



Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Ivor Vavra Plavšić

NANONOSAČI ZA CILJANU DOSTAVU LIJEKOVA

Kemijski Seminar I

Doktorski studij Kemija

Izrađen prema:

A. Shah, S. Aftab, J. Nisar, M. N. Ashiq, F. J. Iftikhar, *J. Drug Delivery Sci. Technol.* **62**
(2021) 102426.

Zagreb, 2025.

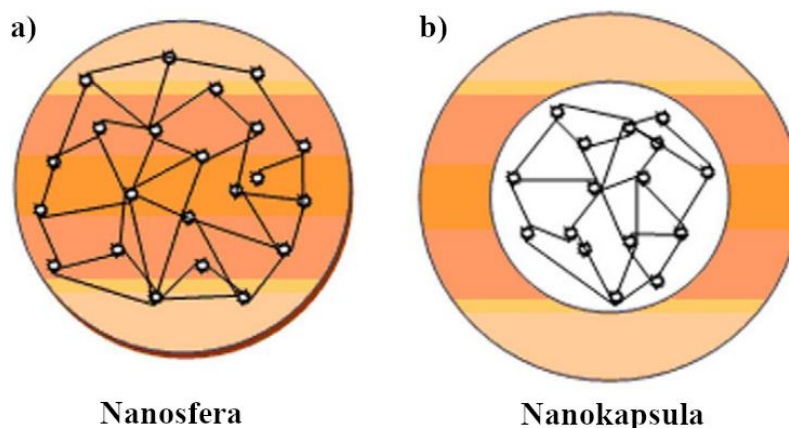
Sadržaj

§ 1. UVOD.....	1
§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME	3
2.1. Polimerne nanočestice.....	4
2.2. Magnetske nanočestice	7
2.3. Zlatne nanočestice	9
2.4. Mezoporozne nanočestice silike	13
§ 3. ZAKLJUČAK	18
§ 4. LITERATURNI IZVORI.....	19

§ 1. UVOD

Dostava lijekova je proces transporta aktivne tvari u organizam. Od svih načina dostave lijekova, oralna primjena je najčešće korištena jer nudi brojne prednosti poput bezbolnosti i jednostavnosti samostalne primjene. Osim toga, većina oralnih sustava dostave lijekova, poput tableta, može se proizvoditi s relativno niskim troškovima. Međutim, ljudski probavni sustav predstavlja ozbiljnu barijeru za brojne aktivne farmaceutske tvari jer lijek prolazi kroz metaboličke procese i nepotpunu apsorpciju lijeka što smanjuje bioraspoloživost lijeka. Oralna primjena mnogih lijekova stoga predstavlja veliki izazov, što rezultira razvojem sve inovativnijih i sofisticiranijih sustava dostave. Među njima su i sustavi s nanonosačima.^{1,2}

Nanonosači su nanočestice (čestice dimenzija od 1 do 1000 nm)³ koje po svojem kemijskom sastavu mogu biti polimeri, metali ili metalni oksidi na čijoj je površini aktivna tvar adsorbirana (nanosfere, slika 1a) ili u kojima je aktivna tvar enkapsulirana (nanokapsule, slika 1b).⁴



Slika 1. Shematski prikaz a) nanosfere i b) nanokapsule. Preuzeto i prilagođeno iz ref. 4.

Nanonosači mogu dostavljati lijekove na mjesto oboljenja aktivno ili pasivno. U slučaju aktivnog prijenosa, peptidi ili antitijela vezana na nanonosač, vežu se za receptor, lipide ili antigene na ciljnom mjestu. Pasivni prijenos uključuje transport lijeka pomoću nanonosača i otpuštanje adsorbiranog ili enkapsuliranog lijeka na ciljnom mjestu.⁴

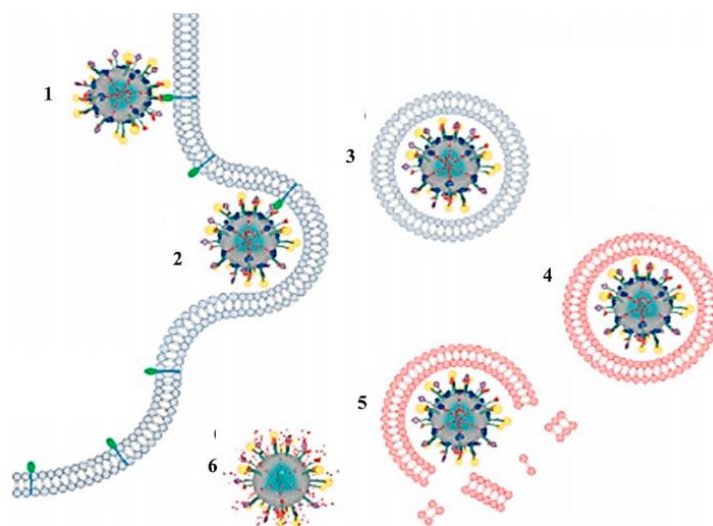
Nanonosači poboljšavaju oralnu bioraspoloživost lijeka zbog povećane propusnosti i/ili zaštite lijeka od nepovoljnih uvjeta u probavnom sustavu.⁵ Nadalje, zbog velikog omjera površine i volumena, poboljšavaju farmakokinetiku i biodistribuciju aktivnih tvari, čime smanjuju njihovu toksičnost na način da potiču preferencijalno nakupljanje aktivne tvari na

ciljanom mjestu.⁶ Osim toga, povećavaju stabilnost različitih aktivnih tvari, poput peptida, oligonukleotida i dr. Također, poboljšavaju bioraspoloživost slabo topljivih hidrofobnih spojeva što ih može činiti pogodnima i za intravenoznu, intramuskularnu ili potkožnu primjenu. Mogu se koristiti i za dostavu lijekova u središnji živčani sustav jer zbog svoje male veličine mogu prijeći krvno-moždanu barijeru, a upotreba biorazgradivih materijala smanjuje reakcije preosjetljivosti i osigurava dobru kompatibilnost s tkivom.⁴

Osim toga, molekule lijekova male mase brzo se izlučuju putem bubrežnog izlučivanja. S druge strane, nanočestice se izlučuju sporije, pa se stoga zadržavaju u krvotoku dulje vrijeme, što im omogućuje dovoljno vremena da dođu do ciljnog mjesta. Pokazano je da se čestice manje od 200 nm u promjeru zadržavaju u krvotoku relativno dugo vrijeme, izbjegavajući unos u jetri i slezeni.⁷

§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

Nanonosači se mogu dizajnirati od različitih materijala i u različitim oblicima i veličinama za unutarstaničnu dostavu lijekova. Dostava hidrofobnih lijekova do tumorskih stanica i unos lijekova u stanice raka je područje koje se brzo razvija kako bi se smanjile potrebne količine lijeka. Konjugacija sa specifičnim ligandom ili antitijelom omogućuje usmjeravanje nanonosača prema specifičnim vrstama stanica poput stanica tumora. Tipičan način unosa lijeka u stanice tumora pomoću nanonosača prikazan je na slici 2.



Slika 2. Unos nanonosača u stanicu endocitozom. (1) Vezanje na receptor na stanici pomoću liganda za usmjeravanje nanonosača; (2) Endocitoza potaknuta interakcijom ligand-receptor; (3) Zarobljavanje nanonosača unutar endosoma; (4) Unutarstanični prijenos i razgradnja endosoma; (5) Izlazak nanonosača iz endosoma; (6) Kontrolirana isporuka lijeka unutar stanice. Preuzeto iz ref. 6.

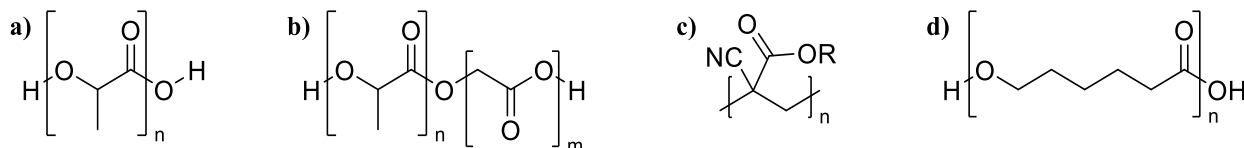
Hidrofobni lijekovi imaju ograničenu primjenu zbog svoje netopljivosti u vodi. Funkcionalizacijom površine nanočestica one se mogu koristiti za ciljanje različitih faza tumora, poput primarnog raka i metastatskih tumora, te utjecati na ulazak nanočestica kroz endocitozu.⁶

S obzirom na to da je vezanje lijeka pojava vezana uz površinu, ukupna površina je odlučujući faktor koji određuje količinu lijeka koja se može vezati na nanočestice. Veličina,

oblik i površinski naboj su također bitni faktori koji određuju sposobnost nanočestica za dostavu lijekova. Topologija i površinski naboj definiraju njihovu sposobnost nakupljanja na ciljnom mjestu, kao i farmakokinetiku. Veličina čestica može utjecati na unos nanočestica u stanice. Vrsta stanica također definira veličinu nanočestica koje se mogu unijeti unose. Geometrija i oblik čestica može odrediti mehanizam unosa čestica u različite organe.⁸

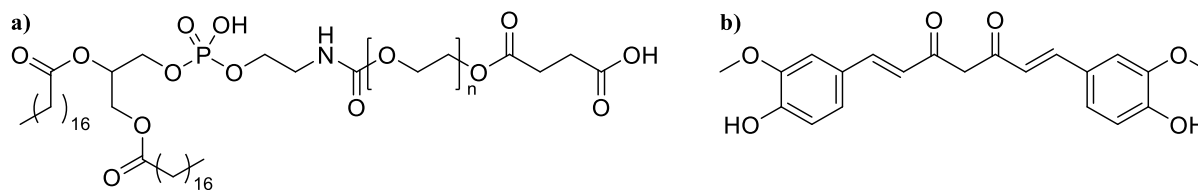
2.1. Polimerne nanočestice

Biorazgradive polimerne nanočestice privukle su pažnju u dostavi lijekova zbog jednostavnosti modifikacije različitim ligandima. Također, one omogućuju kontinuirano otpuštanje do ciljanog mjesta i vrlo su stabilne. Tijekom godina, sintetizirane su polimerne nanočestice različitih morfologija i sastava prema potrebama njihove transportacije do oboljelih područja i vrste dostavljenih lijekova.⁶ Različiti polimeri korišteni su u istraživanjima dostave lijekova poput poli(mliječne kiseline), poli(laktid-ko-glikolida) (PLGA), poli-(cijanoakrilata), poli(ε-kaprolaktona) (slika 3).⁹



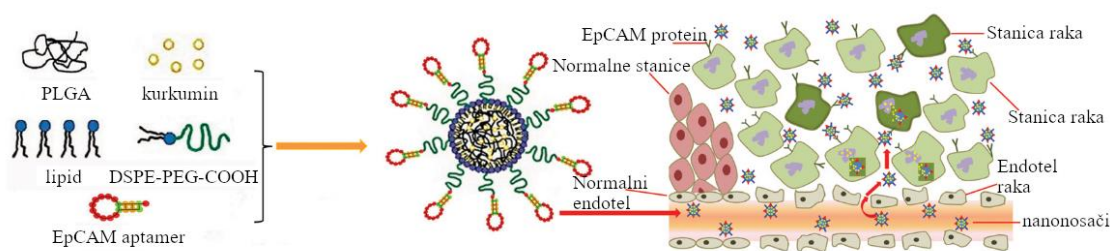
Slika 3. Strukture a) poli(mliječne kiseline), b) poli(laktid-ko-glikolida), c) poli-(cijanoakrilata), d) poli(ε-kaprolaktona).

Li i suradnici¹⁰ pripravili su nanočestice od PLGA koji je činio hidrofobnu jezgru, lecitina, prirodnog fosfolipida, koji je tvorio lipidni monosloj oko PLGA i 1,2-distearoilglicerofosfoetanolamin-N-karboksipoli(etilen-glikola) (DSPE-PEG karboksilne kiseline) (slika 4a) koja je služila kao ovojnica kako bi se produžila *in vivo* cirkulacija te je u njih enkapsuliran kurkumin (slika 4b).



Slika 4. Struktura a) DSPE-PEG karboksilne kiseline, b) kurkumina.

Kurkumin je prirodni polifenol prisutan u kurkumi s niskom toksičnošću, ali širokim rasponom bioloških aktivnosti, uključujući antitumorska, antioksidativna i protuupalna svojstva. Iz *in vivo* studija pokazano je da kurkumin može inhibirati rast implantiranih ljudskih tumora. Međutim, ima nisku topljivost u vodi (oko 0,0004 mg/mL pri pH = 7,3) i ograničenu bioraspoloživost u krvotoku kada se primjenjuje oralno, te se razgrađuje unutar 30 minuta pri lužnatim uvjetima u vodi, što uvelike ograničava njegovu uporabu u liječenju raka. Stoga su Li i suradnici¹⁰ pokušali pripremiti nanonosače za dostavu kurkumina kako bi se poboljšala njegova penetracija u tkiva, unos u stanice i produljila cirkulacija u krvi. Na pripravljene nanonosače još je kemijski vezan aptamer koji ima visok afinitet prema molekuli za adheziju epitelnih stanica (EpCAM), proteinu koji je prekomjerno izražen na stanicama kolorektalnog adenokarcinoma – jedne vrste raka debelog crijeva. Aptameri su jednolančani oligonukleotidi koji se mogu smatrati nukleinsko-kiselinskim analogima antitijela.

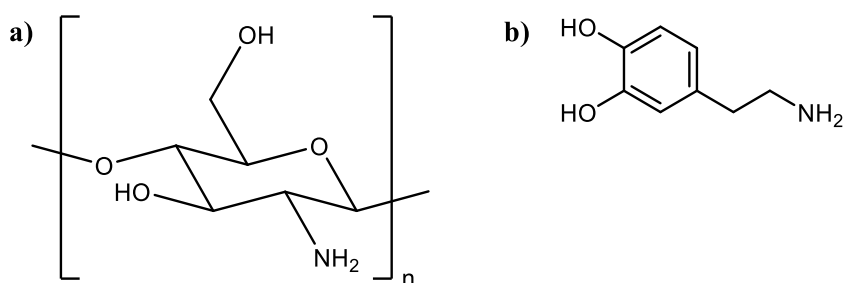


Slika 5. Shematski prikaz pripreme nanonosača za kurkumin. Preuzeto i prilagođeno iz ref. 10.

Kako bi istražili stabilnost kurkumina na nanonosačima, slobodni kurkumin i pripremljeni nanonosači inkubirani su pri fiziološkom pH = 7,4. Nakon 6 sati inkubacije više od 95% slobodnog kurkumina razgradilo se, dok je otprilike 75% kurkumina ostalo je stabilno na nanonosačima što znači da je enkapsulacija kurkumina u PLGA-lecitin-PEG nanočesticama značajno poboljšala njegovu stabilnost. Također su istražili unos kurkumina u stanice ljudskog raka debelog crijeva tako da su ih inkubirali sa slobodnim kurkuminom, PLGA-lecitin-PEG-

aptamer nanočesticama s enkapsuliranim kurkuminom te sličnim nanonosaićima s modificiranim aptamerom koji ne pokazuje afinitet prema EpCAM proteinu te su pratili unos kurukumina u stanice fluorescentnim laserskim skanirajućim konfokalnim mikroskopom. Nanonosaići s funkcionalnim aptamerom pokazali su 64 puta veći unos u stanice raka u usporedbi s nanonosaićima koji su imali kontrolni aptamer što pokazuje da nanonosaići s funkcionalnim aptamerom mogu poboljšati dostavu kurkumina do stanica raka debelog crijeva.

Osim prethodno navedenih polimera, polielektrolit kitozan (slika 6a) koji se dobiva deacetilacijom hitina, također je pokazao obećavajuće rezultate zbog svojstava poput niske toksičnosti, izvrsne biokompatibilnosti, visoke sposobnosti vezanja i dobre sposobnosti dostave hidrofilnih molekula.



Slika 6. Struktura a) kitozana i b) dopamina.

Trapani i suradnici¹¹ adsorbirali su neurotransmitter dopamin (slika 6b) na nanočestice kitozana. Dopamin se koristi za liječenje Parkinsonove bolesti, no sam ne može preći krvno-moždanu barijeru koja općenito predstavlja prepreku za dostavu neuroaktivnih lijekova u središnji živčani sustav i otežava liječenje mnogih bolesti središnjeg živčanog sustava. Prevladavanje krvno-moždane barijere korištenjem nanotehnologije predstavlja jedno od područja velikog interesa u modernim farmaceutskim istraživanjima posvećenim poboljšanju liječenja bolesti mozga. Stoga su Trapani i suradnici¹¹ iskoristili Madin-Darby pseće bubrežne (MDCK) stanice kao model krvno-moždane barijere te su pratili prolazak dopamina kroz jednoslojni epitel MDCK stanica. Uočeno je da je permeabilnost nanočestica kitozana prekrivenih dopaminom 2,5 puta veća od permeabilnosti slobodnog dopamina što se može objasniti elektrostatskim interakcijama između polikationskog kitozana i negativnih naboja na površini epitela stanica što omogućava adsorpcijom posredovanu transcitozu. Adsorpcijom posredovana transcitoza je transportni put pozitivno nabijenih molekula kroz krvno-moždanu barijeru koja ne zahtijeva specifična vezna mjesta na površinama stanica, već uključuje elektrostatske interakcije između

pozitivno nabijenih molekula i negativnih naboja na endotelnoj površini. Pripravljene nanonosače su također primijenili na štakore te su mjerili koncentraciju dopamina u striatumu – dijelu mozga smještenom duboko unutar mozga. Uočili su da su nanočestice kitozana prekrivene dopaminom primijenjene u dozi od 12 mg / kg, izazvale značajno povećanje vanstaničnih koncentracija dopamina koje su dosegle vrhunac (439% više u odnosu na početnu vrijednost) 80 minuta nakon tretmana, a zatim pale na početnu vrijednost unutar 120 minuta.

2.2. Magnetske nanočestice

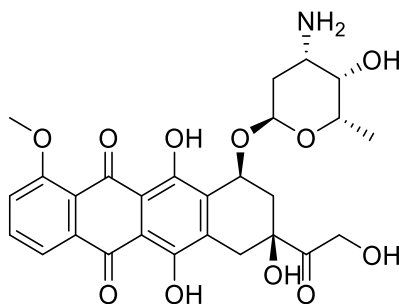
Kao nanonosači koriste se i nanočestice različitih sastava koje imaju magnetska svojstva, poput željezovih oksida npr. hematita, Fe_3O_4 i maghemita, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, čistih metala poput željeza i kobalta, feromagnetičnih spinela, poput MgFe_2O_4 , MnFe_2O_4 i CoFe_2O_4 , i legura poput CoPt_3 i FePt .¹² Osim čistih magnetskih nanočestica, mogu se prirediti i čestice s magnetskom jezgrom i omotačem od polimera poput silike, dekstrana, polivinil acetata, metala poput zlata, lipidnih dvosloja ili hidrogelova.¹³

Magnetne nanočestice imaju brojne biomedicinske i biotehnološke primjene. Osnovni princip korištenja magnetskih nanočestica prekrivenih aktivnim tvarima je usmjeravanje tih nanočestica prema ciljnim stanicama ili tkivima primjenom magnetskog polja čime se postiže maksimalna koncentracija lijeka na mjestu bolesti. Iako se brojni magnetski nanomaterijali još uvijek testiraju, željezovi oksidi su najčešće korišteni magnetski nanomaterijali zbog svojeg superparamagnetizma, biokompatibilnosti i relativno niže toksičnosti. Magnetske nanočestice su učinkoviti nosači za dostavu lijekova jer smanjuju distribuciju citotoksičnih materijala u tijelu i povećavaju unos u stanice na željenim mjestima.

Međutim, hidrofobna površina magnetskih nanočestica i njihov velik omjer površine i volumena dovode do formiranja agregata, čime se povećava veličina čestica, što rezultira embolizacijom unutar krvotoka i ograničava protok krvi. Formiranje agregata također utječe na superparamagnetska svojstva magnetskih nanočestica. Također, magnetske nanočestice uzrokuju citotoksičnost kada dopiju do jetre. Stoga, kako bi se prevladali ovi problemi, nužna je površinska modifikacija magnetskih nanočestica kako bi se izbjegla agregacija magnetskih nanostrukture i omogućila mogućnost dostave kroz krvno-moždanu barijeru i unutar unutarstaničnih organela. Magnetske nanočestice se zato funkcionaliziraju raznim anorganskim i organskim tvarima kako bi se stvorile interakcije između biomolekula i nanostrukture.

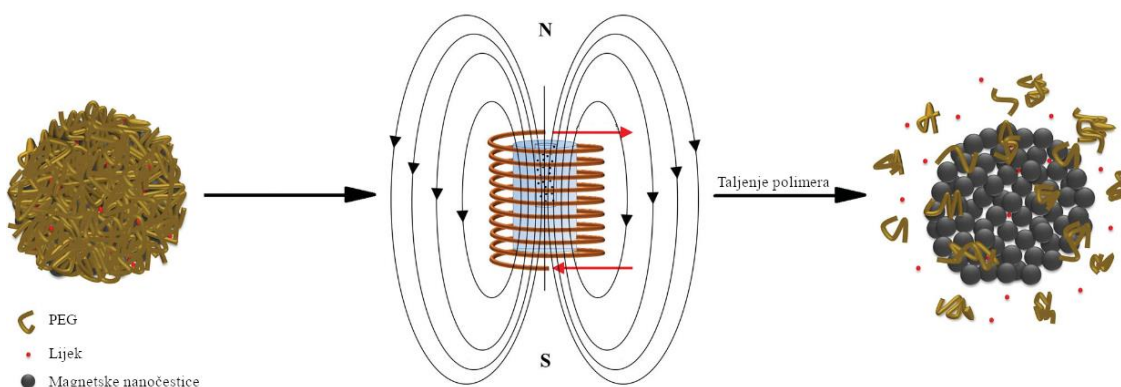
Površina magnetskih nanočestica mora biti pozitivno nabijena za dostavu negativno nabijenih lijekova poput aspirina i ibuprofena. Kada magnetske prekrivene lijekom dosegnu specifično mjesto, lijek se otpušta u mediju koji sadrži fosfatne i kloridne ione.⁶

Dabbagh i suradnici¹⁴ pripravili su porozne magnetske nanočestice od magnetita na koje su dodatno vezali polietilen glikol (PEG). Na tako pripravljene čestice zatim su vezali kemoterapijski lijek doksorubicin (slika 7).



Slika 7. Struktura doksorubicina.

Uloga polietilen glikola bila je da formira zaštitni sloj oko čestica i sprječava preuranjeno otpuštanje lijeka. Primjenom izmjeničnog magnetskog polja na suspenziju magnetskih čestica dolazi do porasta temperature čestica. Pri povišenoj temperaturi dolazi do taljenja zaštitnog sloja od polietilen glikola čije je talište pri 48°C što dovodi do otpuštanja lijeka (slika 8).



Slika 8. Shematski prikaz mehanizma otpuštanja lijeka s poroznih nanostruktura s magnetskom jezgrom i polimernim omotačem. Taljenje zaštitnog sloja rezultira kontroliranim otpuštanjem lijeka. Preuzeto i prilagođeno iz ref. 14.

Izlaganje takvih čestica izmjeničnom magnetskom polju u trajanju od 15 minuta uzrokovalo je otpuštanje 74% adsorbiranog doksorubicina što je značajno više od 21% doksorubicina

otpuštenog tijekom inkubacije pri 37 °C bez primjene magnetskog polja. Ovako dizajnirani nanonosači stoga bi mogli biti usmjereni prema tumorskom tkivu pomoću magnetskog polja gdje će potom pod utjecajem izmjeničnog magnetskog polja doći do otpuštanja kemoterapijskog lijeka.

Kubo i suradnici⁷ vezali su doksorubicin na čestice magnetita te ih potom prekrili lipidnim dvoslojem od fosfatidilkolina. Tako pripravljene čestice intravenozno su primjenili na sirijske hrčke prethodno inokulirane s osteosarkomom – jednom vrstom raka kostiju. U izrasli tumor su također kirurški usadili mali neodimijski permanentni magnet. Zatim su pratili koncentraciju doksorubicina u tumorskom tkivu te su rezultate usporedili s kontrolnom skupinom u kojoj je umjesto nanonosača primjenjena otopina doksorubicina.

1 sat nakon primjene, koncentracija doksorubicina u tumorskom tkivu u skupini s magnetskim nanočesticama bila je oko 4 puta veća nego u skupini s otopinom doksorubicina što ukazuje na efikasno poboljšanje dostave lijeka na ciljano mjesto. Usađivanje magneta u solidne tumore prilikom biopsije ili resekcije tumora stoga može biti primjenjivo u kemoterapiji tumora koji su nedostupni vanjskom magnetnom polju. Usađivanje biokompatibilnih permanentnih magneta već je korišteno za stabilizaciju proteza.

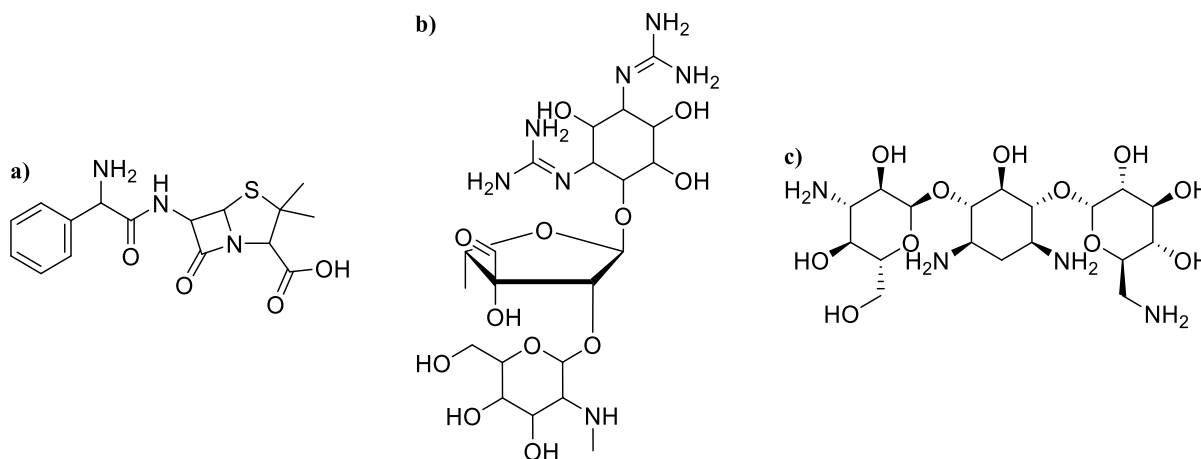
2.3. Zlatne nanočestice

Iako je zlato predmet jednog od najstarijih istraživačkih tema u znanosti, u posljednje vrijeme porastao je interes znanstvene zajednice za zlato, posebno u kontekstu nanotehnologije. Zlatne nanočestice su najstabilnije metalne nanočestice, a zanimljive su zbog svojih elektroničkih i optičkih svojstava povezanih s veličinom te njihove primjene u katalizi i biologiji.¹⁵ Zlatne nanočestice nedavno su postale atraktivan kandidat za dostavu različitih spojeva do svojih ciljanih mjesta zbog svojih jedinstvenih kemijskih i fizičkih svojstava. Zlato je inertno i netoksično, a sinteza zlatnih nanočestica relativno je jednostavna – mogu se formirati monodisperzne nanočestice s veličinama u rasponu od 1 do 150 nm. Osim toga, jednostavno se funkcionaliziraju, obično kroz tiolne veze.¹⁶

Antibiotici mogu uzrokovati nuspojave zbog prekomjerne količine u krvi u odnosu na potrebnu dozu, no antibiotici vezani na zlatne nanočestice funkcionalizirane s odgovarajućim ligandom za usmjeravanje predstavljaju mogući korak za povećanje njihove učinkovitosti.

Zlatne nanočestice mogu se prekriti s antibioticima pomoću veza poput polietilen glikola, glutationa itd.⁶

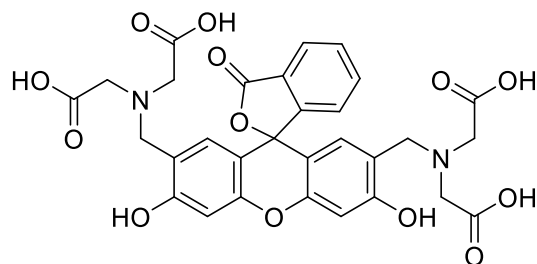
Bhattacharya i suradnici¹⁷ pripravili su zlatne nanočestice prekrivene s trima različitim antibioticima: ampicilinom (slika 9a), kanamicinom (slika 9b) i streptomycinom (slika 9c) na način da je tijekom sinteze čestica u reakcijsku smjesu kloraurinske kiseline ($\text{H}(\text{AuCl}_4)$) i natrijeva borhidrida dodan odgovarajući antibiotik pri čemu su kombiniranim reducirajućim djelovanjem natrijevog borhidrida i antibiotika istaložile zlatne nanočestice prekrivene odgovarajućim antibiotikom.



Slika 9. Strukture a) ampicilina, b) kanamacina i c) streptomicina.

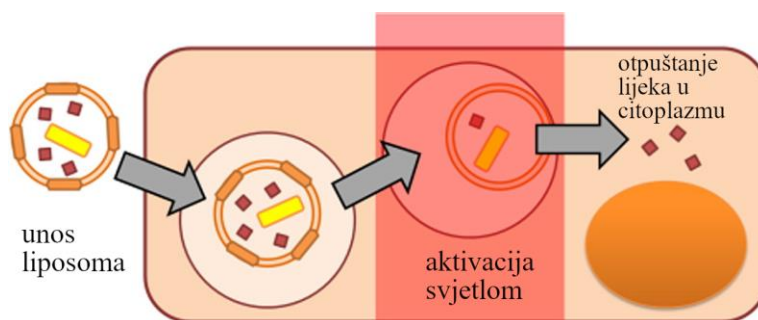
Zatim su inkubirali tri vrste bakterija: *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus* i *Staphylococcus aureus* s tako pripremljenim nanočesticama te sa slobodnim antibioticima. Određene su minimalne inhibitorne koncentracije (najniže koncentracije lijeka potrebne za vidljivo smanjenje *in vitro* rasta bakterija) nanočestica prekrivenih antibioticima te slobodnih antibiotika. Minimalne inhibitorne koncentracije bile su niže za nanočestice prekrivene antibioticima u odnosu na odgovarajući slobodni antibiotik za sve tri vrste bakterija što ukazuje na snažnije antibiotsko djelovanje zlatnih nanočestica prekrivenih antibioticima u usporedbi s odgovarajućim slobodnim antibioticima. Također, ovakvi nanonosači pokazali su veću stabilnost prema toplini, UV svjetlu te produljenom skladištenju.

Zlatne nanočestice pokazuju plazmonsku rezonanciju, što je korisno za dizajniranje sustava za dostavu lijekova osjetljivih na svjetlo. Lajuen i suradnici¹⁸ pripravili su zlatne nanočestice prekrivene lipidnim dvoslojem na koje je vezan kalcein (slika 10) koji je služio kao model aktivne tvari budući da se jednostavno određuje fluorimetrijski.



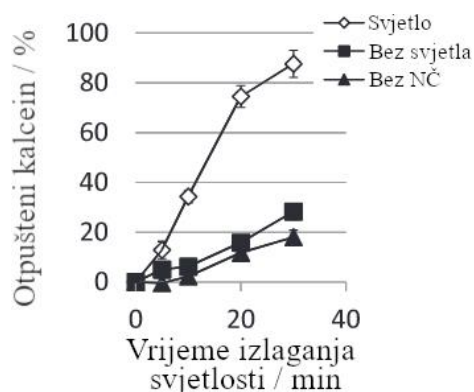
Slika 10. Struktura kalceina.

Ovakve nanočestice pokazuju maksimum plazmonske rezonancije pri 656 nm stoga njihovim osvjetljavanjem svjetlošću te valne duljine dolazi do apsorpcije svjetlosti te pretvaranja apsorbirane energije u toplinu što uzrokuje otpuštanje lijeka (slika 11).



Slika 11. Shematski prikaz mehanizma otpuštanja lijeka iz liposoma sa zlatnim nanočesticama. Preuzeto i prilagođeno iz ref. 18.

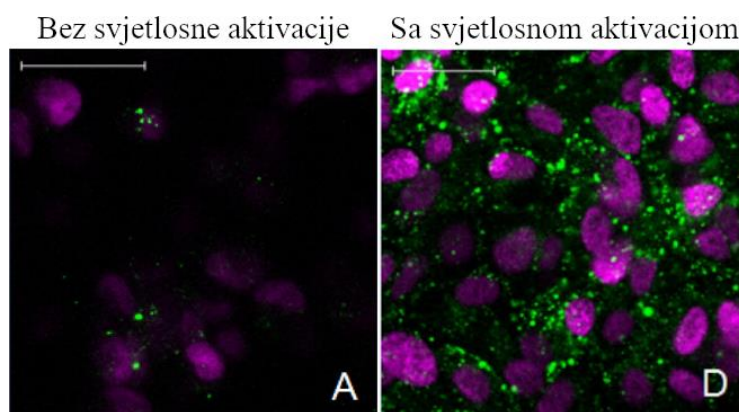
Zlatne nanočestice prekrivene lipidnim dvoslojem (liposomi) pokazale su učinkovito otpuštanje kalceina uslijed izlaganja svjetlu – došlo je do oslobađanja 75% kalceina u 20 minuta i 88% u 30 minuta izlaganja svjetlu što je značajno više nego u slučaju bez izlaganja svjetlu te u slučaju izlaganja svjetlu liposoma bez zlatnih nanočestica (slika 12).



Slika 12. Učinak izlaganja svjetlu na otpuštanje kalceina iz liposoma sa zlatnim nanočesticama. Prikazani su uzorci izloženi svjetlu (prazni dijamanti), uzorci bez izlaganja svjetlu (crni kvadrati) i uzorci izlagani svjetlu, ali bez zlatnih nanočestica (crni trokuti).

Preuzeto i prilagođeno iz ref. 18.

Ljudske stanice retinalnog pigmentnog epitela također su inkubirane s pripremljenim liposomima sa zlatnim nanočesticama uz izlaganje svjetlosti tijekom 20 minuta. Stanice su zatim promatrane konfokalnom laserskom skanirajućom mikroskopijom te je uočena intenzivnija i difuznija citoplazmatska raspodjela kalceina nego bez svjetlosne aktivacije kada je kalcein ostao u vezikularnim strukturama (endosomima, lizosomima) i nije uočena citosolna fluorescencija (slika 13).



Slika 13. Konfokalne mikroskopske slike ljudskih stanica retinalnog pigmentnog epitela nakon tretmana liposomima sa zlatnim nanočesticama. Stanice su bile izložene svjetlosnoj aktivaciji tijekom 20 minuta. Kontrolne stanice bez svjetlosne aktivacije također su ispitane.

Jezgre su prikazane u magenti, a kalcein u zelenoj boji. Duljina skalne trake je 30 μm .

Preuzeto i prilagođeno iz ref. 18.

2.4. Mezoporozne nanočestice silike

Silika, glavna komponenta pijeska i stakla, koristi se u znanosti i inženjerstvu već dugi niz godina. Također je relativno bezopasan materijal zbog svoje biokompatibilnosti i netoksičnosti.⁵ 90-ih godina prošlog stoljeća silika, osobito u obliku nanočestica, postala je područje interesa za znanstvenike koji rade na dostavi lijekova, no rani sustavi temeljeni na siliki bili su porozna stakla ili silikagelovi. Otprilike u isto vrijeme, otkrivene su mezoporozne nanočestice silike temeljene na mezostrukturiranju pomoću surfaktanata.¹⁹

Mezoporozne čestice silike imaju niz svojstava koje ih čine vrlo pogodnima za primjenu u dostavi lijekova:

- Uređena porozna mreža, ujednačene veličine pora što omogućuje preciznu kontrolu prekrivenosti lijekom i kinetike otpuštanja
- Veliki volumen pora u koje se mogu smjestiti dovoljne količine lijekova
- Velika specifična površina što ih čini pogodnima za adsorpciju lijekova
- Površina sadrži silanolne skupine koje se mogu funkcionalizirati kako bi se omogućila bolja kontrola nad vezanjem i otpuštanjem lijeka.¹⁹

Tri su najvažnije vrste mezoporoznih nanočestica silike:

- Mobil Composition of Matter No.41 (MCM-41) – sferične čestice promjera 350-650 nm.⁵ Imaju dvodimenzionalni heksagonalni raspored cilindričnih pora (slika 14a) promjera 1,5 - 10 nm.^{19,20}
- Santa Barbara Amorphous 15 (SBA-15) – čestice nepravilnog oblika promjera 10 nm - 1 µm. Imaju heksagonalnu dvodimenzionalnu strukturu pora sličnu MCM-41 s većim porama (4 – 14 nm) i debljim stjenkama pora (slika 14b).^{5,8,19,20}
- Mobil Composition of Matter No.48 (MCM-48) – sferične čestice promjera 10 nm - 1 µm. Imaju neovisne sustave pora (slika 14c) veličine oko 3 nm.¹⁹

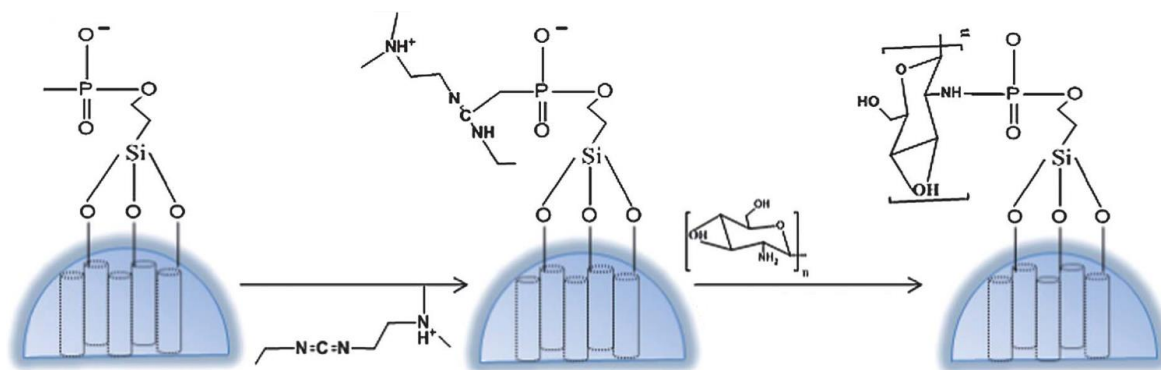


Slika 14. Shematski prikazi pora u najvažnijim vrstama mezoporoznih nanočestica silike:

a) MCM-41, b) SBA-15, c) MCM-48. Preuzeto iz ref. 19.

Veličina i oblik pora su odlučujući faktori koji definiraju vrstu i količinu lijeka koji se može vezati na mezoporozne nanočestice silike. Svaka specifična farmaceutski aktivna tvar zahtijeva odgovarajući raspon veličina pora kako bi se spriječilo prerano otpuštanje. Za učinkovito vezanje lijeka, omjer promjera pora i veličine molekule lijeka trebao bi biti puno veći od 1. Osim toga, različiti oblici pora znatno utječu na vezanje lijeka i brzinu otpuštanja. Međusobno povezane pore u obliku kaveza s malim rupama poput onih prisutnih u MCM-48 česticama pogodne su za dugoročno otpuštanje lijeka. Veličina pora mezoporoznih nanočestica silike je manja od 15 nm sa specifičnom površinom od $1000 \text{ m}^2/\text{g}$ i specifičnim volumenom pora od $1 - 2 \text{ cm}^3/\text{g}$. Volumen pora određuje ukupnu količinu terapijske tvari koja se može vezati.⁸

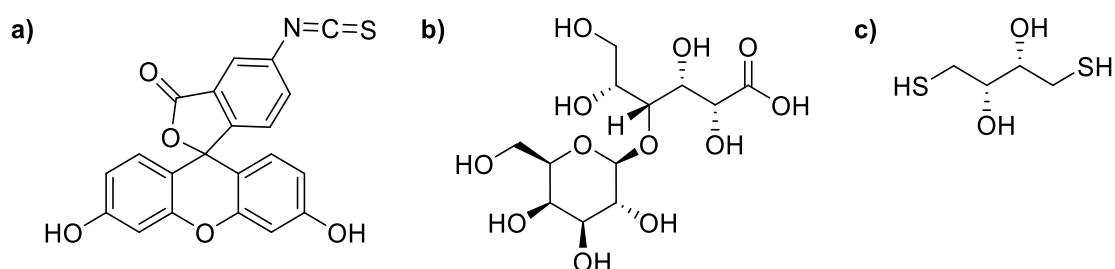
Popat i suradnici²¹ pripravili su MCM-41 čestice funkcionalizirane s fosfonatnim skupinama te su na njih adsorbirali nesteroidni protuupalni lijek ibuprofen miješanjem suspenzije čestica u otopini ibuprofena u heksanu, a na fosfonatne skupine su zatim kemijski vezali polielektrolit kitozan (slika 15).



Slika 15. Shematski prikaz postupka pripreme mezoporoznih nanočestica silike prekrivenih kitozanom. Preuzeto i prilagođeno iz ref. 21.

Ovako pripravljeni nanonosai pokazuju različite brzine otpuštanja lijeka pri različitim pH vrijednostima. Pri pH = 7,4 primarne amino-skupine na kitozanu su deprotonirane te se polielektrolitni sloj nalazi u obliku gela i sprječava otpuštanje lijeka te je uočeno otpuštanje oko 20 % ibuprofena nakon 48 sati. S druge strane, pri pH = 5 amino-skupine na kitozanu su protonirane što dovodi do napuhavanja polielektrolitnog sloja što olakšava difuziju molekula lijeka u otopinu te je uočeno otpuštanje 90 % ibuprofena nakon 8 sati.

Luo i suradnici²² su na mezoporozne nanočestice silike adsorbirali fluorescein izotiocijanat (slika 16a) koji je služio kao model lijeka.



Slika 16. Struktura a) fluorescein izotiocijanata, b) laktobionske kiseline i c) ditiotreitola.

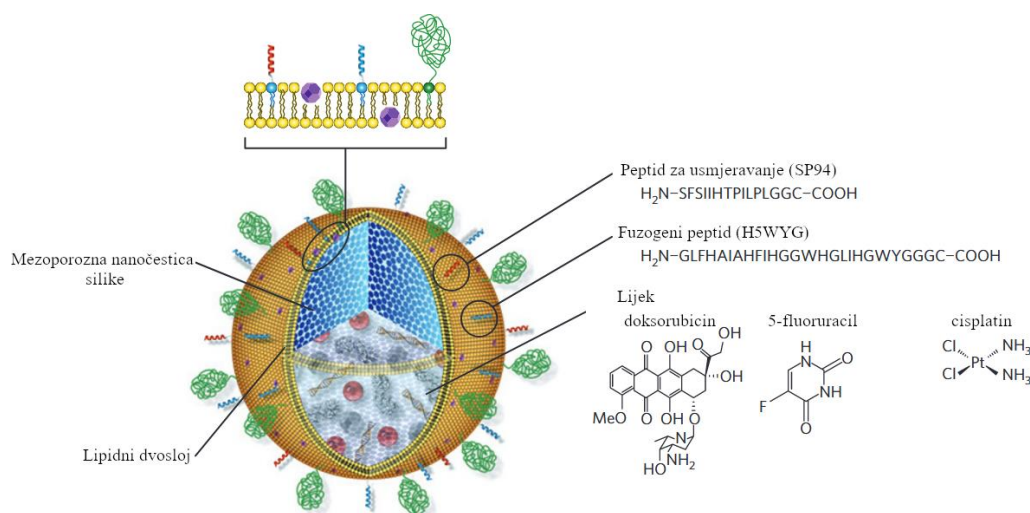
Na čestice je zatim kemijski vezan kolagen pomoću disulfidnih veza koji je služio da bi se zatvorile pore na nanočesticama i spriječilo prerano otpuštanje lijeka. Osim kolagena, na čestice je kemijski vezana i laktobionska kiselina (slika 16b) koja sadrži galaktozu koja je specifični ligand za asialoglikoproteinski receptor hepatocita (slika 17).²³



Slika 17. Shematski prikaz izrade nanonosača temeljenih na redoks-osjetljivim mezoporoznim nanočesticama silike za ciljanju dostavu lijekova. Preuzeto i prilagođeno iz ref. 22.

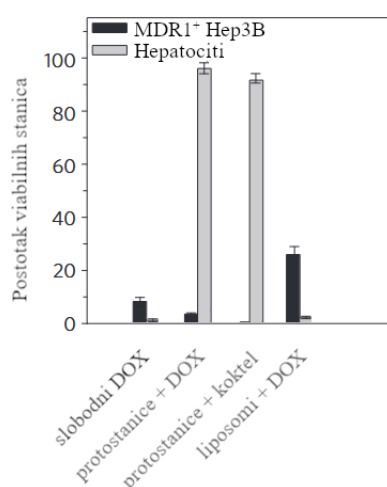
Ovakvo pripravljeni nanonosači osjetljivi su na redoks reakcije. Bez pristunosti reducensa, ovakvi nanonosači su stabilni te je nakon 2 sata uočeno otpuštanje tek 6,5% fluorescein izotiocijanata. S druge strane, 2 sata nakon dodatka reducensa ditioneitol (slika 16c) koji cijepa disulfidne veze pomoću kojih je kolagen vezan na nanočestice dolazi do otpuštanja 80% fluorescein izotiocijanata. Ovakvi nanonosači ulaze u stanice raka jetre endocitozom i pokazuju selektivnost prema stanicama raka jetre u odnosu na endotelne stanice, a 24 sata nakon ulaska u stanicu uočeno je otpuštanje 60 % fluorescein izotiocijanata.

Brinker i suradnici²⁴ pripremili su mezoporozne nanočestice silike prekrivene lipidnim dvoslojem koji je potom funkcionaliziran s peptidom za usmjeravanje SP94 za koji je poznato da ima visok afinitet za receptor na stanicama hepatocelularnog karcinoma – jedne vrste raka jetre. Na nanočestice je adsorbiran kemoterapijski lijek doksorubicin, a lipidni dvosloj je dodatno funkcionaliziran fuzogenim peptidom koji sprječava degradaciju doksorubicina u endosomima i potiče izlazak čestica iz endosoma i citosolnu disperziju enkapsuliranog doksorubicina. Ovakve nanočestice, koje su nazvali protostanice (slika 18), zahvaljujući velikoj površini i poroznosti svojih jezgri od mezoporoznih nanočestica silike, imaju 1000 puta veći kapacitet za doksorubicin u odnosu na klasične liposome slične veličine i oslobađaju gotovo sav enkapsuliran doksorubicin u bioaktivnom obliku 12 sati nakon ulaska u stanice hepatocelularnog karcinoma. Zbog toga je potrebno čak 10^5 puta manje protostanica nego klasičnih liposoma da ubije 90% stanica hepatocelularnog karcinoma.



Slika 18. Shematski prikaz mezoporozne čestice silike prekrivene lipidnim dvoslojem te različite vrste lijekova koji se mogu vezati unutar mezoporozne silicijeve jezgre i ligandi koji se mogu vezati na površinu lipidnog dvosloja. Preuzeto i prilagođeno iz ref. 24.

Protostanice pokazuju i dugoročnu stabilnost kada se održavaju u simuliranoj tjelesnoj tekućini ($\text{pH} = 7,4$) na 37°C , dok klasični liposomi ispuštaju 90% svog enkapsuliranog doksorubicina unutar 72 sata. Osim što pokazuju moćno kemoterapijsko djelovanje, protostanice su i vrlo selektivne te više od 90% zdravih hepatocita preživljava nakon inkubacije s protostanicama s vezanim doksorubicinom, dok klasični liposomi pokazuju veću citotoksičnost za zdrave stanice (slika 19). Osim doksorubicina, na protostanice se mogu vezati i drugi kemoterapijski lijekovi poput 5-fluoruracila i cisplatina. Time se dobivaju protostanice s koktelom lijekova koje su vrlo efikasne protiv hepatocelularnog karcinoma – dovoljna je samo jedna takva protostanica da bi se ubila jedna stanica hepatocelularnog karcinoma.



Slika 19. Udio stanica hepatocelularnog karcinoma i zdravih hepatocita koje ostaju viabilne nakon izlaganja $9,6 \mu\text{mol dm}^{-3}$ slobodnog doksorubicina, protostanicama ili liposomima s enkapsuliranim doksorubicinom tijekom 24 h na 37°C . Preuzeto i prilagođeno iz ref. 24.

§ 3. ZAKLJUČAK

Nanonosači predstavljaju obećavajuću tehnologiju za isporuku lijekova koja bi mogla donijeti značajne zdravstvene koristi u budućnosti. Sustavi za dostavu lijekova temeljeni na nanočesticama nude korisnu dopunu postojećim resursima farmaceutske industrije, pružajući prednosti u odnosu na klasične metode dostave lijekova koje često imaju problema s kontroliranim otpuštanjem tijekom cirkulacije. Vezanje lijekova na nanočestice može ih zaštititi od razgradnje, smanjiti potrebnu dozu i omogućiti brže liječenje putem kontroliranog otpuštanja. Također, mogu poboljšati bioraspoloživost, topljivost i prodiranje lijekova u područja tijela koja je teško doseći tradicionalnim metodama. Nadalje, nanonosači mogu smanjiti negativne učinke na zdrava tkiva tako da koncentriraju lijekove u ciljanim područjima. Iako postoje određeni izazovi i nedostaci, sustavi za dostavu lijekova temeljeni na nanočesticama koji reagiraju na promjene u lokalnim staničnim uvjetima, imaju potencijal da riješe mnoge trenutne poteškoće u terapijama. Ipak, prije nego što se pristupi daljnjim istraživanjima za razvoj klinički primjenjivih sustava, potrebno je prevladati izazove vezane uz toksičnost, biokompatibilnost, ciljano dostavljanje, sigurnost transporta u krvotoku te interakcije s biološkim barijerama. S obzirom na svojstva nanočestica, kao što su mogućnost fleksibilne sinteze i prilagodbe veličine, interes za njihove raznolike primjene raste. U tijeku su istraživanja koja nastoje optimizirati površinska svojstva nanočestica kako bi se postiglo specifično ciljanje lijekova, a napredak u karakterizaciji i razumijevanju ponašanja nanočestica *in vivo* podiže nade u razvoj komercijalnih rješenja za liječenje različitih bolesti.

§ 4. LITERATURNI IZVORI

1. M. Chamundeeswari, J. Jeslin, M. L. Verma, *Environ. Chem. Lett.* **17** (2019) 849–865.
2. A. Bernkop-Schnürch, *Eur. J. Pharm. Sci.* **49** (2013) 272–277.
3. T. Begović, N. Kallay, T. Klačić, *Koloidna i međupovršinska kemija*, skripta za internu uporabu, Zavod za fizikalnu kemiju, Kemijski odsjek PMF-a, Zagreb, 2022.
4. B. Mishra, B. B. Patel, S. Tiwari, *Nanomedicine* **6** (2010) 9–24.
5. R. Diab, C. Jaafar-Maalej, H. Fessi, P. Maincent, *AAPS J.* **14** (2012) 688–702.
6. A. Shah, S. Aftab, J. Nisar, M. N. Ashiq, et al., *J. Drug Delivery Sci. Technol.* **62** (2021) 102426.
7. T. Kubo, T. Sugita, S. Shimose, Y. Nitta, et al., *Int. J. Oncol.* **17** (2000) 309–324.
8. A. Bakhshian Nik, H. Zare, S. Razavi, H. Mohammadi, et al., *Microporous Mesoporous Mater.* **299** (2020) 110115.
9. K. S. Soppimath, T. M. Aminabhavi, A. R. Kulkarni, W. E. Rudzinski, *J. Control. Release* **70** (2001) 1–20.
10. D. Xiang, S. Shigdar, W. Yang, W. Duan, et al., *Int. J. Nanomed.* (2014) 1083.
11. A. Trapani, E. De Giglio, D. Cafagna, N. Denora, et al., *Int. J. Pharm.* **419** (2011) 296–307.
12. A. Lu, E. L. Salabas, F. Schüth, *Angew. Chem., Int. Ed.* **46** (2007) 1222–1244.
13. J. Dobson, *Drug Dev. Res.* **67** (2006) 55–60.
14. A. Dabbagh, Z. Hedayatnasab, H. Karimian, M. Sarraf, et al., *Int. J. Hyperth.* **36** (2019) 104–114.
15. M.-C. Daniel, D. Astruc, *Chem. Rev.* **104** (2004) 293–346.
16. P. Ghosh, G. Han, M. De, C. Kim, et al., *Adv. Drug Deliv. Rev.* **60** (2008) 1307–1315.
17. D. Bhattacharya, B. Saha, A. Mukherjee, C. Ranjan Santra, et al., *Nanosci. Nanotechnol.* **2** (2012) 14–21.
18. T. Lajunen, L. Viitala, L.-S. Kontturi, T. Laaksonen, et al., *J. Control. Release* **203** (2015) 85–98.
19. M. Vallet-Regí, F. Schüth, D. Lozano, M. Colilla, et al., *Chem. Soc. Rev.* **51** (2022) 5365–5451.

20. T. M. Albayati, S. M. Alardhi, A. H. Khalbas, Z. J. Humdi, et al., *ChemistrySelect* **9** (2024) e202400450.
21. A. Popat, J. Liu, G. Q. (Max) Lu, S. Z. Qiao, *J. Mater. Chem.* **22** (2012) 11173.
22. Z. Luo, K. Cai, Y. Hu, L. Zhao, et al., *Angew. Chem., Int. Ed.* **50** (2011) 640–643.
23. K. Cai, Y. Hu, Z. Luo, T. Kong, et al., *Angew. Chem.* **120** (2008) 7589–7591.
24. C. E. Ashley, E. C. Carnes, G. K. Phillips, D. Padilla, et al., *Nat. Mater.* **10** (2011) 389–397.