

## **Nanodisperzni sistemi kao nosači lekovitih supstanci**

**Snežana Savić\*, Ivana Gluščević, Jela Milić,  
Gordana Vuleta**

Institut za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju,  
Farmaceutski fakultet, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd

---

### **Kratak sadržaj**

Nanotehnologije nalaze sve veću primenu u formulisanju savremenih nosača lekovitih supstanci (tj. nanoemulzija, liposoma, nanočestica, nanosuspenzija, micela, rastvorljivih konjugata lekovita supstanca-polimer, disperzija tečnih kristala). Razvojem nanodisperznih sistema postignut je značajan napredak u farmakoterapiji: zadovoljavajuća stabilnost, veća selektivnost, manja toksičnost, odgovarajući farmakokinetički profil inkorporirane lekovite supstance. Za formulisanje ovih sistema kao osnovni ekscipijensi koriste se lipidi ili polimeri. Postoje brojne metode za izradu i proučavanje karakteristika nosača za lekovite supstance čije su veličine u nano opsegu.

Nanoemulzije i liposomi su prvi dobijeni nanodisperzni sistemi, i kao nosači lekovitih supstanci inkorporirani su u određeni broj farmaceutskih preparata. Razvoj nanočestica, kao koloidnih nosača novije generacije, obezbeđuje bolju zaštitu inkorporiranih supstanci, otvara mogućnost za kontrolisano oslobađanje i ciljnu isporuku lekovitih supstanci (čak i u mozak). Brojna ispitivanja ukazuju da se u budućnosti može očekivati sve veći broj preparata baziranih na nanodisperznim sistemima kao nosačima biotehnoških lekovitih supstanci (eng. *biotech drugs*), kao što su proteini, peptidi, oligonukleotidi, DNK.

**Ključne reči:** nanoemulzije, liposomi, nanočestice, izrada, karakterizacija

---

\* Autor za korespondenciju: e-mail: snexs@pharmacy.bg.ac.yu

## Uvod

Razvoj novih lekovitih supstanci, sam po sebi, nije dovoljan da obezbedi progres u farmakoterapiji, pošto su rezultati dobijeni u *in vitro* ispitivanjima često pokazivali loše rezultate u uslovima *in vivo* ispitivanja (1).

Poznato je da za neuspešnu terapiju glavne razloge treba tražiti u sledećem: nedovoljnoj koncentraciji lekovite supstance usled slabe apsorpcije, brzog metabolizma i eliminacije (peptidi, proteini); visokoj toksičnosti usled distribucije lekovite supstance u druga tkiva (citostatici); slaboj rastvorljivost lekovite supstance zbog čega se ne može primeniti intravenski (i.v.) u obliku vodenih rastvora; nepredvidivoj bioraspoloživosti posle peroralne primene (ciklosporin) (1).

Strategija kojom se mogu prevazići ovi problemi podrazumeva razvoj odgovarajućih nosača lekovitih supstanci, jer je *in vivo* sudbina inkorporiranih molekula lekovitih supstanci često određena osobinama nosača (1).

Nanodisperzni sistemi, kao koloidni nosači aktivnih supstanci pružaju značajne prednosti u odnosu na nosače mikrometarske (mikročestice) i milimetarske veličine (implantati). Zahvaljujući nanodisperznim sistemima moguće je da se aktivne supstance primenjuju i.v. bez opasnosti od embolije, inkorporirane supstance isporučuju direktno u ciljnu ćeliju i da se postigne prolaz koloidnih nosača sa lekovitom supstancom kroz krvno-moždanu barijeru (1).

Koloidni nosači lekovitih supstanci uključuju: nanoemulzije, mikroemulzije, liposome (vezikule), nanočestice, nanosuspencije, micide, rastvorljive konjugate lekovita supstanca-polimer (1) i disperzije tečnih kristala (2).

U ovom radu dati su literaturni podaci vezani za fizičko-hemijska svojstva, ekscipijense, postupke dobijanja, metode karakterizacije i potencijalnu primenu nanoemulzija, liposoma, polimernih nanočestica i čvrstih lipidnih nanočestica (eng. *solid lipid nanoparticles*, SLN).

## Nanoemulzije

Nanoemulzije (miniemulzije, submikronske emulzije) mogu se definisati kao u/v emulzije sa srednjim dijametrom kapi od 50 do 1000 nm (Slika 1), obično od 100 do 500 nm (3). Ovi sistemi imaju tečno, lipofilno jezgro odvojeno monomolekularnim slojem (izgrađen uglavnom od fosfolipida) od okolne, vodene faze (4).



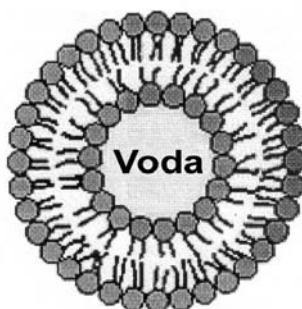
**Slika 1.**  
Šematski prikaz kapi nanoemulzije (4)

**Figure 1.**  
Schematic representation of a drop of nanoemulsion (4)

Nanoemulzije su počele da se razvijaju 50-ih godina prošlog veka kao preparati za parenteralnu ishranu. Kasnije, ovi biokompatibilni i biodegradabilni sistemi bivaju korišćeni kao nosači lipofilnih lekovitih supstanci. Na tržištu se nalazi nekoliko nanoemulzija za i.v. primenu – Etomidat-Lipuro® i Diazepam-Lipuro® (Braun, Melsungen). Inkorporiranjem u nanoemulzije smanjuju se neželjeni efekti lekovitih supstanci i postiže zaštita od adsorbovanja molekula aktivnih supstanci na infuzionom setu (5). Mogućnost kontrolisanog oslobađanja lekovite supstance iz nanoemulzija je ograničena njihovom veličinom i tečnim jezgrom. Većina lekovitih supstanci oslobađa se brzo iz ovih sistema. Izuzetno, odloženo oslobađanje iz nanoemulzija moguće je postići kod vrlo lipofilnih aktivnih supstanci (1). Inkorporiranje lekovite supstance utiče na fizičko-hemijsku stabilnost nanoemulzija u značajnoj meri. Sznitowska i saradnici (6) ispitivali su vezu između fizičko-hemijskih osobina lekovite supstance i stabilnosti submikronskih emulzija. Utvrdili su da je priroda interakcija inkorporiranih supstanci sa nanoemulzijom kompleksna, i da se promene u fizičkoj stabilnosti ovih sistema teško predviđaju. Zapazili su da su stabilnije nanoemulzije sa većom količinom emulgatora u odnosu na lipidnu fazu.

## Liposomi

Liposomi su sferične vezikule sastavljene od amfifilnih lipida, koji zatvaraju deo rastvarača (vode) u kome ove strukture slobodno flotiraju (Slika 2) (4).



**Slika 2.**

Šematski prikaz liposoma (4)

**Figure 2.**

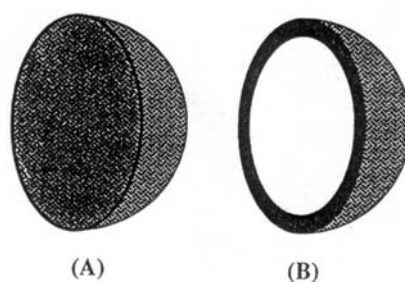
Schematic representation of a liposome (4)

Zahvaljujući njihovoj relativno visokoj biokompatibilnosti, liposomi su prihvatljivi za *in vivo* dijagnostičke i terapijske ciljeve. Liposomi štite osjetljive lekovite supstance od spoljašnjih uticaja (citozin, arabinozid, DNK, RNK, oligonukleotide), smanjuju toksičnost lekovite supstance (doksorubicin, daunorubicin), netoksični su, neimunogeni, biodegradabilni, mogu se sterilisati, koristiti kao nosači u ciljnoj terapiji. Moguće je modifikovati ponašanje liposoma *in vivo* i prilagođavati liposomske formulacije specifičnim terapijskim potrebama. U poslednje dve decenije liposomi se intenzivno istražuju kao nosači za širok spektar različitih aktivnih supstanci, kao što su: hemoglobin i kofaktori, hemoterapeutici, imunomodulatori, kontrastna sredstva, helatna sredstva, antigeni i genetski materijal (7). Takođe, liposomi su pogodni nosači za veliki broj kozmetički aktivnih supstanci, kao što su ekstrakt kamilice i drugi biljni ekstrakti, hlorofilin, koenzim Q<sub>10</sub>, vitamin E, vitamin C (8, 9, 10).

## Polimerne nanočestice

Polimerne nanočestice (Slika 3) predstavljaju submikronske koloidne sisteme, prečnika obično oko 200 nm, koji su uglavnom izrađeni od biodegradabilnih polimera (GRAS status, eng. *Generally Recognized as Safe*). Polimerne nanočestice uključuju (11):

- nanosfere, koje su matriksni sistemi
- nanokapsule, koje predstavljaju sisteme sastavljene od jezgra okruženog membranom (ljuskom).



**Slika 3.**

Šematski prikaz polimernih nanočestica: nanosfera (A), nanokapsula (B) (11)

**Figure 3.**

Schematic representation of polymer nanoparticles: a nanosphere (A), a nanocapsule (B) (11)

Razvojem polimernih nanočestica prevazilaze se nedostaci nanoemulzija i liposoma koji potiču od njihovog tečnog jezgra. Ovi koloidni nosači pokazuju dobru stabilnost, zaštitu inkorporirane supstance od hemijske degradacije i mogućnost njenog kontrolisanog oslobađanja (12). Izrazita prednost polimernih sistema je u bogatstvu mogućih hemijskih modifikacija. Problemi vezani za ove nosače su pojava rezidua organskih rastvarača korišćenih u procesu izrade, citotoksičnost polimera i prevođenje na nivo industrijske proizvodnje (eng. *scaling up*). Većina eksperimentalnih tehnika izrade karakteriše se niskim prinosom nanočestica (do 2 %) u disperziji. Tokom čuvanja, može doći do hidrolize polimera i često je potrebno primeniti liofilizaciju da bi se sprečila njegova degradacija (1).

Polimerne nanočestice sa modifikovanom površinom izrađuju se sa ciljem da se omogući produženo vreme zadržavanja ovih nanopartikula u krvotoku, poboljšanje njihove bioadhezivnosti i prenos lekovite supstance u ciljne ćelije (11).

## Čvrste lipidne nanočestice

Čvrste lipidne nanočestice (SLN) su veličine od 50 do 1000 nm i imaju strukturu sličnu nanoemulzijama. Za razliku od nanoemulzija, jezgro SLN sastoji se od jednog ili smeše lipida, koji su u čvrstom stanju i na sobnoj i na telesnoj temperaturi (Slika 4). Za stabilizaciju čvrstih lipidnih nanočestica koriste se različiti emulgatori (13).



**Slika 4.**  
Šematski prikaz čvrste lipidne nanočestice (3)

**Figure 4.**  
Schematic representation of a solid lipid nanoparticle (3)

SLN su biodegradabilne, pokazuju dobru fizičku stabilnost, obezbeđuju zaštitu nestabilnih aktivnih supstanci od spoljašnjih uticaja, pokazuju potencijal za kontrolisano oslobađanje inkorporiranih materija i ciljnu terapiju. Pored brojnih prednosti čvrstih lipidnih nanočestica, ovi nosači imaju i određene nedostatke, kao što su: mali kapacitet opterećenja lekovitom supstancom (eng. *drug loading capacity*), otpuštanje inkorporirane supstance tokom čuvanja i relativno visok sadržaj vode (70 - 99,9 %) u disperzijama SLN (12).

Kapacitet opterećenja lekovitom supstancom kod SLN (uglavnom do 25 %, retko do 50 %) određen je rastvorljivošću supstance u otopljenom lipidu i strukturom i polimorfim oblikom čvrstog lipidnog matriksa. Utvrđeno je da manje uređena kristalna rešetka lipidnog matriksa omogućava inkorporiranje veće količine lekovite supstance u SLN u odnosu na uređeniju kristalnu rešetku lipida (12).

Promene u uredenosti kristalne rešetke dovode do otpuštanja inkorporirane lekovite supstance iz čvrstih lipidnih nanočestica. Nakon izrade, kristalna rešetka lipidnog matriksa SLN je u obliku modifikacija sa većim sadržajem energije ( $\alpha$ ,  $\beta'$  - polimorfi), tj. u tečno-kristalnom stanju. Ukoliko tokom čuvanja dođe do polimorfne promene u  $\beta$  oblik (prelaz u kristalno stanje), kod kog je kristalna rešetka više uređena, inkorporirana lekovita supstanca se otpušta iz SLN. U tom slučaju, ne može se govoriti o zaštiti lekovite supstance od degradacije, niti o postizanju kontrolisanog oslobađanja pomoću ovih čestica (12).

U cilju prevazilaženja pomenutih nedostataka SLN, krajem 90-ih godina prošlog veka razvijeni su nanostrukturirani lipidni nosači (engl. *nanostructured lipid carriers*, NLC), koji osim čvrstih lipida sadrže i određenu količinu tečnih lipida (ulja). Ovi nosači imaju manje uređen lipidni matriks, usled toga veći kapacitet opterećenja lekovitom supstancom i smanjeno otpuštanje inkorporirane supstance (12).

SLN se mogu koristiti za inkorporiranje lipofilnih supstanci, a od hidrofilnih, zbog niskog kapaciteta opterećenja, samo za one vrlo jakog delovanja (terapijski efikasne pri niskim koncentracijama). Da bi se prevazišlo ograničeno inkorporiranje hidrofilnih supstanci, razvijene su nanočestice od konjugata lipida i lekovite supstance (eng. *lipid drug conjugate nanoparticles*, LDC). Lipid i lekovita supstanca mogu se vezati jonskom ili kovalentnom vezom u konjugat (12).

## **Pomoćne supstance za izradu nanodisperznih sistema**

Materijali koji se upotrebljavaju u naprednim nosačima lekovitih supstanci treba da budu hemijski inertni i bez rastvorljivih nečistoća. Takođe, moraju imati prihvatljivu, lako obradivu fizičku strukturu s minimalnim neželjenim starenjem (GRAS status) (14).

Prve formulacije nanoemulzija obično su sadržale 10-20 % uljane faze i bile su stabilizovane sa 0.5-2 % lecitina, poreklom iz jajeta ili soje. Prva odobrena i.v. nanoemulzija, Intralipid® (Kabi-Pharmacia, Stockholm, Sweden) razvijena je u cilju parenteralne ishrane pacijenta. Ona predstavlja emulziju tipa u/v sa 10-20 % sojinog ulja, u vidu kapi veličine 70-400 nm, stabilizovanih monoslojem mešavine fosfolipida iz žumanceta jajeta (1.2 %). Kao osmotsko sredstvo korišćen je glicerol. U većini slučajeva, inkorporiranje aktivnih sastojaka u Intralipid® značajno smanjuje stabilnost preparata. Zbog toga se javila potreba za formulacijom novih miniemulzija stabilizovanih različitim kombinacijama emulgatora (npr. lecitin, monoacetilovani gliceridi,

Pluronic F-68, oleinska kiselina, kalijum oleat), sposobnih da značajno produže rok upotrebe ovih sistema, što je postignuto kod sledećih preparata: Diazemulus® (Kabi-Pharmacia, Dumex), Liple® (Green Cross, Japan) i Flusol® (Green Cross and Alpha Therapeutics) (5).

Novi polimeri koji su dizajnirani primarno za medicinsku aplikaciju (polimeri dobijeni od alkilcijanoakrilata – koriste se kao hirurški lepak, i polimlečna kiselina – za izradu hirurških konaca) (11) sve više se koriste za izradu polimernih nanočestica, kao savremenih nosača lekovitih supstanci. Značajan aspekt koji je u korelaciji sa širokom primenom polimera za izradu nanočestica je njihova biodegradabilnost, čime se smanjuje rizik od nakupljanja polimera u organizmu i pruža mogućnost kontrole biološkog odgovora organizma na lekovitu supstancu. Kako biodegradabilnost ne podrazumeva uvek netoksičnost, stalno se traga za polimerima koji se degradiraju na male, neškodljive molekule (14). Najčešće korišćeni polimeri su: poli(mlečna kiselina) PLA, poli(glikolna kiselina) PGL, kopolimer poli(mlečne) - poli(glikolne) kiseline PLGA, polialkilcijanoakrilati (PACA) (1).

Obrazovanje čvrstih lipidnih nanočestica zahteva čvrste lipide, emulgator(e) i vodu. Termin lipidi koristi se u širem smislu i uključuje trigliceride (gliceril tristearat, -trimiristat, -tripalmitat), parcijalne gliceride (gliceril monostearat - Imwitor® 900, MultiChem. Inc.), masne kiseline (stearinska kiselina), steroide (holesterol) i voskove (cetil palmitat). Uočeno je da je kombinacija više emulgatora efikasnija u sprečavanju aglomeracije čestica. Najčešće korišćeni emulgatori su (1): lecitin iz soje i jajeta, fosfatidilholin (Epikuron® 170, Epikuron® 200, Degussa, SAD), Poloxamer (188, 182, 407), Poloxamin 908, Polisorbati (20, 60, 80). Lipidni matriks u SLN izrađuje se od fizioloških lipida koji smanjuju opasnost od akutne i hronične toksičnosti. Izbor emulgatora za ove sisteme veoma zavisi od načina primene i znatno je ograničen za parenteralnu primenu (1).

## **Principi izrade nanodisperznih sistema**

Dobijanje nanoemulzija zahteva homogenizaciju pod visokim pritiskom (eng. *high pressure homogenization*, HPH), i relativno lako se proizvode u velikim proizvodnim šaržama (5).

Za izradu polimernih nanočestica, razvijene su brojne metode koje se mogu podeliti u dve kategorije (11):

- metode zasnovane na reakciji polimerizacije monomera
- metode direktnog obrazovanja nanočestica iz polimera.



Metode zasnovane na reakciji polimerizacije monomera obuhvataju emulzionu polimerizaciju (za izradu nanosfera) i međufaznu polimerizaciju (za nanokapsule). Nedostatak ovih metoda vezan je za rezidualne molekule u polimerizacionom medijumu (monomer, oligomer, PAM), koji mogu biti više ili manje toksični, što zahteva temeljno prečišćavanje koloidnih materijala. Da bi se izbegli ovi problemi, predložene su metode koje koriste već obrazovane polimere (11).

Postupci direktnog obrazovanja nanočestica iz polimera obuhvataju: metode bazirane na spontanom formiranju polimernih nanočestica i one izvedene iz mikroinkapsulacionih tehnika. Metode bazirane na spontanom obrazovanju polimernih nanočestica zasnivaju se na rastvorljivosti i gelirajućim svojstvima polimera. Obično je proces obrazovanja polimernih nanočestica reverzibilan, tako da se dobijene polimerne nanočestice moraju stabilizovati. Stabilizacija se postiže eliminacijom rastvarača polimera evaporacijom ili hemijski, umrežavanjem (eng. *cross-linking*) polimera, kao što je to slučaj kod proteina (11).

Metode izvedene iz mikroinkapsulacionih tehnika podrazumevaju formiranje emulzije, kod koje su kapi unutrašnje faze (rastvor polimera) dovoljno male, što se može postići homogenizacijom pod visokim pritiskom. Kada se rastvor polimera disperguje u spoljašnju fazu, pristupa se formiranju polimernih nanočestica na sledeće načine: geliranjem polimera izmenom rastvarača ili isparavanjem rastvarača za polimere (11).

Postoje različite metode kojima se mogu dobiti disperzije SLN. Najčešće korišćene su homogenizacija pod visokim pritiskom (HPH) i izrada SLN od mikroemulzija. HPH, metoda koja je godinama korišćena za izradu nanoemulzija za parenteralnu primenu, pokazala se kao pogodna i za izradu SLN (12, 15). Izrada SLN pomenutim metodama povezana je sa nekoliko kritičnih procesnih parametara, kao što su: visoka temperatura, visoki pritisak, toksikološki problematični rastvarači, visoke koncentracije PAM. U nastojanju da se prevaziđu navedeni nedostaci, razvijena je metoda izrade SLN ubrizgavanjem rastvarača, za koju se upotrebljavaju farmaceutski prihvatljivi organski rastvarači (acetone, etanol, izopropanol). Ovaj način izrade je jednostavan i brz, ne zahteva homogenizaciju pod visokim pritiskom, ni tehnički sofisticiranu opremu (16).

## **Karakterizacija nanodisperznih sistema**

**Veličina čestica/kapi i raspodela veličina čestica/kapi** izuzetno su bitni parametri koji se određuju pri karakterizaciji nanodisperznih sistema. Uobičajeno je da se koloidna struktura ovih sistema analizira primenom transmisiona elektronske mikroskopije (eng. *transmission electron microscopy*,

TEM), skenirajuće elektronske mikroskopije (eng. *scanning electron microscopy*, SEM), atomske mikroskopije (eng. *atomic force microscopy*, AFM). Najčešće korišćene metode za određivanje prosečne veličine i raspodele veličina čestica/kapi su: foton korelaciona spektroskopija (eng. *photon correlation spectroscopy*, PCS) - Zetasizer-om 4, (Malvern Instruments, UK); laserska difraktometrija (eng. *laser light diffraction*, LD) - Mastersizer-om E (Malvern Instruments, UK) (1, 11, 12, 17).

Posredstvom PCS može se odrediti i **zeta potencijal**, kao mera površinskog naelektrisanja čestica/kapi – Zeta Plus (Brookhaven Instruments, Huntsville, NY) (18) i/ili Zetasizer-om 4 (Malvern Instruments, UK) (19).

**Difrakcija X zraka i diferencijalna skenirajuća kalorimetrija** koriste se za ispitivanje molekulske strukture i polimorfni oblika lipidnog matriksa SLN (1, 12). Ovi parametri usko su povezani sa kapacitetom opterećenja i otpuštanjem lekovite supstance (1).

**Rentgenska fotoelektronska spektroskopija** (eng. *X-ray photoelectron spectroscopy*) može se koristiti za određivanje hemijskog sastava površine polimernih nanočestica. Ova tehnika je veoma korisna za razvoj površinski modifikovanih polimernih nanočestica (20).

**Reološka merenja** korisna su za karakterizaciju viskoelastičnih svojstava vodenih disperzija SLN, i mogu se vršiti reometrom Rheo Stress RS 100 (Haake, Instruments, Karlsruhe, Germany) (19).

**Hidrofilnost površine polimernih nanočestica** može se odrediti hromatografskom tehnikom, koja se bazira na afinitetnoj hromatografiji, pri čemu se na koloni ispunjenoj hidrofobnim gelom razdvajaju hidrofilne od hidrofobnih polimernih nanočestica (11).

**Koncentracija polimernih nanočestica** u disperziji može se ispitati gravimetrijskim određivanjem ili turbidimetrijskim merenjem (11).

**Gustina nanočestica** procenjuje se piknometrom (21).

**Hemijska stabilnost lipidnog matriksa SLN** ispituje se analitičkom metodom koja je bazirana na upotrebi gasne hromatografije za kvalitativnu i kvantitativnu analizu lipida ekstrahovanih iz disperzije SLN (12).

**Kapacitet polimernih nanočestica za adsorpciju proteina i za aktivaciju komplementa *in vivo***, nakon intravenske primene, uticaće na njihovu sudbinu i raspodelu u organizmu. Analiza adsorbovanih proteina može se izvršiti elektroforezom uz 2D-poliakrilamid gel. Aktivacija komplementa pod uticajem polimernih nanočestica može se proceniti opštom tehnikom ili specifičnom tehnikom merenja aktivacije komponente C3 (11).

## **Primena nanodisperznih sistema kao nosača lekovitih supstanci**

**Submikronske emulzije** dobro su prihvaćene kao i.v. nosači za neke lekovite supstance, kao što su citostatici, amfotericin B, diazepam, prostaglandin E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>), deksametazon palmitat, propofol. Dizajnirane su i fluorokarbonske nanoemulzije kao donori kiseonika (zamena za krv) i nanoemulzije kao nosači kontrastnih sredstava (5).

Potencijal submikronskih emulzija u genskoj terapiji ispitivali su Couvreur i saradnici (22), a kao model supstancu koristili su oligotimidilat. Ustanovili su da se molekuli oligotimidilata, s obzirom na polianjonski karakter, mogu efikasno inkorporirati u katjonske nanoemulzije, koje ih štite od degradacije i unapređuju njihov prolaz kroz biološke membrane.

Eksperimentalni rezultati Youenang-a i saradnika (23) ukazuju da, u odnosu na negativno naelektrisane, pozitivno naelektrisane nanoemulzije obezbeđuju bolji lokalni efekat inkorporiranih antifungalnih supstanci (ekonazol nitrata, mikonazol nitrata). Ovo se može objasniti većim afinitetom pozitivno naelektrisanih kapljica prema negativno naelektrisanim epitelnim ćelijama, što omogućava bolju permeaciju lekovite supstance i produženi farmakološki efekat.

Calvo i saradnici (24) pokazali su da, upravo, koloidna priroda ovih nosača i solubilizirajući potencijal fosfolipida obezbeđuju bolju oftalmološku bioraspodivnost inkorporiranih lekovitih supstanci. Benita i sar. (25) poredili su kornealnu penetraciju indometacina iz pozitivno, negativno i neutralno naelektrisanih submikronskih emulzija. Ustanovili su da pozitivno naelektrisane nanoemulzije obezbeđuju duže farmakološke efekte indometacina u odnosu na neutralno i negativno naelektrisane koloidne nosače.

Ispitivanja ukazuju da submikronske emulzije nemaju značaja za kontrolisano oslobađanje pri peroralnoj primeni (26).

**Polimerne nanočestice** su potencijalni nosači za i.v. primenu lekovitih supstanci sa antimikrobnim, antitumorskim dejstvom i oligonukleotida. Da bi se sprečilo njihovo preuzimanje od strane retikuloendotelnog sistema (RES) površinski se modifikuju (npr. oblažu polietilenglikolom, PEG). Tako se duže zadržavaju u krvotoku i bivaju dostupne za ciljna tkiva (11).

Intravenskom primenom polimernih nanočestica, kao nosača antimikrobnih supstanci, može se poboljšati efikasnost terapije intracelularnih infekcija, jer se prevazilaze problemi povezani sa smanjenim preuzimanjem ovih lekovitih supstanci od strane inficiranih ćelija i sa smanjenom aktivnošću

ovih supstanci pri kiselom pH lizozoma. Eksperimentima je potvrđena efikasnost u terapiji intracelularnih infekcija kod sledećih sistema: poliizohexilcijanoakrilatnih (PIHCA) nanosfera, kao nosača ampicilina za terapiju infekcija bakterijom *Listeria monocytogenes* (27); ciprofloksacina inkorporiranog u poliizobutilcijanoakrilatne (PIBCA) i PIHCA nanosfere za terapiju infekcija salmonelom (28) i primakvina u PIHCA nanosferama za terapiju visceralne leišmanije (29).

Mala specifičnost citostatika predstavlja značajan toksikološki problem, koji se može prevazići upotrebom koloidnih nosača. Primenom polimernih nanočestica kao nosača citostatika, moguće je postići ciljnu terapiju i izbegavanje stvaranja multiple rezistencije tumora. Eksperimenti izvedeni *in vivo* ukazuju na prednosti i.v. aplikacije polimernih koloidnih nosača u terapiji kancera: PIBCA nanosfera sa inkorporiranim doksorubicinom i PIHCA nanosfera sa doksorubicinom u terapiji limfoidne leukemije L1210 (30); polialkilcijanoakrilatnih nanosfera kao nosača doksorubicina u tretmanu retikulosarkoma (31); nanokapsula na bazi poli (D, L-laktida) koje sadrže imunoaktivator MTP-Chol (muramil tripeptid holesterol) (32) i PLGA nanočestica kao nosača verteporfina (33).

Utvrđeno je da i.v. primena polimernih nanosfera obezbeđuje zaštitu inkorporiranih oligonukleotida od nukleaza, i poboljšava njihovo intracelularno preuzimanje (11). Nanosfere formirane od sintetskih polimera, polialkilcijanoakrilata i poli(mlečne) kiseline, nemaju afinitet za oligonukleotide. U tom slučaju obrazuju se jonski parovi od oligonukleotida i katjonske PAM, cetiltrimetilamonijum bromid (CTAB), koja je adsorbovana na površinu ovih čestica (34).

Polimerne nanočestice mogu se aplikovati subkutano, kao nosači vakcina i peptida. Ovako primenjene polimerne nanočestice omogućavaju sporo oslobađanje inkorporiranih lekovitih supstanci, redukuju učestalost doziranja, produžavaju biološko poluvreme aktivne supstance, i u nekim slučajevima redukuju neželjene efekte. Eksperimentalnim putem potvrđena je efikasnost PIBCA nanosfera kao nosača faktora oslobađanja hormona rasta (eng. *Growth Hormone Releasing Factor*) (35).

Polimerne nanočestice mogu se primenjivati peroralno za isporuku (eng. *delivery*) citostatika, peptida, proteina, vakcina. Damgé i saradnici (36), tokom *in vivo* studija, pokazali su da PIBCA nanokapsule štite inkorporirani insulin od proteolitičke degradacije u intestinalnim fluidima, insulin pokazuje produženo delovanje i ne utiče na bazalnu glikemiju. Eksperimenti ukazuju da polialkilcijanoakrilatne nanokapsule, primenjene peroralno kao nosači oktreetida, mogu poboljšati i produžiti njegov terapijski efekat (37). Zbog

peptidne strukture i izrazite lipofilnosti, većina inhibitora HIV-1 proteaze pokazuje malu biološku raspoloživost nakon peroralne primene. Da bi se prevazišla mala biološka raspoloživost inhibitora HIV-1 proteaze, uslovljena peptidnom strukturom i izrazitom lipofilnošću, ovi molekuli se mogu inkorporirati u polimerne nanočestice osjetljive na pH, formirane od Eudragit® L 100-55 (38). Ovi polimeri su otporni na niski pH želudačnog soka, rastvaraju se i oslobađaju inhibitore HIV-1 proteaze u tankom crevu. Eksperimentalno je utvrđeno da pH-senzitivne polimerne nanočestice značajno poboljšavaju biološku raspoloživost inhibitora HIV-1 proteaze CGP 57813 (38, 39). *In vivo* studijama Takeuchi i saradnici (40) pokazali su da su mukoadhezivne polimerne nanočestice (PLGA nanočestice obložene sa hitozanom i Carbopol-om) korisni nosači za peroralnu isporuku peptida (insulina, kalcitonina) jer produžavaju njihovo zadržavanje u GIT-u i odlično penetriraju u mukozni sloj. Sličnim mehanizmom pokušava se unaprediti i pulmunalna isporuka peptidnih lekovitih supstanci. Yin Win i Feng (18) pokazali su da PLGA nanočestice (100-200 nm) obložene vitamin E TPGS-om (vitamin E d- $\alpha$ -tokoferil PEG 1000 sukcinatom) predstavljaju potencijalne nosače za peroralnu isporuku citostatika. Time su ukazali da je koncept o „hemoterapiji u kući” moguće ostvariti.

Calvo i sar. (41) pokazali su da poli- $\epsilon$ -kaprolakton nanokapsule obložene hitozanom mogu obezbediti bolju okularnu bioraspoloživost inkorporiranog indometacina. To se objašnjava poboljšanim bioadhezivnim svojstvima nanokapsula zbog oblaganja hitozanom. Takođe, razvijeni su i preparati na bazi nanokapsula za isporuku brojnih lekovitih supstanci za terapiju glaukoma, indometacina, ciklosporina A (11).

**Čvrste lipidne nanočestice** kao nosači lekovitih supstanci objedinjuju prednosti polimernih nanočestica i lipidnih nanodisperznih sistema, što ih, uz mogućnost sterilizacije, čini izuzetno pogodnim nosačima za parenteralnu primenu. SLN se mogu primenjivati intravenski, intramuskularno, subkutano i direktno u ciljni organ. Da bi se izbeglo preuzimanje SLN od strane ćelija RES-a, nakon i.v. primene, hidrofилnost površine ovih partikula se povećava oblaganjem PEG-om ili blok kopolimerima kao što je Pluronic F 188. Tako modifikovane SLN povećavaju akumulaciju citostatika u tumorskom tkivu, efikasnost antimikrobnih lekovitih supstanci i omogućavaju isporuku citostatika u mozak. Preuzimanje SLN od strane mozga može se objasniti adsorpcijom proteina krvi, kao što su apolipoproteini, na površinu SLN, pri čemu oni posreduju u adheziji ovih čestica na endotelne ćelije krvno-moždane barijere. Takođe, SLN se mogu koristiti kao adjuvansi za vakcine (12).

Brojne su prednosti upotrebe SLN u kozmetičkim i farmaceutskim preparatima za primenu na kožu. Čvrste lipidne nanočestice štite inkorporirane

supstance od degradacije (koenzim Q10, retinol), mogu da ih kontrolisano oslobađaju, a na koži obrazuju film koji deluje okluzivno i poboljšava penetraciju inkorporiranih supstanci (42, 43). Pomoću SLN može se postići produženo oslobađanje inkorporiranih parfema i repelenata, i bolja svojstva preparata koja sadrže ove supstance. U preparatima za zaštitu od sunčevih zraka SLN služe kao nosači UV filtera, a i same deluju zaštitno. Usled sinergističkog delovanja SLN sa UV filterima, manja količina ovih supstanci može se inkorporirati u SLN i tako smanjiti mogućnost pojave njihovih neželjenih efekata (42).

Biološka raspoloživost lekovite supstance pri peroralnoj primeni može se poboljšati njenim inkorporiranjem u SLN, NLC i LDC. Ovi nosači štite inkorporiranu supstancu od potencijalne degradacije u GIT-u, poseduju adhezivna svojstva, prijanjaju (adheriraju) za intestinalni zid i oslobađaju lekovitu supstancu upravo na mestu apsorpcije. Lipidi potenciraju apsorpciju lekovitih supstanci, jer se pri preuzimanju lipida iz GIT-a resorbuju i inkorporirane supstance (44).

Može se očekivati sve veći broj SLN - preparata sa molekulima kao što su proteini, oligonukleotidi i DNK (za vakcine ili za gensku terapiju) (12).

## Literatura

1. Mehnert W, Mäder K. Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 47: 165-196.
2. Müller-Goymann CC. Physicochemical characterization of colloidal drug delivery systems such as reverse micelles, vesicles, liquid crystals and nanoparticles for topical administration. *Eur J Pharm Biopharm* 2004; 58: 343-356.
3. Vuleta G, Milić J, Cekić N. Savremeni kozmetički proizvodi - formulacije i zahtevi za kvalitet. *Hem. ind.* 2003; 57: 463-470.
4. Daniels R. *Galenic Principles of Modern Skin Care Product*. Skin Care Forum 2001. april.
5. Müller RH, Benita S, Böhn B, eds. *Emulsions and Nanosuspensions for the Formulation of Poorly Soluble Drugs*. Stuttgart: Medpharm, 1998.

6. Sznitowska M, Janicki S, Dabrowska E, Zurowska-Pryczkowska K. Submicron emulsions as drug carriers: Studies on destabilization potential of various drugs. *Eur J Pharm Sci* 2001; 12: 175-179.
7. Primorac M, Tasić Lj, Stupar M. Novi trendovi u razvoju nosača lekova. *Arh. farm* 1998; 5: 497-510.
8. Arsić I, Tamburić S, Savić S, Vuleta G. The effect of chamomile extract on skin hydration and tawl: Is it more effective when encapsulated in liposomes? *Euro Cosmetics* 2004; 2: 12-17.
9. Arsić I, Vuleta G. Određivanje srednjeg prečnika i distribucije veličine liposoma dobijenih dispergovanjem Phospholipon®-a u vodi. *Arh. farm* 1998; 1-2: 13-21.
10. Dragičević-Čurić N, Stupar M, Milić J, Zorić T, Krajišnik D, Vasiljević D. Hydrophilic gels containing chlorophyllin – loaded liposomes: development and stability evaluation. *Pharmazie* 2005; 8, in press.
11. Fattal E, Vauthier C. Nanoparticles as drug delivery systems. In: *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. New York: Marcel Dekker, 2002: 1864-1882.
12. Wissing SA, Kayser O, Müller RH. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2004; 56: 1257-1272.
13. Freitas C, Müller RH, Zur Mühlen A. Solid lipid nanoparticles (SLN) in aqueous dispersions. Stabilizing effects. In: Müller RH, Benita S, Böhn B. eds. *Emulsions and Nanosuspensions for the Formulation of Poorly Soluble Drugs*. Stuttgart: Medpharm, 1998: 328–329.
14. Milić J, Petrović SD. Karakteristike savremenih farmaceutskih oblika. *Hem. ind.* 2003; 57: 424-436.
15. US Patent USS 188837, Method for producing solid lipid microspheres having a narrow size distribution, Gasco MR, 1993.
16. Schubert MA, Müller-Goymann CC. Solvent injection as a new approach for manufacturing lipid nanoparticles – evaluation of the method and process parameters. *Eur J Pharm* 2003; 55: 125-131.
17. Benita S, Levy MY. Submicron emulsions as colloidal drug carriers for intravenous administration: Comprehensive physicochemical characterization. *J Pharm Sci* 1993; 82 (11): 1069-1079.
18. Yin Win K, Feng SS. Effects of particle size and surface coating on cellular uptake of polymeric nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs. *Biomaterials* 2005; 26: 2713-2722.
19. Souto EB, Wissing SA, Barbosa CM, Müller RH. Evaluation of the Physical stability of SLN and NLC before and after incorporation into hydrogel formulations. *Eur J Pharm Biopharm* 2004; 58: 83-90.
20. Illum L, Davis SS. The organ uptake of intravenously administered colloidal particles can be altered using non-ionic surfactant (poloxamer 338). *FEBS Let* 1984; 167: 79-82.

21. Kreuter J. Physico-Chemical Characterization of Polyacrylic Nanoparticles. *Int J Pharm* 1983; 14: 43-58.
22. Teixeira H, Dubernet C, Puisieux F, Benita S, Couvreur P. Submicron cationic emulsions as new delivery system for oligonucleotides. *Pharm Res* 1999; 16 (1): 30-36.
23. Youenang Piemi MP, Korner D, Benita S, Marty JP. Positively and negatively charged emulsion for enhanced topical delivery of antifungal drugs. *J Control Release* 1999; 58: 177-187.
24. Calvo P, Alonso MJ, Vila-Jato JL, Robinson JR. Improved ocular bioavailability of indometacin by novel ocular drug carries. *J Pharm Pharmacol* 1996; 48: 1147-1152.
25. Klang S, Abdulrazik M, Benita S. Influence of emulsions droplet surface charge on indomethacin ocular tissue distribution. *Pharm Dev Technol* 2000; 5 (4): 521-532.
26. Rubinstein A, Pathak YV, Kleinstern J, Reches A, Benita S. In vitro release and intestinal absorption of physostigmine salicylate from submicron emulsions. *J Pharm Sci* 1991; 80 (7): 643-647.
27. Fattal E, Youseff M, Couvreur P, Andreumont A. Treatment of experimental salmonellosis in mice with ampicillin-bound nanoparticles. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 1540-1543.
28. Page-Clisson ME, Pinto-Alphandary H, Chachaty E, Couvreur P, Andreumont A. Drug targeting by polyalkylcyanoacrylate nanoparticles is not efficient against persistent salmonella. *Pharm Res* 1998; 15: 544-549.
29. Gaspar R, Preat V, Oppendoes FR, Roland M. Macrophage activation polymeric nanoparticles of polyalkylcyanoacrylates: activity against intracellular *Leishmania Donovanii* associated with hydrogen peroxide production. *Pharm Res* 1992; 9: 782-787.
30. Brasseur F, Verdun C, Couvreur P, Deckers C, Roland M. Evaluation expérimentale de l'efficacité thérapeutique de la doxorubicine associée aux nanoparticules de polyalkylcyanoactylate. *Proceedings of the Fourth International Conference on Pharmaceutical Technology*. Paris; 1986: 177-186.
31. Chiannikulchai N, Driouich Z, Benoit JP, Parodi AL, Couvreur P. Doxorubicin – loaded nanoparticles: increased efficiency in murine hepatic metastases. *Sel Cancer Ther* 1989; 5: 1-11.
32. Barratt G, Puisieux F, Yu WP, Foucher C, Fessi H, Devissaguet JP. Anti-metastatic activity of MDP-L-alanyl-cholesterol incorporated into various types of nanocapsules *Int J Immunopharmacol* 1994; 16: 457-461.
33. Konan-Kouakou YN, Boch R, Gurny R, Allémann E. In vitro and in vivo activities of verteporfin-loaded nanoparticles. *J Control Release* 2005; 103: 83-91.



34. Fattal E, Vauthier C, Aynie I, Nakada Y, Lambert G, Malvy C, Couvreur P. Biodegradable polyalkylcyanoacrylate nanoparticles for the delivery of oligonucleotides. *J Control Release* 1998; 53: 137-143.
35. Gautier JC, Grangier JL, Barbier A, Dupont P, Dussosoy D, Pastor G, Couvreur P. Biodegradable nanoparticles for subcutaneous administration of growth hormone releasing factor (hGRF). *J Control Release* 1992; 3: 205-210.
36. Damgé C, Michel C, Aprahamian M, Couvreur P. New approach for oral administration of insulin with polyalkylcyanoacrylate nanocapsules as drug carrier. *Diabetes* 1988; 37: 246-251.
37. Damgé C, Vonderscher J, Marbach P, Pinget M. Poly(alkyl cyanoacrylate) nanocapsules as drug delivery system in the rat for octreotide, a long-acting somatostatin analogue. *J Pharm Pharmacol* 1997; 49: 949-954.
38. Leroux JC et al. *J Pharm Sci* 1995; 84: 1387-1391.
39. Leroux JC et al. *Pharm Res* 1996; 13: 485-487.
40. Takeuchi H, Yamamoto H, Kawashima Y. Mucoadhesive nanoparticulate systems for peptide drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 47: 39-54.
41. Calvo P, Thomas C, Alonso MJ, Vila-Jato JL, Robinson JR. Study of mechanism of interaction of poly(epsilon caprolactone) nanocapsules with the cornea by confocal laser scanning microscopy. *Int J Pharm* 1994; 103: 283-291.
42. Müller RH, Radtke M, Wissing SA. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers in cosmetic and dermatological preparations. *Adv Drug Deliv Rev* 2002; 54 (1): 131-155.
43. Müller RH, Dingler A. Feste Lipid-Nanopartikel (Lipopearls) als neuartiger Carrier für kosmetische und dermatologische Wirkstoffe. *PZ Wiss* 1998; 49: 11-15.
44. Müller RH, Keck CM. Challenges and solutions for the delivery of biotech – a review of drug nanocrystal technology and lipid nanoparticles. *J Biotech* 2004; 113: 151-170.

# Nanodispersed systems as drug carriers

Snežana Savić\*, Ivana Gluščević, Jela Milić,  
Gordana Vuleta

Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology,  
Faculty of Pharmacy, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade

---

## Summary

Nanotechnologies are used increasingly in formulation of modern drug carriers (nanoemulsions, liposomes, nanoparticles, nanosuspensions, micelles, soluble conjugates substance-polymer, liquid crystal dispersion). Development of nanodispersed system provided substantial improvement in drug therapy, such as satisfying stability, increased selectivity, decreased toxicity, appropriate pharmacokinetic profile of an incorporated drug. Lipids or polymers are used as basic excipients in formulation of these systems. There are numerous methods to prepare and study characteristics of drug carriers of nano dimensions.

Nanoemulsions and liposomes are first developed nanodispersed systems, which are incorporated into some pharmaceutical preparations as drug carriers. Development of nanoparticles, as colloidal carriers of new generation, enables better protection of incorporated substances, and controlled release and targeted drug delivery (even to brain). Many researches point to future rise in number of preparations based on nanodispersed systems used as drug carriers for biotech drug, some of which are proteins, peptides, oligonucleotides, DNA.

**Key words:** nanoemulsions, liposomes, nanoparticles, characterization, preparation

---

\*Corresponding author: Snežana Savić, e-mail: [snexs@pharmacy.bg.ac.yu](mailto:snexs@pharmacy.bg.ac.yu)