

KATEDRA ZA FARMACEVTSKO TEHNOLOGIJO



Člani Katedre za farmacevtsko tehnologijo (od leve proti desni): doc. dr. Ilija German Ilić, asist. Maja Bjelošević, asist. dr. Katarina Bolko Seljak, Tatjana Hrovatič, Mojca Keržan, asist. Mercedes Vitek, prof. dr. Odon Planinšek, prof. dr. Stanko Srčič, doc. dr. Mirjam Gosenc Matjaž, asist. Blaž Grilc, Mila Kovačević, prof. dr. Mirjana Gašperlin (predstojnica), asist. dr. Zoran Lavrič, asist. Anže Zidar, asist. Črt Dragar, prof. dr. Julijana Kristl, asist. dr. Barbara Sterle Zorec, Valerija Garb, doc. dr. Špela Zupančič, doc. dr. Alenka Zvonar Pobirk, izr. prof. dr. Pegi Ahlin Grabnar, asist. Janja Mirtič, izr. prof. dr. Rok Dreu, Marjkajo: izr. prof. dr. Petra Kocbek, asist. Tanja Potrč, prof. dr. Janez Kerč, prof. dr. Franc Vrečer, doc. dr. Biljana Jankovič.

Katedra za farmacevtsko tehnologijo raziskovalno in študijsko pokriva področja farmacevtske tehnologije, nanotehnologije, industrijske farmacije, farmacevtskega inženirstva, fizikalne farmacije, farmacevtskotehnološke analitike in kozmetologije. Usmerjeni smo v razvoj, izdelavo in vrednotenje klasičnih farmacevtskih oblik in naprednih dostavnih sistemov za humana in veterinarska zdravila ter kozmetičnih izdelkov. Uspešno sooblikujemo sodobne tendre razvoja inovativnih dostavnih sistemov, kot so nanodostavni sistemi, bolnikom prijazne oblike, pristopi za povečanja topnosti, biofarmacevtiki, oblike s podaljšanim sproščanjem in teranostiki. Aktualne tendre razvoja predajamo študentom, z aplikativnimi projekti pa prenašamo izkušnje tudi v gospodarstvo. Ponosni smo na svoje diplomante in doktorje znanosti, ki se s sodobnim tehnološkim znanjem uspejo uveljaviti v zahtevnem delovnem okolju doma in v tujini.

Razvijamo specifične tehnologije (vrtinčnoslojno tehnologijo, visokostržno granuliranje, granuliranje s talinami, večplastno tabletiranje in oblaganje, sušenje/strjevanje z razprševanjem, visokotlačno in ultrazvočno homogenizacijo, liofilizacijo, mikroenkapsuliranje, elektrostatsko sukanje in razprševanje) za izdelavo zdravil z vgrajeno kakovostjo. Uporabljamo naj-sodobnejše tehnološko-analizne tehnike za karakterizacijo pomožnih snovi in končnih oblik, varnost in toksičnost nano-zdravil. Vključujemo numerične modele za napovedovanje procesov in formulacij s simulacijami.

Katedra je vključena v raziskovalni program Farmacevtska tehnologija, uspešno izvaja več interdisciplinarnih raziskovalnih projektov in je aktivna v mednarodnem prostoru (CEEPUS, PSSRC mreža, bilaterale).

Z RAZVOJEM SODOBNIH TEHNOLOGIJ IN NAPREDNIH DOSTAVNIH SISTEMOV DO UČINKOVITEJŠEGA ZDRAVLJENJA

DEVELOPMENT OF INNOVATIVE TECHNOLOGIES AND ADVANCED DRUG DELIVERY SYSTEMS FOR MORE EFFICIENT THERAPY

AVTORJI / AUTHORS:

Prof. dr. Julijana Kristl, mag. farm.
Doc. dr. Špela Zupančič, mag. farm.
Izr. prof. dr. Rok Dreu, mag. farm.
Prof. dr. Odon Planinšek, mag. farm.
Doc. dr. Alenka Zvonar Pobirk, mag. farm.
Doc. dr. Ilija German Ilić, mag. farm.
Izr. prof. dr. Pegi Ahlin Grabnar, mag. farm.
Doc. dr. Mirjam Gosenca Matjaž, mag. farm.
Izr. prof. dr. Petra Kocbek, mag. farm.
Prof. dr. Stane Srčič, mag. farm.
Prof. dr. Mirjana Gašperlin, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko tehnologijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: mirjana.gasperlin@ffa.uni-lj.si

POVZETEK

Razvoj optimalnega dostavnega sistema je pomemben dejavnik v celotnem procesu razvoja zdravila. Z naraščajočo kompleksnostjo novih zdravilnih učinkovin in postopkov zdravljenja postajajo tudi dostavni sistemi vse naprednejši, kar prispeva k večji učinkovitosti in podaljšanju življenjskega cikla zdravil. Na Katedri za farmacevtsko tehnologijo uspešno sledimo sodobnim trendom razvoja inovativnih dostavnih sistemov, z našo ekspertizo pa se učinkovito vključujemo tudi v reševanje perečih izzivov industrijsko že uveljavljenih tehnologij. V članku predstavljamo naše najpomembnejše raziskovalne dosežke predvsem v zadnjih desetih letih: razvoj bolnikom prijaznih dostavnih sistemov, uporaba sodobnih tehnologij za izdelavo zdravil z vgrajeno kakovostjo, pristopi za povečanje topnosti in biološke uporabnosti, razvoj stabilnih biofarmacevtikov ter nanodostavnih sistemov, vse z namenom učinkovitejšega zdravljenja.

KLJUČNE BESEDE:

bolnikom prijazni dostavni sistemi, zdravila z vgrajeno kakovostjo, lipidni sistemi, nanodzdravila, stabilni biofarmacevtiki, večenotne farmacevtske oblike

ABSTRACT

Development of an optimal drug delivery system is a key factor within development process of a medicine. In concordance with increasing complexity of active pharmaceutical ingredients and medical treatments, advanced drug delivery systems are implemented, contributing to the increased efficiency and prolonged life cycle of medicines. At the Department of Pharmaceutical Technology the contemporary trends in development of innovative delivery systems are successfully followed and expertise based solutions are provided for the challenges arising within industrially established technologies. The present paper represents our most valuable research achievements in the last ten years: development of patient-friendly drug delivery systems, implementation of modern technologies in manufacturing medicines by quality by design, technological approaches for improving solubility and bioavailability of active pharmaceutical ingredients,



development of stable biopharmaceutics and nanocarriers, all for the purpose of more effective therapy.

KEY WORDS:

lipid based systems, nanomedicine, multiple-unit dosage forms, stable biopharmaceuticals, patient friendly dosage forms, quality by design

1 UVOD

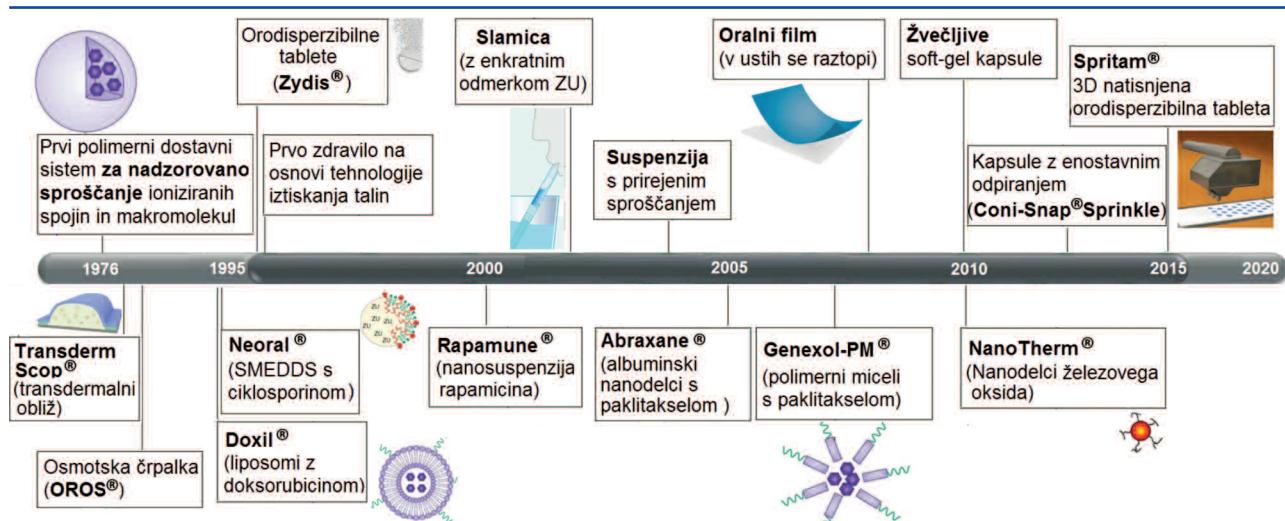
Sodobna farmakoterapija se usmerja v personalizirano zdravljenje, ki omogoča boljše zdravstvene izide in večjo varnost bolnika. Razvoj novih farmacevtskih oblik je prednostno usmerjen k bolnikom prijaznim oblikam, ki predstavljajo osnovno personalizirane farmakoterapije in ustreznega sodelovanja bolnikov, kar je pomembno predvsem pri zdravljenju kroničnih bolezni. Sodobna zdravila za starostnike vsebujejo kombinacijo več zdravilnih učinkovin. Pri otrocih je pomembno načrtovati nove farmacevtske oblike, ki bodo prilagojene posebej zanje, medtem ko je pri klasičnih farmacevtskih oblikah odločilnega pomena prijeten in sprejemljiv okus. Ne glede na starost pacienta pa večje sodelovanje bolnika in posledično boljše izide zdravljenja dosežemo s farmacevtskimi oblikami, ki jih enostavno zaužijemo, kot so zrnca, pelete, minitablete, orodisperzibilne tablete, oralni mukoad-

hezivni filmi idr. Sodobne bolnikom prijazne farmacevtske oblike olajšajo jemanje zdravil predvsem zaradi svoje majnosti, prisotnosti več učinkov in eni odmerni enoti, hitrega razpada v ustih in prebavnem traktu ali neinvazivne aplikacije. Izzive, povezane z razvojem bolnikom prijaznih dostavnih sistemov, rešujemo z uporabo inovativnih tehnologij, ki omogočajo dostavo zdravilnih učinkov na želena mesta v telesu z vnaprej določenimi kinetikami sproščanja. Inovativni dostavnici lahko predstavljajo končno farmacevtsko obliko ali pa so le njen sestavni del. Časovni prikaz prihoda na trg za nekatere sodobne, bolnikom prijazne oblike, je prikazan na sliki 1 (1).

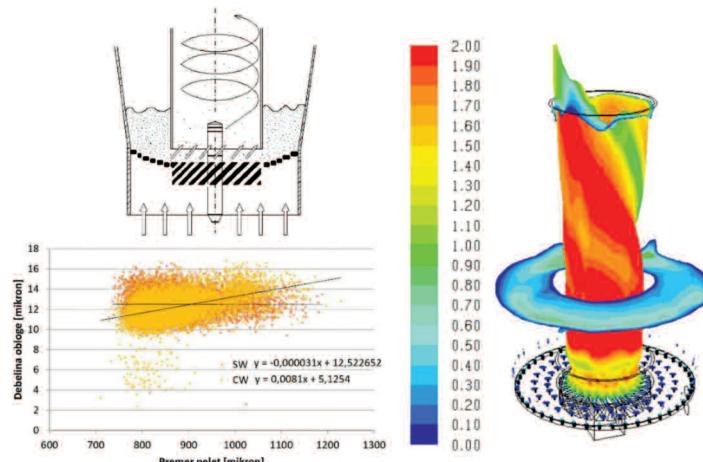
Na Katedri za farmacevtsko tehnologijo Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani (UL FFA) uspešno sledimo sodobnim trendom razvoja inovativnih dostavnih sistemov, z našo ekspertizo pa se učinkovito vključujemo tudi v reševanje perečih izzivov industrijsko že uporabljenih tehnologij. Nekaj naših najodmevnnejših raziskovalnih dosežkov predstavljamo v naslednjih poglavijih.

2 SODOBNE TEHNOLOGIJE PRI RAZVOJU IN IZDELAVI ZDRAVIL

Področje farmacevtske tehnologije pokriva številne že znane in dobro uveljavljene tehnologije izdelave zdravil kot tudi razvoj novih pristopov. Nekatere tehnologije, kot npr. filmsko oblaganje pelet (slika 2) ali tablet in izdelava mini ter več-



Slika 1: Časovna umestitev lansiranja nekaterih sodobnih in bolnikom prijaznih dostavnih sistemov.
Figure 1: Timeline of launching for some advanced and patient-friendly delivery systems.



Slika 2: Razvoj inovativnega »swirl« vrtinčnoslojnega oblagalnika pelet in mini tablet, podprt z eksperimentalnimi in simulacijskimi tehnikami, ki glede na primerljivo procesno opremo omogoča tvorbo enakomernejše oblage. Pri razvoju je UL FFA sodelovala s podjetjem Brinox, d.o.o., in Fakulteto za strojništvo Univerze v Ljubljani (13).

Figure 2: Development of innovative pellets and mini tablets fluid bed coater, supported by experimental and simulation techniques, which enables formation of a more uniform coating in comparison with comparable process equipment. Development was performed at the Faculty of Pharmacy in collaboration with Brinox d.o.o. company and the Faculty of Mechanical Engineering, University of Ljubljana (13).

plastnih tablet v kombinaciji s filmskim oblaganjem, še danes pridobivajo na pomenu. To je razvidno iz visoke rasti deleža filmsko obloženih tablet in večenotnih farmacevtskih oblik na trgu v zadnjih desetletjih. Po drugi strani se nekatere novejše tehnologije šele prebijajo iz raziskovalnih in razvojnih laboratoriјev v proizvodne obrate. Med temi lahko izpostavimo elektrostatsko razprševanje/sukanje (2–4), mikrofluidiko (načrtovanje delcev učinkovin in pomožnih snovi za razvoj dostavnih sistemov na področju nanotehnologije) ter 2D in 3D tiskanje (pristopa, ki omogočata prožno odmerjanje učinkovine z nizkimi stroški proizvodnje zdravila). Veljavo pridobivajo tudi tehnologije, ki vnašajo prednosti v samo proizvodnjo, kjer pričakujemo postopen prehod iz serijske v kontinuiran način proizvodnje zdravil. Tu je v ospredju predvsem tehnologija dvovijačnih naprav za iztiskanje/granuliranje, namenjena vlažnemu granuliraju in iztiskanju talin (5). S takšnimi tehnološkimi rešitvami je mogoče kontinuirano procesirati praške v tablete, in sicer v več sklopljenih zaporednih korakih, ki vključujejo mešanje, izdelavo zrnc in stiskanje tablet. Kontinuirana proizvodnja predstavlja za industrijo številne prednosti, predvsem bistveno višjo stroškovno učinkovitost, kar še posebej velja za originatorska zdravila v velikih serijah. Hkrati lahko s takšnim pristopom lažje in bolje obvladujemo proces in variabilnost vstopnih surovin. S kontinuiranim načinom proizvodnje v največji meri izkoristimo vse prednosti procesno analizne tehnologije (PAT, *process analytical technology*), kar omogoča uporaba najsodobnejših medprocesnih analiznih tehnik, kot so optična koherenčna

tomografija, bližnja infrardeča (NIR) in ramanska spektroskopija (6) ter dinamična slikovna analiza (7, 8). Uporaba PAT, sklopljena s serijskimi ali kontinuiranimi proizvodnimi procesi, sovпадa tudi s paradigmo izdelave zdravil z vgrajeno kakovostjo (QbD, *quality by design*), ki zagotavlja sistematičen razvoj in kasnejo industrijsko izdelavo učinkovitega in kakovostnega zdravila. Z uporabo in podporo statističnih pristopov in načrtovanja eksperimentov (DoE, *design of experiments*) pridobimo boljši vpogled v razumevanje mehanizmov tako s stališča farmacevtske oblike, npr. pelet (9), kot samega tehnološkega procesa (10). S pristopom DoE lahko izredno učinkovito in poglobljeno identificiramo kritične lastnosti surovin ali procesa in njihov vpliv na želene kakovostne parametre končnega izdelka. Na ta način lahko načrtujemo izdelke s ciljnimi fizikalno-kemijskimi lastnostmi, kar podpira njihovo tehnološko konkurenčnost (11, 12). Pristop je uporaben že v razvojni fazi izdelka, kasneje pa zagotavlja dobro obvladovanje prenosa izdelka na proizvodno raven ter spremljanje procesa skozi celoten cikel v proizvodnji.

3 PACIENTOM PRIJAZNE FARMACETVSKE OBLIKE

Na Katedri razvijamo tudi farmacevtske oblike, ki sledijo sodobnim trendom zdravljenja, predvsem mini ta-

blete (14) in pelete za vgradnjo v kapsule ali tablete (15). Te oblike zahtevajo tudi uporabo funkcionalnih pomožnih snovi, kot je npr. v našem laboratoriju razvita sferično kristalizirana laktosa (16), in dobro poznavanje procesov granuliranja, tabletiranja (17) ter razvoja pelet (18). Prof. dr. Saša Baumgartner je dosegla mednarodno odmevne rezultate na področju plavajočih tablet (19) in hidrofilnih ogrodnih tablet s prirejenim sproščanjem, za katere je prva izračunala in slikovno predstavila mehanizem in hitrost penetracije medija v tabletto z jedrsko magnetno resonanco (20, 21). Kontinuirane raziskave in razvoj na področju večenotnih farmacevtskih oblik je uvedel prof. dr. Stanko Srčič (22, 23), ki velja za utemeljitelja t. i. ljubljanske šole izdelave pelet.

Nove farmacevtske oblike, ki se še uveljavljajo, so mu-koadhezivni filmi, s katerimi se v veliki meri izognemo metabolizmu prvega prehoda in omogočajo hiter začetek delovanja zdravila, ali pa slamice za otroke in bolnike z disfagijo, ki omogočajo enostavno zaužitje zdravila s tekočino, zagotavljajo točno odmerjanje in za bolnika sprejemljiv okus ter imajo boljšo stabilnost v primerjavi s tekočimi pripravki (25).

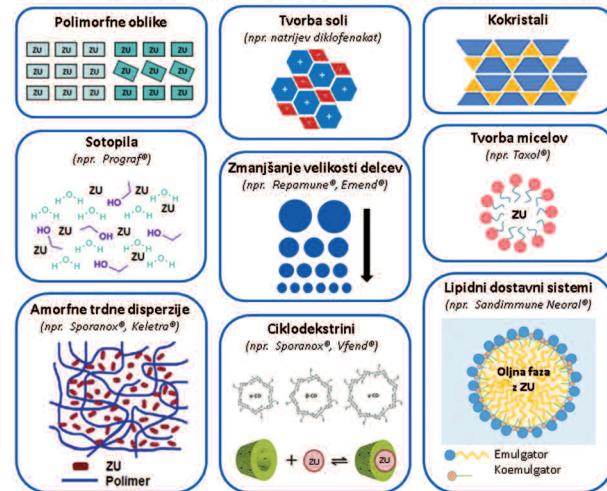
(Trans)dermalne oblike omogočajo bolnikom prijazno, neinvazivno aplikacijo. Na Katedri proučujemo različne nanodostavne sisteme, kot so liposomi in etosomi (elastični liposomi z velikim deležem etanola) (26), ter kolloidne strukture površinsko aktivnih snovi, zlasti mikroemulzije in lamelarne tekoče kristale. Edinstvene lastnosti teh sistemov so odraz njihove specifične mikrostrukturi, zato je pomemben segment raziskovanja usmerjen v inovativne metodološke pristope za zaznavo mikro sprememb (27) z namenom razumevanja porazdeljevanja in posledično sproščanja vgrajene učinkovine (28, 29). Ugotovili smo, da lahko z elastičnimi veziklami dostavimo hidrofilno molekulo transdermalno v sistemski krvni obtok, medtem ko z rigidnejšimi liposomi povečamo le dermalni vnos v primerjavi s samo raztopino iste učinkovine (26). Razvili smo model za proučevanje strukture koncentriranih mikroemulzij (30) ter z uporabo različnih kožnih modelov potrdili, da je citotoksični potencial odvisen tudi od (mikro)strukturi dostavnega sistema (31). Prebojni dosežek pri razumevanju vpliva mikrostrukturi dostavnih sistemov na dermalno uporabnost pa predstavlja določitev mehanskih in elastičnih interakcij na celičnem nivoju z mikroskopom na atomsko silo in nanoindentacijo (32). Uporabljeni pristopi so uporabni tudi na področju razvoja sodobnih kozmetičnih izdelkov z dodano vrednostjo (33).

4 Z IZBOLJŠEVANJEM TOPNOSTI DO VEČJE BIOLOŠKE UPORABNOSTI

Večina novih zdravilnih učinkovin je v vodi težko topnih, zato so pristopi za povečanje topnosti in s tem izboljšanje biološke uporabnosti v današnjem času še posebej aktualni (slika 3). Na Katedri se lotevamo povečevanja topnosti z različnimi pristopi. Eden od načinov je zmanjšanje velikosti delcev učinkovine do nanorazsežnosti. Kot zelo obetavne so se tako izkazale nanosuspensione, ki jih lahko posušimo in uporabimo v klasičnih trdnih farmacevtskih oblikah (34, 35). Njihov potencial so prepoznali tudi v industriji, kar dokazujejo zdravila na njihovi osnovi, ki so danes že na trgu (36). V zadnjem času pa je za povečevanje topnosti aktualna tudi izdelava nanovlaken, ki zaradi hitrega sušenja polimerne raztopine omogoča nastanek amorfnih trdnih disperzij (37).

Zelo velika pozornost je namenjena lipidnim dostavnim sistemom, ki omogočajo poleg izboljšanja topnosti tudi povečanje permeabilnosti in zmanjšanje predsistemskega metabolizma učinkovin (npr. z absorpcijo v limfni obtok), kar se lahko odraža z zmanjšanjem neželenih učinkov in/ali odmerka (38). Med lipidnimi sistemi so najbolj poznani samo(mikro)emulgirajoči sistemi (S(M)ES), ki so postali komercialno zanimivi po uspehu zdravila Sandimmune Neoral^{TM®} (ciklosporin A). S premišljenim izborom sestavin ter

PRISTOPI ZA IZBOLJŠANJE VODOTOPNOSTI ZDRAVILNIH UČINKOVIN



Slika 3: Pristopi za povečanje topnosti v vodi slabo topnih učinkovin.

Figure 3: Approaches for solubility enhancement of poorly water soluble drugs.

njihovega razmerja, določenega na osnovi psevdoternarnih faznih diagramov, smo izkoristili prednosti S(M)ES za izboljšanje biofarmacevtskih lastnosti resveratrola ter proučili njegovo obnašanje med procesoma redčenja in prebave *in vivo* (39, 40). Trenutno smo usmerjeni v postopke solidifikacije, ki omogočajo izdelavo formulacij, ki združujejo tako prednosti lipidih sistemov kot trdnih farmacevtskih oblik in so primerne tudi za proizvodnjo v industrijskem merilu (41). Tako smo razvili trdne S(M)ES s furosemidom s postopkom mikrokapsuliranja (42) in suhe emulzije s simvastatinom (9). Uspešno smo preskusili tudi ostale primerne tehnologije, kot so adsorpcija na trdne nosilce, sušenje z razprševanjem, visokostržno granuliranje s talinami in granuliranje/oblaganje v zvrtičenih plasteh, s pomočjo katerih lahko izdelamo tako samomikroemulgirajoče praške kot tudi zrnca in pelete (15, 43). Ob ustreznih izbiri pomožnih snovi lahko slednje stisnemo v tablete in pacientom prijaznejše minitablete, pri čemer se prednosti S(M)ES v veliki meri ohranijo (44).

5 RAZVOJ STABILNIH BIOFARMACEVTIKOV

Biološka in biološko podobna zdravila predstavljajo eno izmed najhitreje razvijajočih se področij farmacevtske industrije. V preteklih letih so naredila velik preboj in spremenila nekatere dosedanje smernice zdravljenja številnih bolezni. Z raziskovalnega vidika predstavljajo številne izvive, predvsem zaradi kompleksne strukture in nestabilnosti proteinih molekul, RNA in DNA. Skladno z usmeritvami domače farmacevtske industrije in v tesnem sodelovanju z njimi razvijamo varne, kakovostne in učinkovite formulacije z biološkimi učinkovinami. Raziskujemo stabilnost formulacij monoklonskih protiteles ter se ukvarjam z optimizacijo procesa liofilizacije, pri čemer smo z optimizacijo sestave in procesnih parametrov skrajšali liofilizacijo za kar 50 % in ob tem ohranili kritične lastnosti kakovosti izdelka (45, 46). Razvijamo tudi inovativne dostavne sisteme za biološke molekule z namenom doseganja podaljšanega sproščanja. Razvili smo sistem za subkutano aplikacijo, ki temelji na kombinaciji temperaturno odzivnih hidrogelov iz poloksameroval (blok kopolimerov) in pH-odzivnih nanokompleksov heparina in hitosana. Dokazali smo, da takšen dostavni sistem lahko zmanjša pogostnost dajanja zdravila, kar je tako z vidika sodelovanja bolnikov pri zdravljenju kot z vidika znižanja stroškov zdravljenja izrednega pomena pri

dolgotrajnem zdravljenju tromboemboličnih bolezni (47–50). Proučujemo tudi sisteme, ki so zanimivi za zdravljenje kroničnih ran. Z metodo elektrostatskega sukanja smo izdelali nanovlakna in vanje vgradili rastne dejavnike, ne da bi zmanjšali njihovo biološko aktivnost (51).

6 CILJANO ZDRAVLJENJE Z NANODOSTAVNIMI SISTEMI

Nanodostavnici zaradi svoje velikosti izkazujejo specifične fizikalno-kemijske in biološke lastnosti (52), kar omogoča reševanje izzivov dostave učinkovin, ki jih s klasičnimi dostavnimi sistemmi ne moremo izpolniti. Potencial nanodostavnih sistemov proučujemo že od leta 1996, ko je prof. dr. Julijana Kristl pripravila prve polimerne nanodelce (53). Od takrat naprej razvijamo vrsto različnih nanodostavnih sistemov, in sicer polimerne nanodelce (54–57), trdne lipidne nanodelce (52, 58), liposome (26, 59, 60), nanosuspenzije (34, 35), nanokomplekse (50, 61), nanoteranostike (62) in druge (26, 63). Dokazali smo, da nanodelci omogočajo (i) vgrajevanje različnih nizkomolekularnih učinkovin (58, 62), proteinov (54) in genskega materiala, (ii) zaščito zdravilnih učinkovin (55, 64), (iii) ciljano dostavo zdravilnih učinkovin v celice (slika 4) (55, 58, 64) in (iv) njihovo lokalizacijo v specifične organe (63). Ugotovili smo, da je bil prehod proteina v celice povečan, ko je bil vgrajen v nanodelce, v primerjavi s samo raztopino istega proteina (54). S fluorescenčno mikroskopijo v realnem času smo dokumentirali vstopanje nanodelcev v celice in njihovo prehajanje med celicami po nanotubularnih medceličnih povezavah (65). Za ciljano zdravljenje raka izkoriščamo različne nanotehnološke pristope, ki omogočajo ciljanje rakovih celic. Pasivno ciljanje je osnovano na podlagi majhne velikosti nanodostavnih sistemov, povečane permeabilnosti tumorskega žilja in zadrževanja nanodelcev v tumorskem tkivu (učinek EPR, *enhanced permeability and retention*) (66). Aktivno ciljanje pa temelji na vezavi ligandov, kot so npr. specifična protitelesa (t. i. imunonanodelci), na nanodelce (55). Alternativno lahko uporabimo tudi magnetno ciljanje po i. v. aplikaciji magnetno odzivnega nanodostavnega sistema (62). Ciljana dostava zdravilnih učinkovin z nanodostavnimi sistemi tako izzove terapevtski učinek na tarčnem mestu in prepreči pojav neželenih učinkov na netarčnih (zdravih) tkivih (celicah). Za doseganje ugodnih terapevtskih izidov je pomembno tudi proučevanje in zagotavljanje varnosti izdelkov z nanodelci (67). Inovativnost in

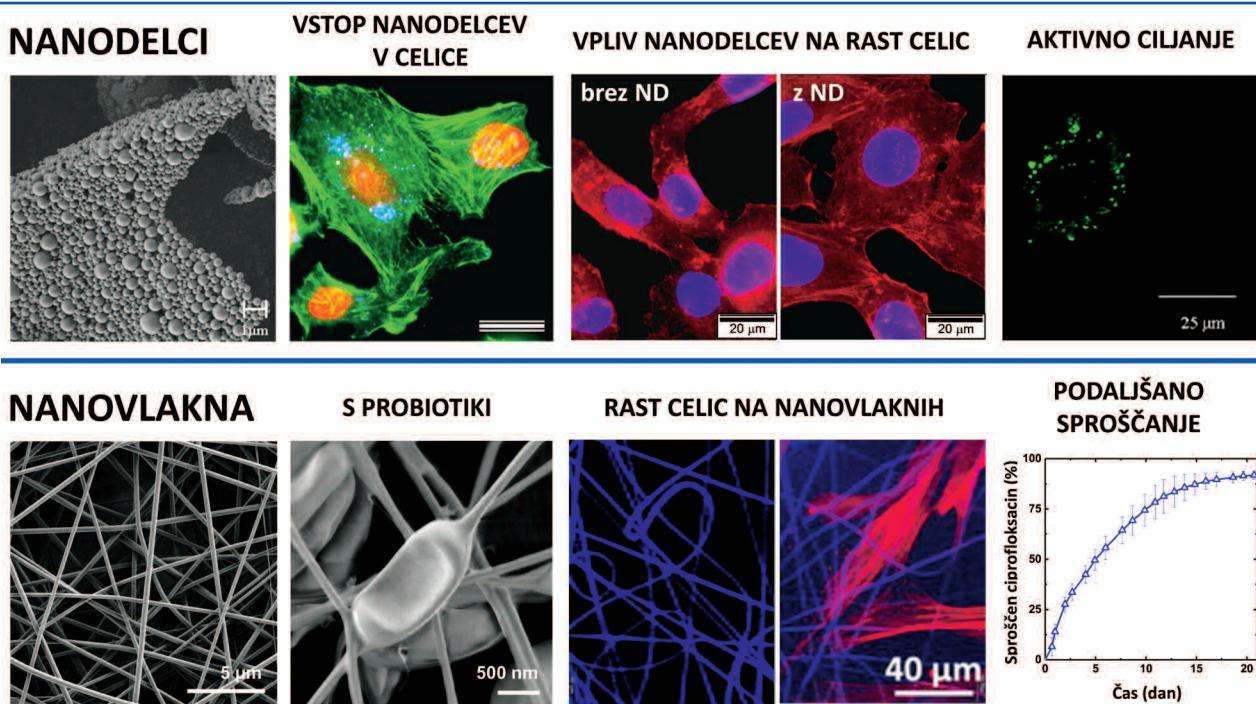


kakovost raziskovalnega dela potrjuje velika odmevnost, saj je kar osem naših objav (34, 35, 55, 58, 59, 67–69) doseglo preko sto citatov v bazi Web of Science, med njimi pa še posebej izstopa članek (55) z 270 citati.

7 OD DOSTAVE ZDRAVILNIH UČINKOVIN DO REGENERACIJE TKIV Z NANOVLAKNI

Nanovlakna so vlakna s premerom v nanometrskem območju in zaradi svoje unikatne morfologije predstavljajo izredno obetaven material za tkivno inženirstvo in dostavo učinkovin (2). Od leta 2011 na Katedri razvijamo platformo za izdelavo nanovlaken iz različnih biokompatibilnih polimerov z vgrajenimi učinkovinami, proteini in tudi s celicami. Izpostavili bi, da smo prvi ugotovili in objavili vpliv relativne vlažnosti (4) in interfacialnih reoloških lastnosti polimernih raztopin (3) na nastanek nanovlaken s procesom elektrostatskega sukanja. Z optimizacijo procesa izdelave lahko vplivamo na morfologijo izdelanih nanovlaken in tako pravimo material podoben zunajceličnemu ogrodju (70), tako po morfoloških lastnostih kot po mehanski trdnosti

(70, 71). Dokazali smo, da lahko že sama topografija nanovlaken izboljša pritrjanje, deljenje, metabolno aktivnost in mobilnost različnih vrst celic (slika 4) (70, 71). Z vgradnjijo rastnih dejavnikov iz krvi v nanovlakna pa smo dokazali, da lahko deljenje celic še dodatno spodbudimo (51), kar potencialno omogoča učinkovito regeneracijo tkiv in nakazuje njihovo uporabnost v tkivnem inženirstvu in sodobnih oblogah za celjenje (kroničnih) ran. Poleg proteinskih smo v nanovlakna uspešno vgradili tudi klasične nizkomolekulare zdravilne učinkovine (37, 72–74) in tako dosegli njihovo podaljšano, nekajdnevno sproščanje (slika 4), ki je ključnega pomena za uspešno lokalno zdravljenje številnih bolezni, kot so npr. kronične rane in parodontalna bolezen (72, 73). Poseben tehnološki izziv predstavlja tudi vgrajevanje živih mikroorganizmov, kot so probiotiki. Dokazali smo, da je elektrostatsko sukanje primerna metoda za izdelavo nanovlaken z vgrajenimi živimi mikroorganizmi, saj je bilo preživetje desetih različnih sevov laktobakterij (75) in seva iz rodu *Bacillus*, izoliranega iz ustne mikrobiote zdravih prostovoljcev (76), odlično. Nanovlakna s probiotiki predstavljajo inovativen pristop za lokalno zdravljenje bolezni s porušenim ravnotežjem mikrobiote. Do leta 2020 so bile naše objave o izdelavi, vrednotenju in učinkih nanovlaken citirane preko 800-krat.



Slika 4: Nanodelci in nanovlakna kot dostavni sistemi.

Figure 4: Nanoparticles and nanofibers as drug delivery systems.

8 NAMESTO SKLEPA – POGLED V PRIHODNOST

Razvoj ustreznega dostavnega sistema je pomemben dejavnik v celotnem procesu razvoja zdravila. Z naraščajočo kompleksnostjo novih zdravilnih učinkovin in postopkov zdravljenja postajajo tudi ti sistemi vse zahtevnejši, zago-tavljo večjo učinkovitost in podaljšujejo življenjski cikel zdravil. V prvo generacijo sodobnih dostavnih sistemov, ki je bila razvita v letih 1950–1980 sodijo peroralne farmacevtske oblike s podaljšanim sproščanjem, aerosoli in suhi praški za inhaliranje ter transdermalni obliži. Z drugo ge-neracijo v letih 1980–2010 se je fokus raziskav preusmeril na nanosilce (liposomi, nanodelci) in pametne dostavne sisteme za gene. Raziskovalci pa smo seveda že zazrti v prihodnost. Področja, ki so aktualna, že danes vključujejo uporabo metod umetne inteligence, »big data in multiple scale« modeliranje za načrtovanje dostavnih sistemov *in silico*, pametne materiale, ki delujejo biomimetično, celične terapije, kombinacije učinkovin in (mikro)pripomočkov za aplikacijo, tehnologije 3D in 4D tiskanja z računalniško pro-gramiranim odlaganjem materiala v zaporedne plasti za fleksibilne dostavne sisteme in druge. Raziskovalci Katedre za farmacevtsko tehnologijo UL FFA bomo sledili mednarodnim trendom in jih po svojih močeh tudi soustvarjali.

9 ZAHVALA

Avtorji se zahvaljujemo vsem sedanjim in nekdanjim redno in dopolnilno zaposlenim članom Katedre za farmacevtsko tehnologijo UL FFA za njihov doprinos k razvoju in promociji slovenske farmacevtske tehnologije doma in v svetu.

10 LITERATURA

1. Zhong H, Chan G, Hu Y, Hu H, Id- Orcid X, Ouyang D. A comprehensive map of FDA-approved pharmaceutical products. *Pharmaceutics*. 2018;10(4).
2. Pelipenko J, Kocbek P, Kristl J. Critical attributes of nanofibers: preparation, drug loading, and tissue regeneration. *Int J Pharm*. 2015;484(1-2):57-74.
3. Rošić R, Pelipenko J, Kocbek P, Baumgartner S, Bešter-Rogač M, Kristl J. The role of rheology of polymer solutions in predicting nanofiber formation by electrospinning. *Eur Polym J*. 2012;48(8):1374-84.
4. Pelipenko J, Kristl J, Janković B, Baumgartner S, Kocbek P. The impact of relative humidity during electrospinning on the morphology and mechanical properties of nanofibers. *Int J Pharm*. 2013;456(1):125-34.
5. Aleksovski A, Van Bockstal PJ, Roškar R, Sovany T, Regdon G, Jr., De Beer T, et al. Comparison of metoprolol tartrate multiple-unit lipid matrix systems produced by different technologies. *Eur J Pharm Sci*. 2016;88:233-45.
6. Korasa K, Vrečer F. A study on the applicability of multiple process analysers in the production of coated pellets. *Int J Pharm*. 2019;560:261-72.
7. Oman Kadunc N, Šibanc R, Dreu R, Likar B, Tomaževič D. In-line monitoring of pellet coating thickness growth by means of visual imaging. *Int J Pharm*. 2014;470(1-2):8-14.
8. Podrekar G, Kitak D, Mehle A, Lavrič Z, Likar B, Tomaževič D, et al. In-line film coating thickness estimation of minitablets in a fluid-bed coating equipment. *AAPS PharmSciTech*. 2018;19(8):3440-53.
9. Pohlen M, Pirker L, Luštrik M, Dreu R. A redispersible dry emulsion system with simvastatin prepared via fluid bed layering as a means of dissolution enhancement of a lipophilic drug. *Int J Pharm*. 2018;549(1-2):325-34.
10. Kukec S, Vrečer F, Dreu R. A study of *in situ* fluid bed melt granulation using response surface methodology. *Acta Pharm*. 2012;62(4):497-513.
11. Čerpnjak K, Pobirk AZ, Vrečer F, Gašperlin M. Tablets and minitablets prepared from spray-dried SMEDDS containing naproxen. *Int J Pharm*. 2015;495(1):336-46.
12. Grmaš J, Stare K, Božič D, Injac R, Dreu R. Elucidation of formulation and delivery device-related effects on *in vitro* performance of nasal spray with implication to rational product specification identification. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv*. 2017;30(4):230-46.
13. Savič S, Gregorka M, Dreu R, Srčič S, Šibanc R, Luštrik M, et al., inventors; A process device for coating particles: patent : EP2382036 (B1), 27.04.2016. München: European Patent Office.
14. Aleksovski A, Luštrik M, Šibanc R, Dreu R. Design and evaluation of a specific, bi-phase extended release system based on differently coated mini-tablets. *Eur J Pharm Sci*. 2015;75:114-22.
15. Mandić J, Luštrik M, Vrečer F, Gašperlin M, Zvonar Pobirk A. Solidification of carvedilol loaded SMEDDS by swirling fluidized bed pellet coating. *Int J Pharm*. 2019;566:89-100.
16. Lamešić D, Planinšek O, Lavrič Z, Ilić I. Spherical agglomerates of lactose with enhanced mechanical properties. *Int J Pharm*. 2017;516(1-2):247-57.
17. Ilić I, Govedarica B, Šibanc R, Dreu R, Srčič S. Deformation properties of pharmaceutical excipients determined using an in-die and out-die method. *Int J Pharm*. 2013;446(1-2):6-15.
18. Šibanc R, Luštrik M, Dreu R. Analysis of pellet coating uniformity using a computer scanner. *Int J Pharm*. 2017;533(2):377-82.
19. Baumgartner S, Kristl J, Vrečer F, Vodopivec P, Zorko B. Optimisation of floating matrix tablets and evaluation of their gastric residence time. *Int J Pharm*. 2000;195(1-2):125-35.
20. Mikac U, Sepe A, Kristl J, Baumgartner S. A new approach combining different MRI methods to provide detailed view on swelling dynamics of xanthan tablets influencing drug release at different pH and ionic strength. *J Control Release*. 2010;145(3):247-56.



21. Mikac U, Sepe A, Baumgartner S, Kristl J. The influence of high drug loading in xanthan tablets and media with different physiological pH and ionic strength on swelling and release. *Mol Pharm.* 2016;13(3):1147-57.
22. Širca J, Srčič S, Kofler B. Influence of disintegrants on the drug release from ketoprofen pellets. *Eur J Pharm Biopharm.* 1996;42.
23. Pišek R, Planinšek O, Tuš M, Srčič S. Influence of rotational speed and surface of rotating disc on pellets produced by direct rotor pelletization. *Pharm Ind.* 2000;62(4):312-9.
24. Grilc B, Zdovc J, Planinšek O. Advanced flow cell design for in vitro release testing of mucoadhesive buccal films. *Acta Pharm.* 2020;70.
25. Planinšek O, Simšič T, Nolimal B, Minova J. Development of high dose and bitter taste active pharmaceutical ingredient granules filled into paediatric dosing device in form of a straw. *Pharmaceutics.* 2020;v recenziji.
26. Zorec B, Zupančič Š, Kristl J, Pavšelj N. Combinations of nanovesicles and physical methods for enhanced transdermal delivery of a model hydrophilic drug. *Eur J Pharm Biopharm.* 2018;127:387-97.
27. Gosenca Matjaž M, Mravljak J, Bešter Rogač M, Šentjurc M, Gašperlin M, Zvonar Pobirk A. Microstructure evaluation of dermally applicable liquid crystals as a function of water content and temperature: Can electron paramagnetic resonance provide complementary data? *Int J Pharm.* 2017;533(2):431-44.
28. Gosenca Matjaž M, Bešter Rogač M, Gašperlin M. Lecithin based lamellar liquid crystals as a physiologically acceptable dermal delivery system for ascorbyl palmitate. *Eur J Pharm Sci.* 2013;50(1):114-22.
29. Gosenca Matjaž M, Gašperlin M. Dermal delivery of ascorbyl palmitate: the potential of colloidal delivery systems. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2011;21(6):535-7.
30. Gašperlin M, Bešter Rogač M. Physicochemical characterization of pharmaceutically applicable microemulsions: Twenn 40/Imwitor 308/isopropylmirstat/water. *Microemulsions: Properties and Applications*, Fanun (Ed): Francis Taylor group; 2008.
31. Rozman B, Gosenca Matjaž M, Falson F, Gašperlin M. The influence of microemulsion structure on their skin irritation and phototoxicity potential. *Int J Pharm.* 2016;499(1-2):228-35.
32. Gosenca Matjaž M, Škarabot M, Gašperlin M, Janković B. Lamellar liquid crystals maintain keratinocytes' membrane fluidity: An AFM qualitative and quantitative study. *Int J Pharm.* 2019;572:118712.
33. Gašperlin M, Gosenca Matjaž M. Main approaches for delivering antioxidant vitamins through the skin to prevent skin ageing. *Expert Opin Drug Deliv.* 2011 Jul;8(7):905-19.
34. Dolenc A, Kristl J, Baumgartner S, Planinšek O. Advantages of celecoxib nanosuspension formulation and transformation into tablets. *Int J Pharm.* 2009;376(1-2):204-12.
35. Kocbek P, Baumgartner S, Kristl J. Preparation and evaluation of nanosuspensions for enhancing the dissolution of poorly soluble drugs. *Int J Pharm.* 2006;312(1-2):179-86.
36. Kocbek P. Nanosuspenzije - aktualni nanotehnološki pristop za izdelavo farmacevtskih oblik s težko topnimi učinkovinami? *Farmacevtski vestnik.* 2016;67(4):296-302.
37. Kajdič S, Zupančič Š, Roskar R, Kocbek P. The potential of nanofibers to increase solubility and dissolution rate of the poorly soluble and chemically unstable drug lovastatin. *Int J Pharm.* 2019;118809.
38. Feeney OM, Crum MF, McEvoy CL, Trevaskis NL, Williams HD, Pouton CW, et al. 50years of oral lipid-based formulations: Provenance, progress and future perspectives. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016;101:167-94.
39. Bolko Seljak K, Zvonar A, Gašperlin M. Mixed lipid phase SMEDDS as an innovative approach to enhance resveratrol solubility. *Drug Dev Ind Pharm.* 2014;40(1):102-9.
40. Bolko Seljak K, Berginc K, Trontelj J, Zvonar Pobirk A, Kristl A, Gašperlin M. A self-microemulsifying drug delivery system to overcome intestinal resveratrol toxicity and presystemic metabolism. *J Pharm Sci.* 2014;103(11):3491-500.
41. Mandić J, Zvonar Pobirk A, Vrečer F, Gašperlin M. Overview of solidification techniques for self-emulsifying drug delivery systems from industrial perspective. *Int J Pharm.* 2017;533(2):335-45.
42. Zvonar Pobirk A, Berginc K, Kristl A, Gašperlin M. Microencapsulation of self-microemulsifying system: improving solubility and permeability of furosemide. *Int J Pharm.* 2010;388(1-2):151-8.
43. Čerpnjak K, Zvonar Pobirk A, Vrečer F, Gašperlin M. Characterization of naproxen-loaded solid SMEDDSs prepared by spray drying: the effect of the polysaccharide carrier and naproxen concentration. *Int J Pharm.* 2015;485(1-2):215-28.
44. Bolko Seljak K, Ilić IG, Gašperlin M, Zvonar Pobirk A. Self-microemulsifying tablets prepared by direct compression for improved resveratrol delivery. *Int J Pharm.* 2018;548(1):263-75.
45. Bjelošević M, Seljak Bolko K, Trstenjak U, Logar M, Brus B, Ahlin Grabnar P. Aggressive conditions during primary drying as a contemporary approach to optimise freeze-drying cycles of biopharmaceuticals. *Eur J Pharm Sci.* 2018;122:292-302.
46. Anko M, Bjelošević M, Planinšek O, Trstenjak U, Logar M, Ahlin Grabnar P, et al. The formation and effect of mannitol hemihydrate on the stability of monoclonal antibody in the lyophilized state. *Int J Pharm.* 2019;564:106-16.
47. Radivojsa Matanović M, Ahlin Grabnar P, Voinovich D, Golob S, Mijovski MB, Grabnar I. Development and preclinical pharmacokinetics of a novel subcutaneous thermoresponsive system for prolonged delivery of heparin. *Int J Pharm.* 2015 Dec 30;496(2):583-92.
48. Radivojsa Matanović M, Grabnar I, Gosenca M, Ahlin Grabnar P. Prolonged subcutaneous delivery of low molecular weight heparin based on thermoresponsive hydrogels with chitosan nanocomplexes: Design, in vitro evaluation, and cytotoxicity studies. *Int J Pharm.* 2015;488(1-2):127-35.
49. Radivojsa Matanović M, Kristl J, Ahlin Grabnar P. Thermoresponsive polymers: insights into decisive hydrogel characteristics, mechanisms of gelation, and promising biomedical applications. *Int J Pharm.* 2014 Sep 10;472(1-2):262-75.
50. Radivojsa Matanović M, Grabnar I, Ahlin Grabnar P. Thermoreversible in situ gelling poloxamer-based systems with chitosan nanocomplexes for prolonged subcutaneous delivery of heparin: design and in vitro evaluation. *Eur J Pharm Sci.* 2013;50(1):93-101.
51. Bertoncelj V, Pelipenko J, Kristl J, Jeras M, Cukjati M, Kocbek P. Development and bioevaluation of nanofibers with blood-derived growth factors for dermal wound healing. *Eur J Pharm Biopharm.* 2014;88(1):64-74.
52. Kristl J, Teskač K, Ahlin Grabnar P. Current view on nanosized solid lipid carriers for drug delivery to the skin. *J Biomed Nanotechnol.* 2010;6(5):529-42.
53. Kristl J, Allermann E, Gurny R. Formulation and evaluation of zinc-phthalocyanine loaded poly(D,L-lactic acid) nanoparticles. *Acta Pharm.* 1996;46(1):1-12.
54. Cegnar M, Kos J, Kristl J. Intracellular delivery of cysteine protease inhibitor cystatin by polymeric nanoparticles. *J Nanosci Nanotechnol.* 2006;6(9-10):3087-94.



55. Kocbek P, Obermajer N, Cegnar M, Kos J, Kristl J. Targeting cancer cells using PLGA nanoparticles surface modified with monoclonal antibody. *J Control Release.* 2007;120(1-2):18-26.
56. Ahlin Grabnar P, Kristl J. The manufacturing techniques of drug-loaded polymeric nanoparticles from preformed polymers. *J Microencapsul.* 2011;28(4):323-35.
57. Cegnar M, Kristl J, Kos J. Nanoscale polymer carriers to deliver chemotherapeutic agents to tumours. *Expert Opin Biol Ther.* 2005;5(12):1557-69.
58. Teskač K, Kristl J. The evidence for solid lipid nanoparticles mediated cell uptake of resveratrol. *Int J Pharm.* 2010;390(1):61-9.
59. Šentjurc M, Vrhovnik K, Kristl J. Liposomes as a topical delivery system: the role of size on transport studied by the EPR imaging method. *J Control Release.* 1999;59(1):87-97.
60. Kristl J, Teskač K, Caddeo C, Abramović Z, Šentjurc M. Improvements of cellular stress response on resveratrol in liposomes. *Eur J Pharm Biopharm.* 2009;73(2):253-9.
61. Mirtič J, Ilaš J, Kristl J. Influence of different classes of crosslinkers on alginate polyelectrolyte nanoparticle formation, thermodynamics and characteristics. *Carbohydr Polym.* 2018;181:93-102.
62. Kocbek P, Kralj S, Kreft ME, Kristl J. Targeting intracellular compartments by magnetic polymeric nanoparticles. *Eur J Pharm Sci.* 2013;50(1):130-8.
63. Zupančič Š, Kocbek P, Zariwala MG, Renshaw D, Gul MO, Elsaïd Z, et al. Design and development of novel mitochondrial targeted nanocarriers, DQAsomes for curcumin inhalation. *Mol Pharm.* 2014;11(7):2334-45.
64. Cegnar M, Kos J, Kristl J. Cystatin incorporated in poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles: development and fundamental studies on preservation of its activity. *Eur J Pharm Sci.* 2004;22(5):357-64.
65. Kristl J, Teskač Plajnšek K, Kreft ME, Janković B, Kocbek P. Intracellular trafficking of solid lipid nanoparticles and their distribution between cells through tunneling nanotubes. *Eur J Pharm Sci.* 2013;50(1):139-48.
66. Kocbek P. Novosti na području farmacevtske nanotehnologije. *Farmaceutski vestnik.* 2012;63:75-81.
67. Kocbek P, Teskač K, Kreft ME, Kristl J. Toxicological aspects of long-term treatment of keratinocytes with ZnO and TiO₂ nanoparticles. *Small.* 2010;6(17):1908-17.
68. Caddeo C, Teskač K, Sinico C, Kristl J. Effect of resveratrol incorporated in liposomes on proliferation and UV-B protection of cells. *Int J Pharm.* 2008;363(1-2):183-91.
69. Ahlin Grabnar P, Kristl J, Kristl A, Vrečer F. Investigation of polymeric nanoparticles as carriers of enalaprilat for oral administration. *Int J Pharm.* 2002;239(1-2):113-20.
70. Janković B, Pelipenko J, Škarabot M, Mušević I, Kristl J. The design trend in tissue-engineering scaffolds based on nanomechanical properties of individual electrospun nanofibers. *Int J Pharm.* 2013;455(1-2):338-47.
71. Pelipenko J, Kocbek P, Janković B, Rošic R, Baumgartner S, Kristl J. The topography of electrospun nanofibers and its impact on the growth and mobility of keratinocytes. *Eur J Pharm Biopharm.* 2013;84(2):401-11.
72. Zupančič Š, Casula L, Rijavec T, Lapanje A, Luštrik M, Fadda AM, et al. Sustained release of antimicrobials from double-layer nanofiber mats for local treatment of periodontal disease, evaluated using a new micro flow-through apparatus. *J Control Release.* 2019;316:223-35.
73. Zupančič Š, Sinha-Ray S, Sinha-Ray S, Kristl J, Yarin AL. Controlled release of ciprofloxacin from core-shell nanofibers with monolithic or blended core. *Mol Pharm.* 2016;13(4):1393-404.
74. Potrč T, Baumgartner S, Roškar R, Planinšek O, Lavrič Z, Kristl J, et al. Electrospun polycaprolactone nanofibers as a potential oromucosal delivery system for poorly water-soluble drugs. *Eur J Pharm Sci.* 2015;75:101-13.
75. Zupančič Š, Škrlec K, Kocbek P, Kristl J, Berlec A. Effects of electrospinning on the viability of ten species of lactic acid bacteria in poly(ethylene oxide) nanofibers. *Pharmaceutics.* 2019;11(9).
76. Zupančič Š, Rijavec T, Lapanje A, Petelin M, Kristl J, Kocbek P. Nanofibers with incorporated autochthonous bacteria as potential probiotics for local treatment of periodontal disease. *Biomacromolecules.* 2018;19(11):4299-306.