

ASPETTI REGOLATORI RELATIVI ALLA QUALITÀ E SICUREZZA NELLO SVILUPPO DI NANOFARMACI

Gabriella Di Felice, Bianca Barletta, Cinzia Butteroni, Silvia Corinti

Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immuno-mediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Le nanotecnologie costituiscono un settore di ricerca in rapida evoluzione con un ampio orizzonte di applicabilità. Nel contesto della biomedicina, il loro contributo allo sviluppo di approcci innovativi per la diagnosi e la terapia delle malattie è già una realtà in crescente sviluppo.

La definizione di “nanofarmaco” fa riferimento ad un farmaco basato su materiale nanostrutturato o in scala “nano”, ingegnerizzato per avere effetti medici peculiari basati sulla struttura (1). Tali effetti comprendono il trasporto di molecole farmacologicamente attive (anche attraverso barriere biologiche), il loro indirizzo specifico a bersagli (organi, tessuti, cellule, o organuli subcellulari), il loro rilascio controllato e/o sito-specifico. Applicazioni più specializzate sono state sviluppate per l’attivazione dall’esterno (per esempio ablazione termica di tumori e rilascio controllato di farmaci su stimolo), o come veicoli di terapie combinate, agenti per *imaging*, sistemi di trasporto per vaccini, supporti per medicina rigenerativa (2).

Per maggior chiarezza sulla dimensione “nano” in riferimento ai farmaci, è importante sottolineare che i limiti dimensionali 1-100 nm, stabiliti nella raccomandazione della Commissione Europea dell’ottobre 2011 (3) sulla definizione di nanomateriale, non vengono rigidamente applicati nel settore farmaceutico. In particolare, è stato riconosciuto che il limite superiore di 100 nm non è scientificamente giustificato in questo settore di applicazione, ove prevale la considerazione globale delle caratteristiche fisico-chimiche, biologiche e fisiologiche, e viene quindi generalmente accettato un limite fino a 300 nm e in alcuni casi anche oltre fino a 1000 nm (2, 4).

I nanofarmaci sono in grado di esercitare meccanismi di azione complessi, che combinano proprietà meccaniche, chimiche, farmacologiche e immunologiche, e possono svolgere contemporaneamente funzioni diagnostiche e terapeutiche; inoltre, per alcune tipologie di nanofarmaci può risultare difficile, in base al meccanismo d’azione prevalente, la classificazione regolatoria come farmaco o dispositivo medico.

Nonostante le obiettive difficoltà associate all’attività regolatoria e alle procedure di autorizzazione, numerosi prodotti medicinali contenenti nanoparticelle sono stati già registrati sia a livello europeo che mondiale. Di conseguenza, numerose specialità basate sull’impiego di Nanomateriali (NM) sono presenti sul mercato mondiale ed europeo (1, 5), e molte di più si trovano nelle differenti fasi di sviluppo preclinico o clinico. Infatti, il processo di sviluppo di un nanofarmaco è lungo e complesso; in particolare, le fasi che vanno dalla ricerca di base sul meccanismo di azione alla determinazione della sicurezza preclinica *in vitro* e *in vivo* possono durare molti anni, mentre l’intero processo può superare i 15-20 anni (1). Sulla durata della fase preclinica gravano problematiche specifiche di sicurezza, che deve essere concettualmente distinta dall’aspetto più ampio della tossicologia di un nanomateriale, in quanto per un farmaco sono previste particolari dosi, vie e frequenze di somministrazione, nel contesto di una specifica situazione clinica e/o popolazione di pazienti (6).

Nella valutazione di sicurezza sono state individuate le seguenti criticità (7): lo sviluppo di saggi *in vitro* standardizzati e validati, con un opportuno pannello di materiali di riferimento; la messa a punto di modelli *ex vivo/in vivo* rilevanti per la via di somministrazione; la generazione

di approcci *in silico* per predire le risposte biologiche e tossicologiche; l'approfondimento dello studio farmacocinetico (ADME: Assorbimento, Distribuzione, Metabolismo, Escrezione); la particolare attenzione ai fattori critici che governano le interazioni degli NM con i sistemi biologici (es. la bio-corona proteica); la creazione di una rete interdisciplinare di ricerca e formazione sui nanofarmaci per gli aspetti biologici, tossicologici e clinici. Altri punti importanti che necessitano adeguata considerazione riguardano la persistenza degli NM contenuti in farmaci nelle cellule, nei tessuti e negli spazi interstiziali (1), e il loro impatto sul sistema immunitario e sulla modulazione intenzionale o accidentale delle sue funzioni (soppressione, adiuvanza, ipersensibilità) (8, 9).

Nel settore della qualità, le criticità tuttora aperte riguardano la caratterizzazione del nanofarmaco e del nanomateriale in esso contenuto, sulla quale impatta la grande eterogeneità sia delle tipologie di NM utilizzati, che spesso ne impedisce la categorizzazione, sia delle caratteristiche di uno stesso nanomateriale in fasi diverse del processo produttivo, che può influire negativamente sulla riproducibilità tra lotti di produzione (5). Per qualsiasi farmaco, infatti, la caratterizzazione chimica o biochimica del prodotto (con particolare attenzione alla presenza di aggregati e degradati) e la sua stabilità devono essere rigorosamente definite nei vari stadi del processo produttivo, dalla sintesi alla formulazione del prodotto finito, sino alla forma farmaceutica nel contenitore primario, e poi alla conservazione a differenti tempi e temperature. Anche in questo settore è quindi necessario investire nello sviluppo di nuovi approcci per la caratterizzazione della identità, delle impurezze, della eterogeneità del nanomateriale in termini di superficie e di distribuzione delle dimensioni (10, 11).

Pur nella consapevolezza delle peculiarità associate alla valutazione di qualità e sicurezza nei nanofarmaci, allo stato attuale esiste un ampio consenso a livello internazionale sulla appropriatezza del vigente sistema regolatorio per la loro approvazione finalizzata all'immissione in commercio (4, 6). Le agenzie regolatorie europee e mondiali hanno comunque intrapreso, e portano avanti anche in maniera condivisa, una serie di iniziative per rispondere adeguatamente alle sfide che la crescente complessità dei nanofarmaci in sviluppo possono porre a livello regolatorio e autorizzativo. La *European Medicines Agency* (EMA) già dai primi anni 2000 ha istituito il "Nanomedicine Research Group" presso il *Committee for Medicinal Products for Human Use* (CHMP), che ha prodotto nel 2006 il "Reflection paper on nanotechnology-based medicinal products for human use" (EMA/CHMP/79769/2006) con lo scopo di comunicare lo stato dell'arte sull'argomento e stimolare la discussione sui punti deboli o controversi, contribuendo così al processo di potenziale sviluppo di nuove linee-guida e specifici documenti regolatori. Successivamente, nel 2009, è stato costituito l'"International Regulators Subgroup on Nanomedicines" che riunisce rappresentanze non solo europee (EMA), ma anche statunitensi (*Food and Drug Administration*, FDA), giapponesi (*Ministry of Health, Labour and Welfare*, MHLW), canadesi (Health Canada). Il primo "International Workshop on Nanomedicines", organizzato da EMA nel 2010 (http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/news/2010/09/news_detail_001108.jsp&mid=WC0b01ac058004d5c1), riafferma nelle sue conclusioni che l'attuale quadro regolatorio, adeguato per la valutazione e l'autorizzazione dei nanofarmaci, consente la valutazione di molti aspetti, ma persiste un *gap* scientifico tra le conoscenze attuali e i nanofarmaci (soprattutto emergenti) che deve essere colmato da specifiche competenze scientifiche, apportate dalla consultazione di esperti multidisciplinari. I passi successivi hanno di conseguenza visto nel 2011 la creazione nell'ambito del CHMP del "Multidisciplinary Expert Group on Nanomedicines", a cui si deve l'elaborazione negli anni successivi di quattro *Reflection paper* su specifiche categorie di nanofarmaci per fornire guida e supporto agli *sponsor* coinvolti nel loro sviluppo.

Allo stato attuale, la maggioranza dei cosiddetti nanofarmaci di prima generazione, già approvati con l'attuale sistema regolatorio e presenti sul mercato, è basata sull'impiego di limitate categorie di NM: liposomi, proteine PEGilate, coniugati proteine-farmaco, nanocristalli, nanoparticelle metalliche (5). Le nuove sfide che si profilano nel settore riguardano principalmente due aree: lo sviluppo di nanofarmaci di "seconda generazione", e l'avvento dei "nanosimilari" (4). Nel primo caso, i continui avanzamenti delle nanoscienze stanno portando allo sviluppo di nuove nanostrutture complesse che verranno utilizzate per la creazione di tipologie innovative di nanofarmaci, agenti per *imaging* e per teranostica, per i quali si renderà necessaria una specifica valutazione regolatoria prima dell'accesso alla sperimentazione clinica di fase I nell'uomo e all'autorizzazione. Nel secondo caso, la scadenza dei brevetti sui primi nanofarmaci avrà come conseguenza la produzione di "nanofarmaci similari" o "nanosimilari", analogamente a quanto accaduto con farmaci chimici (generici) e biologici (biosimilari); la loro similarità con il farmaco originale di riferimento dovrà essere dimostrata con adeguati studi di comparabilità in termini di qualità, sicurezza, efficacia terapeutica. Data la complessità e l'eterogeneità dei nanofarmaci, si renderà probabilmente necessario in questi studi un approccio "caso per caso" o almeno "classe-specifico" per supportare adeguatamente l'equivalenza prima dell'autorizzazione. La necessità di specifiche competenze scientifiche è stata sottolineata nella discussione già da alcuni anni aperta sull'argomento (12).

L'EMA e le altre agenzie regolatorie hanno individuato alcuni obiettivi prioritari da perseguire nel prossimo futuro: lo sviluppo e la validazione di nuovi metodi per implementare le linee-guida esistenti; l'individuazione precoce di rischi e criticità emergenti; l'impulso al dialogo scientifico tra accademia, industria, agenzie regolatorie; l'incremento delle competenze e conoscenze messe a disposizione delle agenzie regolatorie da parte del mondo della ricerca.

In questo scenario si identifica il ruolo delle competenze nel settore delle nanotecnologie e degli NM espresse dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) e rappresentate nel Progetto RInnovaReNano. Le *expertise* presenti nel gruppo ISS, già coinvolto in progetti nazionali e internazionali su questi aspetti, sono in grado di intervenire sia a livello della ricerca di base sugli effetti biologici di NM per la loro applicazione in senso terapeutico, sia nello sviluppo di nuovi metodi sperimentali per la valutazione della tossicità *in vitro* e *in vivo*, sia nella parallela attività multidisciplinare di parere, valutazione e controllo.

Bibliografia

1. Etheridge ML, Campbell SA, Erdman AG, Haynes CL, Wolf SM, McCullough J. The big picture on nanomedicine: the state of investigational and approved nanomedicine products. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 2013;9:1-14.
2. Duncan R, Gaspar R. Nanomedicine(s) under the microscope. *Molecular Pharmaceutics* 2011;8(6):2101-41.
3. Europa. Raccomandazione della Commissione del 18 ottobre 2011 sulla definizione di nanomateriale. 2011/696/EU. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* n. L 275/38, 20 ottobre 2011.
4. Ehmann F, Sakai-Kato K, Duncan R, Hernán Pérez de la Ossa D, Pita R, Vidal JM, Kohli A, Tothfalusi L, Sanh A, Tinton S, Robert JL, Silva Lima B, Papaluca-Amati M. Next-generation nanomedicines and nanosimilars: EU regulators' initiatives relating to the development and evaluation of nanomedicines. *Nanomedicine (London)* 2013;8(5):849-56.
5. Weissig V, Tracy K, Pettinger TK, Murdock N. Nanopharmaceuticals (part 1): products on the market. *International Journal of Nanomedicine* 2014;9:4357-73.

6. Duncan R. Nanomedicine(s) and their regulation. In: Fadeel B (Ed.). *Handbook of safety assessment of nanomaterials. From toxicological testing to personalized medicine*. Singapore: Pan Stanford Publishing; 2014. p. 1-42.
7. Nyström AM, Fadeel B. Safety assessment of nanomaterials: Implications for nanomedicine. *Journal of Controlled Release* 2012;161:403-8.
8. Dobrovolskaia MA, Germolec DR, Weaver J. Evaluation of nanoparticle immunotoxicity. *Nature Nanotechnology* 2009;4:411-4.
9. Dobrovolskaia MA, Shurinb M, Shvedova AA. Current understanding of interactions between nanoparticles and the immune system. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2016;299:78-89.
10. Mc Neil SE. Challenges for nanoparticle characterization. *Methods in Molecular Biology* 2011;697:9-15.
11. Wu L, Zhang J, Watanabe W. Physical and chemical stability of drug nanoparticles. *Advances in Drug Delivery Reviews* 2011;63(6):456-69.
12. Schellekens H, Klinger E, Muhlebach S, Brin JF, Storm G, Crommelin DJ. The therapeutic equivalence of complex drugs. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 2011;59(1):176-83.