

# GYÓGYSZERÉSZI NANOTECHNOLÓGIA

Nanotechnológia alapjai

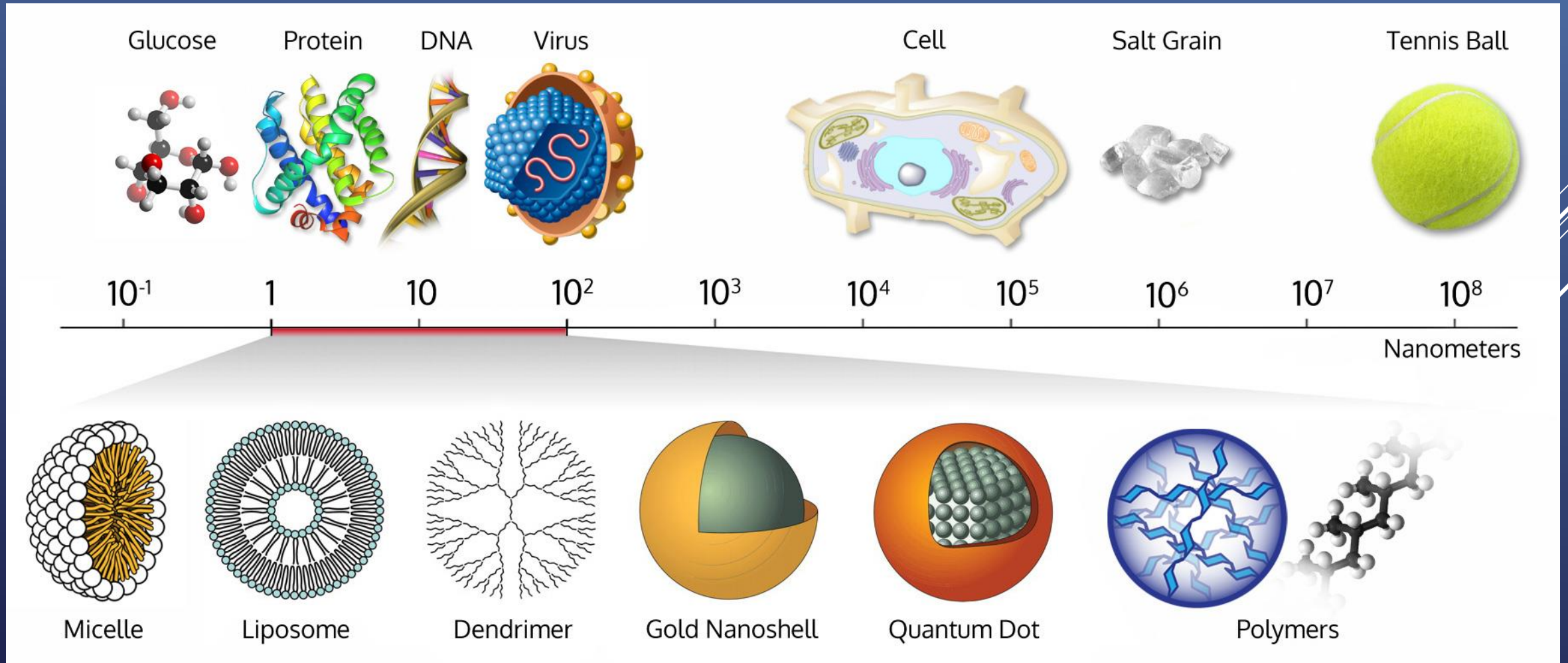
2021.02.24.

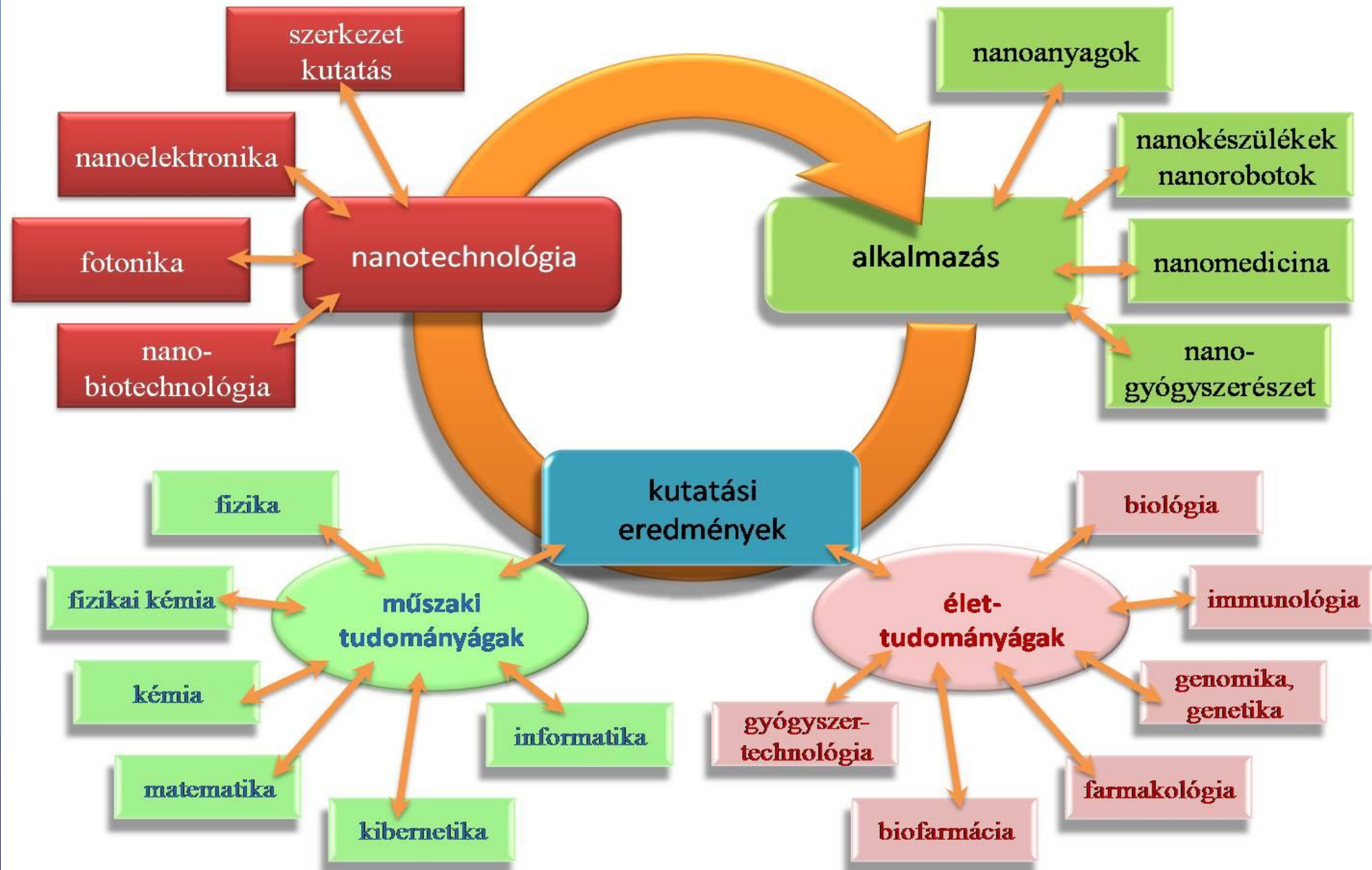
Gyógyszertechnológiai és Biofarmáciai Intézet

Vörös-Horváth Barbara

# NANOTECHNOLÓGIA

Multidiszciplináris tudományág amely az anyagok, szerkezetek és rendszerek előállításának olyan, megközelítése értendő, amely során az anyag kezelése nanométeres nagyságrendben történik.





# NANOTECHNOLÓGIA

**1959: Richard P. Feynman Nobel-díjas tudós:**

„egy napon a tudomány segítségével képesek leszünk egy enciklopédia tartalmát egyetlen tűhegyre felírni” ‘There’s Plenty of Room at the Bottom’

**1974: Norio Taniguchi bevezeti a ‘nanotechnológia’ fogalmát**

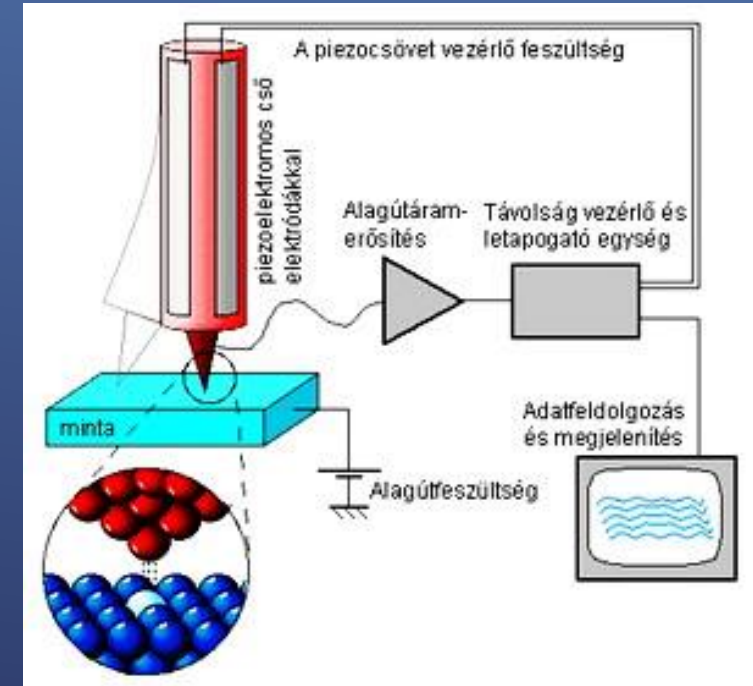
(*Proc. Intl. Conf. Prod. Eng. Tokyo, Part II, Japan Society of Precision Engineering, 1974*)

**1981: Heinrich Rohrer es Gerd Kari Binnig felfedezik a pásztázó alagútmikroszkópot.** Eredményüket öt évvel később Nobel-díjjal ismerik el.

**1981 : megjelenik az első tudományos közlemény a témában a *Proceedings of the National Academy of Sciences* című folyóiratban**

**1985: Richard Smalley, Robert Curl, Jr., és Harold Kroto felfedezik a 60 szénatomból álló kalitkaszerű térbeli elrendezést.** Ezt később fullerénnek nevezik el, 11 évvel később kémiai Nobel-díjban részesültek.

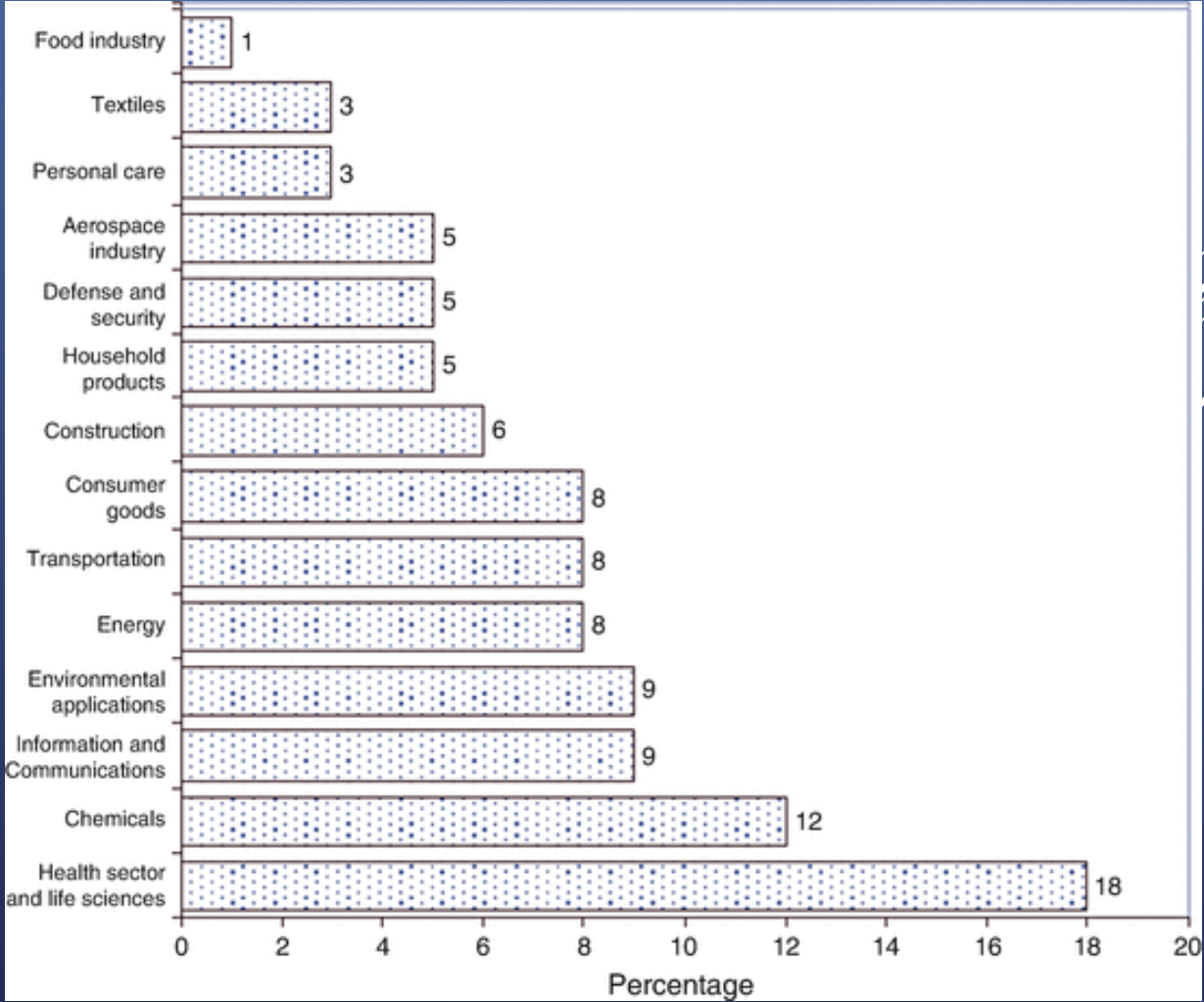
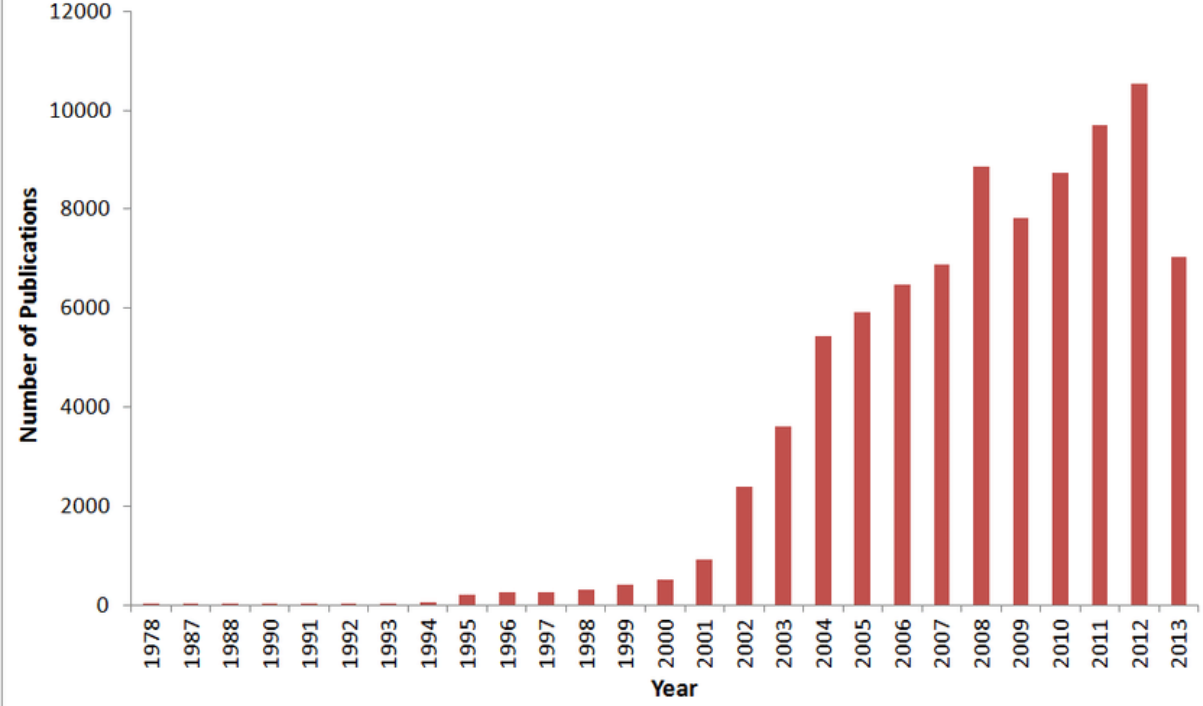
**1993: Az USA-ban a Rice Egyetemen létrehozzak az első nanotechnológiai laboratóriumot.** (Alapító igazgató a Nobel-díjas R.E. Smalley)



**Pásztázó  
alagútmikroszkóp**

# NANOTECHNOLÓGIA

Nanotechnology = 86, 323



# NANOTECHNOLÓGIA

A tudomány és technológia számos területén történt áttörés az elmúlt években:

- ▶ Energetikai ipar
- ▶ Kozmetikai ipar
- ▶ Élelmiszeripar
- ▶ Informatika
- ▶ Gyógyszeripar
- ▶ Egészségügy
- ▶ Biotechnológia

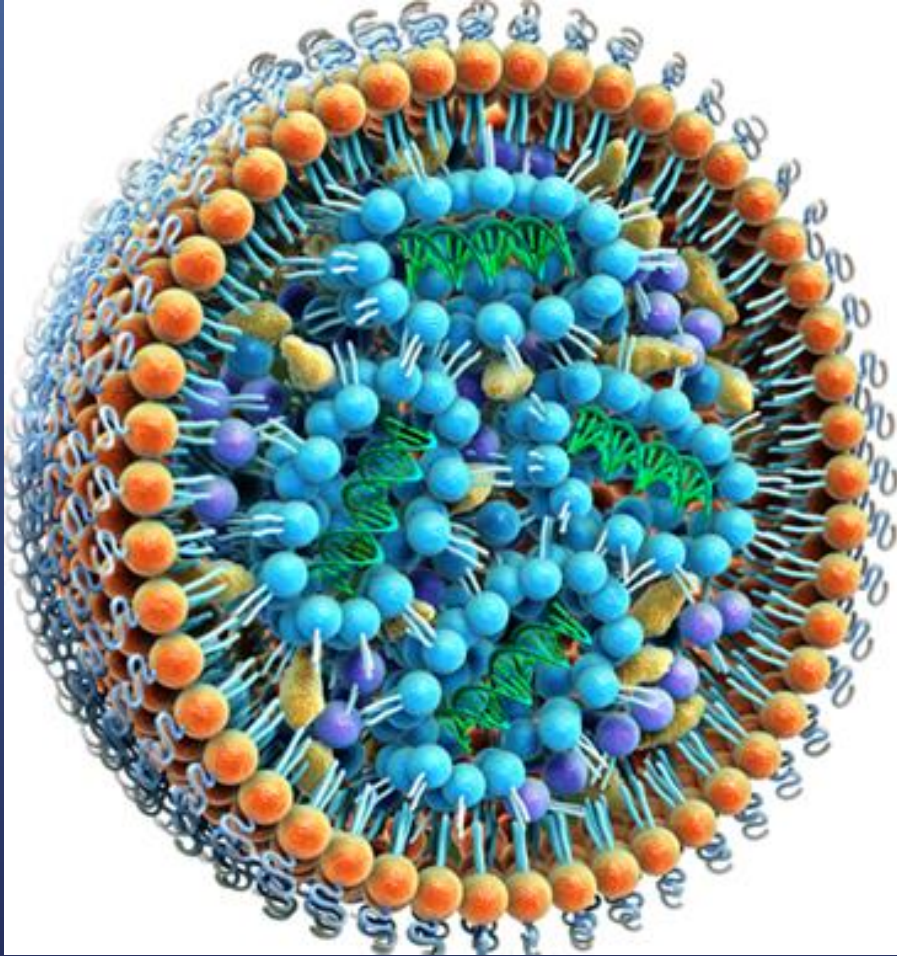
## Ipari alkalmazások:

- ▶ Építőiparban és az épületgépészetben
- ▶ Textilipari alkalmazások
- ▶ Polimer felületek megmunkálása
- ▶ Nanotextiliák
- ▶ Bevonatok és kenőanyagok
- ▶ Napenergia
- ▶ Nanoelémiszerek
- ▶ Katalízis
- ▶ Kozmetikai ipar
- ▶ Elektronika

## Élet- és orvostudományi alkalmazások:

- ▶ Hatóanyag transzport
- ▶ Új terápiák es hatóanyagok
- ▶ In-vivo diagnosztika
- ▶ In-vitro diagnosztika
- ▶ Orvosi implantátumok és bioanyagok

# PFIZER ÉS MODERNA COVID19 ELLENI OLTÓANYAG

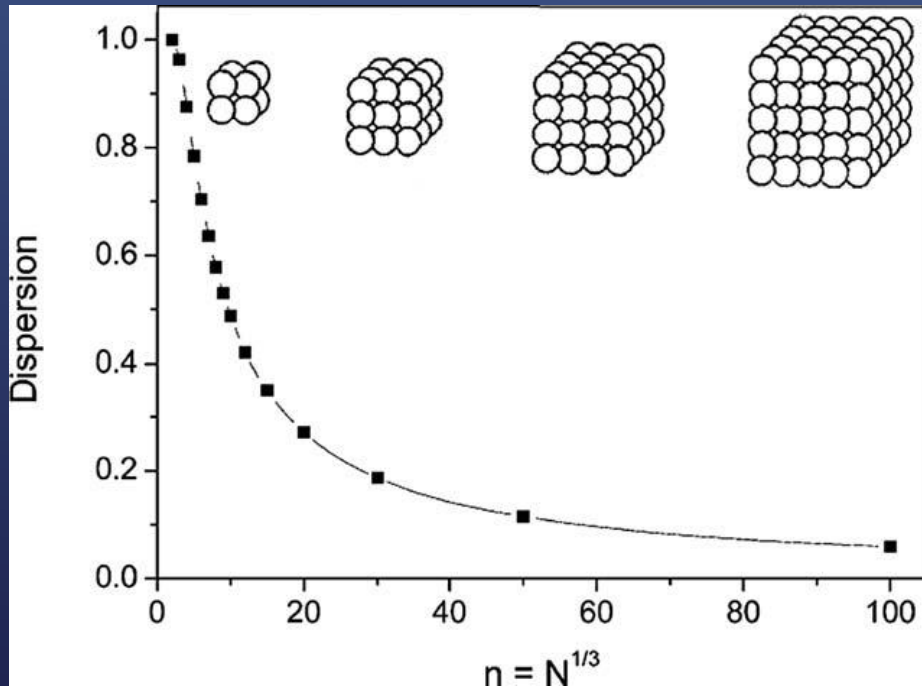


- ▶ Lehetővé teszi az mRNS sejtbe való bejuttatását
- ▶ Növeli az intracelluláris stabilitást
- ▶ Növeli a biológiai hatást
- ▶ Nem jut el a sejtmagig

# MIÉRT MÁΣ A NANOTECHNOLÓGIA VILÁGA?

## Nanoanyagokra jellemző tulajdonságok

- ▶ Nanorészecskék nagy felület/térfogat aránya
- ▶ Kvantum hatás:
  - ▶ Optikai tulajdonságok
  - ▶ Termikus és elektromos vezetés
  - ▶ Mágneses tulajdonságok
  - ▶ Termodinamikai tulajdonságok



## A fizikus szemével:

A nanoanyagokat alkotó atomok döntő többsége felületi atomnak tekinthető.

**Diszperzitási fok:** A felületi atomok és a részecskét alkotó összes atom számának aránya.

Kocka alakú részecske esetében:

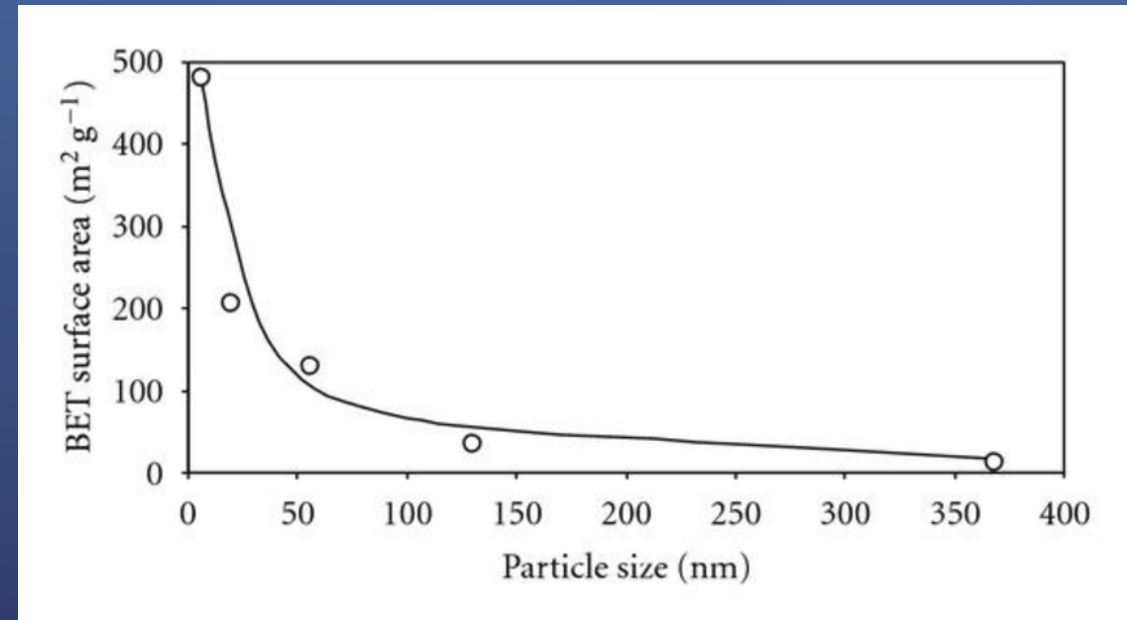
- n a kocka élében lévő atomok száma,
- $N=n^3$ , a kockát alkotó atomok száma

$$F = \frac{6n^2 - 12n + 8}{n^3} = \frac{6}{N^{1/3}} \left( 1 - \frac{2}{N^{1/3}} + \frac{8}{6N^{2/3}} \right) \approx \frac{6}{N^{1/3}}$$



# MIÉRT MÁΣ A NANOTECHNOLÓGIA VILÁGA?

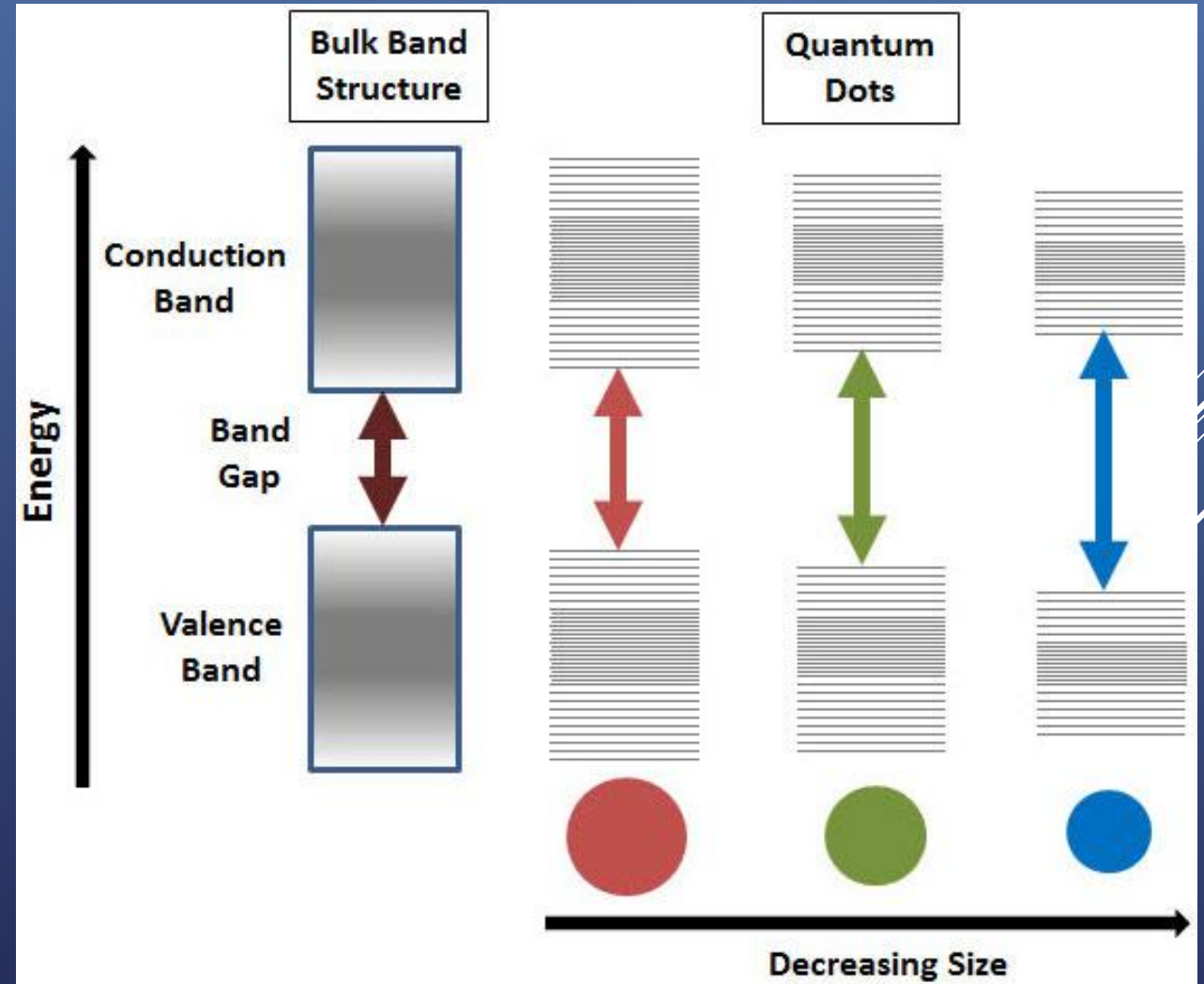
- ▶ A lineáris méretek csökkenésével a térfogat, és ezzel együtt a tömeg/súly is a harmadik hatvánnyal csökken
- ▶ A lineáris méretek csökkentésével a felület négyzetesen, azaz a térfogathoz képest egy hatványkitevővel kisebb mértékben csökken. Tehát a kisebb objektum, eszköz vagy szerkezet viszonylag nagy felületű lesz.
  - ▶ kisebb szerkezet relatíve nagyobb teljesítményre képes → a relatíve nagyobb felület miatt jobbak a hűtési viszonyok
  - ▶ dominánssá válnak a felületi hatások
- ▶ A lineáris méretek csökkenésével a rendszer sajátfrekvenciája növekszik → kisebb rendszer gyorsabb működésre képes.
- ▶ A lineáris méretek csökkenésével a kapacitások (elektromos-, hő-) is csökkennek → gyorsabb működés.
- ▶ A lineáris méretek csökkenésével eddig figyelmen kívül hagyott fizikai törvények kerülnek előtérbe. Pl. felületi feszültség, vagy kvantummechanikai (méret-) hatások



# KVANTUM DOTOK

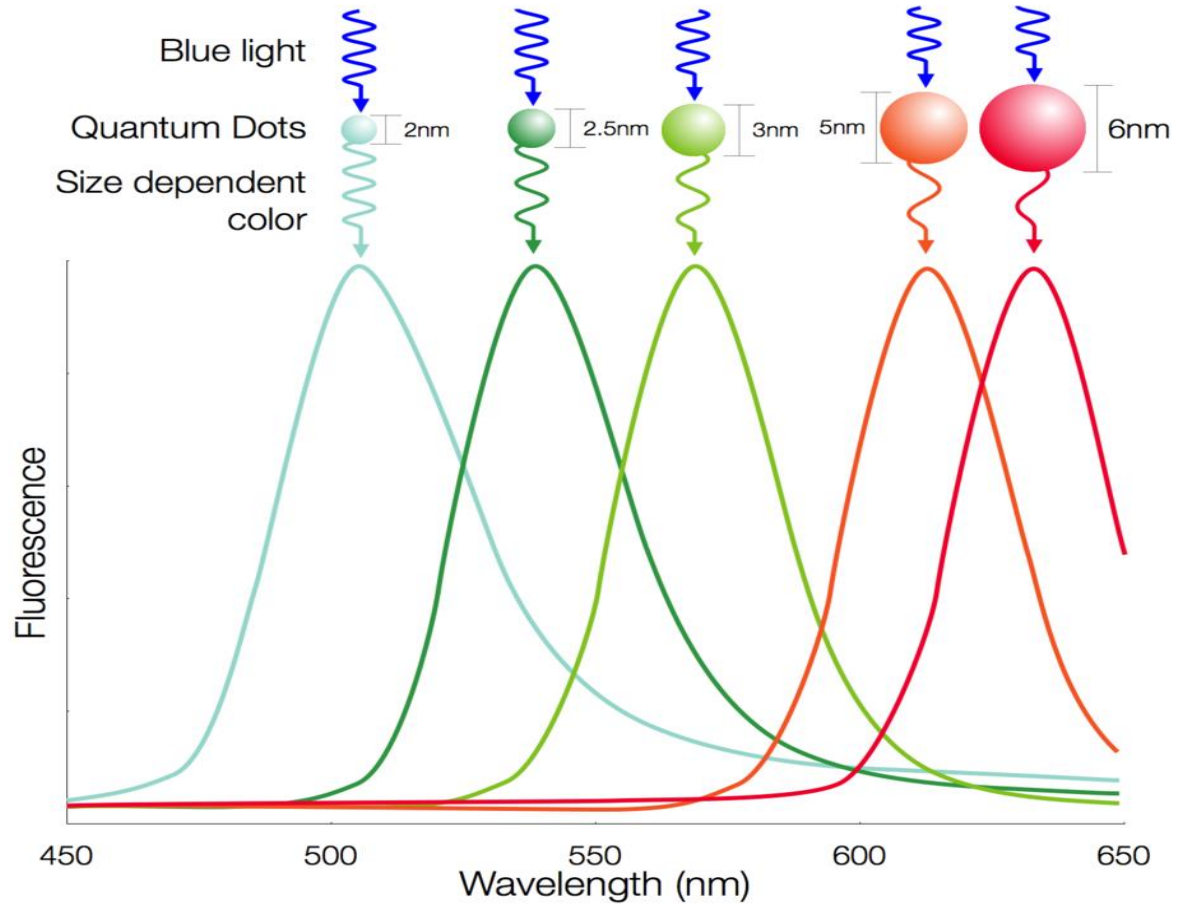
Az ún. "kvantum dotok" (*Quantum dots, QD*) 1-10 nm nagyságú nanorészecskék, amelyek félvezető, egyedi optikai és fotokémiai tulajdonságokkal rendelkeznek.

A méretüktől függően a QD-k, azonos hullámhosszokon gerjesztve, más-más színben világítanak.



# KVANTUM DOTOK

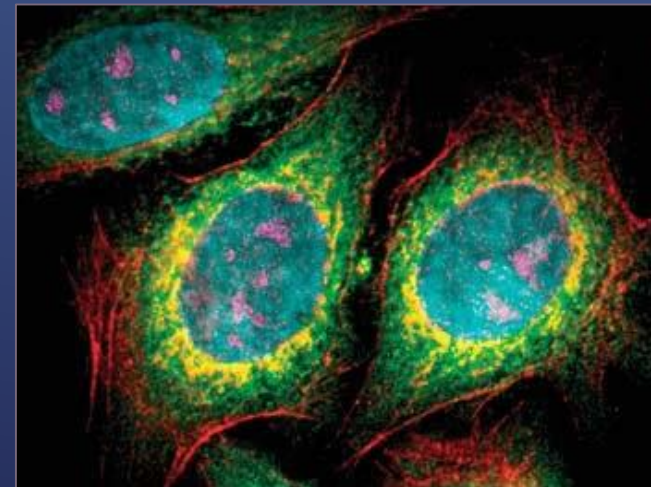
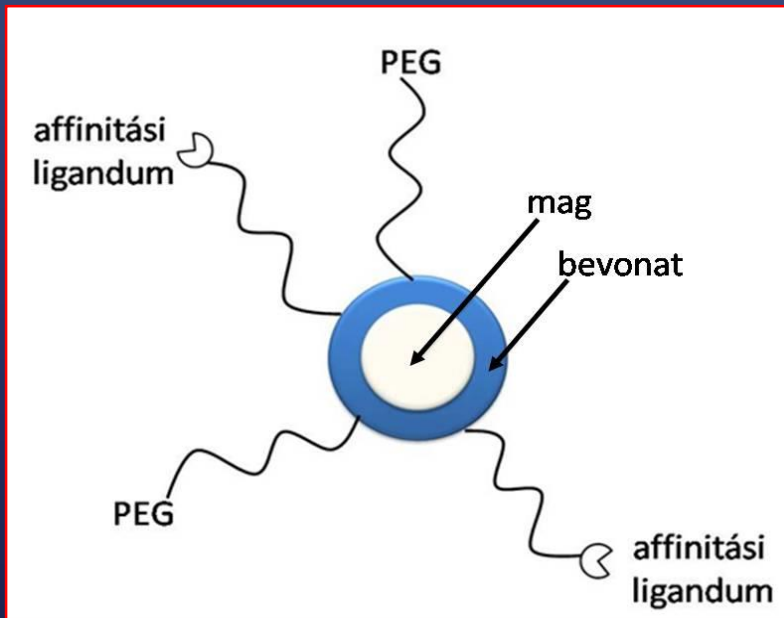
## Quantum Dot Size and Color



# KVANTUM DOTOK

## Élet-és orvostudományi alkalmazások

- ▶ *in vitro* képalkotás (sejtek, szövetek vizsgálata, sejtorganellumok, sejt membrán kutatása)
- ▶ *in vivo* célzott hatás (daganatos sejtek, szövetek, szervek gyors és korai felismerése, elérése, ezáltal gyógyszeres terápiája),
- ▶ bioanalitikai, biofarmáciai vizsgálatok (fluoreszcens aktivitás alapján),
- ▶ érzékeny bioszenzorok kifejlesztése (hő, pH, ion...)



Fémkelátok, mint kontrasztanyagok alkalmazása

# GYÓGYSZERHORDOZÓ NANORENDSZEREK

Nanokristályok

Nanokapszulák

Pickering emulziók

**Nanorészecskék**

Nanoemulziók

Gyógyszerhordozó nanorészecskék

Polimer konjugátumok

**Polimer alapú gyógyszerhordozó rendszerek**

Polimer nanorészecskék

Dendimerek

Liposzómák

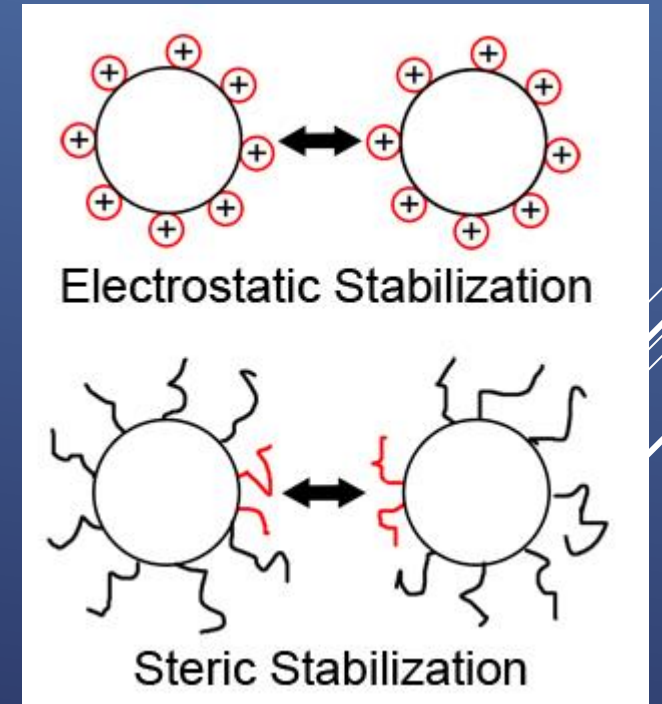
**Lipid alapú gyógyszerhordozó rendszerek**

Nioszómák

Szilárd lipid nanorészecskék

# NANOKRISTÁLYOK

- ▶ Kristálynak nevezzük azokat a szilárd anyagokat, amelyekben az atomok, ionok vagy molekulák határozott rendeződéssel térrácsban helyezkednek el.
- ▶ **A hatóanyag nanokristályok 98-99%-ban tartalmaznak hatóanyagot, 1-2%-ban segédanyagot → stabilizálás, aggregáció megakadályozása.**
- ▶ Stabilizálás:
  - ▶ Elektrosztatikus (elektrolitok, megfelelő pH, ionos felületaktív anyagok) →  $-30 \text{ mV} \leq \zeta \leq +30 \text{ mV}$
  - ▶ Szférikus (nemionos felületaktív anyagok, makromolekulák)
- ▶ Rossz vízoldhatóságú és/vagy alacsony biohasznosulású HA formulálására: **nanolizálás → megnövekedett fajlagos felület → nagyobb oldódási sebesség**



# NANOKRISTÁLYOK

## Noyes-Whitney egyenlet

$$\frac{dm}{dt} = A \frac{D}{d} (C_s - C_b)$$

$m$  = hatóanyag tömeg

$t$  = idő

$A$  = fajlagos felület

$D$  = diffúziós együtható

$d$  = felületi határréteg vastagság

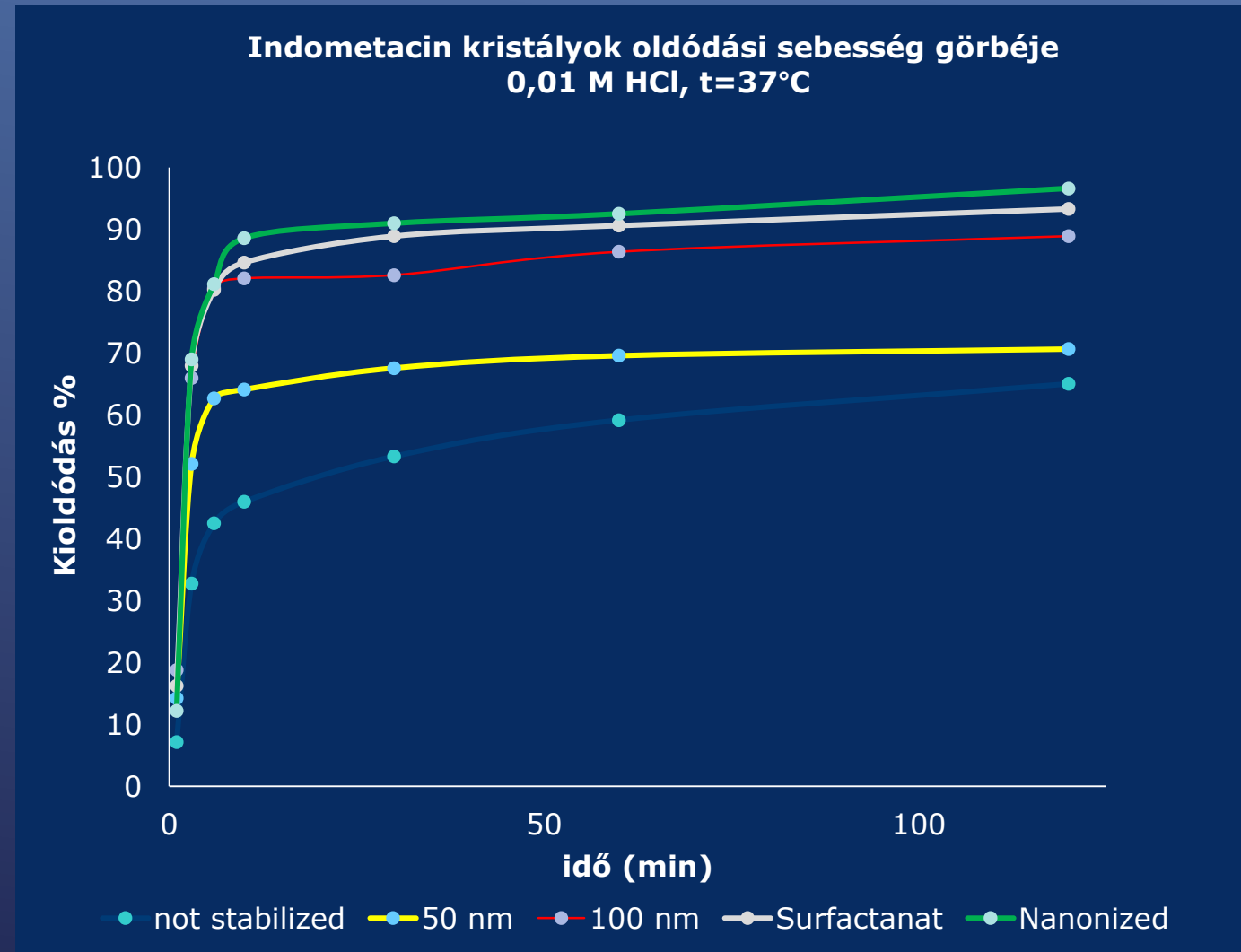
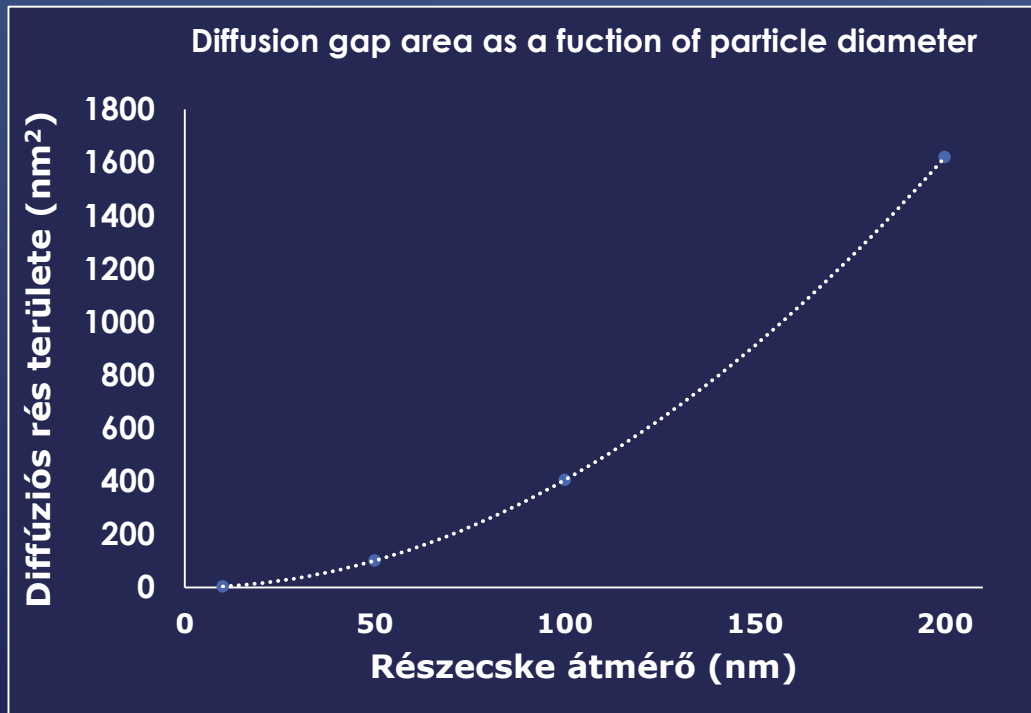
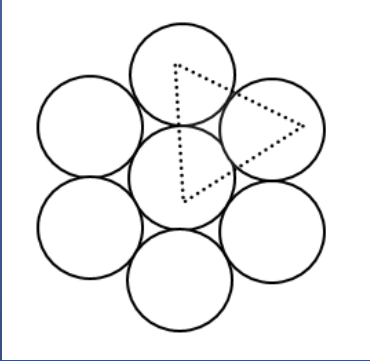
$C_s$  = felületi koncentráció

$C_b$  = oldat koncentráció



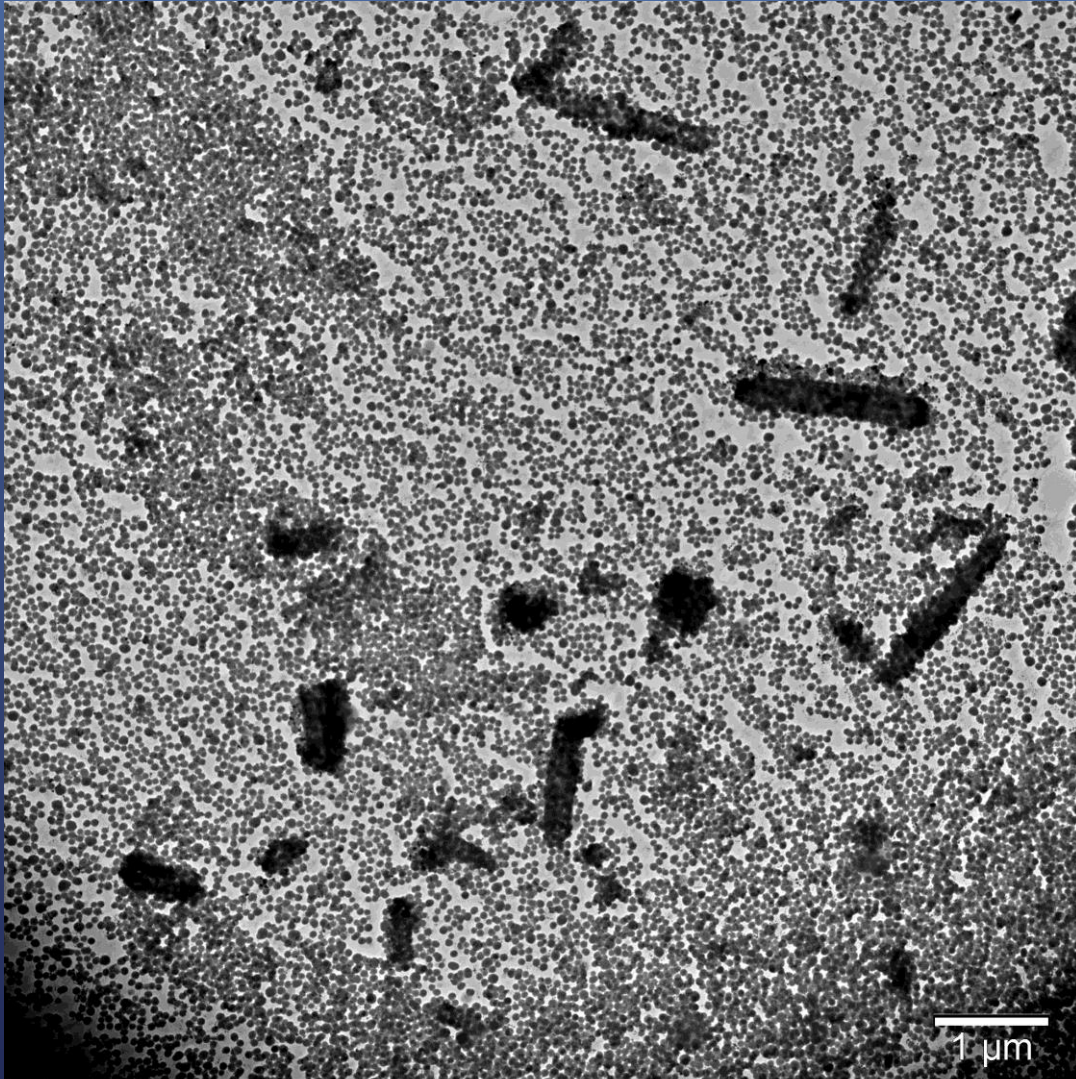
# NANOKRISTÁLYOK

- ▶ Oldódási sebesség befolyásolása nanorészecskék felületi adszorpciója által

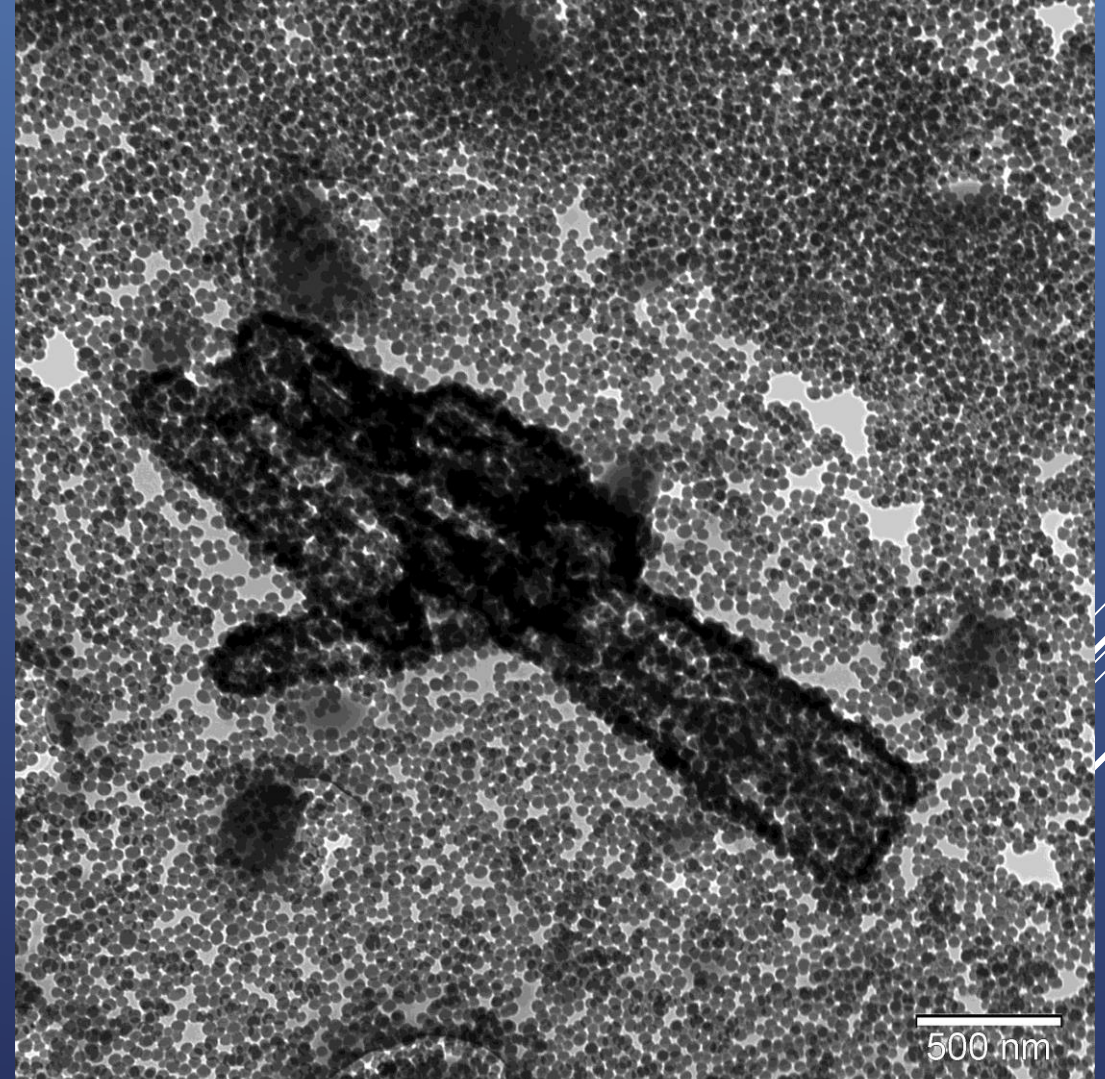




# NANOKRISTÁLYOK



Microscope	Accelerating Voltage	Magnification	Scale Bar
JEM-1200EX II	80 kV	15000 x	— 2 μm —




Microscope	Accelerating Voltage	Magnification	Scale Bar
JEM-1200EX II	80 kV	40000 x	— 500 nm —

# NANOKRISTÁLYOK ELŐÁLLÍTÁSI LEHETŐSÉGEI

## Top-down technológiák

- ▶ Nedves őrlés
- ▶ Nagynyomású homogenizálás
- ▶ Mikrofluidizáció
- ▶ NanoCrystals®
- ▶ Dissocubes™
- ▶ Nanopure™
  
- ▶ Nagyléptékben megvalósítható
- ▶ Jól reprodukálható

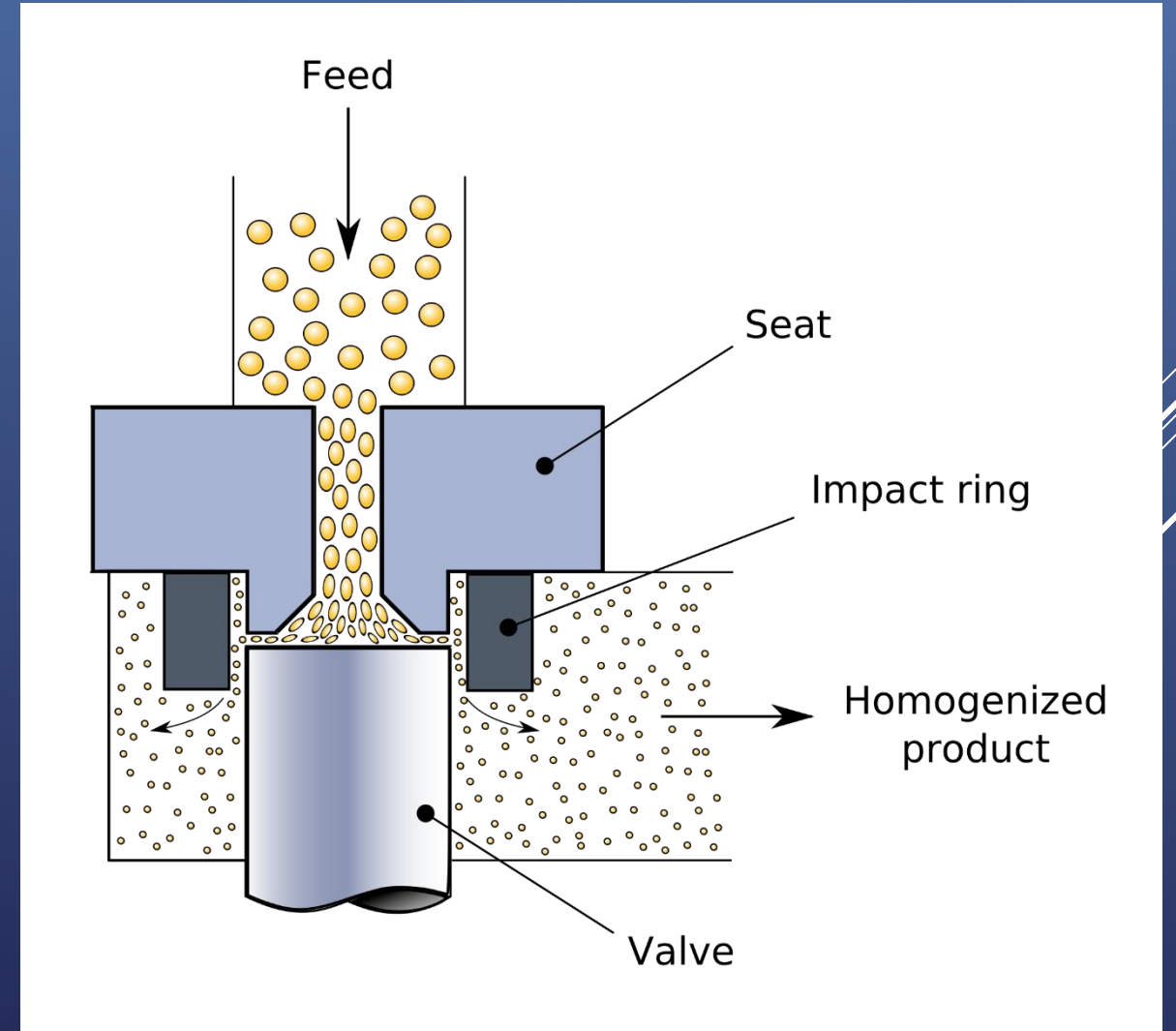
## Bottom-up technológiák

- ▶ Nanoprecipitáció
  - ▶ Porlasztva szárítás
  - ▶ Szuperkritikus folyadékkal történő szárítás
  - ▶ Kriogén szárítás
- 

# NANOKRISTÁLYOK ELŐÁLLÍTÁSI LEHETŐSÉGEI

## Nagynyomású homogenizátor

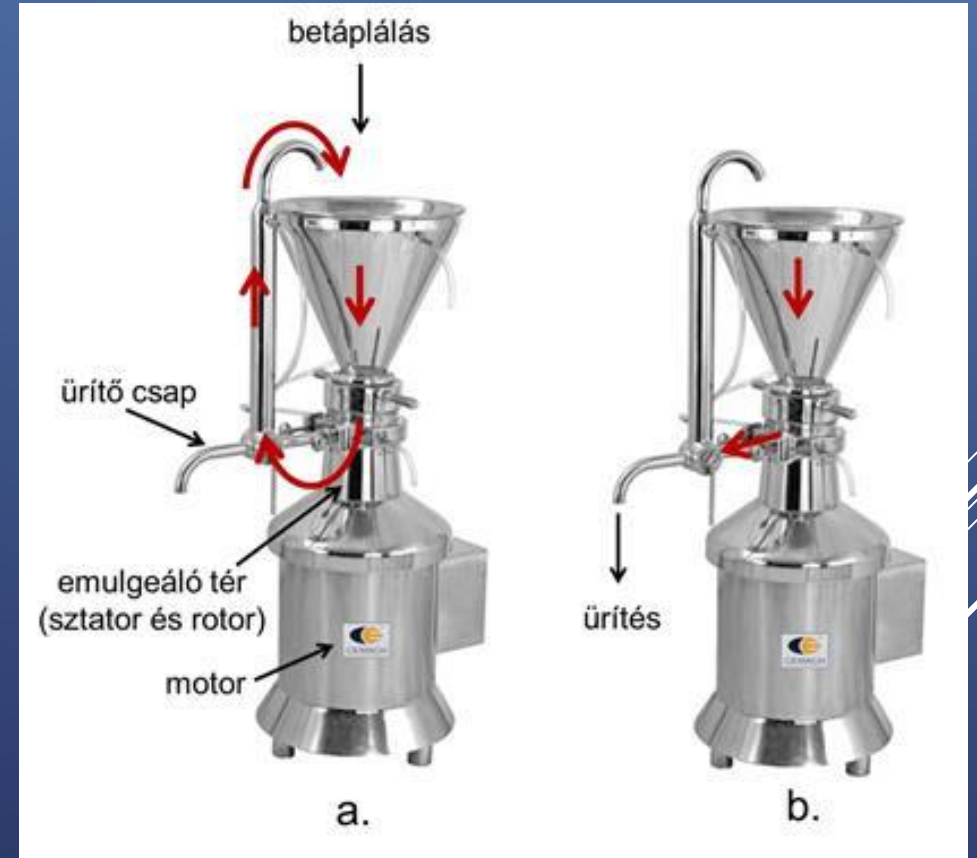
- ▶ Elsősorban vízben nehezen oldódó HA nanolizálása
- ▶ Vizes közeg, nem igényel szerves oldószereket
- ▶  $p=100-1700$  bar
- ▶ Léptéknövelés megoldott
  
- ▶ Hátrányok:
  - ▶ Hőérzékeny anyagok nanolizálása nem alkalmas
  - ▶ Idő- és energiaigényes folyamat
  - ▶ kristályhibák



# NANOKRISTÁLYOK ELŐÁLLÍTÁSI LEHETŐSÉGEI

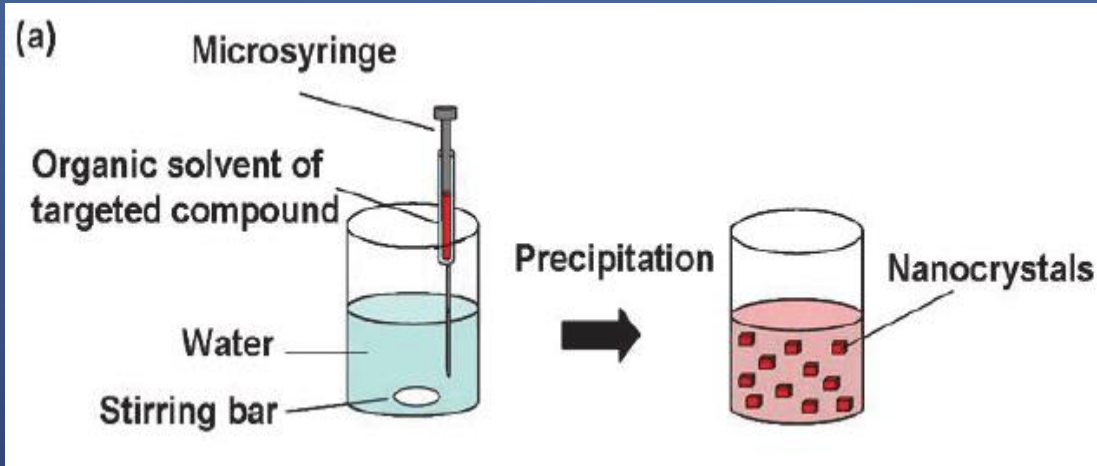
## Nedves őrlés

- ▶ Vizes közeg, nem igényel szerves oldószereket
- ▶ Felületaktív anyagok alkalmazása segédanyagként
- ▶ Végtermék: nanoszuszpenzió → granulálás/pelletezés/fagyasztva szárítás/mátrixképző anyagokkal tablettá
- ▶ Léptéknövelés megoldott
- ▶ Hátrányok:
  - ▶ Hőérzékeny anyagok nanolizálása nem alkalmas
  - ▶ kristályhibák

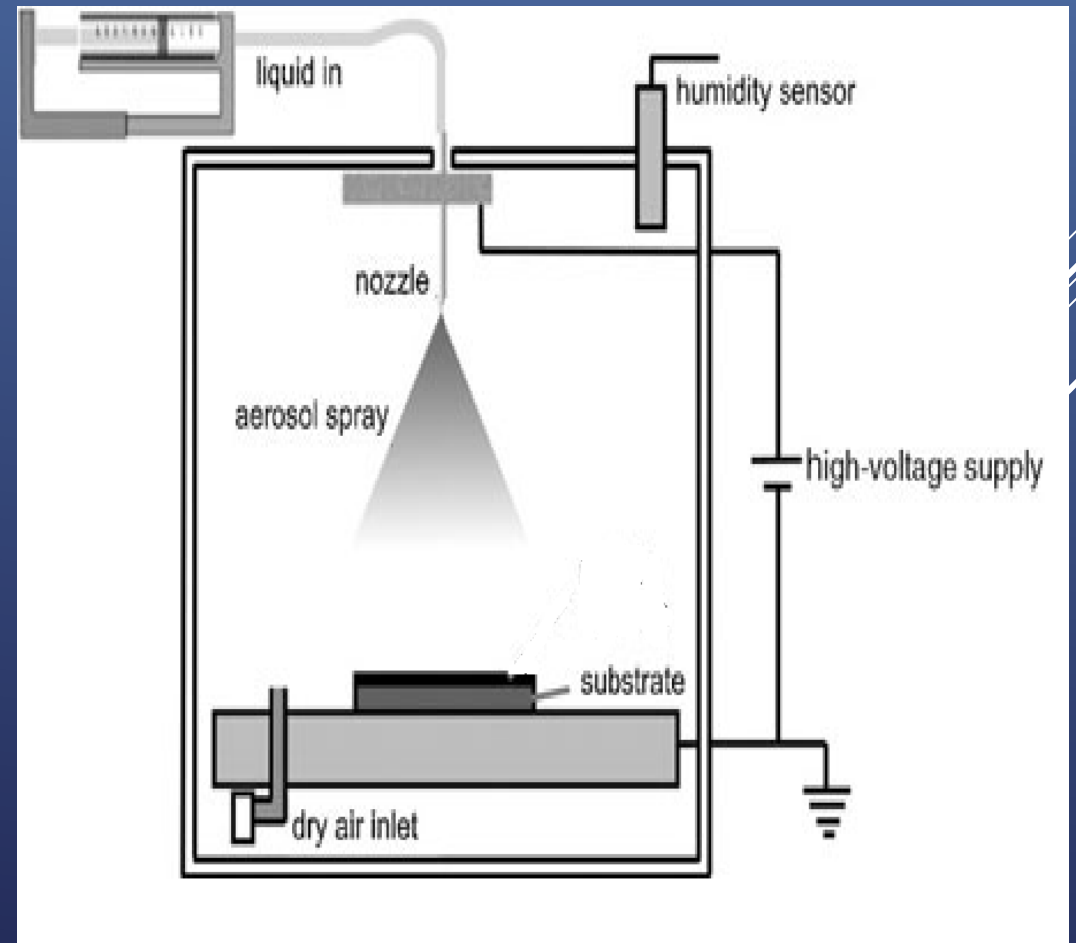


# NANOKRISTÁLYOK ELŐÁLLÍTÁSI LEHETŐSÉGEI

## Nanoprecipitáció



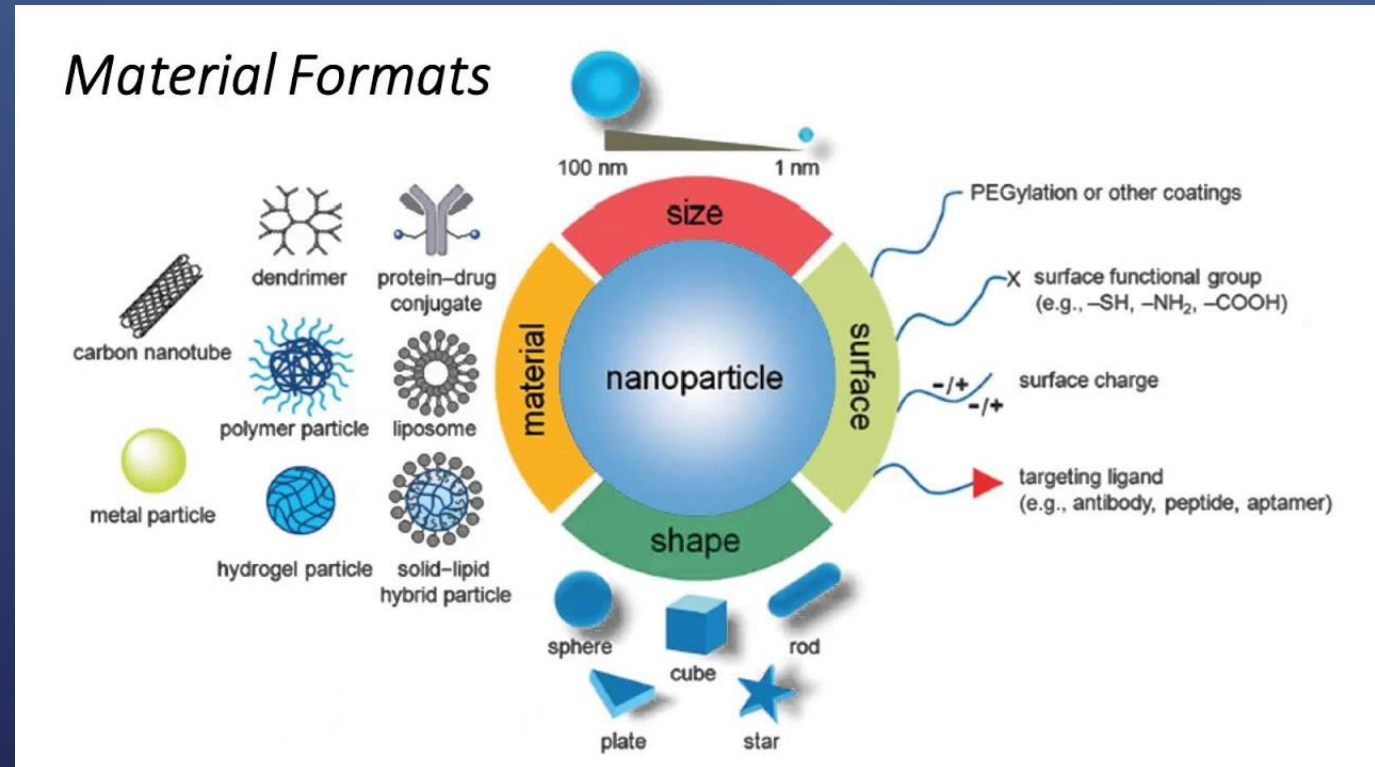
## Porlasztás



# NANORÉSZECSKÉK

- ▶ 1-500 nm mérettartomány
- ▶ Célzott HA leadású rendszerek
  - ▶ HA csapdázása
  - ▶ HA felületi adszorpciója
  - ▶ Felületi funkcionálizálás
- ▶ Szabályozott HA leadású rendszerek
  - ▶ Diffúziós rés méretének szabályozása
  - ▶ Rétegek kialakítása

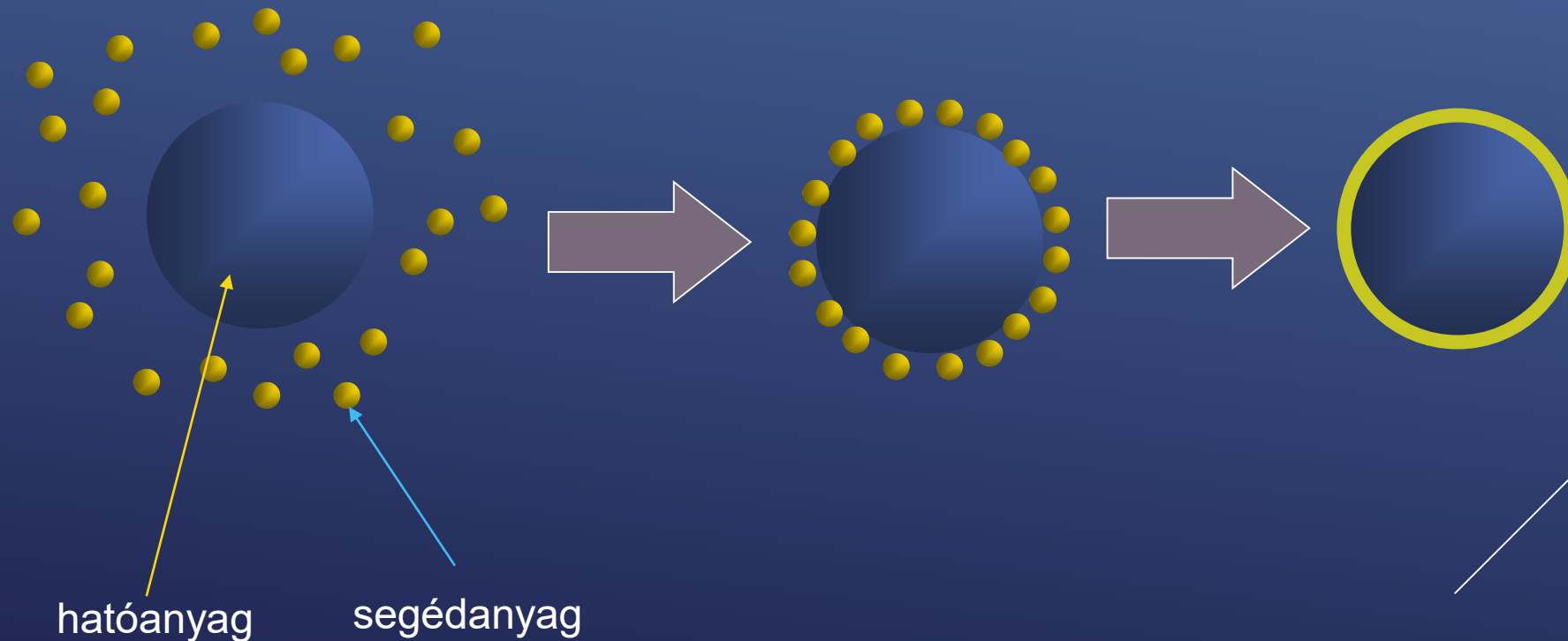
- ▶ Biológiailag kompatibilis alapanyagokból
  - ▶ Polimerek
  - ▶ Poliszacharidok
  - ▶ Lipidek



# NANOKAPSZULÁK

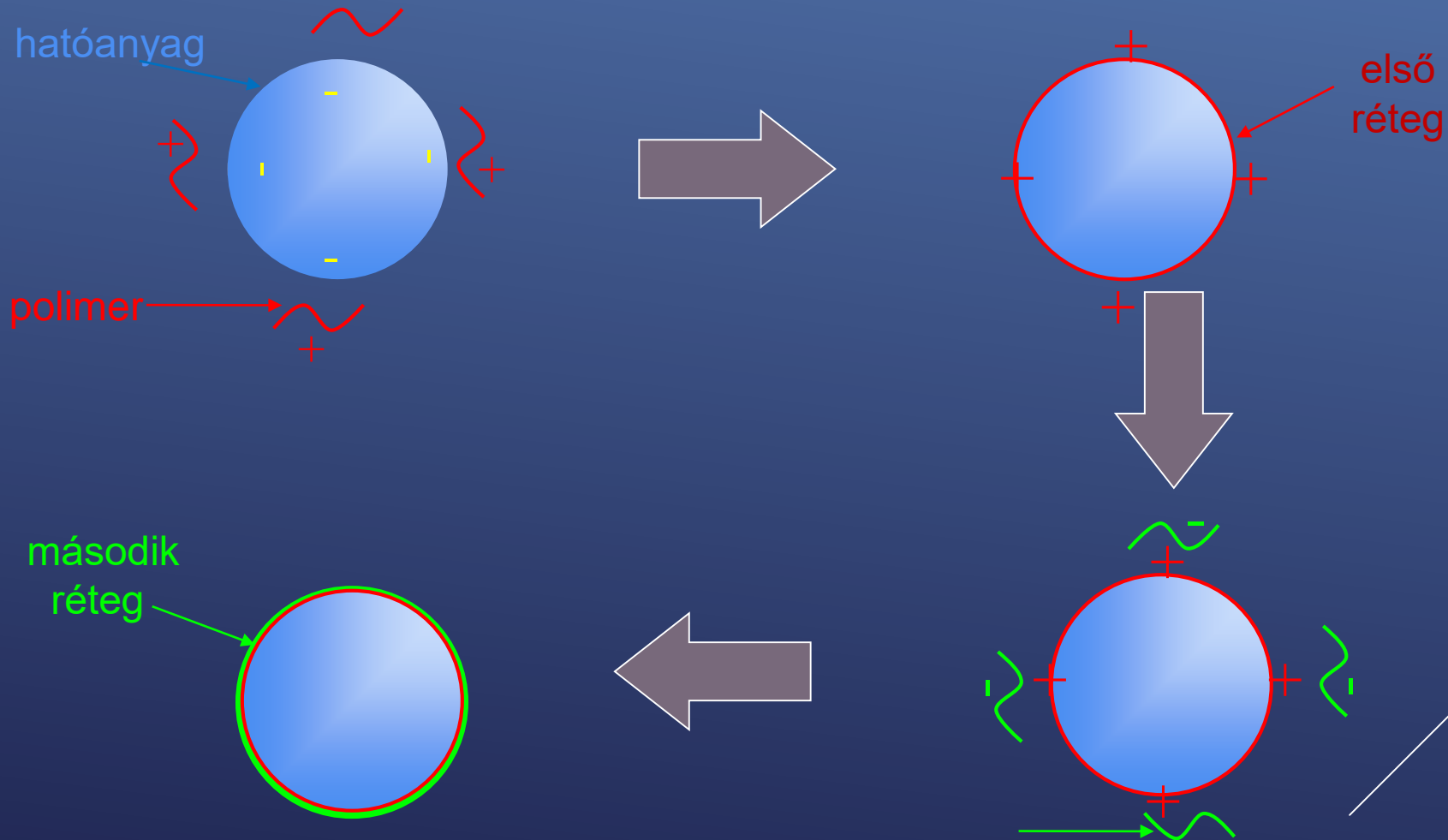
A hatóanyag részecskék felületén fizikai vagy kémia úton létrehozott bevonattal rendelkező, többnyire szférikus nanorészecskék.

- ▶ Előállításuk: segédanyag adszorpció a hordozó felületén



# NANOKAPSZULÁK

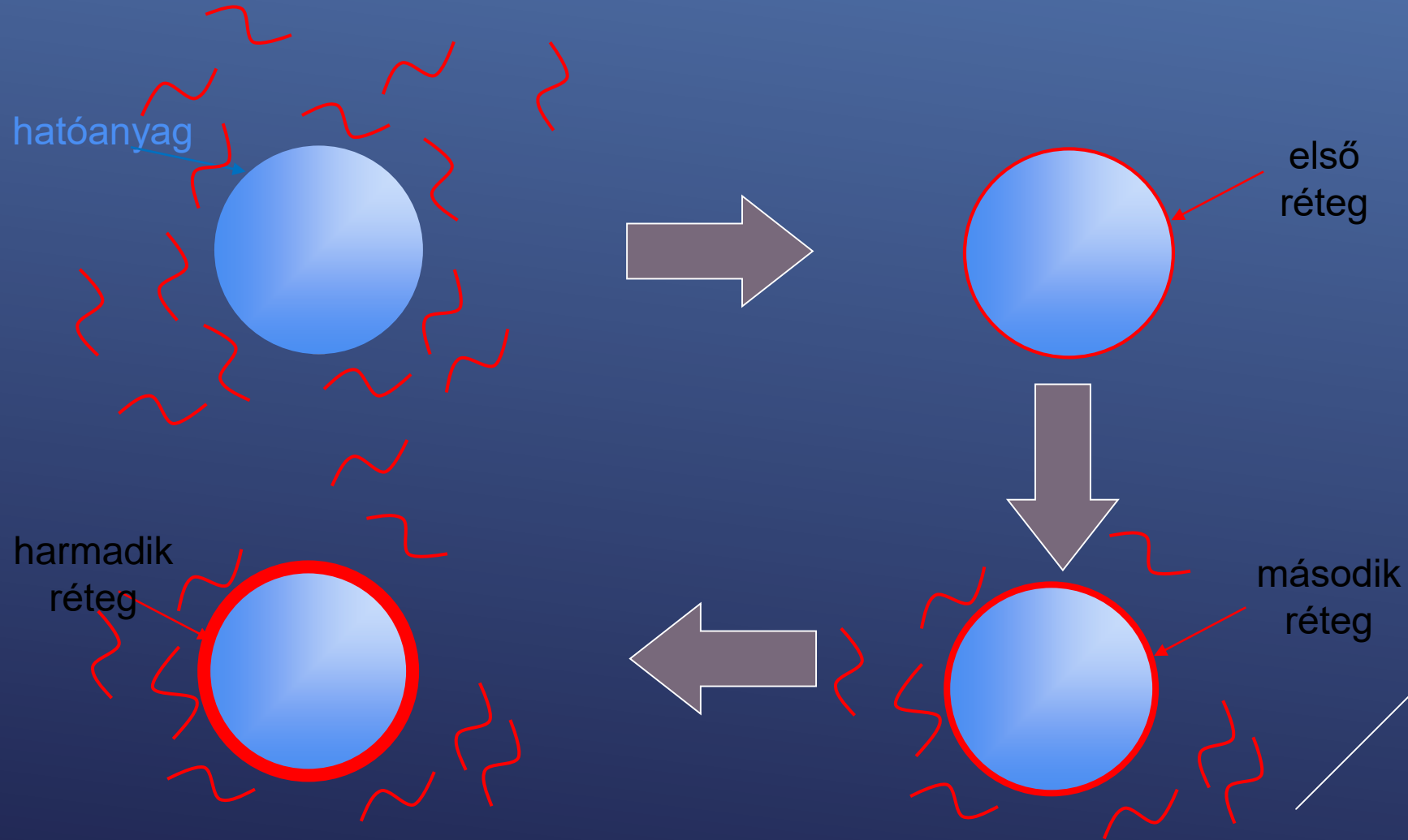
- ▶ Előállításuk: elektrosztatikus rétegezés a hatóanyag felületén





# NANOKAPSZULÁK

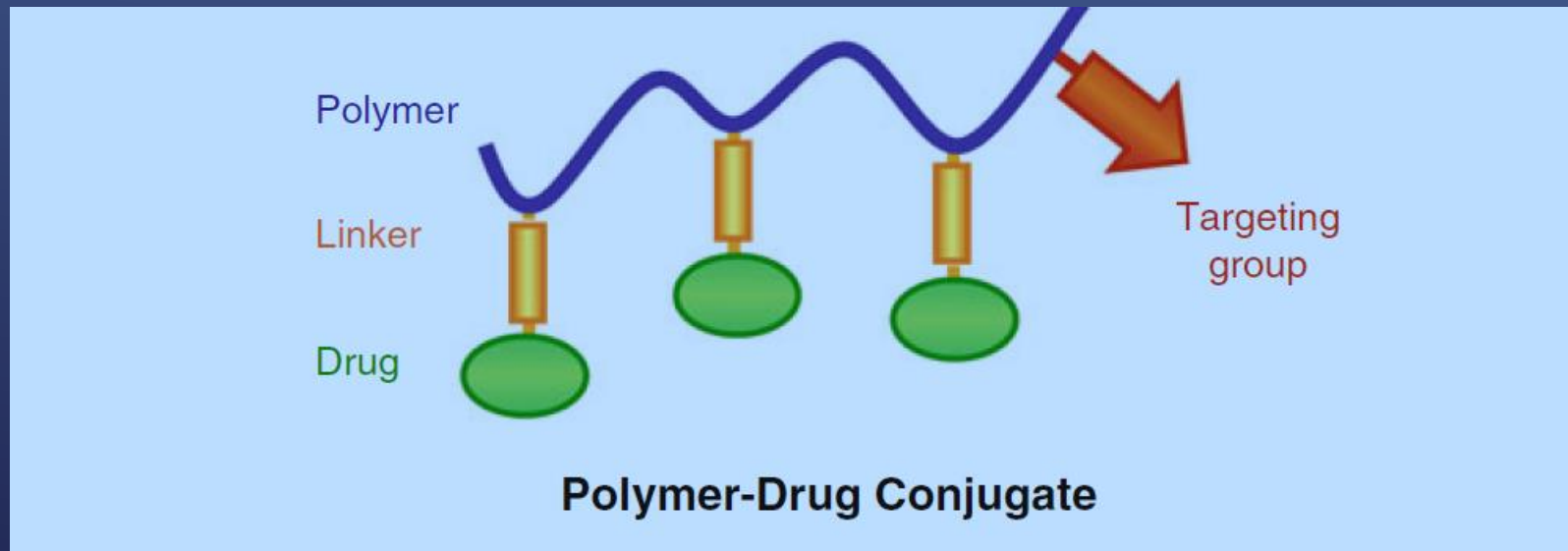
- ▶ Előállításuk: határfelületi polimerizációval



# POLIMER KONJUGÁTUMOK

A hordozó makromolekulához a hatóanyag kémiai úton kötődik.

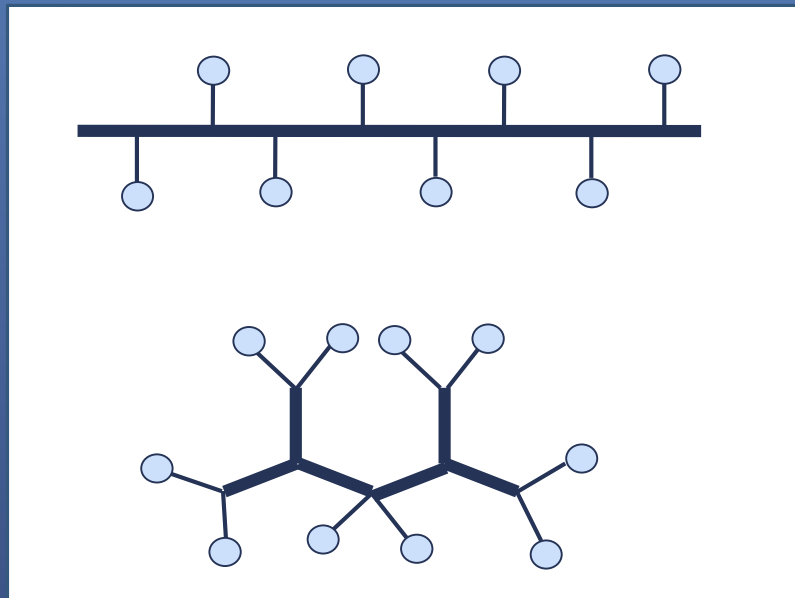
- ▶ meghosszabbodott keringési idő
- ▶ egyenletes eloszlás
- ▶ szelektív hatóanyag kibocsátás



# POLIMER KONJUGÁTUMOK

Főbb típusaik belső szerkezetük alapján:

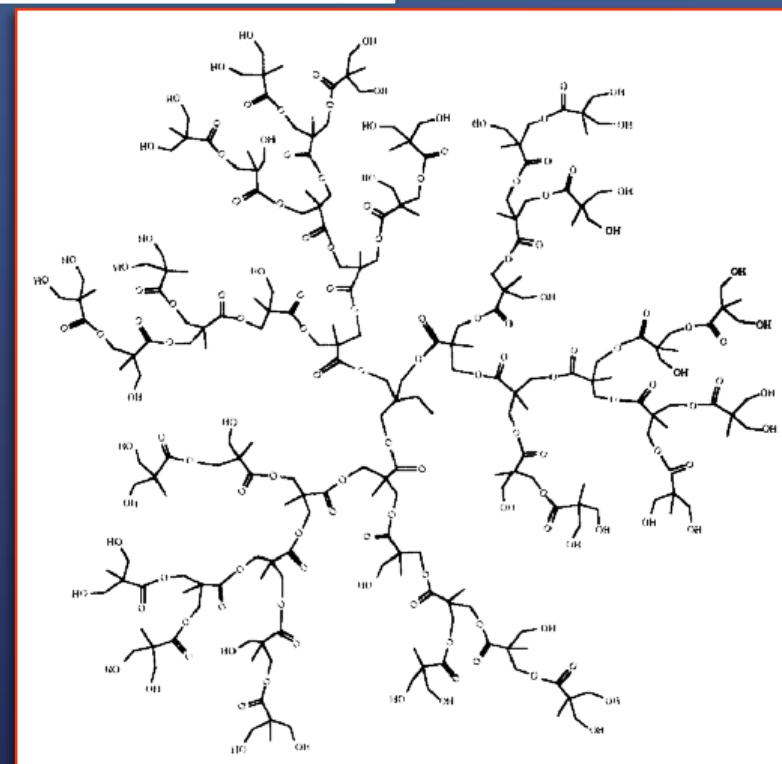
- ▶ egyenes láncú
- ▶ elágazó láncú



A hordozó makromolekulák eredetűek szerint lehetnek:

- ▶ természetes
- ▶ mesterséges
  - ▶ félszintetikus
  - ▶ szintetikus

Elágazó  
felépítésű,  
szférikus  
rendszerek



# POLIMER KONJUGÁTUMOK TULAJDONSÁGAI

Molekulatömeg  $>10^4$

Előállításuk: poliaddícióval, polikondenzációval

A monomerek periodikus ismétlődése szerint lehetnek

Homopolimerek: -A-A-A-A-A-

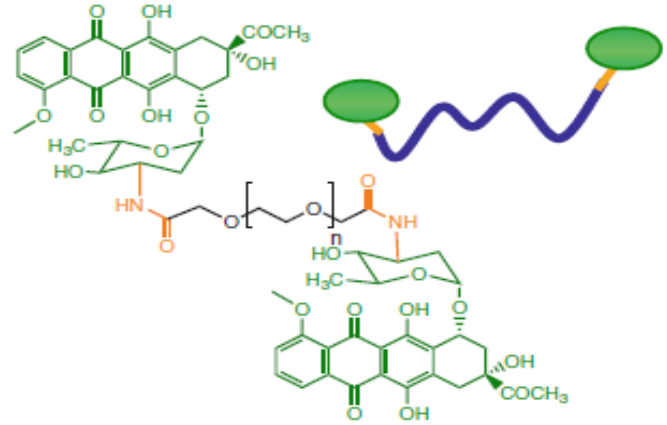
Heteropolimerek: -A-A-B-A-A-B-B-B-A-

Blokk polimerek: -A-A-A-A-B-B-B-B-



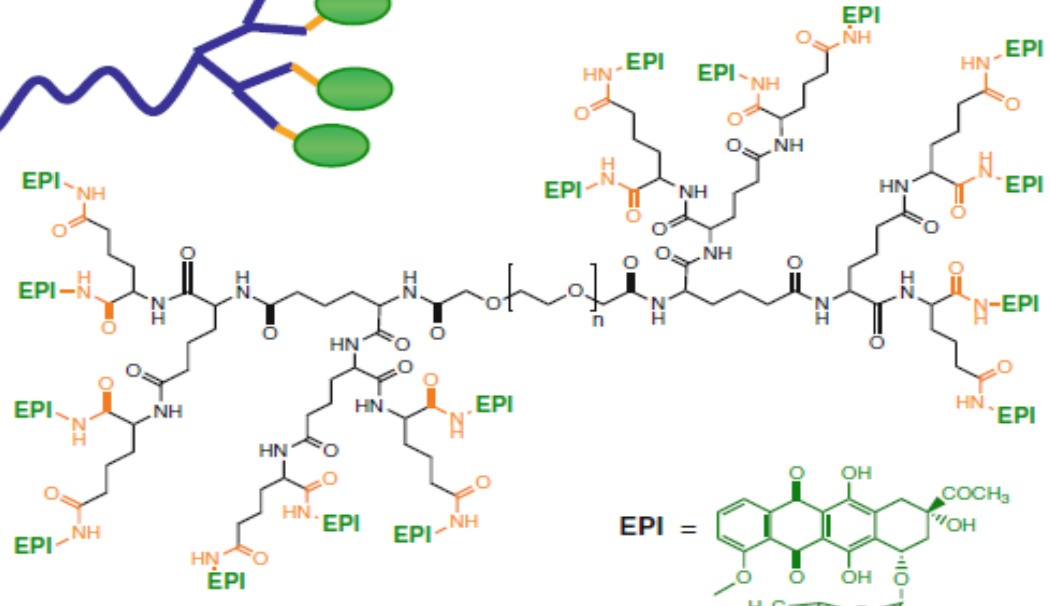
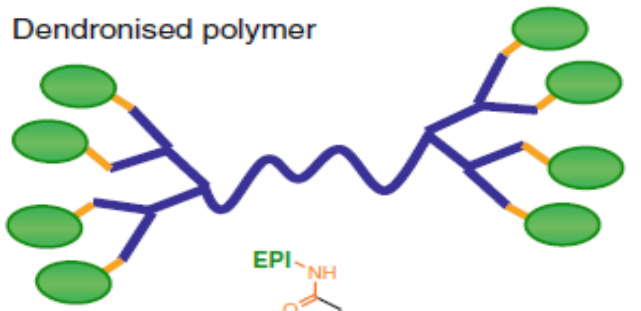
**a**  
Terminal conjugation

Linear polymer



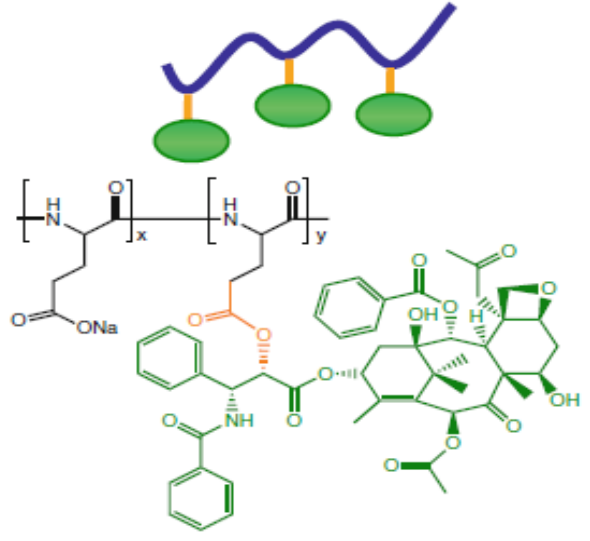
Linear PEG-epirubicin

Dendronised polymer



Dendritic PEG-epirubicin

**b**  
Pendant chain conjugation

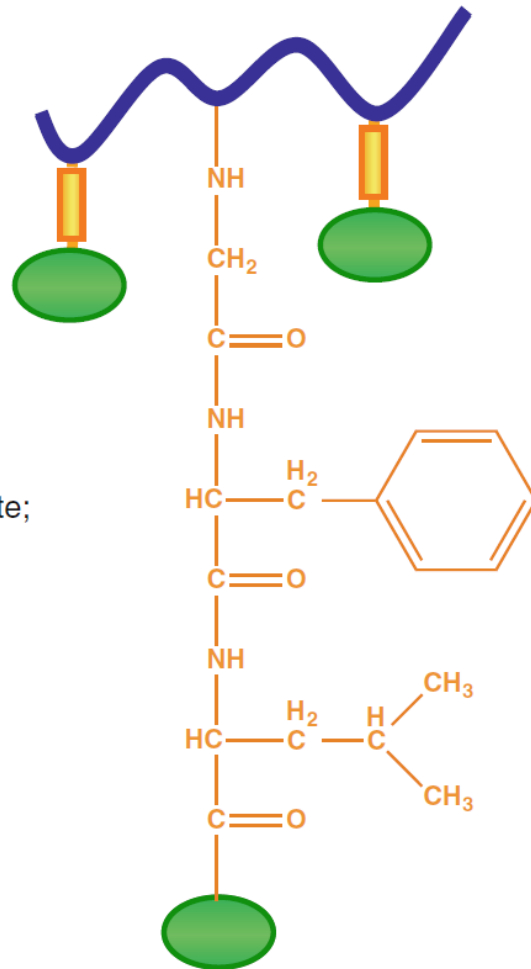


PGA-paclitaxel

Polymer

Linker

Drug

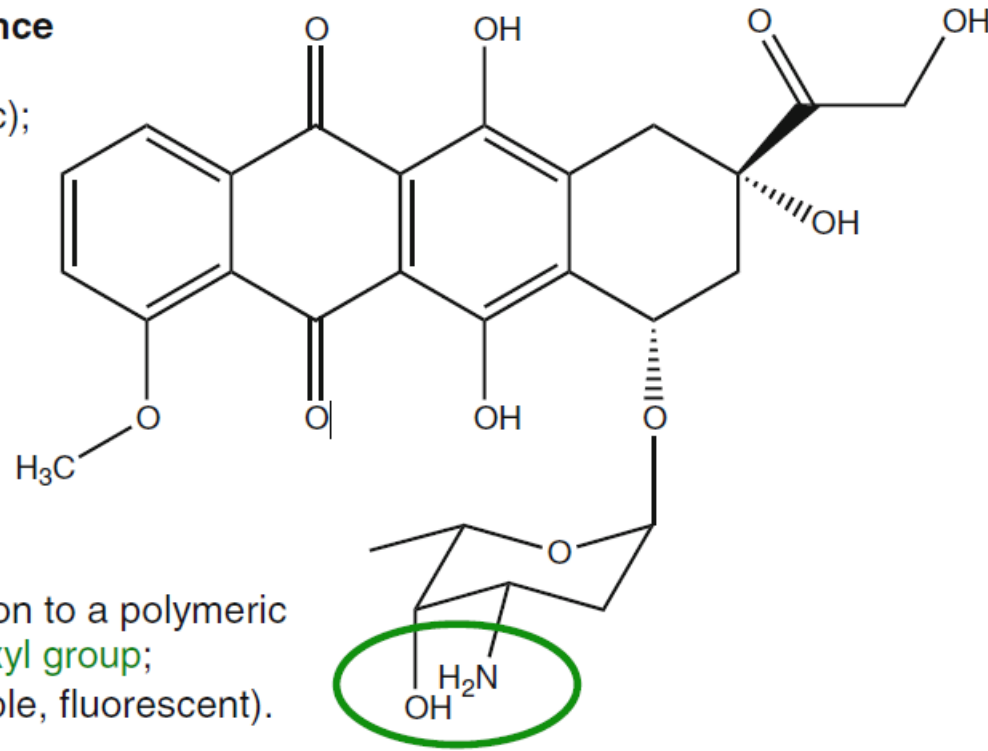


**Biological behaviour:**

- Degradable at the target site;
- Stable in blood.

### Therapeutic applications and performance

- Used in cancer treatment;
- Non-selective (doxorubicin is cardiotoxic);
- Potent.



### Chemical features

- Functional group(s) that allow conjugation to a polymeric carrier: **primary amino group and hydroxyl group**;
- Detectable for characterization (UV visible, fluorescent).

### Physico-chemical characteristics

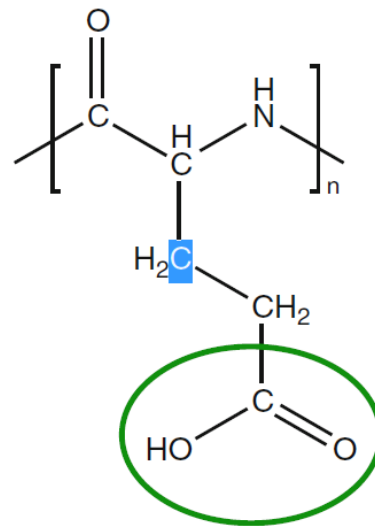
- Solubility in water;
- High molecular weight;

### Biological behaviour

- Biodegradability: breaks down into smaller fragments in the body;
- Non toxic;
- Non immunogenic.

### Chemical structure

Conjugation sites: one **carboxyl group** per monomer (high loading capacity).



## Poliglutamin sav

# POLIMER KONJUGÁTUMOK

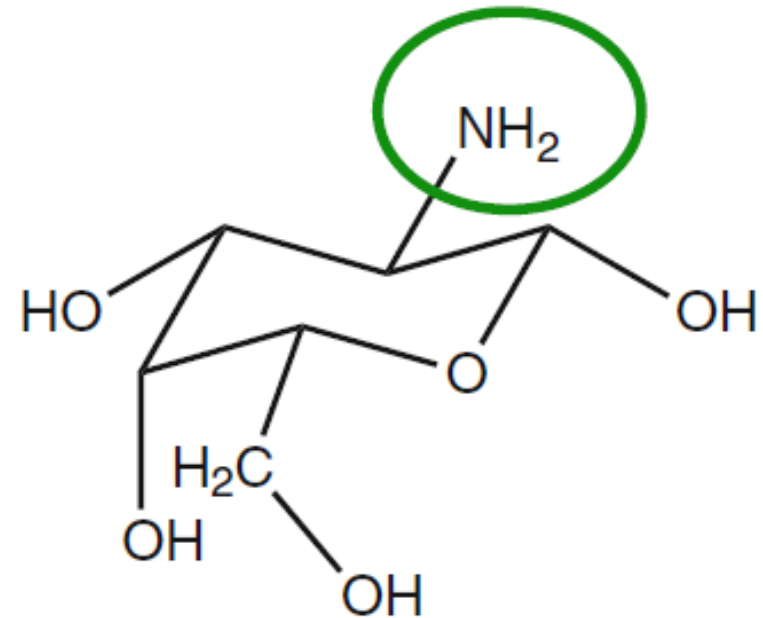
## Szövet szelektív funkciós csoport alkalmazás

### Biological behaviour:

Tissue-specific (binds selectively to the hepatocyte galactose receptor, liver-specific);

### Chemical features

Functional group that allows conjugation to a polymeric carrier (**primary amino group**).





# POLIMER KONJUGÁTUMOK

## Kombinált terápia

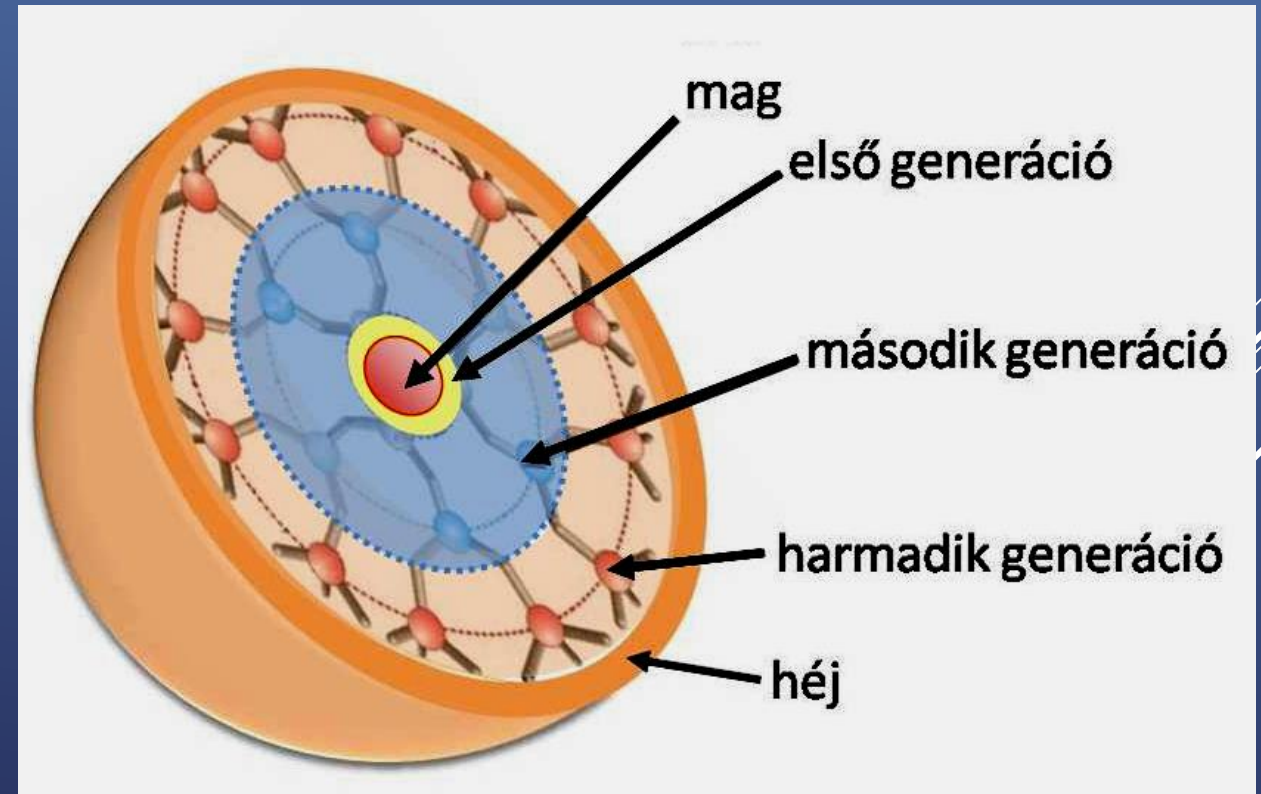
Conjugate	Type of combination	Reference
HPMA copolymer- doxorubicin- aminoglutethimide	Chemotherapy; Endocrine therapy	Vicent et al. (2005), Greco et al. (2007)
PEG-NO-epirubicin	Chemotherapy; cardioprotective agent.	Pasut et al. (2009), Santucci et al. (2006)
HPMA copolymer- TNP470-alendronate	Antiangiogenic agent; bisphospho- nate drug.	Segal et al. (2009)
HPMA copolymer- paclitaxel-alendronate	Chemotherapy; biphosphonate drug.	Miller et al. (2011)
HPMA copolymer- doxorubicin-dexamethasone	Chemotherapy; anti-inflammatory and anti-proliferative agent	Kostkova et al. (2011)
PEG-paclitaxel-alendronate	Chemotherapy; biphosphonate drug.	Clementi et al. (2011)

# DENDRIMEREK

A dendrimerek speciális, szintetikus makromolekulák, amelyek egy központi magból kiinduló, térben elágazó, ismétlődő egységekből épülnek fel.

Az elágazási pontok, a terminális funkciós csoportok, és a molekula belsejében kialakult üregek teszik lehetővé a széleskörű gyógyszerészeti felhasználását.

Tulajdonságaikat a makromolekulák felületi, láncvégi funkciós csoportjai határozzák meg.



# DENDRIMEREK ELŐÁLLÍTÁSI LEHETŐSÉGEI

## Divergens módszer

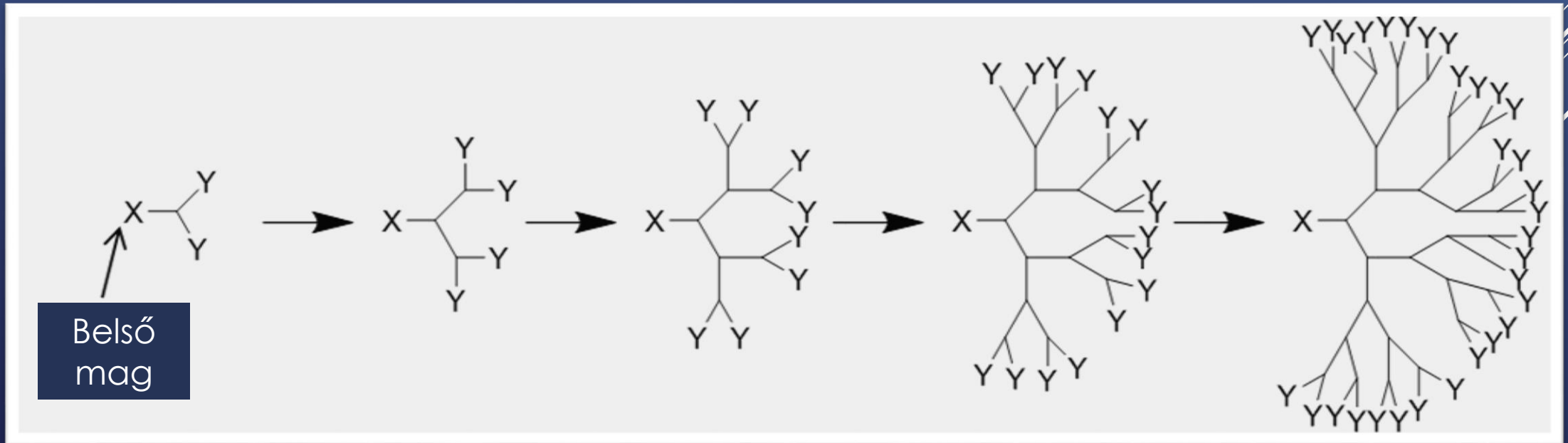
- Szintézis a magtól indul a periféria felé
- A központi molekula, azaz dendrimer-mag reakcióba lép olyan monomer molekulákkal melyek egy reaktív és két védett csoportot tartalmaznak, így jön létre az első generációs dendrimer
- majd az így kialakult periférián levő funkciós csoportok reakcióba lép újra a monomerekkel, a reakció lépést a kívánt generáció eléréséig ismétlik

### A módszer előnyei:

- Nagy mennyiségű dendrimer állítható elő

### A módszer hátrányai:

- csoportok melléreakciói → szerkezeti változások
- A melléreakciók megelőzése érdekében nagy mennyiségű reagens túladagolás szükséges.



# DENDRIMEREK ELŐÁLLÍTÁSI LEHETŐSÉGEI

## Konvergens módszer

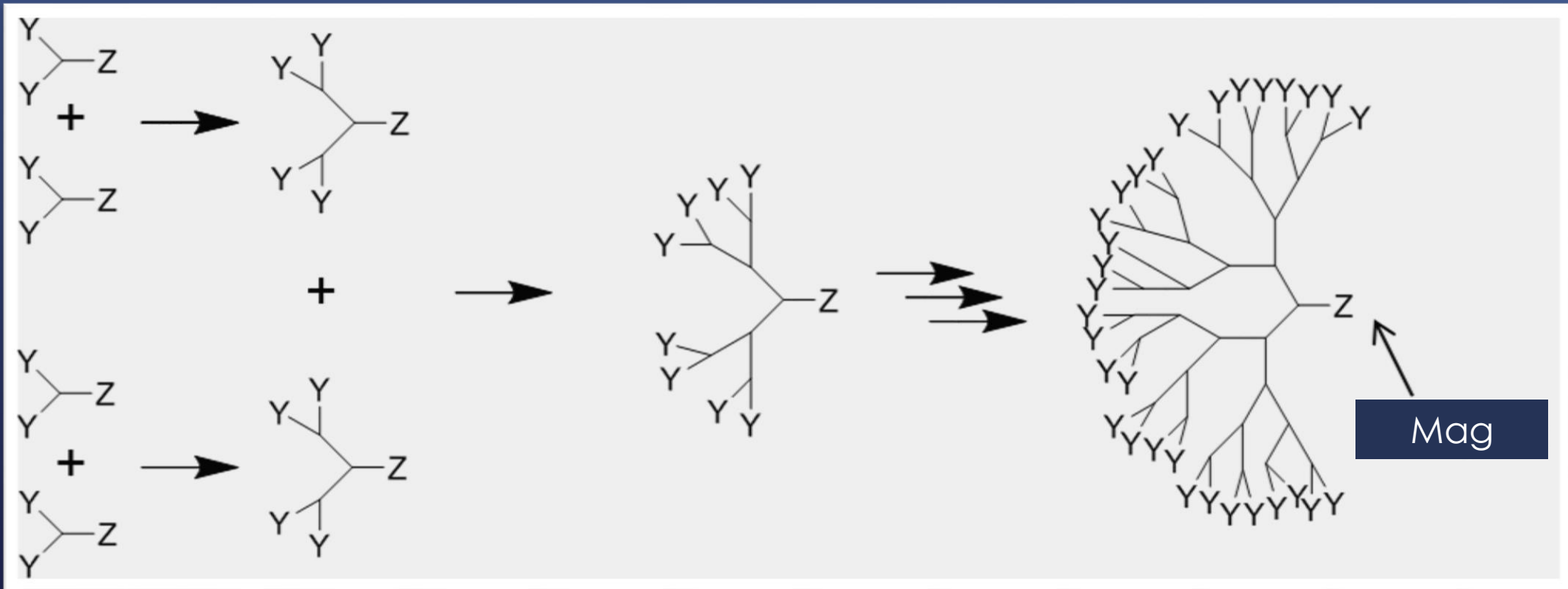
- a külső csoportoktól halad a mag felé
- Amikor az elágazó karok (dendronok) elég hosszúak, azokat egy multifunkciós maghoz kapcsolják.

### A módszer előnyei

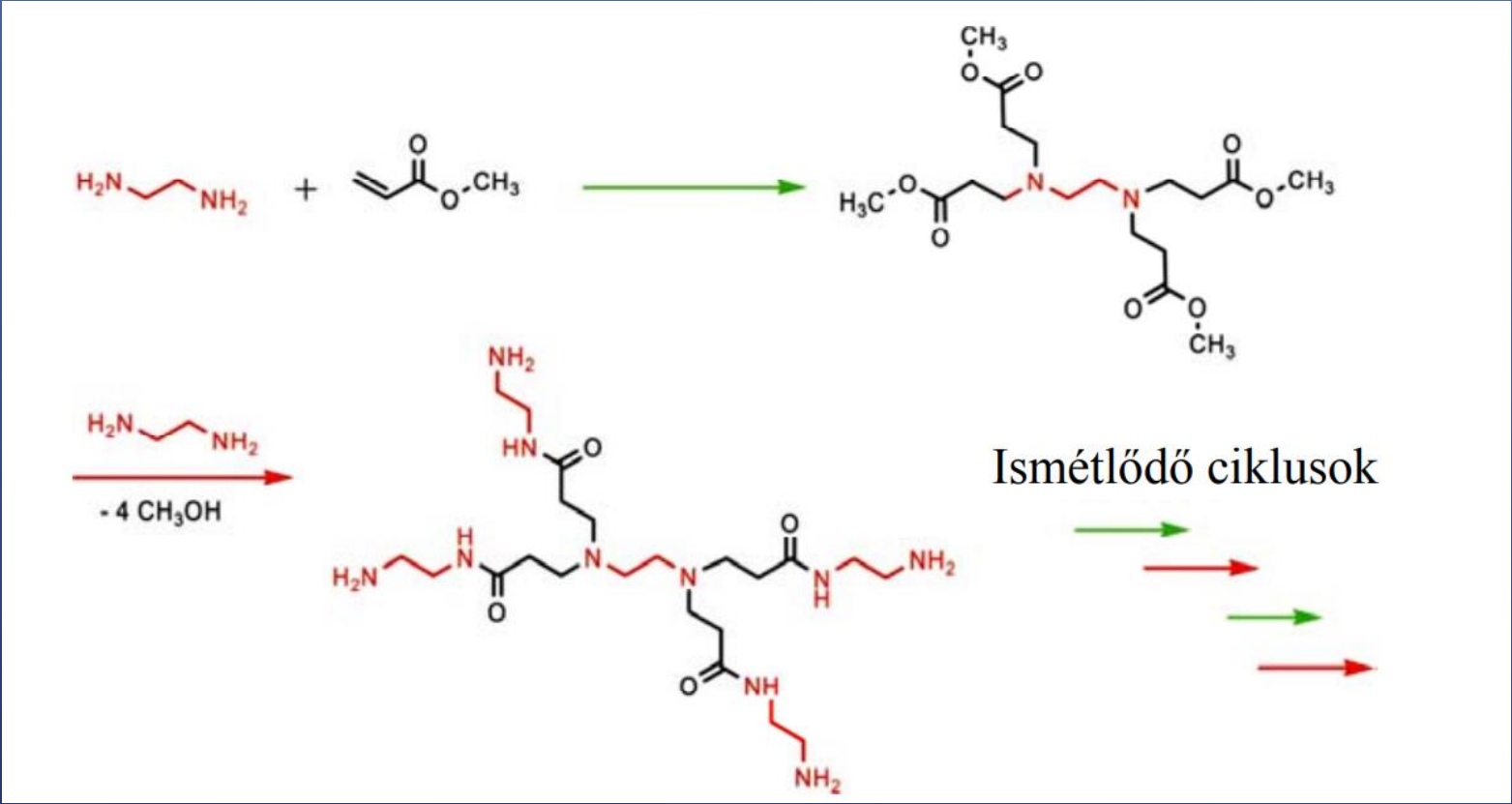
- Viszonylag könnyű tisztítani a végső terméket, mely minimális szerkezeti hibákkal állítható elő.
- A kívánt csoportok precízebb elhelyezését teszi lehetővé

### A módszer hátrányai

- nem teszi lehetővé a magasabb generációk előállítását, sztérikus problémák miatt

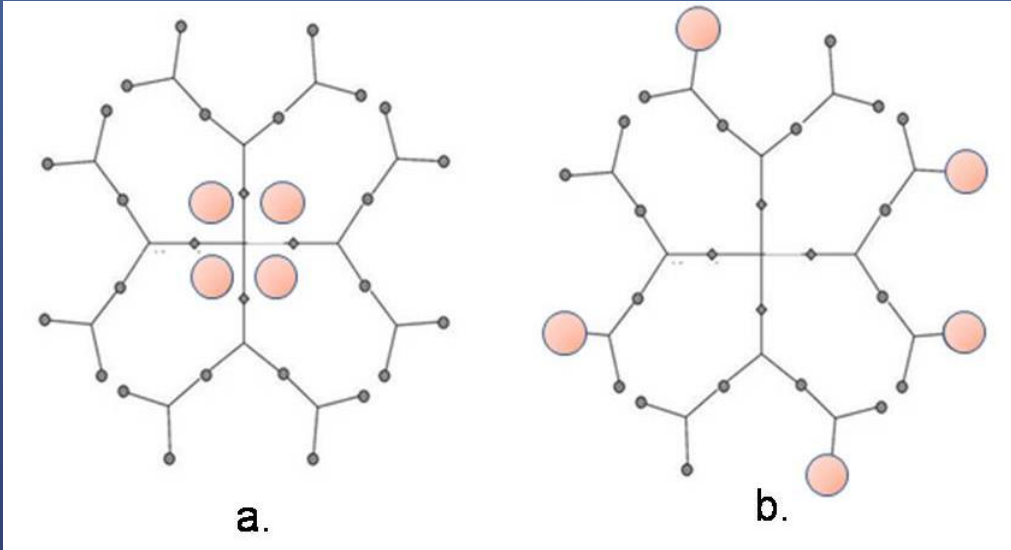


# PAMAM DENDRIMER SZINTÉZISE



# DENDRIMEREK TULAJDONSÁGAI

## Hatóanyag kötési lehetőségek



- a. belső, általában fizikai (adszorpció)
- b. külső, általában kémiai (kovalens)

- Gömb alak
- 1-100 nm, monodiszperz méreteloszlás
- Méretük, alakjuk, elektroforetikus és hidrodinamikai tulajdonságaik is nagy mértékben hasonlítanak a fehérjékhez

A dendrimerek lehetnek:

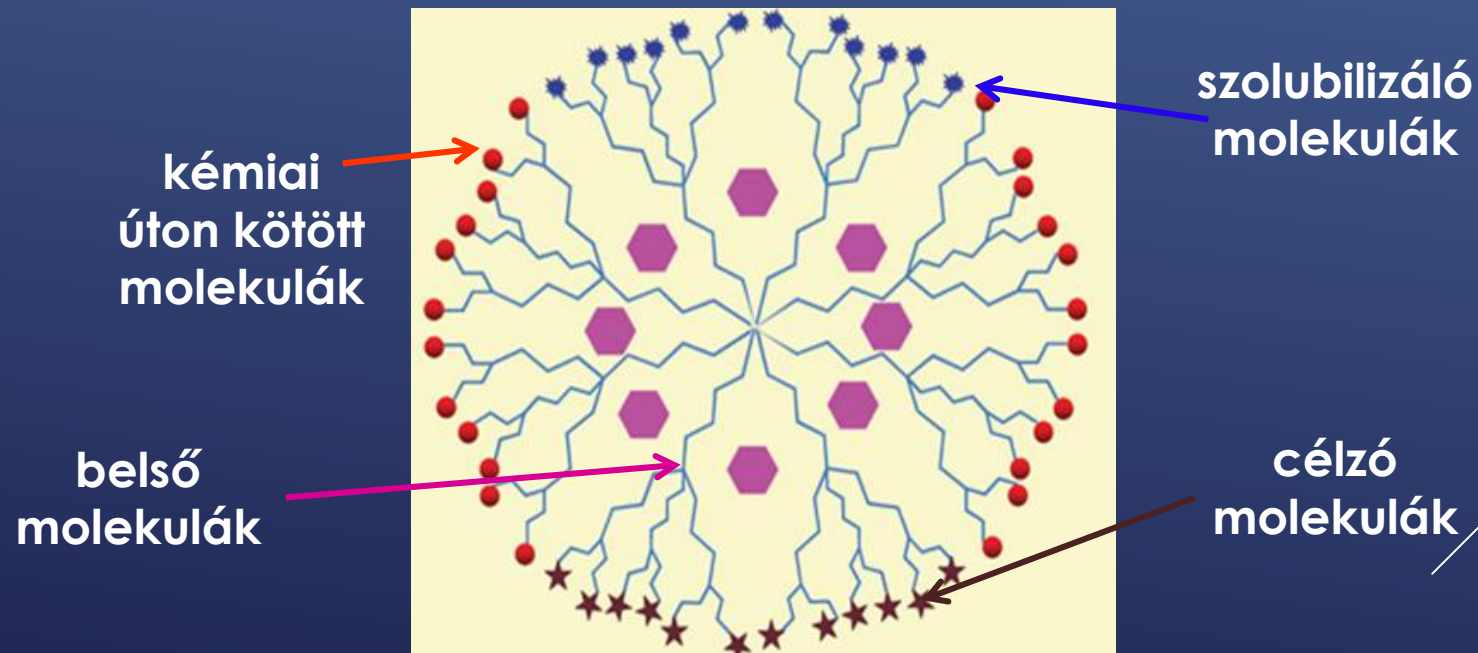
- vízdékvonyak, ha a végcsoportok hidrofilek (pl. karboxil csoport)
- Hidrofóbok → hidrofób hatóanyag befogadására

Összetétel tekintve lehetnek:

- poliészterek
- poliéterek
- poliamidok

# DENDRIMEREK

- ▶ A dendrimerek szolgálhatnak „gazdaként” (host) a gyógyszer hatóanyagok (drogok) szállításában. A drogok kötődhetnek a dendrimer magjához hidrofób vagy ionos kölcsönhatásokkal, illetve a dendrimer héj részéhez ún. „click in” módszerrel.
- ▶ Maguk a dendrimerek is lehetnek drogok, vagy a drogokat is lehet dendritikus elrendezésben összeállítani.
- ▶ Végül a dendrimerek szerepelhetnek a vaccinációban mint segédanyagok az immunválaszt kiváltó epitopok szállításában.
- ▶ A PAMAM dendrimerek kitűnően szállítják a DNS-t, könnyen áthatolnak a sejtmembránon, ezért szállító ágensként (vektorként) előszeretettel használják őket.



# NANOEMULZIÓK

TULAJDONSÁG	MAKROEMULZIÓ	MIKROEMULZIÓ	NANOEMULZIÓ
Keletkezés	energia befektetéssel	spontán	energia befektetéssel
Stabilitás	kinetikai állandóság, nem egyensúlyi rendszer	termodinamikai egyensúly	kinetikai állandóság, nem egyensúlyi rendszer
Határfelületi feszültség	$\sigma > 1$ mN/m	$\sigma \approx 0$ mN/m	$\sigma > 1$ mN/m
Stabilizátor	felületaktív anyag (kis koncentrációban)	felületaktív anyag és segéd felületaktív anyag (nagy koncentrációban)	nem feltétlenül szükséges
Cseppméret	$d < 1$ $\mu$ m	$100$ nm $< d < 1$ $\mu$ m	$d < 100$ nm
Megjelenés	tejszerű, zavaros	áttetsző, átlátszó	a jellegtől függ
Típus	o/v és v/o, összetett emulziók	o/v és v/o	o/v és v/o



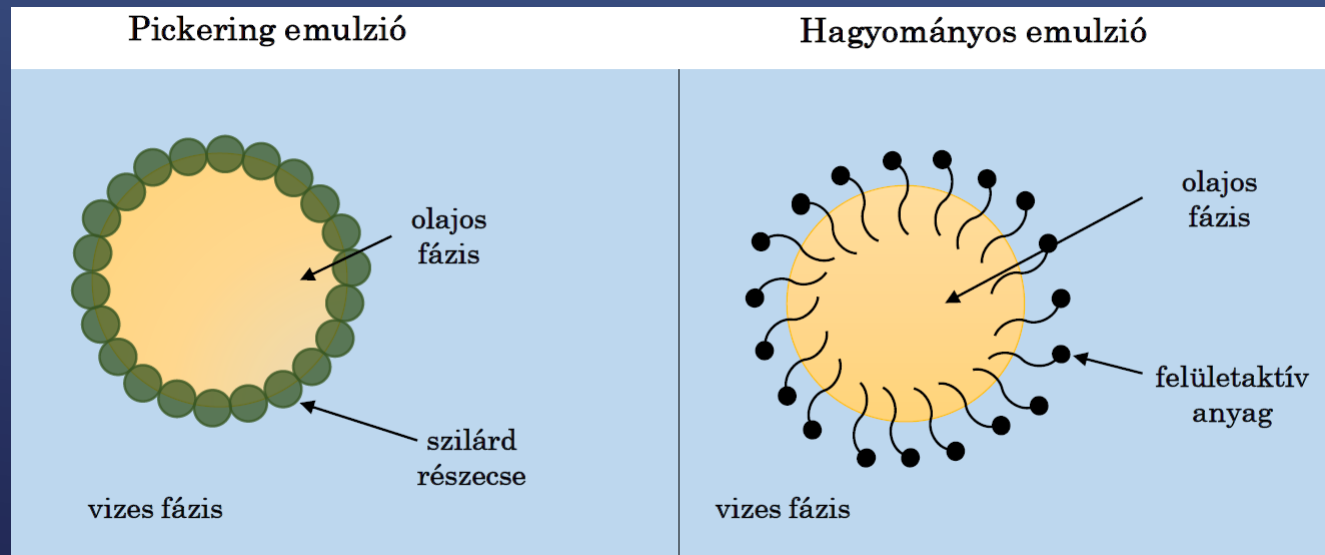
# NANOEMULZIÓK

## Előállítási módszerek

- ▶ Nagy energiájú technológiák
  - ▶ Nagynyomású homogenizátor
  - ▶ Mikrofluidizáció
  - ▶ Ultrahangos módszerek
- ▶ Alacsony energiájú technológiák
  - ▶ Fázis inverzió útján történő emulzifikálás
  - ▶ Emulzió inverziós pontján alapuló előállítás
  - ▶ Önemulgeálás

## Alkalmazás

- ▶ Vízben rosszul/egyáltalán nem oldódó hatóanyagok formulálása
- ▶ Biofelhasználhatóság növelése
- ▶ Fizikai és kémiai stabilizálás: hatóanyag fény-és hővédelem
- ▶ Cseppmérettel szabályozható a HA leadása
  - ▶  $D < 50$  nm: paracelluláris transzport
  - ▶  $50 < D < 500$  nm: endocitózis



# PICKERING EMULZIÓK

## Szilárd részecskékkel stabilizált emulzió.

- ▶ Termodinamikai stabilitás is elérhető!
- ▶ Felületaktív anyagok helyett biokompatibilis nanorészecskék → irritáció kiküszöbölése
  - ▶ Szabályozható cseppméret → célzott HA leadás
  - ▶ Nanorészecskék felületmódosítása → célzott HA leadás
  - ▶ Diffúziós rés → szabályozott HA leadás
  - ▶ Szövet/sejtmembrán specifikus adhézió/adszorpció
- ▶ Polimer-, kitozán-, cellulóz-, keményítő-, szilika-, stb. nanorészecskék

