidemia, hypertriglyceridemia	Abbott	2004
Vsudyne	Liposomal verteporfin	Wet age-related macular degeneration, pathological myopia, ocular histoplasmosis syndrome	OLT Ophthalmics	2000

CKD = chronic kidney disease; NSCLC = non-small-cell lung cancer; PEG = poly(ethylene glycol); PLGH = poly (DL-lactide-co-glycolide); TNF = tumor necrosis factor; VEGF = vascular endothelial growth factor.
 * See official Product Information for more details regarding indications.
 From References 2, 4, 7, 9, 10, 12, 17, and 30.

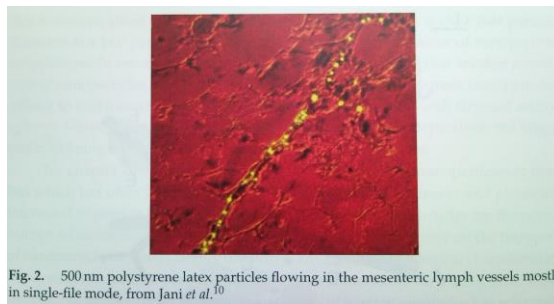
Ventola C. L., Pharmacy and therapeutics, 2012, 37(9), 512-517

Polymerní nanočástice



Nanoparticulates as Drug Carriers, V. P. Torchilin (Ed.), Imperial College Press, 2006;

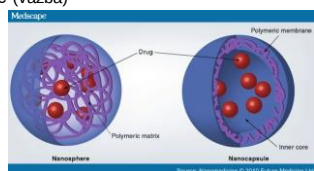
Polymerní nanočástice



Jani P. *et al.*, J. pharm. Pharmacol. 1989, 41, 809-812

Léčivo

- rozpuštěné v matrici,
- zachycená suspenze,
- uzavřené (nanokapsle),
- adsorbované, chemisorbované (vazba)



Vlastnosti (polymerního) nosiče

- jsou ovlivněny a ovlivňují množství léčiva
- ovlivňují způsob a rychlost uvolnění léčiva
- ovlivňují stabilitu a způsob skladování

Polymerní nanoformulace v klinických testech

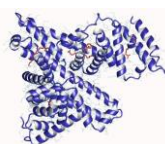
Main examples of polymeric nanoparticles in clinical trials.

Product name	Composition	Status	Therapeutic indication
BA-003 [†] (Doxorubicin Transdrug, Livvag)	Nanoparticulate formulation of poly(isobutyrylcyano-acrylate) containing doxorubicin	Phase III	Advanced hepatocellular carcinoma
DHAD-PRCA-NPs	Mitomycin-loaded poly(butylcyanoacrylate) nanoparticle formulation	Phase II	Hepatocellular carcinoma
IT-101 (CRLX101)	Camptothecin coupled to cyclodextrin-PEG copolymer nanoparticles	Phase I/II	Phase II: ovarian cancer and recurrent small cell lung cancer Phase III: advanced solid tumors Pilot trial: advanced or metastatic stomach, gastroesophageal, or esophageal cancer
BIND-014 (DTXL-TNP)	(PLA-PEG or PLGA-PEG) PSMA ⁺ targeted nanoparticle formulation with docetaxel [†]	Phase I/II	Phase II: metastatic castration-resistant prostate cancer and non-small cell lung cancer Phase I: advanced or metastatic cancer
ABI-008	Nanoparticle albumin-bound formulation of docetaxel (nab-docetaxel)	Phase I/II	Metastatic breast cancer and hormone-refractory prostate cancer
ABI-009	Nanoparticle albumin-bound formulation of irapartemycin (nab-irapartemycin)	Phase I/II	Advanced non-hematologic malignancies and metastatic invasive bladder cancer
ABI-010	Nanoparticle albumin-bound formulation of 17-AAG (nab-17-AAG)	Phase I	Solid tumors
ABI-011	Nanoparticle albumin-bound formulation of ribisulchicine dimer	Phase I	Advanced solid tumors or lymphomas
CALAA-01	Cyclodextrin-PEG-transferin receptor-targeted nanoparticles containing anti-BRM2 siRNA	Phase I	Solid tumors
Docetaxel-TNP	Polymetric nanoparticle formulation of docetaxel	Phase I	Advanced solid malignancies

E. Pérez-Herrero, A. Fernández-Medarde / European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 93 (2015) 52–79

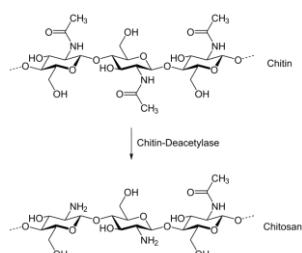
1.1 NP z polymerů – přírodní polymery

- levné, biokompatibilní, rozpustné ve vodě
- nevýhody: proměnlivé složení (kontaminanty), malá lipofilicita pro zachycení lipofilních léčiv
- albumin, želatina – tvorba vrstev denaturovaného polymeru na nanokrystalu léčiva



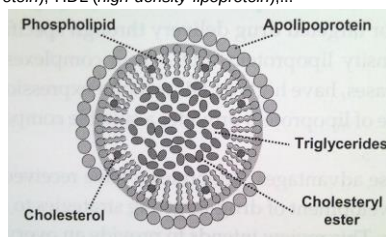
Přírodní polymery

- chitosan ((1→4)-2-amino-2-deoxy-β-D-glukan) – deacetylovaný chitin



Přírodní polymery – lipoproteiny

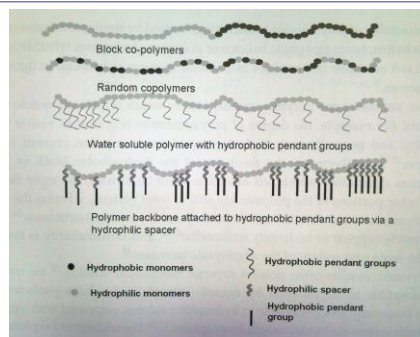
- přirozené transportéry (tuků) krevním oběhem; transport z jater do tkání
- LDL (*low-density lipoprotein*), IDL (*intermediate-density lipoprotein*), HDL (*high-density lipoprotein*),...

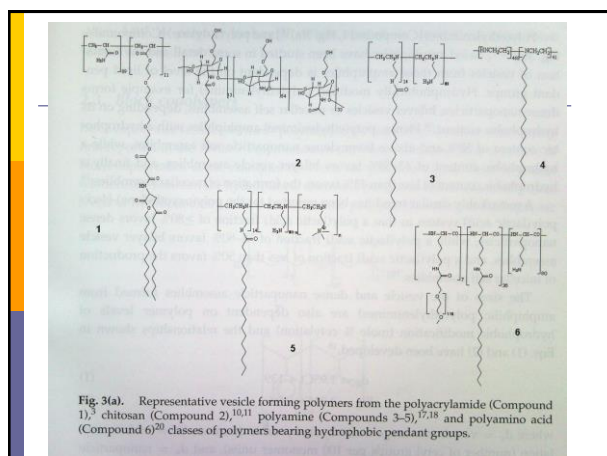


1.2 NP z polymerů – syntetické polymery

- příprava a vlastnosti dle potřeby, funkční skupiny vnesou citlivost na pH nebo teplotu
- nevýhody: omezená rozpustnost ve fyziologických tekutinách
- polyglykolová k., polylaktidová k. a kopolymer – nejpoužívanější biodegradabilní polymery (pomalé hydrolytické štěpení)
- poly(ε-kaprolakton) – biodegradabilní, pomalejší rozklad (vyšší MW), produkty degradace jsou neutrální, nemění pH
- poly(alkylkryanoakryláty) – vlastnosti dle postranního řetězce (roste délka – roste poločas rozpadu)

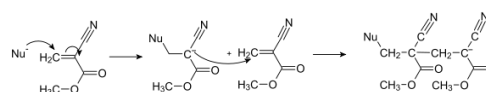
Syntetické polymery



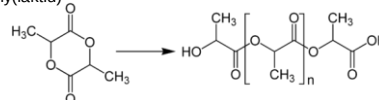


Syntetické polymery

poly(kyanoakryláty)



poly(laktid)



Syntetické polymery

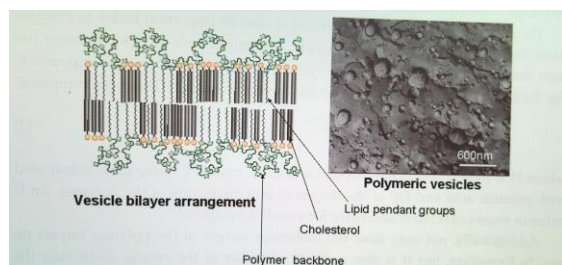


Fig. 3(b). The glycol chitosan polymer: i.e. Compound 2, is arranged in the bilayer as shown.

Vlastnosti používaných alifatických polyesterů

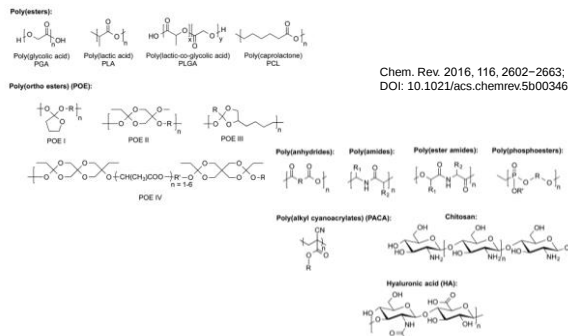
Typ	Bod tání (°C)	Teplota skelného přechodu (°C)	Doba rozpadu (měsíce)
DL-PLA	Amorfní	50-60	12-16
PGA	220-230	35-40	6-12
DL-PLGA (50/50)	Amorfní	45-50	1-2
DL-PLGA (75/25)	Amorfní	45-50	4-5
PCL	55-65	(-65)-(-60)	>24

DL-PLA: poly(L-laktid); PGA: poly(glykolid); DL-PLGA: poly(DL-laktid-co-glykolid); PCL: poly-ε-kaprolakton

Biodegradace PLGA

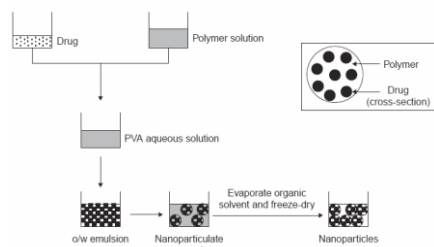
- poločas rozpadu lineárních polyesterů lze zvýšit kopolymerací
- poly(laktid) v hladkém svalstvu myši kompletně rozložen po 480 dnech
- směs poly(laktid) a 50:50 poly(laktid-co-glykolid) již po 63 dnech
- hydrofilicita semikrystalického poly(glykolidu)

Další degradabilní polymery



Syntetické polymery – zachycení léčiva v NP

- léčivá látka + disperze polymeru
- léčivo rozpuštěno, zachyceno v nebo na matrici polymeru



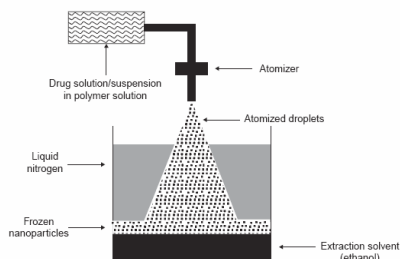
Drug delivery nanoparticles formulation and characterization (Eds: Y. Pathak, D. Thassu), Informa, 2009, USA

Disperze připravených polymerů

- polylaktidová k. (PLA)
- polyglykolová k. (PLG)
- kopolymer PLGA
- poly(ϵ -kaprolakton)
- polymer v organickém solventu + léčivo
- emulsifikace do vody, emulze O/W se surfaktanty jako je želatína, PVA, polysorbát-80,...
- org. rozpouštědlo odstraněno teplotou nebo tlakem
- vysokorychlostní homogenizace (sonifikace)

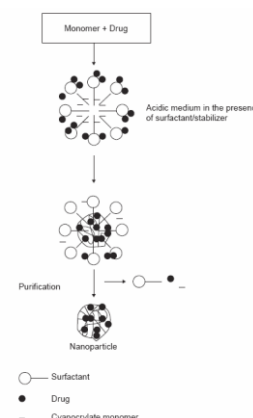
Syntetické polymery – zachycení léčiva v NP

- léčivá látka + disperze polymeru
- léčivo rozpuštěno, zachyceno v nebo na matrici polymeru



Syntetické polymery – zachycení léčiva v NP

- disperze polymerních NP:
 - emulze monomeru (micelární systém) – polymerizace
 - z předem připraveného polymeru



Zachycení v NP – disperzí polymerů

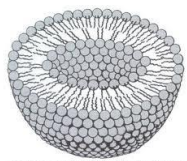
- emulze
 - O/W emulze se surfaktantem
 - léčivo
 - odstranění org. rozpouštědla (toxické)
- nanoprecipitace
 - roztok polymeru, léčiva a stabilizátoru v org. mísitelnou s vodou
 - do vody s jiným stabilizátorem – difuzí a odpařením org. rozp.
- vysolení

Biodegradabilní polymery

- polyestery, např. laktidy, glykolidy a vzájemné kopolymery, polykaprolaktony, poly(ϵ -hydroxybutyráty)
- polyamidy, např. přírodní polymery kolagen, želatina a albumin a semisyntetické pseudo-poly(amino kyseliny) jako např. poly(N -palmitoyl hydroxyprolin ester)
- polyuretany
- polyfosfazen
- polyorthoestery
- polyanhydridy
- poly(alkylcyanoakryláty)

2. Disperze na bázi lipidů (lipidové NP)

- triglyceridy
 - tuhé lipidové nanočástice
- liposomy
- niosomy

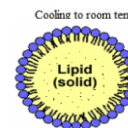
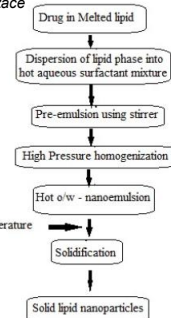


Liposome structure formed by phospholipids

3.1 Pevné lipidové nanočástice

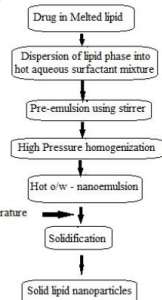
- koloidní disperze tuhých triglyceridů (intenzivní míchání, sonifikace)
- „rozmíchání“ za vyšší teploty, krystalizace jader chladnutím
- vstřikování roztoku do vody
- rozpuštěné léčivo stabilizováno surfaktantem

pf. homogenizace za horka:

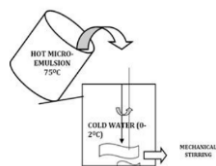


Pevné lipidové nanočástice – příprava

homogenizace za horka:



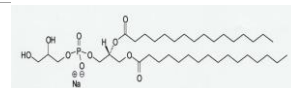
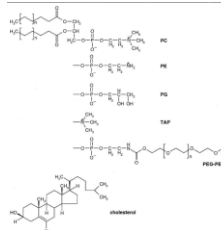
mikroemulsifikace:



... a mnoho dalších
Ekambaram a kol., *Sci. Revs. Chem. Commun.*:
2(1), 2012, 80-102

3.2 Liposomy

- hydrofilní jádro ohraničené jednou nebo více lipidovými dvojitými vrstvami
- fosfolipidy (lecitin), cholesterol, glykolipidy (ca 5 nm)
- 20 nm až několik mikrometrů



Liposome structure formed by phospholipids

Liposomy

- hydrofilní jádro ohraničené jednou nebo více lipidovými dvojvrstvami,
- fosfolipidy (lecitin), cholesterol, glykolipidy (ca 5 nm)
- 20 nm až několik mikrometrů
- hydrofilní léčivo uvnitř,
- hydrofobní léčivo v membráně
- metody založené na sonifikaci, vysokém tlaku nebo protlačování skrz membránu



Liposomy

- dermakologické aplikace – pronikají hluboko do kůže,
- per os* – problém s hydrolyzou v žaludku,
- v krvi atakovány makrofágy (kumulace v játrech a slezině); ochrana PEG vrstvou

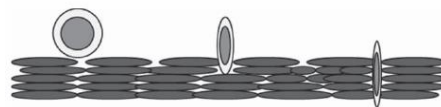


FIGURE 4 The mechanism of skin penetration of deformable vesicles.

Drug delivery nanoparticles formulation and characterization (Eds: Y. Pathak, D. Thassu), Informa, 2009, USA

Liposomy – transport enzymů

Main examples of liposomal formulations in clinical trials.

Product name	Composition	Status	Therapeutic indications	References
Lipoplantin	Pegylated liposomes with cisplatin	Phase III	Non-small lung cancer and pancreatic, gastric, breast, head and neck cancers	[221–226]
Mipact (mifamurtide, L-MTPPE)	Liposomal mifamurtide triphosphate phosphatidyl ethanolamine	Phase III (approved in Europe)	Nonmetastatic resectable osteosarcoma	[227–229]
SHC-4P L-ILP25 (Stemovax)	9- <i>N</i> -methylpentadecanoyl liposomes (ILP25) liposome vesicles that induce an immune response to cancer cells that express MUC1	Phase III/II	Hepatocellular carcinoma	[230,231]
SPH-677	Pegylated liposomal cisplatin	Phase I/II/III	Colorectal cancer, prostate cancer, non-small cell lung cancer, multiple myeloma, and endocrine-sensitive advanced breast cancer (in combination with hormonal treatment)	[18,224,232–234]
Liposomal DSGN-401	Liposomal formulation of oxaliplatin	Phase II	Advanced cancer	[222–224,235]
EndoTAG-1	Liposomal formulation of the tumor suppressor gene FUS1	Phase II	Metastatic lung cancer	[236–238]
Atragan	Paclitaxel-loaded cationic liposomes	Phase II	Anti-angiogenic breast, liver and pancreatic cancers	[18,218,239]
SLN [®] cisplatin	Reformulated liposomal formulation of cisplatin	Phase I/II	Recurrent or refractory Hodgkin's disease ^a and metastatic kidney cancer (in combination with capecitabine alpha)	[18,126]
OSI-211	Liposomal formulation of bortezomib (analogue of carboxipeptidase)	Phase I/II	Osteosarcoma metastatic to the lung	[18,240,241]
			Phase II: recurrent small cell lung cancer, advanced ovarian cancer, metastatic or locally recurrent head and neck cancer	[18,242–245]
			Phase II: advanced or metastatic solid tumors	

European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 93 (2015) 52–79

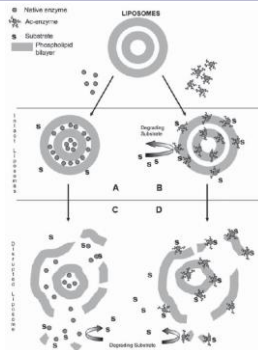
Liposomy – transport enzymů

Enzyme	Treatment
Asparaginase ^a	Acute lymphoblastic leukemia
Collagenase	Dermal ulcers
Factor VII (proconvertin)	Coagulation/uncontrollable bleeding in hemophylic patients
Urokinase ^a	Thrombolytic agent/blood clots
Rhodesinase	Detoxifies cyanide
β-Lactamase	Antibiotic (allergy to penicillin)
Trypsin (pancreatic form)	Inflammation
Superoxide dismutase	Inflammation/oxidative stress
β-Glucocerebrosidase ^a	Gaucher disease
DNAzymes	Ablation of gene target: Egr-1: balloon injury, restenosis, tumor growth (breast carcinoma) TGF-β: glomerulonephritis c-jun: neovascularization (cornea), tumor growth (melanoma, squamous cell carcinoma), inflammatory disease VEGFR-2: tumor growth (breast cancer) TNF-α: myocardial infarction VDUP1: myocardial ischemia PAI-1: myocardial infarction

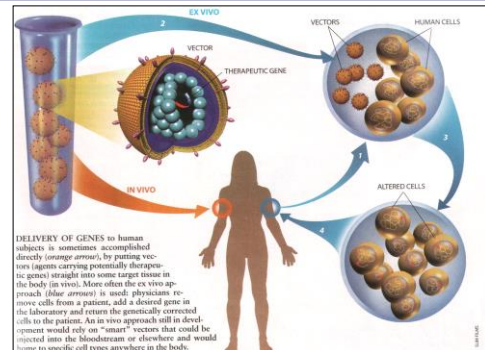
^a approved for clinical use

Drug delivery nanoparticles formulation and characterization (Eds: Y. Pathak, D. Thassu), Informa, 2009, USA

Liposomy – transport enzymů

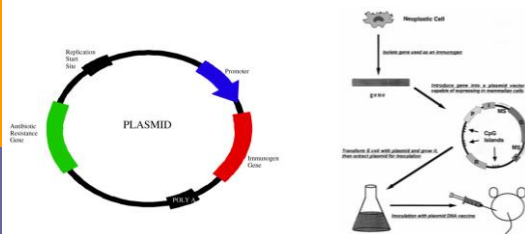


Transport DNA (virální, nevirální)



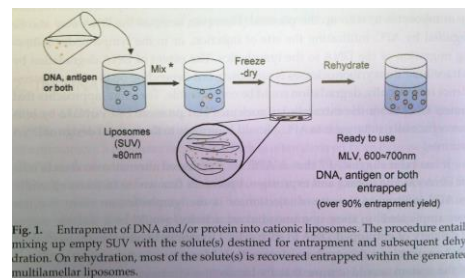
Liposomy – nevirální transport DNA

- DNA vakcinace virovými plasmidy; možná imunitní reakce



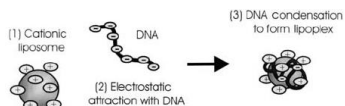
Liposomy – transport DNA

- DNA vakcinace virovými plasmidy; možná imunitní reakce
- uzavření v liposomu – ochrana před deoxyribonukleázami



Lipoplexy – transport DNA

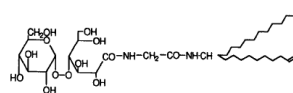
- příprava smísením kationických liposomů s vodným roztokem DNA



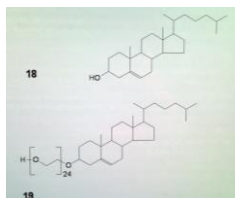
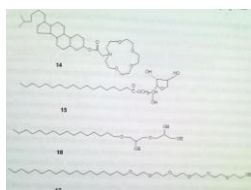
- elektrostatická interakce mezi kationickými funkčními skupinami lipoplexu a anionickými fosfátovými funkčními skupinami DNA
- důležité faktory: koncentrace, teplota, iontová síla, kinetika smísení
- smísení lipoplexu (L) a DNA (D) v poměru větším než jedna usnadňuje transfekci (molární poměr L/D ca 1,2)
- velikost: 100-200 nm (vyšší náboj (+ nebo -) → menší částice, homogennější)

3.3 Niosomy

- syntetické neiontové tuky,
- lepší chemická stabilita,
- zvýšená prostupnost kůží

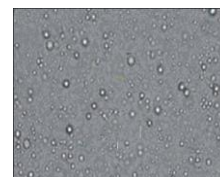
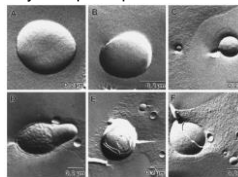


Niosomy



Niosomy

- syntetické neiontové tuky
- lepší chemická stabilita
- zvýšená prostupnost kůží

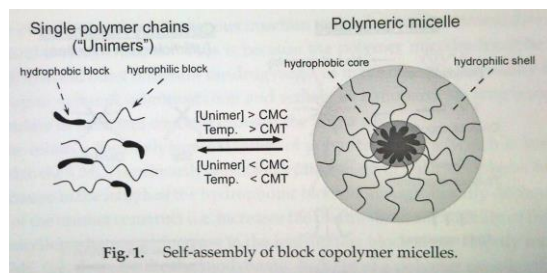


M. Carafa et al. : International Journal of Pharmaceutics 160 (1998) 51–59

<http://www.jyoungpharm.in/article.asp?issn=0975-1483;year=2010;volume=2;issue=4;spage=356;epage=361;aulast=Prabhu;type=2>

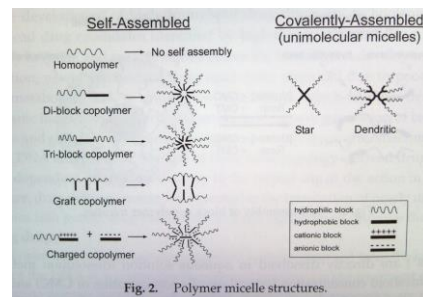
4. Polymerní micely

- samouspořádáním amfifilních blokových kopolymerů hydrofilní --- hydrofobní



Polymerní micely

- samouspořádáním amfifilních blokových kopolymerů hydrofilní --- hydrofobní



Polymerní micely

- samouspořádáním amfifilních blokových kopolymerů hydrofilní --- hydrofobní
- polyester nebo poly(aminokyseliny)
- polyethery
- schválené FDA: PEG, PEO
- přímé rozpuštění léčiva a kopolymeru (micelizace zahřátím (dehydratací))
- u kopolymerů potřebujících k rozpuštění jiné rozpouštědlo (DMSO, DMF apod.) se toto rozpouštědlo proto musí odstranit např. dialýzou



Polymerní micely

- dendrimerní micely

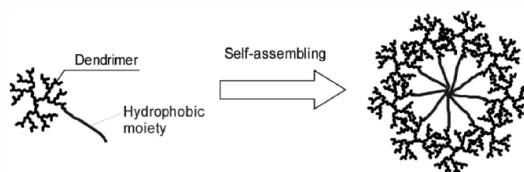
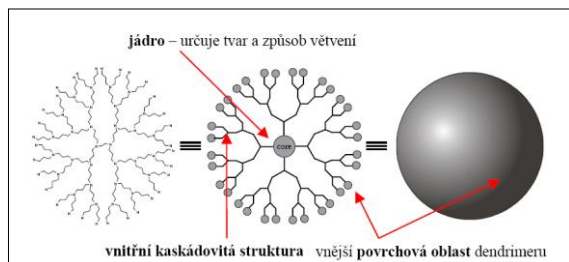


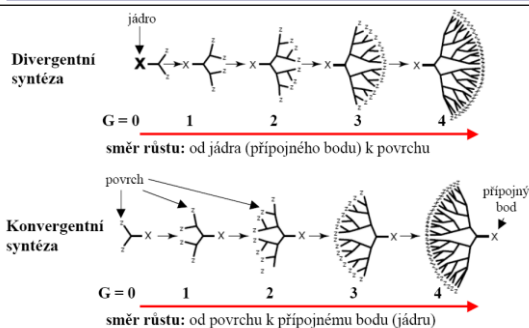
Figure 4-11. Self-assembly of hydrophobically modified PGDs to a micellar structure in aqueous solution.

Nanocarrier Technologies (Ed.: M. R. Mozafari). Springer, 2006, Netherlands

5. Dendrimery



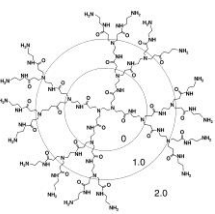
Dendrimery – příprava



Dendrimery – velikost

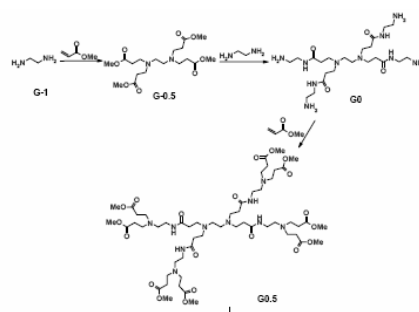
Table 1. Specification for PAMAM dendrimers.

Generation	Physical or structural parameter		
	Molecular weight (Daltons)	Diameter (Å)	Surface groups
G0	517	15	4
G1	1430	22	8
G2	3256	29	16
G3	6909	36	32
G4	14215	45	64
G5	28826	54	128
G6	58048	67	256
G7	116493	81	512
G8	233383	97	1024
G9	467162	114	2048
G10	934720	135	4096



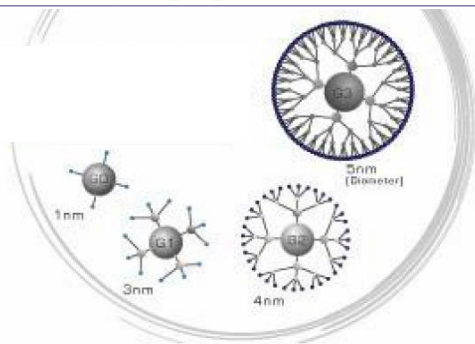
NANO: Brief Reports and Reviews Vol. 6, No. 6 (2011) 509–539

Dendrimery – příprava



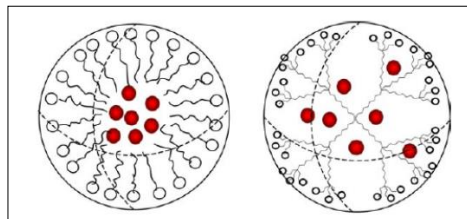
http://eap.ee/public/va_ke/k-50-3-5.pdf

Dendrimery – příprava



Dendrimery – aplikace

- cílený transport a dávkování biologicky aktivních látek a léčiv



Dendrimery – aplikace

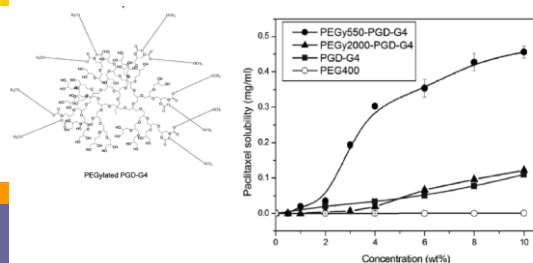
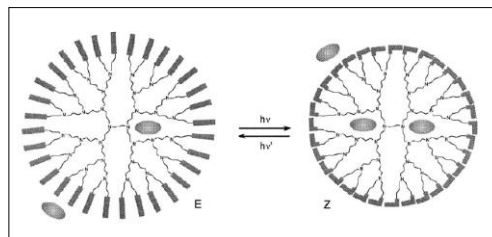


Figure 4-9. Palitaxel solubility as a function of concentration of PEG derivatives. (Modified from reference 42).

Nanocarrier Technologies (Ed.: M. R. Mozafari). Springer, 2006, Netherlands

Dendrimery – aplikace

- fotosensitivní dendrimer

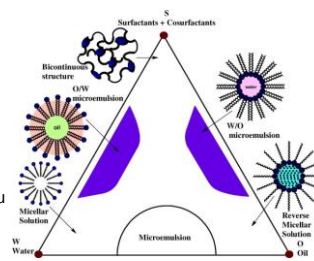


6. Mikroemulse

- koloidní systém dvou nemísitelných kapalin a emulsifikačního činidla
- dispergované nanočástice 5-140 nm, čiré
- disperze díky vysoké koncentraci emulgátoru (kosurfaktantu), zcela stabilní

Mikro(nano)emulse

- směs emulze s neinteragujícími hydrofilními polymery polyHEMA, karagenany
- tvorba gelu přidávkem rozpouštědla (vody) k reverznímu micelárnímu systému; náhradou ionogenního surfaktantu neionogenním; propojení kapek molekulami surfaktantu – tvorba sítě
- zvýšení prostupu hydrofilních látek (léčiv) kůží



<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.09.027>